(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 535 179**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/4184	(2006.01)	***C07D 233/88***	(2006.01)
A61K 31/4166	(2006.01)		
C07D 235/02	(2006.01)		
C07D 233/86	(2006.01)		
A61P 35/00	(2006.01)		
C07D 401/04	(2006.01)		
C07D 403/04	(2006.01)		
C07D 403/10	(2006.01)		
C07D 233/72	(2006.01)		
C07D 233/84	(2006.01)		

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.03.2006** **E 11184401 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2015** **EP 2444085**

(54) Título: **Compuesto de diarilhidantoína como antagonistas de los receptores de andrógenos para el tratamiento de cáncer**

(30) Prioridad:

13.05.2005 US 680835 P
15.12.2005 US 750351 P
06.01.2006 US 756552 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.05.2015

(73) Titular/es:

THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA (100.0%)
1111 Franklin Street, 12th Floor
Oakland, CA 94607 , US

(72) Inventor/es:

SAWYERS, CHARLES L.;
JUNG, MICHAEL E.;
CHEN, CHARLIE D.;
OUK, SAMEDY;
WELSBIE, DEREK;
TRAN, CHRIS;
WONGPIVAT, JOHN y
YOO, DONGWON

(74) Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 535 179 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuesto de diarilhidantoína como antagonistas de los receptores de andrógenos para el tratamiento de cáncer

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto de diarilhidantoína para su uso en el tratamiento de hiperplasia benigna de próstata, cáncer de mama y cáncer de ovario.

Antecedentes de la invención

El cáncer de próstata es la incidencia más común de cáncer y la segunda causa más importante de muerte por cáncer en los hombres occidentales. Si el cáncer está confinado localmente, la enfermedad puede curarse por cirugía o radiación. Sin embargo, el 30% de tales recaídas del cáncer con enfermedad metastásica distante y otras tienen enfermedad avanzada en los diagnósticos. La enfermedad avanzada se trata por castración y/o administración de antiandrógenos, la llamada terapia de deprivación de andrógenos. La castración reduce los niveles en circulación de andrógenos y reduce la actividad del receptor de andrógenos (RA). La administración de antiandrógenos bloquea la función del RA compitiendo por la unión a andrógeno, reduciéndose así la actividad de RA. Aunque inicialmente es eficaz, estos tratamientos fracasan rápidamente y el cáncer se vuelve resistente al tratamiento hormonal.

Recientemente se ha identificado y validado la expresión en exceso de RA como una causa de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. Véase Chen, C.D., Welsbie, D.S., Tran, C., Baek, S.H., Chen, R, Vessella, R, Rosenfeld, M.G. y Sawyers, C.L., Molecular determinants of resistance to antiandrogen therapy, Nat. Meal, 10: 33-39, 2004. La expresión en exceso de RA es suficiente para producir la progresión de la hormona sensible al cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal, sugiriendo que mejores inhibidores de RA que los fármacos actuales pueden ralentizar la progresión de cáncer de próstata. Se demostró que el RA y su unión a ligando son necesarios para el crecimiento de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal, que indica que el RA es todavía una diana para esta enfermedad. También se demostró que la expresión en exceso de RA convierte los antiandrógenos de antagonistas en agonistas en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal (un antagonista de RA inhibe la actividad de RA y un agonista de RA estimula la actividad de RA). Los datos de este trabajo explican por qué la castración y los antiandrógenos fracasan en prevenir la progresión del cáncer de próstata y revela propiedades no reconocidas del cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal.

La bicalutamida (nombre de marca: Casodex) es el antiandrógeno más comúnmente usado. Aunque tiene un efecto inhibidor sobre RA en cáncer de próstata sensible a hormonas, fracasa en suprimir el RA cuando el cáncer se vuelve resistente al tratamiento hormonal. Dos debilidades de los actuales antiandrógenos son culpables del fracaso en prevenir la progresión del cáncer de próstata desde la fase sensible a la hormona hasta la enfermedad resistente al tratamiento hormonal y en tratar eficazmente cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. Una es sus débiles actividades antagonistas y la otra es sus fuertes actividades agonistas cuando el RA se expresa en exceso en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. Por tanto, se necesitan mejores inhibidores de RA con actividades antagonistas más potentes y actividades agonistas mínimas para retardar la progresión de la enfermedad y para tratar el cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal mortal.

Se han preferido los antiandrógenos no esteroideos tales como bicalutamida con respecto a los compuestos esteroideos para cáncer de próstata debido a que son más selectivos y tienen menos efectos secundarios. Esta clase de compuestos se ha descrito en muchas patentes tales como la patente de EE.UU. número 4.097.578, la patente de EE.UU. nº 5.411.981, la patente de EE.UU. nº 5.705.654, las solicitudes internacionales PCT WO 97/00071 y WO 00/17163 y la solicitud de patente publicada de EE.UU. número 2004/0009969.

La patente de EE.UU. nº 5.434.176 incluye amplias reivindicaciones que engloban un gran número de compuestos, pero las rutas de síntesis sólo se representan para una pequeña fracción de estos compuestos y los datos farmacológicos sólo se presentan para dos de ellos, y un experto en la materia no podría fácilmente prever otros compuestos específicos.

Debido a que no se conocía el mecanismo del cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal, no hubo sistema biológico para probar estos compuestos descritos en estas patentes para su efecto sobre el cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. Particularmente, no se reconocía la capacidad de la expresión en exceso de RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal para cambiar inhibidores de antagonista a agonistas. Algunas nuevas propiedades del cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal se informan en las solicitudes PCT US04/42221 y US05/05529. La solicitud internacional PCT US05/05529 presentó una metodología para identificar características de antagonistas y agonistas de receptores de andrógenos de compuestos. Sin embargo, para cada compuesto producido debe determinarse el procedimiento que requiere mucho tiempo de determinar las características de antagonistas y agonistas de un compuesto. Es decir, no hay procedimiento para predecir con exactitud características relevantes para tratar cáncer de próstata a partir de la estructura química de un compuesto solo.

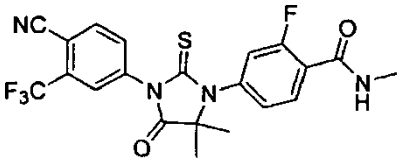
El documento WO 2006/028226 describe derivados de imidazolidina que tienen un grupo alquilo sustituido en una posición 3 que muestran una actividad antiandrógeno. Los documentos US 5,434,176 and 5,411,981 describen fenilimidazolidinas que tienen actividad antiandrógeno.
El documento EP 0580459 describe compuestos de fenilimidazolidina sustituidos y su uso como medicamentos.

Existe la necesidad de nuevos compuestos de tiohidantoína que tengan propiedades farmacológicas deseables y rutas sintéticas para prepararlos. Debido a que las actividades son sensibles a pequeños cambios estructurales, un compuesto puede ser eficaz en el tratamiento de cáncer de próstata, mientras que un segundo compuesto puede ser ineficaz, aunque sólo se diferencie ligeramente del primer compuesto, digamos por la sustitución de un único sustituyente.

La identificación de compuestos que tienen alta potencia para antagonizar la actividad de andrógeno y que tienen mínima actividad agonista debería vencer el cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal (HRPC) y evitar o ralentizar la progresión de cáncer de próstata sensible a hormonas (HSPC). Por tanto, hay una necesidad en la materia de la identificación de moduladores selectivos del receptor de andrógenos tales como moduladores que son no esteroideos, no tóxicos y selectivos de tejido.

Resumen de la invención

La invención proporciona un compuesto que tiene fuerte actividad antagonista con mínima actividad agonista contra RA para uso en el tratamiento de hiperplasia benigna de próstata, cáncer de mama y cáncer de ovario.
La invención incluye un compuesto que tiene la fórmula



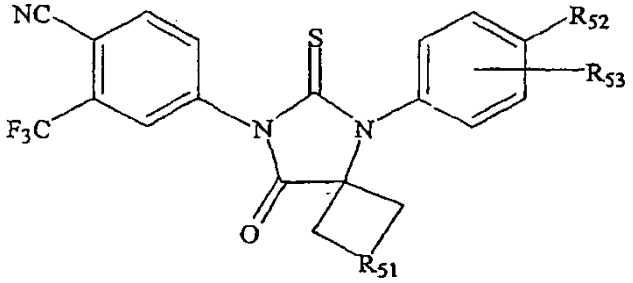
[RD162']

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de hiperplasia benigna de próstata, cáncer de mama y cáncer de ovario.

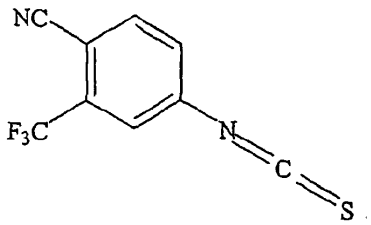
El compuesto puede ser para uso en una dosificación en el intervalo de aproximadamente 0,001 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por día, aproximadamente 0,01 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por día, aproximadamente 0,1 mg por kg de peso corporal por día a aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal por día, o aproximadamente 1 mg por kg de peso corporal por día.

