

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 531 056**

51 Int. Cl.:

C07D 471/10 (2006.01)

A61K 31/444 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2008** **E 12178110 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.11.2014** **EP 2540723**

54 Título: **Espirociclos como inhibidores de 11- β hidroxilesteroides deshidrogenasa tipo 1**

30 Prioridad:

21.06.2007 US 945487 P

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

10.03.2015

73 Titular/es:

INCYTE CORPORATION (100.0%)
1801 Augustine Cut-Off
Wilmington, DE 19803, US

72 Inventor/es:

YAO, WENQING;
ZHUO, JINCONG y
ZHANG, COLIN

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 531 056 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).

Espirociclos como inhibidores de 11- β hidroxilesteroide deshidrogenasa tipo 1**Descripción****Campo de la invención**

La presente invención se refiere a ciertos compuestos espirocíclicos que son inhibidores de 11- β hidroxilesteroide deshidrogenasa tipo 1 (11 β HSD1), a composiciones que la contienen y a procedimientos de uso de los mismos para el tratamiento de diabetes, obesidad y otras enfermedades.

Antecedentes de la invención

La importancia del eje hipotalámico-pituitario-supradrenal (HPA) en el control de las rutas de glucocorticoide es evidente por el hecho de que la interrupción de la homeostasis en el eje HPA, bien por secreción en exceso o deficiente da lugar al síndrome de Cushing o enfermedad de Addison, respectivamente (Miller and Chrousos (2001) *Endocrinology and Metabolism*, eds. Felig and Frohman (McGraw-Hill, Nueva York), 4ª Ed.: 387-524). Pacientes con síndrome de Cushing (una enfermedad rara caracterizada por exceso de glucocorticoide sistémico que se origina a partir de tumores suprarrenales o de pituitaria) o que reciben terapia con glucocorticoides desarrollan obesidad por grasa visceral reversible. Es de interés que el fenotipo de pacientes de síndrome de Cushing recuerde muy estrechamente al del síndrome metabólico de Reaven (también conocido como síndrome X o síndrome de resistencia a insulina) cuyos síntomas incluyen obesidad visceral, intolerancia a la glucosa, resistencia a insulina, hipertensión, diabetes de tipo 2 e hiperlipidemias (Reaven (1993) *Ann. Rev. Med.* 44: 121-131). Sin embargo el papel de glucocorticoides en formas prevalentes de obesidad humana ha permanecido oculto debido a que las concentraciones en circulación de glucocorticoides no son elevadas en la mayor parte de los pacientes con síndrome metabólico. De hecho, se ha demostrado que la acción glucocorticoide en tejido diana en síndrome metabólico depende no sólo de niveles en circulación sino también en concentración intracelular, acción mejorada localmente de glucocorticoides en tejido adiposo y músculo esquelético. Se han acumulado evidencias de que la actividad del enzima de 11 β HSD1, que regenera glucocorticoides activos a partir de formas inactivas y juega un papel central en la regulación de la concentración de glucocorticoide intracelular, es habitualmente elevada en depósitos de grasa en individuos obesos. Esto sugiere un papel para la reactivación de glucocorticoides locales en obesidad y síndrome metabólico.

Dada la capacidad de 11 β HSD1 para regenerar cortisol a partir de cortisona en circulación inerte, se ha prestado atención considerable a su papel en la amplificación de la función glucocorticoide. Se expresa 11 β HSD1 en muchos tejidos ricos en GR, incluyendo tejidos de importancia metabólica considerable tales como hígado, adiposo y músculo esquelético, y, por lo tanto, se ha postulado para ayudar en la potenciación específica del tejido de antagonismo mediado por glucocorticoides de la función de la insulina. Considerando a) la similitud fenotípica entre exceso de glucocorticoide (síndrome de Cushing) y el síndrome metabólico con glucocorticoides en circulación normal en última instancia, así como también b) la capacidad de 11 β HSD1 para generar cortisol activo a partir de cortisona inactiva de una forma específica del tejido, se ha sugerido que la obesidad central y las complicaciones metabólicas asociadas en síndrome X resulta de la mayor actividad de 11 β HSD1 dentro del tejido adiposo, dando lugar a la enfermedad de "Cushing" del epiplón (Bujalska y col. (1997) *Lancet* 349: 1210-1213). Incluso, la 11 β HSD1 ha demostrado estar subregulada en tejido adiposo de roedores y humanos obesos (Livingstone y col. (2000) *Endocrinology* 131 : 560-563; Rask y col. (2001) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86: 1418- 1421; Lindsay y col. (2003) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88: 2738-2744; Wake y col. (2003) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88: 3983-3988).

Argumentos adicionales de esta noción provienen de estudios en modelos transgénicos de ratón. La sobreexpresión específica en tejido adiposo de 11 β HSD1 con el control del promotor aP2 en ratón produce un fenotipo remarcadamente reminiscente de síndrome metabólico humano (Masuzaki y col. (2001) *Science* 294: 2166-2170; Masuzaki y col. (2003) *J. Clinical Invest.* 112: 83-90). Es importante que este fenotipo tenga lugar sin un aumento en la corticosterona en circulación, pero más bien se lleva a cabo con una producción local de corticosterona dentro de los depósitos de tejido adiposo. La mayor actividad de la 11 β HSD1 en estos ratones (de 2 a 3 veces) es muy similar a lo observado en la obesidad humana (Rask y col. (2001) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86: 1418-1421). Esto sugiere que la conversión mediada por 11 β HSD1 local de glucocorticoide inerte en glucocorticoide activo puede presentar profundas influencias en toda la sensibilidad a insulina en el cuerpo.

En base a estos datos se predeciría que la pérdida de 11 β HSD1 conduciría a un aumento en la sensibilidad a insulina y tolerancia a la glucosa debido a una deficiencia específica del tejido en niveles de glucocorticoides activos. Esto es, de hecho, el caso que se muestra en los estudios con ratones con déficit de 11 β HSD1 producido por recombinación homóloga (Kotelevstev y col. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94: 14924-14929; Morton y col. (2001) *J. Biol. Chem.* 276: 41293-41300; Morton y col. (2004) *Diabetes* 53: 931-938). Estos ratones están completamente exentos de actividad de 11-ceto reductasa, confirmando que la 11 β HSD1 codifica la única actividad capaz de generar corticosterona activa a partir de 11-deshidrocorticosterona inerte. Ratones con déficit de 11 β HSD1 son resistentes a hiperglucemia inducida por dieta y estrés, muestran inducción atenuada de enzimas gluconeogénicas

hepáticos (PEPCK, G6P), muestran mayor sensibilidad a insulina dentro de tejido adiposo, y presentan un mejor perfil de lípidos (menos triglicéridos y mayor HDL cardio-protector). De acuerdo con lo anterior, estos animales muestran resistencia a obesidad inducida por la dieta alta en grasas. Considerados en su conjunto estos estudios en ratón transgénico confirman un papel para la reactivación local de glucocorticoides en el control de sensibilidad a insulina hepática y periférica, y sugieren que la inhibición de la actividad de 11 β HSD1 puede demostrarse beneficiosa en el tratamiento de una serie de trastornos relacionados con glucocorticoides, incluyendo obesidad, resistencia a la insulina, hiperglucemia e hiperlipidemia.

Se han publicado datos que apoyan esta hipótesis. Recientemente se ha descrito que la 11 β HSD1 juega un papel en la patogénesis de la obesidad central y en la aparición del síndrome metabólico en humanos. La mayor expresión del gen de 11 β HSD1 se asocia con anomalías metabólicas en mujeres obesas y esa mayor expresión de este gen se sospecha que contribuye a la mayor conversión local de cortisona en cortisol en tejido adiposo de individuos obesos (Engeli, y col., (2004) *Obes. Res.* 12: 9-17).

Una nueva clase de inhibidores de 11 β HSD1, los arilsulfonamidotiazoles, demostraron mejorar la sensibilidad a la insulina hepática y reducen los niveles de glucosa en sangre en cepas hiperglucémicas de ratones (Barf y col. (2002) *J. Med. Chem.* 45: 3813-3815; Alberts y col. *Endocrinology* (2003) 144: 4755-4762). Adicionalmente se ha descrito recientemente que los inhibidores selectivos de 11 β HSD1 pueden mejorar la hiperglucemia grave en ratones obesos genéticamente diabéticos. Por tanto, la 11 β HSD1 es una diana farmacéuticamente prometedora para el tratamiento del síndrome metabólico (Masuzaki, y col., (2003) *Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord.* 3: 255-62).

A. Obesidad y síndrome metabólico

Como se describió anteriormente, múltiples líneas de evidencia sugieren que la inhibición de 11 β HSD1 puede ser efectiva en combatir la obesidad y/o aspectos del clúster de síndrome metabólico, incluyendo intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, hiperglucemia, hipertensión y/o hiperlipidemia. Los glucocorticoides son antagonistas conocidos de acción de la insulina, y reducciones en niveles de glucocorticoides locales por inhibición de la conversión de cortisona intracelular en cortisol deberían aumentar la sensibilidad a la insulina hepática y/o periférica y potencialmente reducir la adiposidad visceral. Como se describió anteriormente, los ratones noqueados con 11 β HSD1 son resistentes a hiperglucemia, muestran inducción atenuada de enzimas gluconeogénicas hepáticas clave, muestran sensibilidad a insulina remarcadamente elevada y tienen un mejor perfil de lípidos. Adicionalmente, estos animales muestran resistencia a obesidad inducida por dieta de alto contenido graso (Kotelevstev y col. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94: 14924-14929; Morton y col. (2001) *J. Biol. Chem.* 276: 41293-41300; Morton y col. (2004) *Diabetes* 53: 931-938). Así pues, se predice que la inhibición de 11 β HSD1 tiene múltiples efectos beneficiosos en el hígado, tejido adiposo y/o músculo esquelético, de forma particular relacionados con el alivio de componente(s) del síndrome metabólico y/o obesidad.