El compuesto puede ser administrado mediante inyección intravenosa, mediante inyección en el tejido, intraperitonealmente, por vía oral o nasalmente. El compuesto puede ser usado en forma de una composición que tiene una forma seleccionada del grupo que consiste en una disolución, dispersión, suspensión, polvo, cápsula, comprimido, píldora, cápsula de liberación con el tiempo, comprimido de liberación con el tiempo y píldora de liberación con el tiempo.

También se describe un procedimiento de sintetizar un compuesto de diarilo de fórmula:

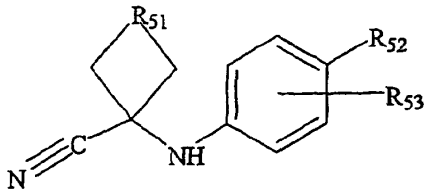


que comprende mezclar el Compuesto I



Compuesto I

con el Compuesto II

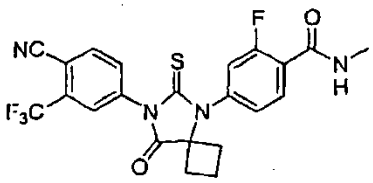


Compuesto II

en un primer disolvente polar para formar una mezcla, calentar la mezcla, añadir un segundo disolvente polar, el mismo o diferente del primer disolvente polar, y un ácido acuoso a la mezcla, someter la mezcla a reflujo, enfriar la mezcla y combinar con agua, y separar el compuesto de diarilo de la mezcla, en la que R51 comprende una cadena de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, R52 se selecciona del grupo que consiste en ciano, hidroxi, metilcarbamoílo, alquilo sustituido con metilcarbamoílo, alquilo sustituido con metilsulfonacarbamoílo, metilaminometilo, dimetilaminometilo, metilsulfoniloximetilo, metoxicarbonilo, 3-ciano-4-trifluorometilfenilcarbamoílo, alquilo sustituido con carbamoílo, carboximetilo, metoxicarbonilmetilo, metanosulfonilo, alquilo sustituido con 4-ciano-3-trifluorometilfenilcarbamoílo, alquilo sustituido con carboxi, 4-metanosulfonil-1-piperazinilo, piperazinilo, alquilo sustituido con hidroxietilcarbamoílo y alquilo sustituido con hidroxietoxicarbonilo, y R53 se selecciona del grupo que consiste en F y H.

R51 puede comprender una cadena de alquilo de 1 a 2 átomos de carbono, R52 puede seleccionarse del grupo que consiste en carbamoílo y metilcarbamoílo y R53 puede ser F.

También se describen procedimientos para sintetizar un compuesto de fórmula



[RD162]

que comprenden mezclar 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo y *N*-metil-4-(1-cianociclobutilamino)-2-fluorobenzamida en dimetilformamida para formar una primera mezcla, calentar la primera mezcla para formar una segunda mezcla, añadir alcohol y ácido a la segunda mezcla para formar una tercera mezcla, someter la tercera mezcla a reflujo para formar una cuarta mezcla, enfriar la mezcla, combinar la cuarta mezcla con agua y extraer una fase orgánica, aislar el compuesto de la fase orgánica.

Asimismo, se describe un procedimiento de síntesis de RD162 que comprende mezclar *N*-metil-2-fluoro-4-(1,1-dimetil-cianometil)aminobenzamida y 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo en DMF y calentar para formar una primera mezcla, y procesar como antes.

El compuesto para uso de la invención tiene actividad agonista de receptores de andrógenos sustancial y no tiene actividad agonista sustancial sobre células de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal.

En este documento también se describe un procedimiento que comprende proporcionar el compuesto de la

invención, medir la inhibición de la actividad de receptores de andrógenos para el compuesto y determinar si la inhibición está por encima de un primer nivel predeterminado, medir la estimulación de la actividad de receptores de andrógenos en células de cáncer resistente al tratamiento hormonal para el compuesto y determinar si la estimulación está por debajo de un segundo nivel predeterminado, y seleccionar el compuesto si la inhibición está por encima del primer nivel predeterminado y la estimulación está por debajo del segundo nivel predeterminado. Los niveles predeterminados pueden ser los de la bicalutamida. La etapa de medir la inhibición puede comprender medir la concentración inhibitoria (CI_{50}) en un sistema indicador de respuestas de RA o un sistema secretor de antígeno específico de próstata. La etapa de medir la estimulación puede comprender medir las veces de inducción por concentraciones crecientes en un sistema indicador de respuestas de RA o un sistema secretor de antígeno específico de próstata. El procedimiento de medir la inhibición y/o la estimulación puede comprender medir un efecto del compuesto sobre el crecimiento tumoral en un animal.

Breve descripción de los dibujos

Las siguientes figuras presentan los resultados del examen farmacológico de ciertos compuestos.

La Figura 1 es una gráfica que representa que la bicalutamida muestra un efecto agonista sobre LNCaP-RA. Actividades agonistas de la bicalutamida en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal expresado en exceso por RA. Las células LNCaP con RA expresado en exceso se trataron con concentraciones crecientes de DMSO como vehículo o bicalutamida en ausencia de R1881. Se midieron actividades de indicador de respuestas de RA.

La Figura 2 es una gráfica que representa un ensayo antagonista de bicalutamida en LNCaP-RA. Actividades agonistas de bicalutamida en cáncer de próstata sensible a hormonas. Se trataron células LNCaP con concentraciones crecientes de DMSO como vehículo o bicalutamida en ausencia de R1881. Se midieron actividades de indicador de respuestas de RA.

La Figura 3 es una gráfica que representa el efecto de los compuestos sobre LNCaP-RA.

La Figura 4 es una gráfica que representa el efecto de los compuestos sobre LNCaP-RA.

La Figura 5 es una gráfica que representa el efecto de la inhibición sobre LNCaP-RA.

En las Figuras 6-10, el Ejemplo 5-3b es RD7 y el Ejemplo 7-3b es RD37.

Figura 6. Inhibición sobre el crecimiento de células LNCaP expresadas en exceso por RA. Células LNCaP privadas de andrógeno con RA expresado en exceso se trataron con concentraciones crecientes de DMSO como vehículo o sustancias de prueba en presencia de 100 pM de R1881. Después de 4 días de incubación, el crecimiento celular se midió por ensayo de MTS.

Figura 7. Efecto inhibidor sobre el crecimiento del modelo de xenoinjerto de LNCaP expresadas en exceso por RA. Ratones con tumores de xenoinjerto de LN-RA establecido se aleatorizaron y se trataron con compuestos inducidos por vía oral una vez al día. El tamaño del tumor se midió por compás calibrador. (A), los ratones se trataron con 1 mg por kg de bicalutamida, Ejemplo 7-3b, o vehículo durante 44 días. (B), los ratones se trataron con vehículo, 0,1, 1 ó 10 mg por kg del Ejemplo 7-3b durante 44 días.

Figura 8. Efecto inhibidor sobre la expresión de PSA del modelo de xenoinjerto de LNCaP expresadas en exceso por RA. Se trataron ratones con vehículo, 0,1, 1 ó 10 mg por kg del Ejemplo 7-3b durante 44 días por vía oral una vez al día. Los tumores se extirparon de los ratones después de 44 días de tratamiento, se extrajo el lisado de tumor y se determinó el nivel de PSA en el lisado de tejido por ELISA.

Figura 9. Efecto inhibidor sobre el crecimiento y PSA del modelo de xenoinjerto de LAPC4 resistentes al tratamiento hormonal. Se aleatorizaron ratones con tumores establecidos y se trataron con 1 mg por kg de bicalutamida, Ejemplo 7-3b, o vehículo durante 17 días por vía oral una vez al día. (A), el tamaño del tumor se midió por compás calibrador. (B), los tumores se extirparon de los ratones después de 17 días de tratamiento, se extrajo el lisado de tumor y se determinó el nivel de PSA en el lisado de tejido por ELISA.

Figura 10. Efecto inhibidor sobre el crecimiento de células de cáncer de próstata sensible a hormonas. Células LNCaP privadas de andrógeno se trataron con concentraciones crecientes de DMSO como vehículo o sustancias de prueba en presencia de 1 pM de R1881. Después de 4 días de incubación, el crecimiento celular se midió por ensayo de MTS.

La Figura 11 es una gráfica del tamaño del tumor. Se inyectaron células LNCaP expresadas en exceso por RA en los flancos de ratones SCID castrados, subcutáneamente. Cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 100 mm cúbicos, se aleatorizaron en cinco grupos. Cada grupo tuvo nueve animales. Después de alcanzar este volumen de tumor se les administró por vía oral tanto vehículo, bicalutamida como RD162 a 10 ó 50 mg/kg cada día. Los

tumores se midieron tridimensionalmente, ancho, longitud y profundidad, usando un compás calibrador.