B. Función pancreática

Los glucocorticoides son conocidos por inhibir la secreción estimulada por glucosa de insulina de células beta pancreáticas (Billaudel and Sutter (1979) *Horm. Metab. Res.* 11: 555-560). Tanto en síndrome de Cushing como en ratas Zucker fa/fa diabéticas, la secreción de insulina estimulada por glucosa se reduce de forma reseñable (Ogawa y col. (1992) *J. Clin. Invest.* 90: 497-504). ARNm de 11 β HSD1 y la actividad se ha descrito en células de islotes pancreáticos de ratones ob/ob y la inhibición de esta actividad con carbenoxolona, un inhibidor de 11 β HSD1, mejora la liberación de insulina estimulada por glucosa (Davani y col. (2000) *J. Biol. Chem.* 275: 34841-34844). Por tanto, se predice que la inhibición de 11 β HSD1 tiene efectos beneficiosos en el páncreas, incluyendo la mejora de liberación de insulina estimulada por glucosa.

C. Cognición y demencia

El deterioro cognitivo leve es una característica común del envejecimiento que se puede relacionar en última instancia con la progresión de la demencia. Tanto en animales como humanos envejecidos las diferencias inter-individuos en función cognitiva general se han relacionado con la variabilidad en la exposición a largo plazo a glucocorticoides (Lupien y col. (1998) *Nat. Neurosci.* 1: 69-73). Adicionalmente la desregulación del eje HPA que da lugar a exposición crónica a exceso de glucocorticoides en ciertas subregiones del cerebro se ha propuesto que contribuye a la declinación de la función cognitiva (McEwen and Sapolsky (1995) *Curr. Opin. Neurobiol.* 5: 205-216). La 11 β HSD1 es abundante en el cerebro, y se expresa en múltiples subregiones incluyendo el hipocampo, córtex frontal, y cerebelo (Sandeep y col. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. Early Edition*: 1-6). El tratamiento de células del hipocampo primarias con el inhibidor de 11 β HSD1 carbenoxolona protege las células de la exacerbación mediada por glucocorticoides de neurotoxicidad de aminoácido excitatorio (Rajan y col. (1996) *J. Neurosci.* 16: 65-70). De forma adicional se protegen ratones con déficit de 11 β HSD1 de la disfunción del hipocampo asociada con glucocorticoides que está asociada con el envejecimiento (Yau y col. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98: 4716-4721). En dos estudios cruzados controlados con placebo, de doble ciego, aleatorizados, la administración de carbenoxolona mejoró la fluencia verbal y memoria verbal (Sandeep y col. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. Early Edition*:

1-6). Por tanto, se predice que la inhibición de 11 β HSD1 reduce la exposición a glucocorticoides en el cerebro y protege frente a efectos perniciosos de glucocorticoides en función neuronal, incluyendo deterioro cognitivo, demencia y/o depresión.

5 D. Presión intraocular

Se pueden usar glucocorticoides de forma típica y sistémica para un amplio conjunto de afecciones en oftalmología clínica. Una complicación particular con estos regímenes de tratamiento es glaucoma inducido por corticosteroides. Esta patología se caracteriza por un aumento significativo en presión intraocular (IOP). En su forma más avanzada y no tratada, la IOP puede conducir a pérdida de campo visual parcial y eventualmente a ceguera. La IOP se produce con la interrelación entre la producción de humor acuoso y el drenaje. La producción de humor acuoso tiene lugar en las células epiteliales no pigmentadas (NPE) y su drenaje va a través de las células de la red trabecular. La 11 β HSD1 se ha localizado en células NPE (Stokes y col. (2000) Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 41 : 1629-1683; Rauz y col. (2001) Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 42: 2037-2042) y su función es probablemente relevante para la amplificación de actividad glucocorticoide dentro de estas células. Esta noción se ha confirmado con la observación de que la concentración de cortisol libre supera en gran medida la de cortisona en el humor acuoso (relación 14:1). La importancia funcional de 11 β HSD1 en el ojo se ha evaluado usando el inhibidor carbenoxolona en voluntarios sanos (Rauz y col. (2001) Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 42: 2037-2042). Después de siete días de tratamiento de carbenoxolona se redujo la IOP en 18%. Por tanto se predice que la inhibición de 11 β HSD1 en el ojo reduce las concentraciones de glucocorticoides locales e IOP, produciendo efectos beneficiosos en el tratamiento de glaucoma y otros trastornos visuales.

E. Hipertensión

Las sustancias hipertensivas derivadas de adipocitos tales como leptina y angiotensinógeno se ha propuesto que están implicadas en la patogénesis de hipertensión relacionada con la obesidad (Matsuzawa y col. (1999) Ann. N. Y. Acad. Sci. 892: 146-154; Wajchenberg (2000) Endocr. Rev. 21 : 697-738). La leptina, que es secretada en exceso en ratones aP2-11 β HSD1 transgénicos (Masuzaki y col. (2003) J. Clinical Invest. 112: 83-90), puede activar diversas rutas del sistema nervioso simpático, incluyendo aquellas que regulan la presión sanguínea (Matsuzawa y col. (1999) Ann. N. Y. Acad. Sci. 892: 146-154). De forma adicional el sistema de renina-angiotensina (RAS) se ha demostrado que es un determinante principal de la presión sanguínea (Walker y col. (1979) Hypertension 1 : 287-291). El angiotensinógeno, que se produce en tejido hepático y adiposo, es el sustrato clave para la renina y conduce la activación de RAS. Los niveles de angiotensinógeno en plasma se elevan de forma notable en ratones transgénicos aP2-11 β HSD1, como son angiotensina II y aldosterona (Masuzaki y col. (2003) J. Clinical Invest. 112: 83-90). Estas fuerzas conducen probablemente la presión sanguínea elevada observada en ratones transgénicos aP2-11 β HSD1. El tratamiento de estos ratones con bajas dosis de un antagonista del receptor de angiotensina II elimina esta hipertensión (Masuzaki y col. (2003) J. Clinical Invest. 112: 83-90). Estos datos ilustran la importancia de la reactivación de glucocorticoides locales en tejido adiposo e hígado, y sugiere que la hipertensión puede ser provocada o exacerbada por actividad de 11 β HSD1. Por tanto, se predice que la inhibición de 11 β HSD1 y reducción de niveles de glucocorticoides en tejido adiposo y/o hepático tiene efectos beneficiosos en la hipertensión y trastornos cardiovasculares relacionados con la hipertensión.

F. Enfermedad ósea

Los glucocorticoides pueden tener efectos adversos en los tejidos del esqueleto. La exposición continua a dosis de glucocorticoides incluso moderadas puede dar lugar a osteoporosis (Cannalis (1996) J. Clin. Endocrinol. Metab. 81 : 3441-3447) y mayor riesgo de fracturas. Los experimentos in vitro confirman los efectos perjudiciales de glucocorticoides tanto en células que resorben hueso (también conocidas como osteoclastos) como en células que forman hueso (osteoblastos). Se ha demostrado que la 11 β HSD1 está presente en cultivos de osteoblastos primarios humanos así como también en células de hueso adulto, probablemente una mezcla de osteoclastos y osteoblastos (Cooper et al. (2000) Bone 27: 375-381), y el inhibidor de 11 β HSD1 carbenoxolona se ha demostrado que atenúa los efectos negativos de glucocorticoides en formación de nódulo óseo (Bellows y col. (1998) Bone 23: 119-125). Por tanto, se predice que la inhibición de 11 β HSD1 reduce la concentración de glucocorticoide local dentro de osteoblastos y osteoclastos, produciendo efectos beneficiosos en diversas formas de enfermedad ósea, incluyendo osteoporosis.

Se están desarrollando actualmente inhibidores de 11 β HSD1 de molécula pequeña para tratar o prevenir enfermedades relacionadas con 11 β HSD1 tales como las que se describieron anteriormente. Por ejemplo, se describen ciertos inhibidores basados en amida en los documentos WO 2004/089470, WO 2004/089896, WO 2004/056745, y WO 2004/065351. Se describen inhibidores de 11 β HSD1 de molécula pequeña adicionales en los documentos US 2005/0282858, US 2006/0009471, US 2005/0288338, US 2006/0009491, US 2006/0004049, US 2005/0288317, US 2005/0288329, US 2006/0122197, US 2006/0116382, y US 2006/0122210.

11) INCY0035 (US 2007/0066584)

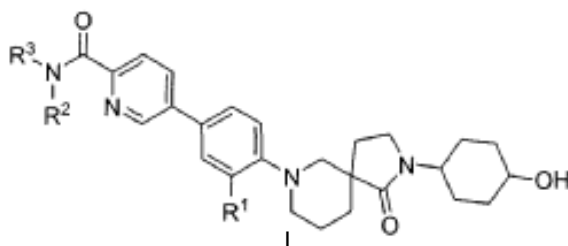
Se han evaluado antagonistas de 11 β HSD1 en ensayos clínicos humanos (Kurukulasuriya, y col., (2003) Curr. Med. Chem. 10: 123-53).

A la luz de los datos experimentales que indican un papel para la 11 β HSD1 en trastornos relacionados con glucocorticoides, síndrome metabólico, hipertensión, obesidad, resistencia a insulina, hiperglucemia, hiperlipidemias, diabetes de tipo 2, exceso de andrógenos (hirsutismo, irregularidad menstrual, hiperandrogenismo) y síndrome de ovario poliquístico (PCOS), son deseables agentes terapéuticos dirigidos al aumento o supresión de estas rutas metabólicas, mediante la modulación de la transducción de señal glucocorticoide al nivel de 11 β HSD1.