La Figura 12 representa resultados experimentales del tamaño del tumor. En el día 18 se obtuvieron imágenes de los animales por una cámara CCD óptima, 3 horas después de la última dosis de tratamiento. Se extrae una ROI sobre el tumor para la medición de la actividad de la luciferasa en fotón/segundo. Los paneles derechos son una representación de las mediciones de ROI.

La Figura 13 es una gráfica que representa las curvas farmacocinéticas de RD162 de administración intravenosa (curva superior) y por vía oral (curva inferior).

La Figura 14 es una gráfica que representa la absorbancia de PSA medida para células LN-RA después del tratamiento con diversas dosis de varios compuestos.

La Figura 15 presenta una tabla que proporciona varias características de compuestos. La Figura 15 también presenta una gráfica que proporciona las características farmacocinéticas de varios compuestos en términos de concentración en suero del compuesto en función del tiempo.

La Figura 16 es un diagrama que representa el peso de la próstata después del tratamiento con diversos compuestos. Se administraron 10, 25 ó 50 mg de compuesto por kilogramo de peso corporal por día, como se indica por la etiqueta de una barra. Los compuestos se administraron a ratones FVB sanos. Después del tratamiento con el compuesto durante 14 días se determinó el peso del aparato genitourinario eliminando y pesando las semivesículas, la próstata y la vejiga. A tres ratones se les administró un compuesto dado para obtener los datos presentados por una barra en el diagrama. Un conjunto de ratones no se trató con un compuesto: los datos se presentan en la barra marcada “sin tratar”. Otro conjunto de ratones se trató sólo con disolución de vehículo: los datos se presentan en la barra marcada “vehículo”.

La Figura 17 es una gráfica que presenta un ensayo de PSA realizado junto con el protocolo experimental presentado en la Fig. 6.

La Figura 18 es una gráfica que presenta el efecto de diversas pautas de dosis de RD162 sobre el volumen del tumor.

La Figura 19 es una gráfica que presenta la tasa de emisión de fotones asociada a la actividad de la luciferasa en el día 17 con respecto a la tasa en el día 0 después del tratamiento con RD162 a la dosis de 0,1, 1 y 10 mg por kilogramo de peso corporal por día y sin tratamiento con RD162.

La Figura 20 presenta los resultados de un experimento en el que ratones SCID se inyectaron con la línea celular LN-RA (HR) para inducir crecimiento tumoral. Un conjunto de ratones se trató con el compuesto RD162 a una dosis de 10 mg por kilogramo de peso corporal por día; el otro conjunto de ratones se trató sólo con disolución de vehículo. (A) Volumen del tumor relativo en función del tiempo mostrado para cada conjunto de ratones. (B) Imágenes de cada conjunto de ratones con emisión de fotones asociada a la actividad de la luciferasa en el día 31 mostrada como contornos de color. (C) Tasa de emisión de fotones asociada a la actividad de la luciferasa mostrada en varios momentos para cada conjunto de ratones.

La Figura 21 es una gráfica que presenta la absorbancia de PSA asociada a células LN-RA tratadas con diversas concentraciones de RD162, RD162', RD162" y RD170 y disolución de vehículo.

La Figura 22 es una gráfica que presenta la absorbancia de PSA asociada a células LN-CaP tratadas con diversas concentraciones de RD37, RD131, RD162, bicalutamida y DMSO.

La Figura 23 presenta los resultados de un experimento realizado con ratones no transgénicos naturales (WT), ratones transgénicos para luciferasa castrados (Cast) y ratones transgénicos para luciferasa no castrados (Intactos). Los datos se muestran para ratones transgénicos para luciferasa castrados tratados con una pella de testosterona implantada dando 12,5 mg por kilogramo de peso corporal con un periodo de liberación de 90 días (T/Cast) y los datos se muestran para ratones transgénicos para luciferasa no castrados tratados con una pella de testosterona implantada dando 12,5 mg por kilogramo de peso corporal con un periodo de liberación de 90 días (Intactos+T). Los datos se muestran para ratones transgénicos para luciferasa castrados tratados con la pella de testosterona implantada y con bicalutamida (BIC+T/Cast) o con RD162 (RD162+T/Cast) a 10 mg por kilogramo de peso corporal por día. (A) Peso del aparato genitourinario a los 14 días. (B) Tasa de emisión de fotones a los 14 días. En todos los casos no se indujo un estado de enfermedad resistente al tratamiento hormonal.

La Figura 24 es una gráfica de la actividad de la luciferasa de la línea celular L1RA dosificada con diversos compuestos administrados a concentraciones que oscilan de 125 nmoles a 1000 nmoles.
La Figura 25 es una gráfica de la actividad de la luciferasa para la línea celular LN/RA para diversos compuestos administrados a concentraciones que oscilan de 1,25 a 10 µmoles.

La Figura 26 es una gráfica de la actividad de la luciferasa para la línea celular 4RA para diversos compuestos administrados a concentraciones que oscilan de 1,25 a 10 µmoles.

La Figura 27 es una gráfica de niveles de PSA para la línea celular 1RA para diversos compuestos administrados a concentraciones que oscilan de 1,25 a 10 µmoles.

La Figura 28 es una gráfica de niveles de PSA para la línea celular LN/RA para diversos compuestos administrados a concentraciones que oscilan de 125 nmoles a 1000 nmoles.

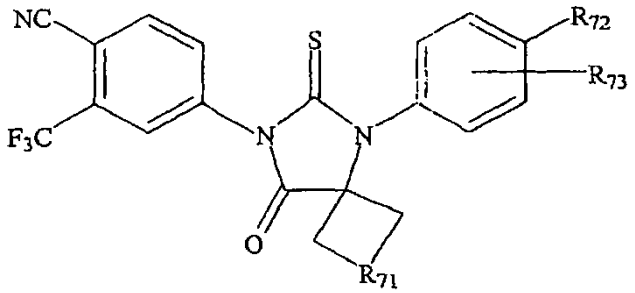
La Figura 29 es una gráfica de la actividad de la luciferasa para diversos compuestos administrados a concentraciones que oscilan de 125 nmoles a 1000 nmoles.

Descripción detallada

Las realizaciones de la invención se tratan en detalle a continuación. En la descripción de las realizaciones se emplea terminología específica por claridad. Sin embargo, la invención no pretende limitarse a la terminología específica así seleccionada.

Síntesis de compuestos de diarilhidantoína

Se describe la síntesis de compuestos de diariltiohidantoína que tienen la fórmula:



,

incluyendo R71 una cadena de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono. Por ejemplo, R72 puede ser carbamoílo, por ejemplo, -(CO)NH_2, o metilcarbamoílo, por ejemplo, -(CO)$NHCH_3$. Un grupo amida unido en el átomo de carbono del carbonilo a otra estructura se llama un sustituyente carbamoílo. Por ejemplo, R73 puede ser un átomo de flúor o de hidrógeno. Es decir, un átomo de flúor puede unirse a uno cualquiera de los carbonos del anillo de arilo derecho que no están unidos al sustituyente R72 o al átomo de nitrógeno. Alternativamente, ningún átomo de flúor puede unirse a los carbonos del anillo de arilo derecho que no están unidos al sustituyente R72 o el átomo de nitrógeno. Por ejemplo, un átomo de hidrógeno puede unirse a cada uno de los carbonos del anillo de arilo derecho que no están unidos al sustituyente R72 o al átomo de nitrógeno

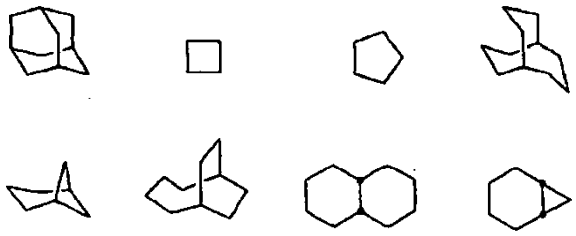
En las Tablas 5 - 11A se presenta una lista de varios compuestos de referencia. El compuesto para uso de la invención ([RD162']) se presenta en la Tabla 5. Los compuestos se agrupan en niveles, esperándose que los compuestos del Nivel 1 al Nivel 3 sean superiores a la bicalutamida para el tratamiento de cáncer de próstata, siendo los compuestos del Nivel 4 comparables a la bicalutamida en eficacia, y siendo los compuestos del Nivel 5 y el Nivel 6 peores que la bicalutamida para el tratamiento de cáncer de próstata. Una descripción más detallada del protocolo usado para clasificar los compuestos en niveles se presenta más adelante.