Como se demuestra en esta invención, hay una necesidad continua de nuevos y mejores fármacos que se dirijan al 11 β HSD1. Los compuestos, composiciones y procedimientos descritos en esta invención ayudan a cumplir estas y otras necesidades.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona, entre otros, inhibidores de 11 β HSD1 que presentan la fórmula I:



o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que las variables se definen a continuación.

La presente invención proporciona además composiciones que comprenden un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la invención pueden usarse en procedimientos de inhibición de 11 β HSD1 mediante contacto de la 11 β HSD1 con un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos de la invención también pueden usarse en procedimientos de inhibición de la actividad de 11 β HSD1 que comprenden poner en contacto la 11 β HSD1 con un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos de la invención también pueden usarse en procedimientos de inhibición de la conversión de cortisona a cortisol en una célula que comprenden poner en contacto la célula con un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos de la invención también pueden usarse en procedimientos de inhibición de la producción de cortisol en una célula que comprenden poner en contacto la célula con un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

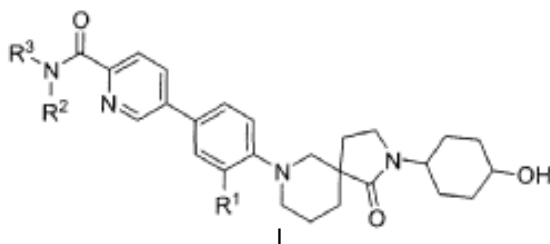
La presente invención proporciona además un compuesto de Fórmula I, o un vehículo farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de diversas enfermedades que incluyen uno cualquiera de los siguientes trastornos, o cualquier combinación de dos o más de los siguientes trastornos: obesidad; diabetes; intolerancia a la glucosa; resistencia a insulina, hiperglucemia, hipertensión, hiperlipidemia; deterioro cognitivo; depresión; demencia; glaucoma; trastornos cardiovasculares; osteoporosis; inflamación; síndrome metabólico; exceso de andrógenos; o síndrome de ovario poliquístico (PCOS) en un paciente.

La presente invención proporciona además un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal con terapia.

La presente invención proporciona además el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para uso en terapia.

Descripción detallada

La presente invención proporciona, entre otros, inhibidores de 11 β HSD1 que presentan la fórmula I:



o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que:

R^1 es F, Cl, Br, o I; y

R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de H, alquilo C_{1-6} , y cicloalquilo C_{3-6} .

En algunas realizaciones:

R^1 es F y Cl; y

R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de H y alquilo C_{1-4} .

En algunas realizaciones, R^1 es F o Cl.

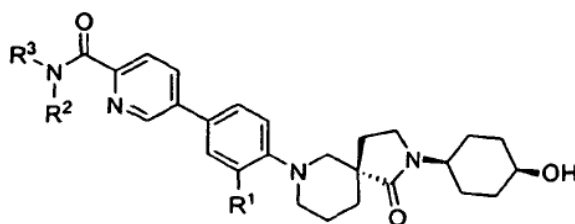
En algunas realizaciones, R^1 es F.

En algunas realizaciones, R^1 es Cl.

En algunas realizaciones, R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de H, metilo y etilo.

En algunas realizaciones, al menos uno de R^2 y R^3 es distinto de H.

En algunas realizaciones, los compuestos de la invención tienen la fórmula II:



II.

En distintos puntos de la presente memoria descriptiva, los sustituyentes de compuestos de la invención se describen en grupos o en intervalos. Se pretende de forma específica que la invención incluya toda subcombinación individual de los miembros de tales grupos e intervalos. Por ejemplo, el término “alquilo C_{1-6} ” se pretende que describa de forma específica metilo, etilo, alquilo C_3 , alquilo C_4 , alquilo C_5 , y alquilo C_6 .

Se aprecia además que ciertas características de la invención, que son, a título de claridad, descritas en el contexto de realizaciones separadas, se pueden proporcionar también en combinación en una realización única. A la inversa, diversas características de la invención que, por brevedad, se describen en el contexto de una realización única se pueden proporcionar también por separado o en cualquier subcombinación adecuada.

Tal como se usa en esta invención, el término “alquilo” se entiende que se refiere a un grupo hidrocarburo saturado que es de cadena lineal o ramificada. Grupos alquilo ejemplo incluyen metilo (Me), etilo (Et), propilo (por ejemplo, n-propilo e isopropilo), butilo (por ejemplo, n-butilo, isobutilo, t-butilo), pentilo (por ejemplo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo), y similares.

Tal como se usa en esta invención “cicloalquilo” se refiere a carbociclos de 3 a 7 miembros no aromáticos que incluyen, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

Los compuestos descritos en esta invención son asimétricos (por ejemplo, presentan uno o más estereocentros). Todos los estereoisómeros, tales como enantiómeros, se pretenden a menos que se indique de otra forma. Los compuestos de la presente invención que contienen átomos de carbono sustituidos asimétricamente se pueden aislar en formas ópticamente activas o racémicas. Se conocen en la técnica procedimientos de cómo

preparar formas ópticamente activas a partir de materiales de partida ópticamente activos, tal como por resolución de mezclas racémicas o por síntesis estereoselectiva. Se describen isómeros cis y trans de los compuestos de la presente invención y se pueden aislar como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas.

Los compuestos de la invención pueden incluir también formas tautoméricas. Las formas tautoméricas resultan de la conjunción de un enlace simple con un enlace doble adyacente junto con la migración concomitante de un protón. Formas tautoméricas incluyen tautómeros prototrópicos que son estados de protonación isoméricos que presentan la misma forma empírica y carga total. Ejemplos de tautómeros prototrópicos incluyen pares de cetona – enol, pares de amida – ácido imídico, pares de lactama – lactima, pares de amida – ácido imídico, pares de enamina – imina y formas anulares donde un protón puede ocupar dos o más posiciones de un sistema heterocíclico, por ejemplo, 1H- y 3H-imidazol, 1H-, 2H- y 4H-1,2,4-triazol, 1H- y 2H-isoindol, y 1H- y 2H-pirazol. Formas tautoméricas pueden estar en equilibrio o cerradas estéricamente en una forma mediante sustitución apropiada.

Los compuestos de la invención pueden incluir también todos los isótopos de átomos que se presentan en los intermedios o compuestos finales. Isótopos incluyen aquellos átomos que presentan el mismo número atómico pero diferentes números másicos. Por ejemplo, isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio.

Todos los compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden obtener en diversas formas sólidas, incluyendo formas solvatadas o hidratadas. En algunas realizaciones, la forma sólida es una forma cristalina. Los procedimientos para la preparación y descubrimiento de diferentes formas sólidas son rutinarias en la técnica e incluyen, por ejemplo, difracción de rayos X en polvo, calorimetría de barrido diferencial, análisis termogravimétrico, sorción de vapor dinámica, IR-FT, procedimientos de dispersión Raman, RMN en estado sólido, valoración de Karl-Fischer, etc.

En algunas realizaciones, los compuestos de la invención, y sales de los mismos, se aíslan sustancialmente. Por “sustancialmente aislado” se entiende que el compuesto está al menos parcialmente o sustancialmente separado del ambiente en el que se formó o detectó. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en el compuesto de la invención. Separación sustancial puede incluir composiciones que contienen al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 97%, o al menos aproximadamente 99% en peso del compuesto de la invención, o sales del mismo. Procedimientos para el aislamiento de compuestos y sus sales son rutinarios en la técnica.

La presente invención también incluye sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en esta invención. Tal como se usa en esta invención, “sales farmacéuticamente aceptables” se refieren a derivados de los compuestos descritos en los que el compuesto padre es modificado transformando un resto ácido o base existente en su forma de sal. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitarse a estas, sales de ácido mineral u orgánico de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención incluyen las sales no tóxicas convencionales del compuesto padre formadas, por ejemplo, de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto padre que contiene un resto básico o ácido mediante procedimientos químicos convencionales. En general tales sales se pueden preparar mediante reacción de formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; por lo general se prefieren medios no acuosos como éteres, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo. Listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 y Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), ambas se incorporan a esta invención como referencia en su totalidad.

La expresión “farmacéuticamente aceptable” se usa en esta invención para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que se encuentran dentro del alcance de la valoración médica habitual, adecuados para uso en contacto con los tejidos de humanos y animales sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica excesivas, u otros problemas o complicaciones, conmensurados con una relación de beneficio/riesgo razonable.

Los compuestos de la invención pueden modular la actividad de 11 β HSD1. El término “modular” se entiende que se refiere a una capacidad de aumentar o reducir la actividad de un enzima o receptor. De acuerdo con esto los compuestos de la invención se pueden usar en procedimientos de modulación de 11 β HSD1 poniendo en contacto el enzima o receptor con uno cualquiera o más de los compuestos o composiciones descritos en esta invención. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención pueden actuar como inhibidores de 11 β HSD1. En otras realizaciones, los compuestos de la invención se pueden usar para modular la actividad de 11 β HSD1 en un individuo en necesidad de modulación del enzima o receptor mediante administración de una cantidad modulante de un compuesto de la invención.

Los compuestos de la presente invención pueden usarse en procedimientos de inhibición de la conversión de cortisona en cortisol en una célula, o inhibición de la producción de cortisol en una célula, mediando la conversión en o la producción de cortisol, al menos en parte, la actividad de 11 β HSD1. Son habituales en la técnica procedimientos de medida de tasas de conversión de cortisona a cortisol y viceversa, así como también procedimientos para la medida de niveles de cortisona y cortisol en células.

Los procedimientos de la presente invención pueden usarse en procedimientos de aumento de la sensibilidad a insulina de una célula poniendo en contacto la célula con un compuesto de la invención. Los procedimientos de medida de la sensibilidad a insulina son habituales en la técnica.

La presente invención proporciona además procedimientos de tratamiento de enfermedad asociada con actividad o expresión, incluyendo la actividad anormal y sobreexpresión, de 11 β HSD1 en un individuo (por ejemplo, paciente) mediante administración al individuo en necesidad de tal tratamiento de una cantidad o dosis terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica del mismo. Enfermedades ejemplo pueden incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que esté directa o indirectamente relacionado con la expresión o actividad del enzima. Una enfermedad asociada con 11 β HSD1 puede incluir también cualquier enfermedad, trastorno o afección que se puede prevenir, mejorar o curar con actividad de enzima modulante.

Ejemplos de enfermedades asociadas con 11 β HSD1 incluyen obesidad, diabetes, intolerancia a la glucosa, resistencia a insulina, hiperglucemia, hipertensión, hiperlipidemia, deterioro cognitivo, demencia, depresión (por ejemplo, depresión psicótica), glaucoma, trastornos cardiovasculares, osteoporosis e inflamación. Otros ejemplos de enfermedades asociadas con 11 β HSD1 incluyen síndrome metabólico, diabetes de tipo 2, exceso de andrógenos (hirsutismo, irregularidad menstrual, hiperandrogenismo) y síndrome de ovario poliquístico (PCOS).

Tal como se usa en esta invención el término "célula" se entiende que se refiere a una célula que está in vitro, ex vivo o in vivo. En algunas realizaciones, una célula ex vivo puede ser parte de una muestra de tejido extirpado de un organismo tal como un mamífero. En algunas realizaciones, una célula in vitro puede ser una célula en un cultivo celular. En algunas realizaciones, una célula in vivo es una célula que vive en un organismo tal como un mamífero. En algunas realizaciones, la célula es un adipocito, una célula pancreática, un hepatocito, neurona, o célula que comprende el ojo (célula ocular).

Tal como se usa en esta invención, el término "poner en contacto" se refiere a juntar restos indicados en un sistema in vitro o en un sistema in vivo. Por ejemplo, "poner en contacto" el enzima 11 β HSD1 con un compuesto de la invención incluye la administración de un compuesto de la presente invención a un individuo o paciente, tal como un humano que presenta 11 β HSD1, así como también por ejemplo introducir un compuesto de la invención en una muestra que contiene una preparación celular o purificada que contiene el enzima 11 β HSD1.

Tal como se usa en esta invención, el término "individuo" o "paciente" usado de forma intercambiable, se refiere a cualquier animal, incluyendo mamíferos, preferiblemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, res, oveja, caballos o primates, y lo más preferiblemente humanos.

Tal como se usa en esta invención el término "tratar" o "tratamiento" se refiere a uno o más de (1) prevenir la enfermedad; por ejemplo, prevenir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que puede estar predispuesto a la enfermedad, afección o trastorno pero que aún no experimenta o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad; (2) inhibición de la enfermedad; por ejemplo, inhibición de una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que experimenta o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno, y (3) mejora de la enfermedad; por ejemplo, mejora de una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, se revierte la patología y/o sintomatología) tal como reducción de la gravedad de la enfermedad.

Cuando se usan como productos farmacéuticos, los compuestos de la invención se pueden administrar en la forma de composiciones farmacéuticas que son una combinación de un compuesto de la invención y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones se pueden preparar de una forma bien conocida en la técnica farmacéutica, y se pueden administrar mediante una variedad de rutas, en función de si se desea tratamiento local o sistémico y de la zona que se va a tratar. La administración puede ser tópica (incluyendo membranas oftálmicas y mucosas que incluye administración por vía intranasal, vaginal y rectal), pulmonar (por ejemplo, por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, incluyendo por nebulizador, intratraqueal, intranasal, epidérmica y transdérmica), ocular, oral o parenteral. Procedimientos para administración por vía ocular pueden incluir administración por vía tópica (gotas para ojos), subconjuntival, periocular o inyección intravitreal o introducción de catéter balón o insertos oftálmicos colocados quirúrgicamente en el saco conjuntival. La administración por vía parenteral incluye inyección o infusión por vía intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; o administración intracraneal, por ejemplo, intratecal o intraventricular. La administración por vía parenteral puede ser en forma de una dosis de bolo simple, o puede ser, por ejemplo, mediante una bomba de perfusión continua. Las composiciones y formulaciones farmacéuticas para administración por vía tópica pueden incluir parches

transdérmicos, ungüentos, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, aerosoles, líquidos y polvos. Pueden ser necesarios o deseables vehículos farmacéuticos convencionales, de base acuosa, en polvo o aceitosos, espesantes y similares.

Esta invención también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como el principio activo, uno o más compuestos anteriores de la invención en combinación con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. En la preparación de las composiciones de la invención, el principio activo se mezcla de forma típica con un excipiente, se diluye con un excipiente o se encierra dentro de un vehículo en forma de, por ejemplo, una cápsula, saco, papel, u otro recipiente. Cuando el excipiente sirve como un diluyente, este puede ser material sólido, semisólido, o líquido, que actúa como un portador, vehículo o medio para el principio activo. Por tanto las composiciones pueden estar en la forma de comprimidos, píldoras, polvos, grageas, bolsas, sellos, bolsas, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un medio líquido), ungüentos que contienen, por ejemplo, hasta 10% en peso del principio activo, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones inyectables estériles, y polvos envasados estériles.

En la preparación de una formulación el principio activo se puede moler para proporcionar el tamaño de partícula apropiado antes de combinarse con los otros ingredientes. Si el principio activo es sustancialmente insoluble este se puede moler hasta un tamaño de partícula menor de 200. Si el principio activo es sustancialmente soluble en agua el tamaño de partícula se puede ajustar mediante molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo, aproximadamente 40.

Los compuestos de la invención se pueden moler usando procedimientos de molienda conocidos tales como molienda en húmedo para obtener un tamaño de partícula apropiado para la formación de comprimidos y para otros tipos de formulación. Se pueden preparar preparaciones finamente divididas (nanoparticuladas) de los compuestos de la invención mediante procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, véase la solicitud de patente internacional n° WO 2002/000196.

Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábiga, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe, y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: agentes lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; agentes conservantes tales como metil- y propilhidroxibenzoatos; agentes edulcorantes; y agentes conservantes. Las composiciones de la invención se pueden formular de modo que proporcionen liberación sostenida o retardada del principio activo tras administración al paciente con uso de procedimientos conocidos en la técnica.

Las composiciones se pueden formular en una forma de farmacéutica unitaria, comprendiendo cada dosificación de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 mg, más normalmente de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 mg, del principio activo. El término "formas farmacéuticas unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado, junto con un excipiente farmacéutico adecuado.

El principio activo puede ser efectivo en un amplio intervalo de dosificación y se administra por lo general en una cantidad farmacéuticamente efectiva. Se entenderá, no obstante, que la cantidad del compuesto administrada realmente se determinará normalmente por un facultativo, de acuerdo con las circunstancias relevantes, incluyendo la afección que se va a tratar, la ruta de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, peso, y respuesta al paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

Para la preparación de las composiciones sólidas tales como comprimidos, el principio activo principal se mezcla con un excipiente farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, el principio activo se dispersa de forma típica uniformemente en toda la composición de modo que la composición se puede subdividir fácilmente en formas farmacéuticas unitarias igualmente efectivas tales como comprimidos, píldoras y cápsulas. Esta preformulación sólida se subdivide luego en formas farmacéuticas unitarias del tipo descrito anteriormente que contienen, por ejemplo, de 0,1 a aproximadamente 500 mg del principio activo de la presente invención.

Los comprimidos o píldoras de la presente invención pueden estar recubiertos o compuestos de otro modo para proporcionar una forma farmacéutica que de la ventaja de acción prolongada. Por ejemplo, el comprimido o píldora puede comprender un componente de dosificación interior y un componente de dosificación exterior, estando este último en la forma de una envoltura sobre el anterior. Los dos componentes pueden estar separados por una capa entérica que sirve para resistir la disgregación en el estómago y permitir al componente interno pasar intacto al duodeno o retrasarse en la liberación. Se pueden usar una variedad de materiales para tales capas o recubrimientos entéricos, tales materiales incluyen un número de ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales

tales como shellac, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

Las formas líquidas en las que se pueden incorporar los compuestos y composiciones de la presente invención para administración por vía oral o por inyección incluyen soluciones acuosas, jarabes aromatizados de forma adecuada, suspensiones acuosas o aceitosas y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, así como también elixires y vehículos farmacéuticos similares.

Composiciones para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos, farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se describió anteriormente. En algunas realizaciones, las composiciones se administran por vía respiratoria oral o nasal para efecto local o sistémico. Las composiciones se pueden nebulizar usando gases inertes. Las soluciones nebulizadas se pueden respirar directamente desde el dispositivo nebulizador o el dispositivo nebulizador se puede conectar a una máscara facial, o máquina de respiración a presión positiva intermitente. Se puede administrar la solución, suspensión o composiciones de polvo por vía oral o nasal desde dispositivos que liberan la formulación de una forma apropiada.

La cantidad de compuesto o composición administrada a un paciente variará en función de lo que se administre, del objetivo de la administración, tal como profilaxis o terapia, del estado del paciente, de la forma de administración, y similares. En aplicaciones terapéuticas se pueden administrar composiciones a un paciente que ya sufre de una enfermedad en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Las dosis efectivas dependerán del estado de la enfermedad que se va a tratar así como también de la valoración del facultativo responsable en función de factores tales como la gravedad de la enfermedad, de la edad, peso y estado general del paciente y similares.

Las composiciones administradas a un paciente pueden estar en la forma de composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización convencionales, o se pueden esterilizar por filtración. Se pueden envasar soluciones acuosas para uso como tales o liofilizar, la preparación liofilizada se combina con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones de compuesto estará de forma típica entre 3 y 11, más preferiblemente de 5 a 9 y lo más preferiblemente de 7 a 8. Se entenderá que el uso de ciertos excipientes, vehículos o estabilizantes precedentes dará lugar a la formación de sales farmacéuticas.