Definiciones

Como se usa en este documento, el término “alquilo” denota cadenas de hidrocarburos ramificadas o sin ramificar, preferentemente que tienen aproximadamente 1 a aproximadamente 8 carbonos tales como metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, *terc*-butilo, 2-metilpentilpentilo, hexilo, isohexilo, heptilo, 4,4-dimetilpentilo, octilo, 2,2,4-trimetilpentilo y similares. “Alquilo sustituido” incluye un grupo alquilo opcionalmente sustituido con uno o más grupos funcionales que pueden unirse a tales cadenas tales como hidroxilo, bromo, flúor, cloro, yodo, mercapto o tio, ciano, alquiltio, heterociclilo, arilo, heteroarilo, carboxilo, carbalcoílo, alquilo, alquenilo, nitro, amino, alcoxiamido y similares para formar grupos alquilo tales como trifluorometilo, 3-hidroxihexilo, 2-carboxipropilo, 2-fluoroetilo, carboximetilo, cianobutilo y similares.

A menos que se indique lo contrario, el término “cicloalquilo” como se emplea en este documento solo o como parte de otro grupo incluye grupos hidrocarburo cíclicos saturados que contienen 1 a 3 anillos que incluyen monocicloalquilo, bicicloalquilo y tricicloalquilo que contienen un total de 3 a 20 carbonos que forman los anillos, preferentemente 3 a 10 carbonos que forman el anillo, que incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo,

cicloheptilo, ciclooctilo, ciclodecilo y ciclododecilo, ciclohexenilo. “Cicloalquilo sustituido” incluye un grupo cicloalquilo opcionalmente sustituido con 1 o más sustituyentes tales como halógeno, alquilo, alcoxi, hidroxi, arilo, ariloxi, arilalquilo, cicloalquilo, alquilamido, alcanoilamino, oxo, acilo, arilcarbonilamino, amino, nitro, ciano, tiol y/o alquiltio y/o cualquiera de los sustituyentes incluidos en la definición de “alquilo sustituido”. Por ejemplo,



y similares.

A menos que se indique lo contrario, el término “alquenilo” como se usa en este documento por sí mismo o como parte de otro grupo se refiere a radicales de cadena lineal o ramificados de 2 a 20 carbonos, preferentemente 2 a 12 carbonos, y más preferentemente 2 a 8 carbonos en la cadena normal que incluyen uno o más dobles enlaces en la cadena normal tales como vinilo, 2-propenilo, 3-butenilo, 2 butenilo, 4-pentenilo, 3-pentenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 2-heptenilo, 3-heptenilo, 4-heptenilo, 3-octenilo, 3-nonenilo, 4-decenilo, 3-undecenilo, 4-dodecenilo, 4,8,12-tetradecatrienilo y similares. “Alquenilo sustituido” incluye un grupo alquenilo opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como los sustituyentes incluidos anteriormente en la definición de “alquilo sustituido” y “cicloalquilo sustituido”.

A menos que se indique lo contrario, el término “alquinilo” como se usa en este documento por sí mismo o como parte de otro grupo se refiere a radicales de cadena lineal o ramificados de 2 a 20 carbonos, preferentemente 2 a 12 carbonos, y más preferentemente 2 a 8 carbonos en la cadena normal que incluyen uno o más triples enlaces en la cadena normal tales como 2-propinilo, 3-butinilo, 2-butinilo, 4-pentinilo, 3-pentinilo, 2-hexinilo, 3-hexinilo, 2-heptinilo, 3-heptinilo, 4-heptinilo, 3-octinilo, 3-noninilo, 4-decinilo, 3-undecinilo, 4-dodecinilo y similares. “Alquinilo sustituido” incluye un grupo alquinilo opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como los sustituyentes incluidos anteriormente en la definición de “alquilo sustituido” y “cicloalquilo sustituido”.

Los términos “arilalquilo”, “arilalquenilo” y “arilalquinilo” como se usan solos o como parte de otro grupo se refieren a grupos alquilo, alquenilo y alquinilo como se han descrito anteriormente que tiene un sustituyente arilo. Ejemplos representativos de arilalquilo incluyen, pero no se limitan a, bencilo, 2-feniletilo, 3-fenilpropilo, fenetilo, benzhidrilo y naftilmetilo y similares. “Arilalquilo sustituido” incluye grupos arilalquilo en los que la porción de arilo está opcionalmente sustituida con uno o más sustituyentes tales como los sustituyentes incluidos anteriormente en la definición de “alquilo sustituido” y “cicloalquilo sustituido”.

El término “halógeno” o “halo” como se usa en este documento solo o como parte de otro grupo se refiere a cloro, bromo, flúor y yodo.

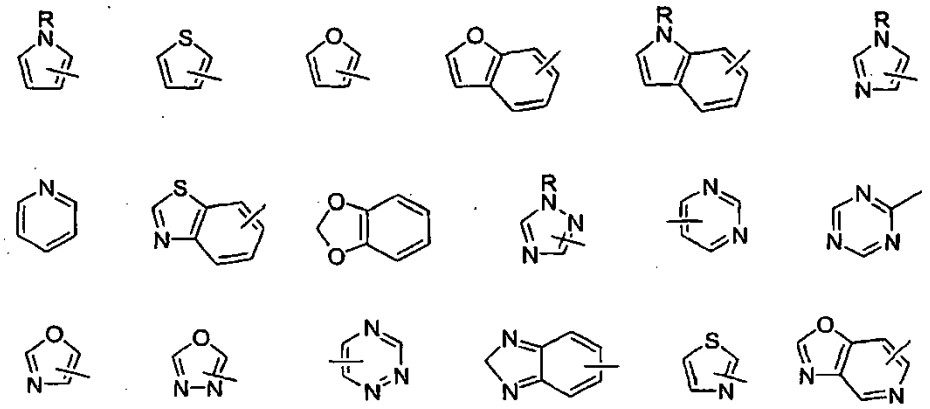
Los términos “alquilo halogenado”, “alquenilo halogenado” y “alquinilo” como se usan en este documento solos o como parte de otro grupo se refieren a “alquilo”, “alquenilo” y “alquinilo” que están sustituidos con uno o más átomos seleccionados de flúor, cloro, bromo, flúor y yodo.

A menos que se indique lo contrario, el término “arilo” o “Ar” como se emplea en este documento solo o como parte de otro grupo se refiere a grupos aromáticos monocíclicos y policíclicos que contienen 6 a 10 carbonos en la porción de anillo (tales como fenilo o naftilo que incluyen 1-naftilo y 2-naftilo). De uno a tres anillos adicionales pueden fusionarse a un anillo carbocíclico o un anillo heterocíclico (tales como anillos de arilo, cicloalquilo, heteroarilo o cicloheteroalquilo).

“Arilo sustituido” incluye un grupo arilo opcionalmente sustituido con uno o más grupos funcionales tales como halógeno, haloalquilo, alquilo, haloalquilo, alcoxi, haloalcoxi, alquenilo, trifluorometilo, trifluorometoxi, alquinilo, cicloalquilalquilo, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo, ariloxi, ariloxialquilo, arilalcoxi, alcoxicarbonilo, arilcarbonilo, arilalquenilo, aminocarbonilarilo, ariltio, arilsulfinilo, arilazo, heteroarilalquilo, heteroarilalquenilo, heteroarilheteroarilo, heteroariloxi, hidroxi, nitro, ciano, amino, amino sustituido en el que el amino incluye 1 ó 2 sustituyentes (que son alquilo, arilo o cualquiera de los otros compuestos de arilo mencionados en las definiciones), tiol, alquiltio, ariltio, heteroariltio, ariltioalquilo, alcoxiariltio, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, arilsulfinilo, arilsulfinilalquilo, arilsulfonilamino o arilsulfonaminocarbonilo y/o cualquiera de los sustituyentes de alquilo explicados en este documento.

A menos que se indique lo contrario, los términos “heterocíclico” o “heterociclo” como se usan en este documento

representan un sistema de anillo monocíclico de 5 a 10 miembros estable sin sustituir o sustituido que puede estar saturado o insaturado y que consiste en átomos de carbono y de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de N, O o S, y en el que los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden oxidarse opcionalmente, y el heteroátomo de nitrógeno puede cuaternizarse opcionalmente. El anillo heterocíclico puede unirse en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que produzca la creación de una estructura estable. Ejemplos de tales grupos heterocíclicos incluyen, pero no se limitan a, piperidinilo, piperazinilo, oxopiperazinilo, oxopiperidinilo, oxopirrolidinilo, oxoazepinilo, azepinilo, pirrolilo, pirrolidinilo, furanilo, tienilo, pirazolilo, pirazolidinilo, imidazolilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, oxazolilo, oxazolidinilo, isooxazolilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, tiazolilo, tiazolidinilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, tetrahidropiranilo, tiamorfolinilo, sulfóxido de tiamorfolinilo, tiamorfolinilsulfona y oxadiazolilo. El término “heterocíclico aromático” como se usa aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a un anillo aromático de 5 ó 7 miembros que incluye 1, 2, 3 ó 4 heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno o azufre, y tales anillos se fusionan a un anillo de arilo, cicloalquilo, heteroarilo o heterocicloalquilo (por ejemplo, benzotiofenilo, indolilo), e incluyen posibles N-óxidos. “Heteroarilo sustituido” incluye un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes tales como los sustituyentes incluidos anteriormente en la definición de “alquilo sustituido” y “cicloalquilo sustituido”. Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen los siguientes:



y similares.