La dosificación terapéutica de los compuestos de la presente invención puede variar de acuerdo, por ejemplo, con el uso particular para el que se hace el tratamiento, la forma de administración del compuesto, la salud y estado del paciente y la valoración del facultativo que prescriba. La proporción o concentración de un compuesto de la invención en una composición farmacéutica puede variar en función de un número de factores que incluyen dosificación, características químicas (por ejemplo, hidrofobicidad), y la vía de administración. Por ejemplo, los compuestos de la invención se pueden proporcionar en una solución tampón fisiológica acuosa que contiene de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10% en p/v del compuesto para administración por vía parenteral. Algunos intervalos de dosificación típicos son de aproximadamente 1 µg/kg a aproximadamente 1 g/kg de peso corporal por día. En algunas realizaciones, el intervalo de dosis es de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día. La dosificación depende probablemente de variables tales como el tipo y extensión de la progresión de la enfermedad o trastorno, el estado de salud general del paciente determinado, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, formulación del excipiente, y su ruta de administración. Se pueden extrapolar dosis efectivas desde curvas de respuesta a la dosis derivadas de los sistemas de ensayo de modelo in vitro o en animales.

Los compuestos de la invención se pueden formular también en combinación con uno o más principios activos adicionales que pueden incluir cualquier agente farmacéutico tal como agentes antivirales, vacunas, anticuerpos, potenciadores inmunes, supresores inmunes, agentes antiinflamatorios, analgésicos y fármacos para el tratamiento de diabetes u obesidad, hiperglucemia, hipertensión, hiperlipidemia y similares. Agentes para el tratamiento de trastornos metabólicos con los que se podría combinar un compuesto de la invención incluyendo, pero sin limitarse a estos, análogos de amilina, miméticos de incretina, inhibidores del enzima de degradación de incretina dipeptidilpeptidasa IV, agonistas del receptor activado con proliferador de peroxisoma (PPAR)-α y PPAR-γ, e inhibidores del receptor cannabinoide CB1.

La invención se describirá con mayor detalle mediante ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se ofrecen a título ilustrativo y no se pretende que limiten la invención en modo alguno. Los especialistas en la técnica reconocerán fácilmente una variedad de parámetros no críticos que se pueden cambiar o modificar para dar esencialmente los mismos resultados.

Ejemplos

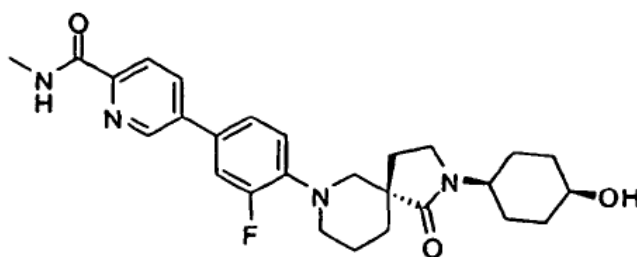
Todos los compuestos se purificaron bien por cromatografía en columna ultrarrápida o por cromatografía

líquida de fase inversa usando un sistema CL-EM FractionLynx de Waters con fraccionamiento dirigido a la masa. Columna: Waters XBridge C₁₈ 5 µm, 19 x 100 mm; fase móvil A: 0,15% de NH₄OH en agua y fase móvil B: 0,15% de NH₄OH en acetonitrilo; el caudal fue de 30ml/min, se optimizó el gradiente de separación para cada compuesto usando el protocolo de Optimización de Procedimiento Específico de Compuesto como se describe en la bibliografía ["Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Combi. Chem., 2004, 6, 874-883].

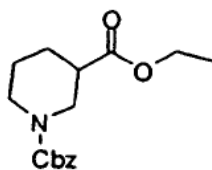
Se sometió luego de forma típica el producto separado a CL/EM analítica para comprobar la pureza en las siguientes condiciones: instrumento; Agilent serie 1100, CL/MSD, columna: Waters Sunfire™ C₈ 5 µm, 2,1 x 5,0 mm, tampones: fase móvil A: 0,025% de TFA en agua y fase móvil B: 0,025% de TFA en acetonitrilo; gradiente 2% a 80% de tampón B en 3 min con caudal de 1,5 ml/min.

Ejemplo 1

5-{3-Fluoro-4-[(5S)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil}-N-metilpiridin-2-carboxamida

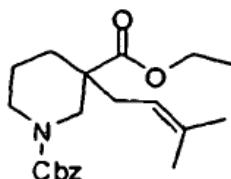


Etapas 1: piperidin-1,3-dicarboxilato de 1-bencil 3-etilo



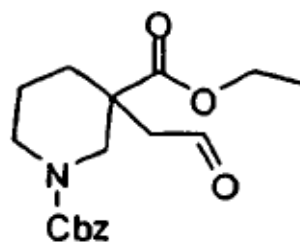
Se añadió lentamente cloroformiato de bencilo (Aldrich, cat n°: 119938) (191 ml, 1,34 mol) a una mezcla enfriada (a 0° C) de piperidin-3-carboxilato de etilo (Aldrich, cat. n°: 194360) (200 g, 1,27 mol) y trietilamina (266 ml, 1,91 mol) en cloruro de metileno (1000 ml). Se dejó calentar gradualmente la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. Se interrumpió la reacción mediante la adición de solución acuosa de HCl 1N y se extrajo el producto varias veces con cloruro de metileno. Se lavaron los extractos reunidos con agua, NaHCO₃ acuosa saturada, agua, salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida dando el producto deseado como aceite (359,8 g, 97%). CL/EM 292.2 (M + H)⁺.

Etapas 2: 3-(3-metilbut-1-en-1-il)piperidin-1,3-dicarboxilato de 1-bencil 3-etilo



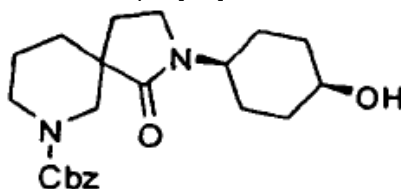
A la solución de piperidin-1,3 -dicarboxilato de 1-bencil 3-etilo (120,0 g, 0,412 mol) en THF (400 ml) enfriada a -78° C se añadió por goteo 270 ml de solución de bis(trimetilsilil)amida sódica (solución 1M en THF de Aldrich, cat. n°: 245585) durante 2 h. Se agitó la mezcla a -78° C durante 1 h más. Luego se añadió lentamente 1-bromo-3-metilbut-2-eno (Aldrich cat. n°: 249904) (71 ml, 0,62 mol) durante 1 h. Se agitó la mezcla a -78° C durante 30 min, y se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 h más. Se interrumpió la mezcla de reacción con solución de HCl 1N acuosa. Se eliminó la mayor parte del THF a presión reducida. Se extrajo el residuo con acetato de etilo. Se lavaron los extractos reunidos con NaHCO₃ acuosa saturada y salmuera, luego se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida en una columna de gel de sílice con 10-20% de acetato de etilo en hexano dando el producto deseado (140 g, 94%). CL/EM: m/e = 332,2 (M+H)⁺.

Etapas 3: 3-(2-oxoetil)piperidin-1,3-dicarboxilato de 1-bencil 3-etilo



Se pasó ozono a través de una solución de 3-(3-metilbut-2-en-1-il)piperidin-1,3-dicarboxilato de 1-bencil 3-etilo (35,2 g, 0,0979 mol) en cloruro de metileno (800 ml) a -78°C hasta que el color de la solución se volvió azul. Se hizo fluir luego a través de la mezcla de reacción nitrógeno hasta que el color azul desapareció. Se añadieron sulfuro de dimetilo (Aldrich, cat. n°: 274380) (14 ml, 0,19 mol) y trietilamina (26,5 ml, 0,19 mol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Se eliminó el disolvente volátil a presión reducida y se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice con 20% de acetato de etilo en hexanos dando el producto deseado en rendimiento cuantitativo. CL/EM 334,2 (M + H)⁺.

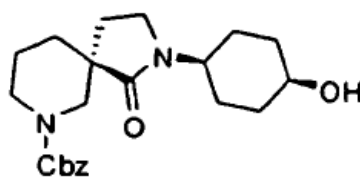
Etapas 4: 2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]decan-7-carboxilato de bencilo



Se añadió a una suspensión de clorhidrato de cis-4-aminociclohexanol (disponible en Sijia Medchem Lab, China) (13,8 g, 0,0910 mol) y 3-(2-oxoetil)piperidin-1,3-dicarboxilato de 1-bencil 3-etilo (31,0 g, 0,0930 mol) en 1,2-dicloroetano (250 ml) trietilamina (23,3 ml, 0,167 mol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla a 40°C durante la noche. Se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (Aldrich, cat. n°: 316393) (49,3 g, 0,232 mol) a la mezcla anterior y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Los datos de CL/EM indicaban que el material de partida se consumió y se observaba un producto intermedio con m/e: 433,2 (M+H)⁺.

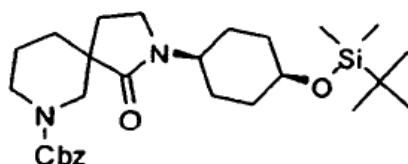
Se calentó luego la mezcla a 80°C durante 4 h o hasta que CL/EM mostrase que la amina intermedia (m/e: 433,2) se consumió. Se interrumpió la mezcla de reacción con NaHCO_3 acuoso. Se lavó la capa orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida. Se secó el material bruto a presión reducida durante la noche dando aceite viscoso incoloro (26,9 g, 66,8%). CL/EM m/e 387,2 (M+H)⁺.

Etapas 5: (5S)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]decan-7-carboxilato de bencilo



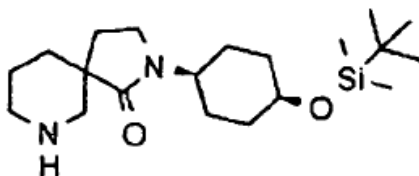
Se purificó la mezcla racémica obtenida de la etapa anterior (26,9 g) en un sistema preparatorio Agilent serie 1100 usando una columna OD-H de Chiralcel (3,0 x 25 cm, tamaño de partícula de 5 micrómetros, Chiral Technologies) eluyendo con etanol/hexanos al 30% (isocrático, 22 ml/min.). La carga de la columna fue de aproximadamente 150 mg/inyección y se valoró el registro de pico con absorbancia UV a 220 nm. El pico 1 eluyó a aproximadamente 8,5 min. y el pico 2 eluyó a aproximadamente 9,8 minutos. Las fracciones del pico 2 se combinaron y se concentraron dando el producto deseado (11,9 g) como un sólido espumoso blanco. La pureza óptica del material reunido del pico 2 se determinó usando un sistema analítico Agilent serie 1100 equipado con una columna OD-H de Chiralcel (4,6 x 250 mm, tamaño de partícula 5 micrómetros, Chiral Technologies) y eluyendo con etanol/hexanos al 30% (isocrático, 0,8 ml/min.). CL/EM m/e 387,2 (M+H). Se estableció la estereoquímica absoluta del pico 2 en base a la determinación de la estructura de monocristal por rayos X de análogos próximos: (5S)-2-(trans-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]decan-7-carboxilato de bencilo y (5S)-2-(cis-4-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]ciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona preparados como se describe en las etapas 5a-c.

Etapas 5a: 2-(cis-4-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]decan-7-carboxilato de bencilo



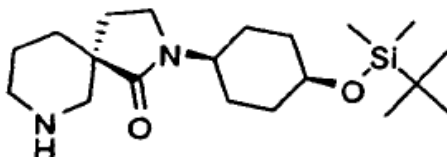
Se añadió a una solución agitada de 2-(cis-4-hidroxyciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]decan-7-carboxilato de bencilo (60,00 g, 155,2 mmol) en N,N-dimetilformamida anhidra (160 ml) a temperatura ambiente 1H-imidazol (32,0 g, 466 mmol) y cloruro de terc-butildimetilsililo (36,2 g, 233 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 4 h, se interrumpió con agua (150 ml), y se extrajo con EtOAc (3 x 150 ml). Se lavaron las capas orgánicas reunidas con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida dando el producto bruto (84 g). Se obtuvo el producto bruto (55,4 g) mediante re-cristalización del producto bruto en heptano. Se concentraron las aguas madre y se sometió a purificación mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice eluyendo con AcOEt/Hexano dando 14,4 g más del producto con un total de 89,7% de rendimiento.

Etapas 5b: 2-(cis-4-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]ciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona



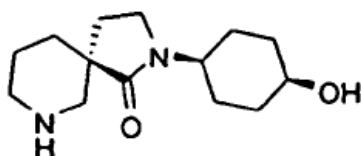
Se añadió a una solución de 2-(cis-4-[[terc-butyl(dimethyl)silyl]oxy]ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]decan-7-carboxilato de bencilo (18,0 g, 35,9 mmol) en metanol (150 ml) paladio sobre carbón al 10% (Aldrich, cat. n°: 520888) (1,8 g, 1.5 mmol) en atmósfera de nitrógeno. Se hidrogenó la mezcla de reacción y se agitó a 344,74 kPa (50 psi) durante 20 h. Se filtró la mezcla de reacción a través de un lecho de Celite y luego se lavó con metanol (300 ml). Se concentró el filtrado a presión reducida dando el producto deseado como un sólido blanco en rendimiento cuantitativo.

Etapas 5c: (5S)-2-(cis-4-[[terc-butyl(dimetil)silil]oxi]ciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona



Se disolvió 2-(cis-4-[[terc-butyl(dimethyl)silyl]oxy]ciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona (7,00 g, 19,1 mmol) en acetonitrilo (50 ml) y metanol (7 ml) a temperatura ambiente. Después de que se disolviese completamente el material de partida se calentó la solución por encima de 70° C. Se añadió lentamente a la anterior solución una solución de ácido (2R)-hidroxi(fenil)acético (1,45 g, 9,55 mmol) en acetonitrilo (20 ml) a 65-70° C. Tras la adición se calentó la solución a 74° C durante 10 min, y se dejó enfriar lentamente hasta temperatura ambiente durante la noche. Se recogió el cristal formado mediante filtración dando 3,38 g del producto deseado como sal de ácido (2R)-hidroxi(fenil)acético. Se disolvió la sal resultante (3,38 g) en agua (50 ml), y se ajustó a pH-12 con 40 ml de solución de K₂CO₃ acuosa (2,0 M). Se extrajo la mezcla con diclorometano (3 veces). Se secaron las capas orgánicas reunidas con sulfato de magnesio, se filtró, y se concentró a presión reducida dando el producto deseado como una base libre (sólido cristalino incoloro) (2,37 g). La estereoquímica absoluta de este compuesto se estableció por determinación de estructura de monocristal por rayos X de sal de ácido (2R)-hidroxi(fenil)acético de (5S)-2-(cis-4-[[terc-butyl(dimethyl)silyl]oxy]ciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona.

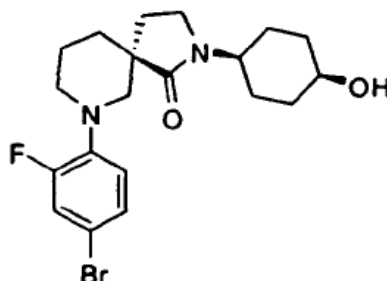
Etapas 6: (5S)-2-(cis-4-hidroxyciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona



Se disolvió (5S)-2-(cis-4-hidroxyciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]decan-7-carboxilato de bencilo

preparado en etapa 5 (0,266 g, 0,000688 mol) en metanol (5,0 ml) y se agitó en una atmósfera de hidrógeno en presencia de paladio sobre carbono al 10% (Aldrich, cat. n°: 520888) (20,0 mg) a temperatura ambiente durante 2 h. Se filtró la mezcla de reacción y se eliminaron los disolventes volátiles a presión reducida dando el producto deseado en rendimiento cuantitativo. CL/EM m/e 253,2 (M+H)⁺.

Etapla 7: (5S)-7-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona



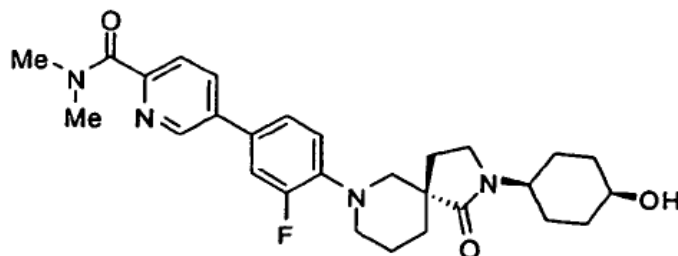
Se calentó una mezcla de (5S)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona (1,04 g, 0,00412 mol), 4-bromo-2-fluoro-1-yodobenceno (Aldrich, cat. n°: 283304) (1,85 g, 0,00615 mol), yoduro de cobre(I) (Aldrich, cat. n°: 215554) (0,122 g, 0,000640 mol), fosfato de potasio (2,63 g, 0,0124 mol) y 1,2-etanodiol (0,48 ml, 0,0086 mol) en 1-butanol (3,90 ml) a 100° C en nitrógeno durante 2 d. Se interrumpió la reacción con agua, y se extrajo con éter. Se reunieron las capas orgánicas, se lavaron con agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se filtró. Se evaporó el filtrado a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida en una columna de gel de sílice eluyendo con 0 a 5% de metanol en DCM dando el producto deseado (950 mg, 54,2%). CL/EM m/e 425,1/427,0 (M+H)⁺.

Etapla 8: 5-3-fluoro-4-[(5S)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil-N-metilpiridina-2-carboxamida

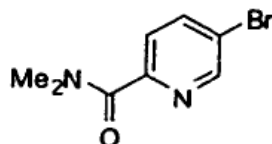
Se añadió fosfato de potasio (637 mg, 0,00300 mol) en agua (3,00 ml) a una mezcla de (5S)-7-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona (425 mg, 0,00100 mol), N-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-carboxamida (Frontier Inc., cat. n°: M10074) (393 mg, 0,00150 mol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (Aldrich, cat. n°: 216666) (35 mg, 0,000030 mol) en 1,4-dioxano (3,00 ml). Se calentó la mezcla resultante a 120° C durante 24 h. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera. Se secó la capa orgánica sobre Na₂SO₄, se filtró, se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida en una columna de gel de sílice eluyendo con metanol al 5% en DCM dando el producto deseado (285 mg, 59,3%). CL/EM m/e 481,2 (M+H)⁺, RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): 8,89 (1H, dd, J = 2,5, 0,6 Hz), 8,76 (1H, c, J = 4,7 Hz), 8,22 (1H, dd, J = 8,4, 2,5 Hz), 8,03 (1H, dd, J = 8,4, 0,6 Hz), 7,65 (1H, dd, J = 14,2, 2,1 Hz), 7,56 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,13 (1H, t, J = 8,5 Hz), 4,37 (1H, d, J = 3,1 Hz), 3,78 (1H, m), 3,71 (1H, m), 3,21-3,38 (3H, m), 3,07 (1H, d, J = 11,4 Hz), 2,81 (3H, d, J = 4,7 Hz), 2,64-2,74 (2H, m), 2,18-2,26 (1H, m), 1,60-1,91 (8H, m), 1,39-1,51 (3H, m), 1,21-1,30 (2H, m),

Ejemplo 2

5-{3-Fluoro-4-[(5S)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil}-N,N-dimetilpiridin-2-carboxamida

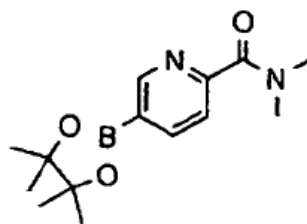


Etapla 1: 5-bromo-N,N-dimetilpiridin-1-carboxamida



Se añadió cloruro de oxalilo (20,0 ml, 0,236 mol) a una solución de ácido 5-bromopiridin-2-carboxílico (Alfa Aesar, cat. n°: B25675) (10, g, 0,500 mol) en cloruro de metileno (60 ml) a temperatura ambiente seguido de 5 gotas de DMF. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 h. Se evaporaron los compuestos volátiles a presión reducida. Se evaporó el residuo azeotrópicamente con tolueno dos veces. Se disolvió luego el residuo en DCM (30 ml) seguido de la adición de 30 ml de dimetilamina en solución de THF (2,0 M) (Aldrich, cat. n°: 391956) y base de Hunig (20,0 ml) (Aldrich, cat. n°: 496219). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 h. Se diluyó la mezcla de reacción con DCM (100 ml) y se lavó con agua, HCl 1 N y salmuera. Se secó la fase orgánica sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró dando el producto deseado (10,5 g, 91,7%).