Ejemplo 1

4-Isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo, (1a)

Se añadió 4-amino-2-trifluorometilbenzonitrilo (2,23 g, 12 mmoles) en porciones durante 15 minutos a la mezcla heterogénea bien agitada de tiofosgeno (1 ml, 13 mmoles) en agua (22 ml) a temperatura ambiente. La agitación continuó durante 1 h adicional. El medio de reacción se extrajo con cloroformo (3 × 15 ml). La fase orgánica combinada se secó sobre $MgSO_4$ y se evaporó a sequedad a presión reducida dando el producto deseado, 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo, **(1a)**, como un sólido parduzco y se usó como tal para la siguiente etapa (2,72 g, 11,9 mmoles, 99%).

Ejemplo 2

2-1). Éster *terc*-butílico de ácido (4-aminofenil)carbámico, (2a)

Se añadió una disolución acuosa de carbonato de potasio (1,52 g, 11 mmoles en 5 ml de agua) a una disolución de 1,4-diaminobenceno (3,24 g, 30 mmoles) en THF (30 ml) y DMF (10 ml). A esta mezcla se añadió pirocarbonato de di-*terc*-butilo, Boc_2O (2,18 g, 10 mmoles), gota a gota durante 0,5 h. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h adicionales a temperatura ambiente. Entonces, la mezcla se vertió en agua fría (40 ml) y se extrajo con cloroformo (3 × 50 ml). La fase orgánica combinada se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró dando un residuo marrón que se sometió a cromatografía ultrarrápida (diclorometano/acetona, 4:1) para proporcionar éster *terc*-butílico de ácido (4-aminofenil)carbámico, **(2a)** como un sólido amarillo (1,98 g, 9,5 mmoles, 95%) (rendimiento basado en Boc_2O).

2-2). Éster *terc*-butílico de ácido {4-[(1-ciano-1-metiletil)amino]fenil}carbámico, 2b

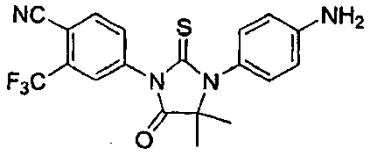
La mezcla de **2a** (0,83 g, 4 mmoles), cianhidrina de acetona (4 ml) y $MgSO_4$ (2 g) se calentó a 80ºC y se agitó durante 2,5 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, el compuesto **2b** se cristalizó en agua (30 ml). El sólido se filtró y se secó dando éster *terc*-butílico de ácido {4-[(1-ciano-1-metiletil)amino]fenil}carbámico, **2b** (1,08 g, 3,9 mmoles, 98%).

2-3). Éster *terc*-butílico de ácido {4-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-4-imino-5,5-dimetil-2-tioxo-imidazolidin-1-il]fenil}carbámico, (2c)

Se añadió trietilamina (0,202 g, 2 mmoles) a una disolución de **1a** (0,456 g, 2 mmoles) y **2b** (0,57 g, 2 mmoles) en THF seco (5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 h y luego se concentró dando un residuo oscuro que se sometió a cromatografía ultrarrápida (éter etílico/acetona, 97:3) proporcionando éster *terc*-butílico de ácido {4-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-4-imino-5,5-dimetil-2-tioxo-imidazolidin-1-il]fenil}carbámico, **(2c)** (0,15 g, 0,3 mmoles, 15%).

2-4). 4-[3-(4-Aminofenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 2d, [RD9]

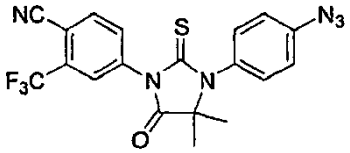
La mezcla de **2c** (0,15 g, 0,3 mmoles) en HCl ac. 3 N (1 ml) y metanol (4 ml) se calentó a reflujo durante 2 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (5 ml) y se extrajo con diclorometano (8 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano/acetona, 9:1) dando 4-[3-(4-aminofenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, **2d,** [RD9] (0,118 g, 0,29 mmoles, 97%) como un sólido amarillo.



RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1,54 (s, 6H), 6,73-6,75 (m, 2H), 7,00-7,03 (m, 2H), 8,02 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 8,16 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,20 (d, J = 8,2 Hz, 1H); RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ 22,7, 66,2, 109,1, 114,3, 114,9, 120,4, 122,0 (q, J = 272,5 Hz), 127,0 (q, J = 4,9 Hz), 130,4, 132,5 (q, J = 33,0 Hz), 133,4, 135,6, 138,5, 149,2, 175,3, 180,4.

2-5). 4-[3-(4-Azidofenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 2e, [RD10]

Una disolución acuosa de ácido sulfúrico (25% en peso, 1 ml) se añadió a una disolución de **2d** (0,10 g, 0,25 mmoles) en acetona (1 ml) a -5ºC. Una disolución acuosa de $NaNO_2$ (0,024 g, 0,35 mmoles, en 0,5 ml de agua) se añadió lentamente a la mezcla anterior durante 0,1 h. La mezcla de reacción se dejó en agitación a -5ºC durante 1 h adicional y luego se añadió gota a gota una disolución acuosa de NaN_3 (0,02 g, 0,3 mmoles en 0,3 ml de agua). Tras completarse la adición, el medio de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 h adicionales. El producto se extrajo con diclorometano (3 × 5 ml). La fase orgánica combinada se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando 4-[3-(4-azidofenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, **2e**, [RD10] (0,08 g, 0,18 mmoles, 72%) como un sólido amarillento.



RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1,54 (s, 6H), 7,17-7,20 (m, 2H), 7,27-7,30 (m, 2H), 7,84 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2= 1,8 Hz, 1H), 7,96 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, J = 8,3 Hz, 1H); RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ 23,7, 66,4, 110,1, 114,8, 120,4, 122,1 (q, J = 272,5 Hz), 127,0 (q, J = 4,7 Hz), 131,1, 131,5, 132,3, 133,3 (q, J = 33,0 Hz), 135,3, 137,1, 141,7, 174,8, 180,1. EM para $C_{19}H_{13}F_3N_6OS$, calculado 430,4, hallado 430,1.

Ejemplo 3

3-1). 2-(4-Hidroxifenilamino)-2-metilpropanonitrilo, 3a

Una mezcla de 4-aminofenol (1,09 g, 10 mmoles), cianhidrina de acetona (10 ml) y $MgSO_4$ (2 g) se calentó a 80ºC y se agitó durante 4 h. Después de concentrarse el medio a vacío, el compuesto **3a** se cristalizó en agua (20 ml). El sólido se filtró y se secó dando 2-(4-hidroxifenilamino)-2-metilpropanonitrilo, **3a** (1,69 g, 9,6 mmoles, 96%).

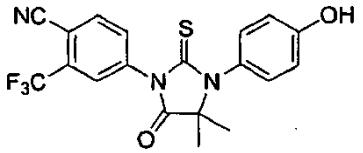
3-2). 4-[3-(4-Hidroxifenil)-5-imino-4,4-dimetil-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 3b

Se añadió trietilamina (0,101 g, 1 mmol) a una disolución de **1a** (0,456 g, 2 mmoles) y **3a** (0,352 g, 2 mmoles) en THF seco (5 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0ºC durante 48 h y luego se concentró dando un residuo oscuro que se sometió a cromatografía ultrarrápida (diclorometano/acetona, 85:15) proporcionando 4-[3-(4-hidroxifenil)-5-imino-4,4-dimetil-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, **3b** (0,274 g, 0,68 mmoles, 34%).

3-3). 4-[3-(4-Hidroxifenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 3c, [RDS]

Una mezcla de **3b** (0,202 g, 0,5 mmoles) en HCl ac. 2 N (2 ml) y metanol (5 ml) se calentó a reflujo durante 2 h.

Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (10 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano/acetona, 9:1) dando 4-[3-(4-hidroxifenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, **3c**, [RD8] (0,198 g, 0,49 mmoles, 98%) como un polvo blanco.

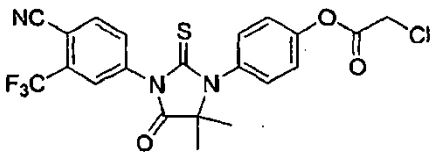


RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,57 (s, 6H), 6,26 (s, OH), 6,90-6,93 (m, 2H), 7,11-7,14 (m, 2H), 7,84 (dd, J_1 = 8,3 *Hz,* J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,95-7,98 (m, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$,100 MHz) δ 23,6, 66,5, 109,9, 114,9, 115,7, 116,8, 121,9 (q, *J* = 272,7 Hz), 127,2 (q, *J* = 4,7 Hz), 130,6, 132,3, 133,5 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,3, 137,2, 157,0, 175,3, 180,2.