Etapas 2: N,N-dimetil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-carboxamida



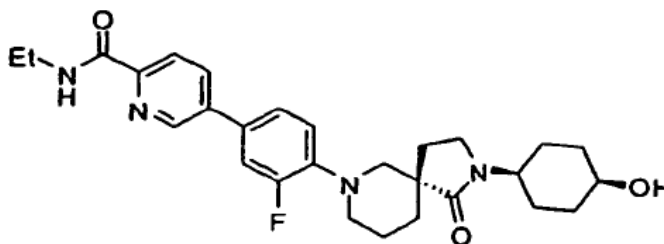
Se calentó una mezcla de 5-bromo-N,N-dimetilpiridin-2-carboxamida (5,73 g, 0,0250 mol), 4,4,5,5,4',4',5',5'-octametil-[2,2']bi[[1,3,2]dioxaborolanilo] (6,98 g, 0,0275 mol) (Aldrich, cat. n°: 473294), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) complejo con diclorometano (1:1) (0,6 g, 0,0007 mol) (Aldrich, cat. n°: 379670), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (0,4 g, 0,8 mmol) (Aldrich, cat. n°: 177261), y acetato de potasio (7,36 g, 0,0750 mol) en 1,4-dioxano (100 ml) a 120° C durante 20 h. Después de enfriar se concentró la mezcla, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con solución de NH₄Cl saturada, agua, salmuera; se secó sobre Na₂SO₄. Tras valoración se concentró el filtrado y se purificó adicionalmente el material bruto en una columna de gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/hexano dando el producto deseado (4,7 g, 68%).

Etapas 3: 5-{3-Fluoro-4-[(5S)-2-(cis-4-hidroxiciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil}-N,N-dimetilpiridin-2-carboxamida

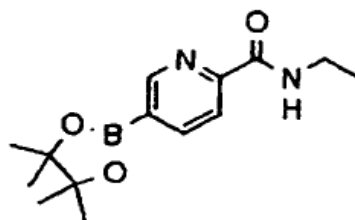
Se preparó este compuesto usando procedimientos que eran análogos a aquellos descritos para la síntesis del ejemplo 1, etapa 8 partiendo de N,N-dimetil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-carboxamida y (5S)-7-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(cis-4-hidroxiciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona. CL/EM m/e 495,3 (M+H)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): 8,86 (1H, d, J = 1,7 Hz), 8,15 (1H, dd, J = 8,1, 2,3 Hz), 7,51-7,65 (3H, m), 7,12 (1H, t, J = 8,9 Hz), 4,37 (1H, d, J = 3,1 Hz), 3,78 (1H, m), 3,71 (1H, m), 3,22-3,38 (3H, m), 3,06 (1H, d, J = 1,7 Hz), 3,00 (3H, s), 2,97 (3H, s), 2,64-2,74 (2H, m), 2,18-2,27 (1H, m), 1,60-1,91 (8H, m), 1,39-1,51 (3H, m), 1,22-1,30 (2H, m).

Ejemplo 3

N-Etil-5-{3-fluoro-4-[(5S)-2-(cis-4-hidroxiciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil}piridin-2-carboxamida



Etapas 1: N-etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-carboxamida



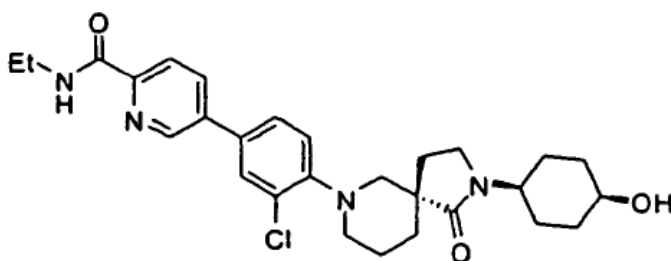
Se preparó este compuesto usando procedimientos que eran análogos a aquellos descritos para la síntesis del ejemplo 2, etapas 1 y 2 partiendo de ácido 5-bromopiridin-2-carboxílico.

Etapla 2: *N*-Etil-5-{3-fluoro-4-[(5*S*)-2-(*cis*-4-hidroxiciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil}piridin-2-carboxamida

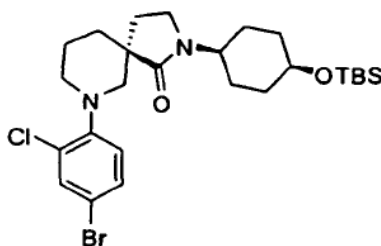
Se preparó este compuesto usando procedimientos que eran análogos a aquellos descritos para la síntesis del ejemplo 1, etapa 8 partiendo de *N*-etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-carboxamida y (5*S*)-7-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(*cis*-4-hidroxiciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona. CL/EM m/e 495,3 (M+H)⁺.

Ejemplo 4

5-{3-Cloro-4-[(5*S*)-2-(*cis*-4-hidroxiciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil}-*N*-etilpiridin-2-carboxamida



Etapla 1: (5*S*)-7-(4-bromo-2-clorofenil)-2-(*cis*-4-{[terc-butil(dimetil)silil]oxi}ciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona



Se calentó una mezcla de (5*S*)-2-(*cis*-4-{[terc-butil(dimetil)silil]oxi}ciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona (0,282 g, 0,000769 mol), 4-bromo-2-cloro-1-yodobenceno (0,293 g, 0,000922 mol) (Lancaster, cat. n°: 19245), yoduro de cobre (I) (0,015 g, 0,000077 mol), fosfato de potasio (0,490 g, 0,00231 mol) y 1,2-etanodiol (0,0857 ml, 0,00154 mol) en 1-butanol (0,75 ml) a 100° C en nitrógeno durante 2 d. Se filtró la mezcla de reacción, se concentró a presión reducida, y se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo en hexanos de 0 a 50%) dando el producto deseado.

Etapla 2: 5-{3-cloro-4-[(5*S*)-2-(*cis*-4-hidroxiciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil}-*N*-etilpiridin-2-carboxamida

Se añadió a una mezcla agitada de (5*S*)-7-(4-bromo-2-clorofenil)-2-(*cis*-4-{[terc-butil(dimetil)silil]oxi}ciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona (20 mg, 0,00004 mol), complejo de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocen]dicloropaldio (II) con diclorometano (1:1) (2,0 mg), tetraquis(trifenilfosfin)paldio (1,0 mg) y carbonato de potasio (14,9 mg, 0,000108 mol) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (1 ml) *N*-etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-carboxamida (14,5 mg, 0,054 mmol). Se calentó la mezcla de reacción resultante a 150° C y se agitó durante la noche, seguido de la eliminación de grupo protector de TBS mediante la adición de ácido fluorosilícico 1,7 M en agua (0,10 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Se purificó luego directamente la mezcla de reacción mediante RP-HPLC dando el producto deseado. CL/EM m/e 511,2 (M+H)⁺, RMN ¹H (400 MHz, DMSO-Cl₆): 8,92 (1H, d, J = 2,3 Hz), 8,84 (1H, t, J = 5,9 Hz), 8,26 (1H, dd, J = 8,2, 2,3 Hz), 8,06 (1H, d, J = 8,2 Hz), 7,89 (1H, d, J = 2,2 Hz), 7,74 (1H, dd, J = 8,5, 2,2 Hz), 7,30 (1H, t, J = 8,5 Hz), 4,39 (1H, d, J = 3,1 Hz), 3,80 (1H, m), 3,72 (1H, m), 3,24-3,44 (5H, m), 3,01 (1H, d, J = 11,4 Hz), 2,63-2,74 (2H, m), 2,40-2,53 (1H, m), 1,64-1,91 (8H, m), 1,41-1,53 (3H, m), 1,20-1,32 (2H, m), 1,13 (3H, t, J = 7,2 Hz).

Ejemplo 5

Datos comparativos

Se encontró de forma inesperada que los compuestos de la invención muestran de forma favorable baja inhibición de actividad del canal de iones (medida por un ensayo de control en parche hERG) comparado con los compuestos similares (5*S*)-7-(2,4-difluorofenil)-2-(*trans*-4-hidroxiciclohexil)-2,7-diazaespiro[4.5]decan-1-ona

(comparativo 1) y 3-fluoro-4-[2-(trans-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]benzonitrilo (comparativo 2); véase el documento WO 2006/053024. La tabla 1 compara los datos siguientes en potencia e inhibición de la actividad del canal de iones. Mientras que los compuestos de la invención (representados con los ejemplos 1 y 2) son de potencia similar con los compuestos comparativos, los compuestos de la invención mostraban de forma sorprendente actividad de canal de iones 3-14 veces menor que los compuestos comparativos. Los compuestos de los ejemplos 3 y 4 mostraban propiedades similares.