Ejemplo 4

Éster 4-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]fenílico de ácido cloroacético, 4a, [RD13]

Se añadió cloruro de cloroacetilo (0,045 g, 0,4 mmoles) a una mezcla de **3c** (0,101 g, 0,25 mmoles) y trietilamina (0,041 g, 0,41 mmoles) en THF seco (1,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se separó clorhidrato de trietilamina por filtración. El filtrado se concentró y se cromatografió (diclorometano/acetona, 95:5) dando 84% de éster 4-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]fenílico de ácido cloroacético, **4a**, [RD13] (0,101 g, 0,21 mmoles) como polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,58 (s, 6H), 4,32 (s, 2H), 7,33 (s, 4H), 7,83 (dd, J_1, = 8,3 Hz. J_2 = 1,9 Hz, 1H), 7,95-7,97 (m, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$,100 MHz) δ 23,7, 40,8, 66,5, 110,1, 114,8, 121,9 (q, *J* = 272,5 Hz), 122,7, 127,1 (q, *J* = 4,7 Hz), 130,9, 132,3, 132,9, 133,5 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,3, 137,1, 150,9, 165,5, 174,8, 180,0.

Ejemplo 5

5-1a). 2-Metil-2-(4-metilfenil)aminopropanonitrilo, 5a

Una mezcla de *p*-toluidina (1,07 g, 10 mmoles) y cianhidrina de acetona (10 ml) se calentó a 80ºC y se agitó durante 4 h. El medio se concentró y se secó a vacío dando 2-metil-2-(4-metilfenil)aminopropanonitrilo, **5a** (1,72 g, 9,9 mmoles, 99%) como un sólido marrón.

5-1b). 2-Metil-2-(4-metilfenil)aminopropanonitrilo, 5a

Se añadió cianuro de sodio (0,735 g, 15 mmoles) a una mezcla de *p*-toluidina (1,07 g, 10 mmoles) y acetona (1,16 g, 20 mmoles) en ácido acético al 90% (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y luego se añadió acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se lavó con agua (4 × 30 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a vacío a sequedad dando 2-metil-2-(4-metilfenil)aminopropanonitrilo, **5a** (1,65 g, 9,5 mmoles, 95%) como un sólido marrón.

5-2). 4-[3-(4-Metilfenil)-5-imino-4,4-dimetil-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 5b

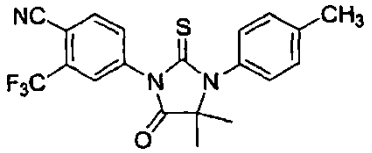
Se añadió trietilamina (0,101 g, 1 mmol) a una disolución de **1a** (0,456 g, 2 mmoles) y **5a** (0,348 g, 2 mmoles) en THF seco (3 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0ºC durante 2 días y luego se concentró dando un residuo oscuro que se sometió a cromatografía ultrarrápida (diclorometano/acetona, 95:5) proporcionando 4-[3-(4-metilfenil)-5-imino-4,4-dimetil-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, **5b** (0,136 g, 0,34 mmoles, 17%).

5-3 a). 4-[3-(4-Metilfenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 5c

Una mezcla de **5b** (0,121 g, 0,3 mmoles) en HCl ac. 2 N (2 ml) y metanol (5 ml) se calentó a reflujo durante 2 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (10 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando 4-[3-(4-metilfenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, **5c** (0,118 g, 0,294 mmoles, 98%) como un polvo blanco.

5-3b). 4-[3-(4-Metilfenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 5c, [RD7]

Una mezcla de **1a** (0,547 g, 2,4 mmoles) y **5a** (0,348 g, 2 mmoles) en DMF seca (0,6 ml) se agitó durante 36 h. A esta mezcla se añadieron metanol (20 ml) y HCl 2 N (5 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (40 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando 4-[3-(4-metilfenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, **5c**, [RD7] (0,596 g, 1,48 mmoles, 74%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,61 (s, 6H), 2,44 (s, 3H), 7,17-7,20 (m, 2H), 7,33-7,36 (m, 2H), 7,86 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,96-7,98 (m, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 21,3, 23,6, 66,4, 110,0, 114,9, 121,9 (q, J = 272,6 Hz), 127,1 (q, J = 4,7 Hz), 129,2, 130,6, 132,2, 132,3, 133,4 (q, J = 33,2 Hz), 135,2, 137,2, 140,1, 175,1, 179,9.

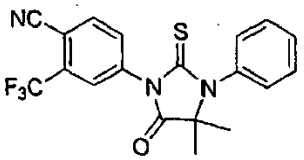
Ejemplo 6

6-1). 2-Metil-2-fenilaminopropanonitrilo, 6a

Una mezcla de aminobenceno (0,931 g, 10 mmoles) y cianhidrina de acetona (2 ml) se calentó a reflujo y se agitó durante 20 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en acetato de etilo (40 ml) y se lavó con agua fría (2 × 30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró a vacío a sequedad dando 2-metil-2-fenilaminopropanonitrilo, **6a** (1,51 g, 9,4 mmoles, 94%) como un líquido marrón en suspensión.

6-2). 4-[3-Fenil-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 6b, [RD10]

Una mezcla de **1a** (0,274 g, 1,2 mmoles) y **6a** (0,160 g, 1 mmol) en DMF seca (0,2 ml) se agitó durante 48 h. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl 2 N (3 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (20 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando 4-[3-fenil-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, **6b**, [RD10] (0,276 g, 0,71 mmoles, 71%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,60 (s, 6H), 7,28-7,31 (m, 2H), 7,50-7,58 (m, 3H), 7,85 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,96-7,99 (m, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 23,7, 66,4, 110,2, 114,8, 121,9 (q, J = 272,6 Hz), 127,1 (q, J = 4,7 Hz), 129,5, 129,8, 129,9, 132,2, 133,4 (q, J = 33,2 Hz), 135,1, 135,2, 137,2, 175,0, 179,9.

Ejemplo 7

7-1a). 1-(4-Metilfenil)aminociclobutanonitrilo, 7a

Se añadió cianuro de sodio (0,147 g, 3 mmoles) a una mezcla de *p*-toluidina (0,214 g, 2 mmoles) y ciclobutanona (0,21 g, 3 mmoles) en ácido acético del 90% (3 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y luego se añadieron 20 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua (3 × 10 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a vacío a sequedad dando 1-(4-metilfenil)aminociclobutanonitrilo, **7a** (0,343 g, 1,84 mmoles, 92%) como un sólido marrón.

7-1b). 1-(4-Metilfenil)aminociclobutanonitrilo, 7a

Se añadió gota a gota cloruro de trimetilsililo (0,93 ml, 7 mmoles) a una mezcla de *p*-toluidina (0,535 g, 5 mmoles) y ciclobutanona (0,42 g, 6 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h y luego se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano) dando 1-(4-metilfenil)aminociclobutanonitrilo, **7a** (0,912 g, 4,9 mmoles, 98%) como un sólido amarillento.

7-2). 4-(8-Imino-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 7b

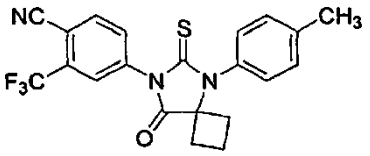
A una disolución de **1a** (2,28 g, 10 mmoles) en DMF seca (3 ml) se añadió progresivamente, durante 20 horas, una disolución de **7a** (1,764 g, 9 mmoles) en DMF seca (3 ml) a temperatura ambiente. El medio se agitó durante 4 h adicionales. Después de evaporarse la DMF, el residuo se purificó por cromatografía (diclorometano/acetona, 95:5) proporcionando 4-(8-imino-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, **7b** (1,937 g, 4,68 mmoles, 52%).

7-3a). 4-(8-Oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 7c [RD37]

Una mezcla de **7b** (0,041 g, 0,1 mmoles) en HCl ac. 2 N (3 ml) y metanol (1 ml) se calentó a reflujo durante 2 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (5 ml) y se extrajo con acetato de etilo (6 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando 4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, **7c** (0,04 g, 0,096 mmoles, 96%) como un polvo blanco.

7-3b). 4-(8-Oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 7c, [RD37]

Una mezcla de **1a** (0,912 g, 4 mmoles) y **7a** (0,558 g, 3 mmoles) en DMF seca (0,5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. A esta mezcla se añadieron metanol (30 ml) y HCl ac. 2 N (6 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (60 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando 4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, **7c** (0,959 g, 2,31 mmoles, 77%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,62-1,69 (m, 1H), 2,16-2,22 (m, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,55-2,66 (m, 4H), 7,19-7,26 (m, 2H), 7,36-7,42 (m, 2H), 7,86 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,96 (d, J = 8,3 Hz, 1H). 7,99 (d, J = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 21,3, 31,4, 67,4, 109,9, 114,9, 121,9 (q, J = 272,6 Hz), 127,1 (q, J = 4,7 Hz), 129,5, 130,8, 132,2, 132,4, 133,3 (q, J = 33,2 Hz), 135,2, 137,3, 140,1, 175,0, 180,0.

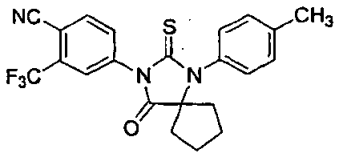
Ejemplo 8

8-1). 1-(4-Metilfenil)aminociclopentanonitrilo, 8a

Se añadió gota a gota cloruro de trimetilsililo (0,865 ml, 7 mmoles) a una mezcla de *p*-toluidina (0,535 g, 5 mmoles) y ciclopentanona (0,589 g, 7 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h y luego se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano) dando 1-(4-metilfenil)aminociclopentanonitrilo, **8a** (0,981 g, 4,9 mmoles, 98%) como un sólido amarillento.

8-2). 4-(4-Oxo-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 8b, [RD35]

Una mezcla de **1a** (0,296 g, 1,3 mmoles) y **8a** (0,2 g, 1 mmol) en DMF seca (0,2 ml) se agitó durante 48 h. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. 2 N (3 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando 4-(4-oxo-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, **8b**, [RD35] (0,3 g, 0,7 mmoles, 70%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,47-1,57 (m, 2H), 1,81-1,92 (m, 2H), 2,20-2,24 (m, 2H), 2,27-2,34 (m, 2H), 2,43 (s, 3H), 7,18-7,22 (m, 2H), 7,33-7,36 (m, 2H), 7,86 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,96 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,98 (d, J = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 21,3, 25,2, 36,3, 75,1, 110,0, 114,9, 121,9 (q, J = 272,5 Hz), 127,1 (q, J = 4,7 Hz), 129,5, 130,7, 123,2, 133,0, 133,4 (q, J = 33,2 Hz), 135,1, 137,4, 140,0, 176,3, 180,2.

Ejemplo 9

9-1). 1-(4-Metilfenil)aminociclohexanonitrilo, 9a

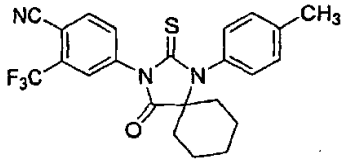
Se añadió cianuro de sodio (0,147 g, 3 mmoles) a una mezcla de *p*-toluidina (0,214 g, 2 mmoles) y ciclohexanona (0,294 g, 3 mmoles) en ácido acético del 90% (3 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y luego se añadieron 20 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua (3 x 10 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a vacío a sequedad dando 1-(4-metilfenil)aminociclohexanonitrilo, **9a** (0,398 g, 1,86 mmoles, 93%) como un sólido marrón.

9-2). 4-(4-Imino-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3-diazaespiro[4.5]dec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 9b

Se añadió trietilamina (0,05 g, 0,5 mmoles) a una disolución de **1a** (0,228 g, 1 mmol) y **9a** (0,214 g, 1 mmol) en THF seco (2 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días y luego se concentró dando un residuo oscuro que se sometió a cromatografía ultrarrápida (diclorometano/acetona, 95:5) proporcionando 4-(4-imino-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3-diazaespiro[4.5]dec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, **9b** (0,035 g, 0,08 mmoles, 8%).

9-3). 4-(4-Oxo-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3-diazaespiro[4.5]dec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 9c, [RD48]

Una mezcla de **9b** (0,035 g, 0,08 mmoles) en HCl ac. 2 N (1 ml) y metanol (3 ml) se calentó a reflujo durante 2 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (5 ml) y se extrajo con acetato de etilo (6 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando 4-(4-oxo-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3-diazaespiro[4.5]dec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, **9c**, [RD48] (0,034 g, 0,076 mmoles, 95%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,02-1,05 (m, 1H), 1,64-1,76 (m, 4H), 2,03-2,12 (m, 5H), 2,44 (s, 3H), 7,12-7,15 (m, 2H), 7,33-7,36 (m, 2H), 7,85 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,96 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,97 (d, J = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 20,7, 21,3, 24,0, 32,6, 67,4, 109,9, 114,9, 122,0 (q, J = 272,5 Hz), 127,3 (q, J = 4,6 Hz), 130,0, 130,5, 132,0, 132,5, 133,3 (q, J = 33,2 Hz), 135,2, 137,3, 140,1, 174,1, 180,1.

Ejemplo 10

10-1). 1-(4-Metilfenil)aminociclohexanonitrilo, 10a

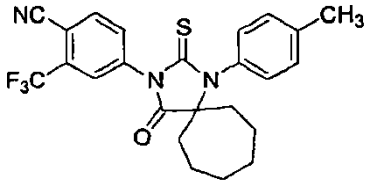
Se añadió cianuro de sodio (0,147 g, 3 mmoles) a una mezcla de *p*-toluidina (0,214 g, 2 mmoles) y cicloheptanona (0,337 g, 3 mmoles) en ácido acético del 90% (3 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y luego se añadieron 20 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua (3 x 10 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a vacío a sequedad dando 1-(4-metilfenil)aminociclohexanonitrilo, **10a** (0,438 g, 1,92 mmoles, 96%) como un sólido marrón.

10-2). 4-(4-Imino-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3-diazaespiro[4.5]undec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 10b

Se añadió trietilamina (0,05 g, 0,5 mmoles) a una disolución de **1a** (0,228 g, 1 mmol) y **9a** (0,228 g, 1 mmol) en THF seco (2 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días y luego se concentró dando un residuo oscuro que se sometió a cromatografía ultrarrápida (diclorometano/acetona, 95:5) proporcionando 4-(4-imino-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3-diazaespiro[4.5]undec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, **10b** (0,036 g, 0,08 mmoles, 8%).

10-3). 4-(4-Oxo-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3-diazaespiro[4.5]undec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 10c, [RD49]

Una mezcla de **9b** (0,036 g, 0,08 mmoles) en HCl ac. 2 N (1 ml) y metanol (3 ml) se calentó a reflujo durante 2 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (5 ml) y se extrajo con acetato de etilo (6 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **10c** (0,034 g, 0,075 mmoles, 94%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,24-134 (m, 2H), 1,37-1,43 (m, 2H), 1,53-1,60 (m, 2H), 1,74-1,82 (m, 2H), 2,19-2,25 (m, 4H), 2,44 (s, 3H), 7,16-7,19 (m, 2H), 7,32-7,35 (m, 2H), 7,83 (dd, J_1 = 8,2 *Hz*, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,95-7,97 (m, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 21,4, 22,2, 30,9, 36,3, 71,1, 110,0, 114,9, 121,9 (q, *J* = 272,5 Hz), 127,2 (q, *J* = 4,6 Hz), 129,6, 130,5, 132,3, 133,0, 133,2 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,1, 137,4, 140,0, 175,9, 179,7.

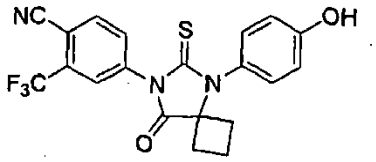
Ejemplo 11

11-1). 1-(4-Hidroxifenil)aminociclobutanonitrilo, 11a

Se añadió gota a gota cloruro de trimetilsililo (0,93 ml, 7 mmoles) a una mezcla de 4-hidroxianilina (0,545 g, 5 mmoles) y ciclobutanona (0,42 g, 6 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h y luego se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano:acetona, 98:2) dando **11a** (0,903 g, 4,8 mmoles, 96%) como un sólido amarillento.

11-2). 4-(8-Oxo-6-tioxo-5-(4-hidroxifenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 11b, [RD58]

Una mezcla de **1a** (0,57 g, 2,5 mmoles) y **7a** (0,376 g, 2 mmoles) en DMF seca (0,5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 40 h. A esta mezcla se añadieron metanol (30 ml) y HCl ac. (5 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (40 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 98:2) dando **11b** (0,659 g, 1,58 mmoles, 79%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,55-1,63 (m, 1H), 2,01-2,09 (m, 1H), 2,50-2,65 (m, 4H), 6,97-7,01 (m, 2H), 7,20-7,24 (m, 2H), 8,02 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 8,14 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 8,21 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H); RMN ^{13}C (acetona-d_6, 100 MHz) δ 13,4, 31,3, 67,5, 108,9, 114,8, 116,1, 123,5 (q, *J* = 271,5 Hz), 127,4 (q, *J* = 4,9 Hz), 131,3, 131,8 (q, *J* = 32,7 Hz), 133,3, 135,5, 136,2, 138,5, 15 8,1, 175,1, 180,7.

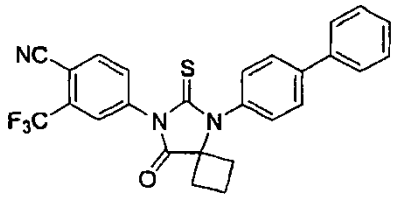
Ejemplo 12

12-1). 1-(4-Bifenilamino)ciclobutanocarbonitrilo, 12a

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,2 ml, 1,5 mmoles) a una mezcla de 4-bifenilamina (0,169 g, 1 mmol) y ciclobutanona (0,098 g, 1,4 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h y luego se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano) dando **12a** (0,24 g, 0,97 mmoles, 97%) como un sólido blanco.