Tabla 1

Compuesto	CI ₅₀ (nM) h-HSD1	CI ₅₀ (nM) h-PBMC	hERG (parche) % inh a 10 μ M
Ejemplo 1	< 20	< 20	< 10
Ejemplo 2	< 20	< 20	< 18
Comparativo 1	< 20	< 20	< 74
Comparativo 2	< 20	< 20	> 45

El ensayo de control en parche se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento de Hamill O. P. y col. "Improved patch clamp techniques for high resolution current recording from cells and cell free membrane patches," Pflugers Arch. 1981, v. 391, pp. 85-100. Se obtuvieron datos de potencia llevando a cabo los procedimientos de los ejemplos 6 y 7 siguientes.

La tabla 2 siguiente proporciona datos comparativos adicionales del compuesto del ejemplo 2 y comparativo 3 (4-{5-cloro-6-[(5S)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]-piridin-3-il}-N,N-dimetilbenzamida; véase el documento WO 2006/053024).

Tabla 2

Parámetro	Ejemplo 2	Comparativo 3
Fracción libre en suero humano	22%	4,4%
Potencia celular (CI ₅₀)	0,3 nM	0,6 nM
Concentración de fármaco diana en plasma humano igual a CI ₅₀	4,4 nM	13,6 nM
Parche hERG a 10 μ M	14%	33%
Concentración en rata máxima en plasma tras dosis de 5 mg/kg por vía oral	3,36 μ M	0,4 μ M
AUC de exposición de plasma tras dosis de 5 mg/kg por vía oral	8,3 (μ M*h)	0,5 (μ M*h)

La fracción libre se determinó mediante separación del fármaco libre del fármaco unido en plasma mediante diálisis de equilibrio de acuerdo con procedimientos de operación convencionales. Se obtuvo datos de potencia celular de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 7 siguiente. Se calculó la concentración de fármaco diana dividiendo la potencia celular por la fracción libre. Se obtuvieron datos de control en parche hERG de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente. Se llevaron a cabo estudios farmacocinéticos de acuerdo con procedimientos rutinarios en ratas administradas con una dosis por vía oral simple de 5 mg/kg. Los datos de concentración en plasma-tiempo se usaron para determinar la C_{max} y parámetros farmacocinéticos de AUC mediante procedimientos no compartimentales convencionales usando WinNonlin[®] versión 5.0.1.

Este ejemplo ilustra ciertas propiedades de los compuestos reivindicados. No se hace representación de si los compuestos comparativos representan los análogos estructurales más próximos a los compuestos de la invención, y se hace representación respecto a si se presenta todos los datos comparativos posibles, como puede parecer razonable y se diferencia en qué constituye analogía estructural próxima y qué constituye datos comparativos relevantes.

Ejemplo 6

Ensayo enzimático de 11 β HSD1

Todos los ensayos in vitro se llevaron a cabo con lisados clarificados como la fuente de actividad de 11 β HSD1. Se cultivaron transfectantes HEK-293 transitorios que expresan una versión etiquetada del epítipo de 11 β HSD1 humano de longitud completa mediante centrifugación. A groso modo se resuspendieron 2×10^7 células en 40 ml de tampón de lisis (Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, NaCl 0,1 M, MgCl₂ 1 mM y sacarosa 250 mM) y se lisaron en un microfluidizador. Se clarificaron los lisados mediante centrifugación y se tomaron alícuotas de los sobrenadantes y se congelaron.

Se evaluó la inhibición de 11 β HSD1 por compuestos de ensayo in vitro con un ensayo de proximidad de

centelleo (SPA). Se disolvieron compuestos de ensayo secos a 5 mM en DMSO. Estos se diluyeron en DMSO hasta concentraciones adecuadas para el ensayo de SPA. Se doparon 0,8 µl de diluciones en serie de 2 veces en placas de 384 pocillos en DMSO tal que se cubrieron 3 logs de concentración de compuesto. Se añadieron 20 µl de lisado clarificado a cada pocillo. Se iniciaron las reacciones mediante adición de 20 µl de mezcla de sustrato-cofactor en tampón de ensayo (Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, NaCl 0,1 M, MgCl₂ 1 mM) hasta concentraciones finales de NADPH 400 µM, ³H-cortisona 25 nM y 0.007% de Triton X-100. Se incubaron las placas a 37° C durante una hora. Se interrumpieron las reacciones mediante adición de 40 µl de esferas de SPA recubiertas con anti-ratón que se habían pre-incubado con carbenoxolona 10 µM y un anticuerpo monoclonal específico de cortisol. Se incubaron placas interrumpidas durante un mínimo de 30 minutos a temperatura ambiente antes de leer en un contador de centelleos Topcount. Los controles sin lisado, inhibieron el lisado, y sin mAb se desarrollaron de forma rutinaria. A groso modo 30% de la cortisona de entrada se reduce con 11βHSD1 en la reacción no inhibida en estas condiciones.

Ejemplo 7

Ensayo basado en célula para actividad de 11βHSD1

Se aislaron células mononucleares sanguíneas periféricas (PBMC) de voluntarios humanos normales con centrifugación por densidad Ficoll. Se dispusieron las células en placas a 4x10⁵ células/células en 200 µl de medio AEVI V (Gibco-BRL) en placas de 96 pocillos. Se estimularon las células durante la noche con 50 ng/ml de IL-4 humano recombinante (R&D Systems). La siguiente mañana se añadió 200 nM de cortisona (Sigma) en presencia o ausencia de diversas concentraciones de compuesto. Se incubaron las células durante 48 horas y luego se cultivaron los sobrenadantes. Se determinó la conversión de cortisona a cortisol mediante un ELISA comercialmente disponible (Assay Design).

Realizaciones

1. Un compuestos que es:

5-{3-fluoro-4-[(5S)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil}-N,N-dimetilpiridina-2-carboxamida;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto que es:

5-{3-fluoro-4-[(5S)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil}-N-metilpiridina-2-carboxamida;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Un compuesto que es:

N-Etil-5-{3-fluoro-4-[(5S)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil}piridina-2-carboxamida;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Un compuesto que es:

5-{3-cloro-4-[(5S)-2-(cis-4-hidrox ciclohexil)-1-oxo-2,7-diazaespiro[4.5]dec-7-il]fenil}-N-etilpiridina-2-carboxamida;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. Una composición que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

6. Un procedimiento de inhibición de la actividad de 11βHSD1 que comprende poner en contacto dicho 11βHSD1 con un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. Un procedimiento de inhibición de la conversión de cortisona en cortisol en una célula que comprende poner en contacto la célula con un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. Un procedimiento de inhibición de la producción de cortisol en una célula que comprende poner en contacto la célula con un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 9. Un procedimiento para el tratamiento de obesidad; diabetes; intolerancia a la glucosa; resistencia a insulina, hiperglucemia, hipertensión, hiperlipidemia; deterioro cognitivo; depresión; demencia; glaucoma; trastornos cardiovasculares; osteoporosis; inflamación; síndrome metabólico; exceso de andrógenos; o síndrome de ovario poliquístico (PCOS) en un paciente que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 10. Un procedimiento para el tratamiento de la diabetes tipo II en un paciente que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

20

25

30

35

40

45

50

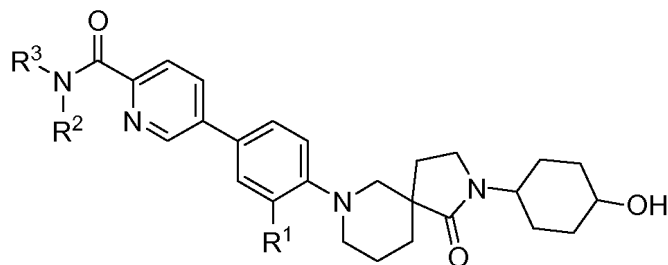
55

60

65

Reivindicaciones

1. Un compuesto de Fórmula I:

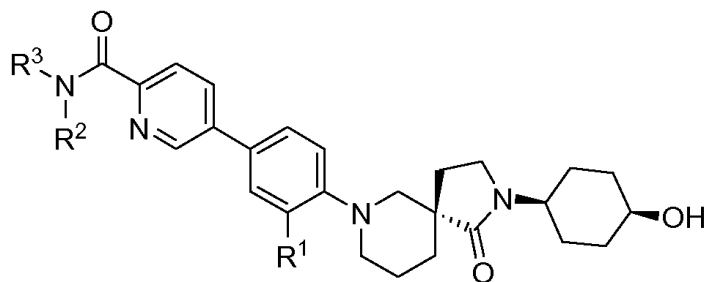
**I**

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

R¹ es F, Cl, Br, o I; y

R² y R³ se seleccionan independientemente de H, alquilo C₁₋₆, y cicloalquilo C₃₋₆.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de Fórmula II

**II**

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R¹ es F.

4. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R¹ es Cl.

5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R² es alquilo C₁₋₄.

6. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R² y R³ son seleccionados independientemente de H, metilo y etilo.

7. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde al menos uno de R² y R³ es distinto de H.

8. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal con terapia.

9. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de obesidad; diabetes; intolerancia a la glucosa; resistencia a insulina, hiperglucemia, hipertensión, hiperlipidemia; deterioro cognitivo; depresión; demencia; glaucoma; trastornos cardiovasculares; osteoporosis; inflamación; síndrome metabólico; exceso de andrógenos; o síndrome de ovario poliquístico (PCOS).

10. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de diabetes tipo 2.

11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 **12.** El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para tratar obesidad; diabetes; intolerancia a la glucosa; resistencia a insulina, hiperglucemia, hipertensión, hiperlipidemia; deterioro cognitivo; depresión; demencia; glaucoma; trastornos cardiovasculares; osteoporosis; inflamación; síndrome metabólico; exceso de andrógenos; o síndrome de ovario poliquístico (PCOS).

10 **13.** El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para tratar la diabetes tipo 2.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65