12-2). 4-(8-Oxo-6-tioxo-5-(4-bifenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 12b [RD57]

Una mezcla de **1a** (0,137 g, 0,6 mmoles) y **12a** (0,124 g, 0,5 mmoles) en DMF seca (0,2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. A esta mezcla se añadieron metanol (5 ml) y HCl ac. 2 N (1 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría **(10** ml) y se extrajo con acetato de etilo (15 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **12b** (0,162 g, 0,34 mmoles, 68%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,67-1,76 (m, 1H), 2,19-2,31 (m, 1H), 2,59-2,74 (m, 4H), 7,40-7,44 (m, 3H), 7,47-7,53 (m, 2H), 7,64-7,67 (m, 2H), 7,79-7,82 (m, 2H), 7,88 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 8,02 (d, J = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,5, 67,5, 110,0, 114,9, 122,0 (q, J = 272,6 Hz), 127,1 (q, J = 4,7 Hz), 127,3, 128,1, 128,7, 129,0, 130,2, 132,3, 133,5 (q, J = 33,2 Hz), 134,2, 135,2, 137,2, 139,6, 142,8, 174,9, 179,9.

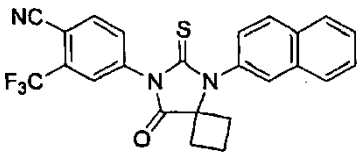
Ejemplo 13

13-1). 1-(2-Naftilamino)ciclobutanocarbonitrilo, 13a

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,27 ml, 2 mmoles) a una mezcla de 2-aminonaftaleno (0,143 g, 1 mmol) y ciclobutanona (0,098 g, 1,4 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y luego se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano) dando **13a** (0,209 g, 0,94 mmoles, 94%) como un sólido amarillo.

13-2). 4-(8-Oxo-6-tioxo-5-(4-bifenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 12b, [RD85]

Una mezcla de **1a** (0,137 g, 0,6 mmoles) y **13a** (0,111 g, 0,5 mmoles) en DMF seca (0,2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. A esta mezcla se añadieron metanol (5 ml) y HCl ac. (1 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (15 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **12b** (0,146 g, 0,325 mmoles, 65%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 158-1,68 (m, 1H), 2,17-2,29 (m, 1H), 2,61-2,75 (m, 4H), 7,40 (dd, J_1 = 8,6 Hz, J_2 = 2,0 Hz, 1H), 7,58-7,65 (m, 2H), 7,86-8,00 (m, 5H), 8,04 (J = 1,8 Hz, 1H), 8,06 (d, J = 8,6 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,6, 67,7, 110,0, 114,9, 122,0 (q, J = 272,6 Hz), 126,8, 127,1 (q, J = 4,8 Hz), 127,2, 127,7, 128,0, 128,3, 129,1, 130,2, 132,2, 132,5, 133,4, 133,5 (q, J = 33,1 Hz), 133,6, 135,2, 137,2, 175,0, 180,1.

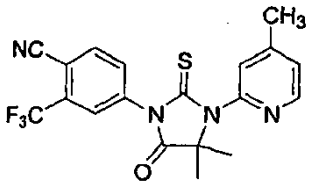
Ejemplo 14

14-1). 2-(4-Metil-2-piridinamino)-2-metilpropanonitrilo, 14a

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,27 ml, 2 mmoles) a una mezcla de 2-amino-4-metilpiridina (0,108 g, 1 mmol) y acetona (0,58 g, 10 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 días y luego se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano: acetona, 60:40) dando **14a** (0,133 g, 0,76 mmoles, 76%) como un sólido blanco.

14-2). 4-[4,4-Dimetil-3-(4-metilpiridin-2-il)-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 14b, [RD83]

Una mezcla de **1a** (0,91 g, 0,4 mmoles) y **14a** (0,053 g, 0,3 mmoles) en DMF seca (0,2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 6 días. A esta mezcla se añadieron metanol (5 ml) y HCl ac. (1 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 5 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (15 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **14b** (0,07 g, 0,174 mmoles, 58%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,70 (s, 6H), 2,44 (s, 3H), 7,19 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 7,45 (t, *J* = 0,6 Hz, 1H), 7,82 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 8,47 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 21,1, 24,1, 67,1, 110,2, 114,8, 121,9 (q, *J* = 272,6 Hz), 124,4, 125,1, 127,3 (q, *J* = 4,8 Hz), 132,4, 133,5 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,3, 137,1, 149,2, 149,5, 150,0, 175,2, 179,0.

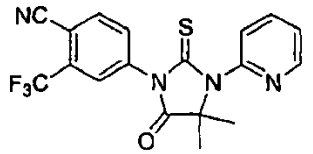
Ejemplo 15

15-1). 2-(2-Piridinamino)-2-metilpropanonitrilo, 15a

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,27 ml, 2 mmoles) a una mezcla de 2-aminopiridina (0,094 g, 1 mmol) y acetona (0,58 g, 10 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 días y luego se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano: acetona, 60:40) dando **15a** (0,131 g, 0,81 mmoles, 81%) como un sólido blanco.

15-2). 4-[4,4-Dimetil-3-(4-piridin-2-il)-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 15b, [RD82]

Una mezcla de **1a** (0,91 g, 0,4 mmoles) y **15a** (0,048 g, 0,3 mmoles) en DMF seca (0,3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 10 días. A esta mezcla se añadieron metanol (5 ml) y de HCl ac. (1 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 5 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (15 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **15b** (0,059 g, 0,153 mmoles, 51%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,73 (s, 6H), 7,38 (dd, J_1 = 7,3 Hz, J_2 = 5,4 Hz, 1H), 7,71 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,87 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,95 (td, J_1 = 7,8 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H), 7,98 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 8,62 (dd, J_1 = 4,7 Hz, J_2 = 1,3 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 24,2, 67,1, 110,3, 114,8, 121,9 (q, *J* = 272,6 Hz), 123,7, 123,8, 127,3 (q, *J* = 4,8 Hz), 132,4, 133,6 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,3, 137,1, 138,2, 149,5, 149,6, 175,1, 179,0.

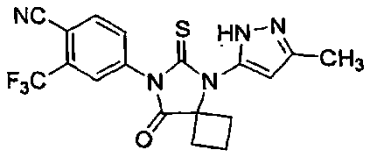
Ejemplo 16

16-1). 1-(5-Metil-2H-pirazol-3-ilamino)-ciclobutanocarbonitrilo, 16a

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,532 ml, 4,0 mmoles) a la mezcla de 3-amino-5-metilpirazol (0,194 g, 2,0 mmoles) y ciclobutanona (0,154 g, 2,2 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 40 h y luego se concentró a vacío para obtener un líquido oscuro que se sometió a cromatografía (diclorometano) dando **16a** (0,267 g, 1,52 mmoles, 76%) como un polvo blanquecino.

16-2). 4-[5-(5-Metil-2H-pirazol-3-il)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo,16b, [RD84]

Una mezcla de **1a** (0,0684 g, 0,3 mmoles) y **16a** (0,053 g, 0,3 mmoles) en DMF seca (0,2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. 2 N (2 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 5 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 97:3) dando **16b** (0,0826 g, 0,2 mmoles, 67%) como un polvo blanco.

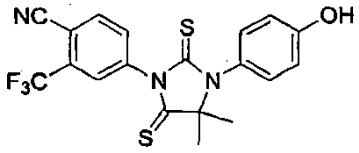


RMN ^{1}H (acetona-d_6, 400 MHz) δ 1,66-1,76 (m, 1H), 2,00-2,07 (m, 1H), 3,35 (s, 3H), 2,56-2,63 (m, 2H), 2,85-2,93 (m, 2H), 8,04 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,6 Hz, 1H), 8,18 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 11,99 (s, 1H); RMN ^{13}C (acetona-d_6, 100 MHz) δ 10,2, 13,1, 31,1, 67,4, 102,5, 109,1, 114,8, 122,5 (q, J = 271,4 Hz), 127,8 (q, J = 4,8 Hz), 131,9 (q, J = 33,6 Hz), 133,6, 135,6, 138,4, 139,9, 145,0, 175,0, 179,6.

Ejemplo 17

4-[3-(4-Hidroxifenil)-4,4-dimetil-2,5-ditioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 17a, [RD59]

Una mezcla de **3c** (0,081 g, 0,2 mmoles) y reactivo de Lawesson (0,097 g, 0,24 mmoles) en tolueno (3 ml) se calentó a reflujo durante 15 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (10 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:pentano, 9:1) dando **17a** (0,0185 g, 0,044 mmoles, 22%) como un polvo blanco.

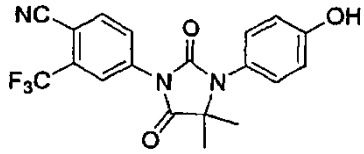


RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,65 (s, 6H), 6,95-6,97 (m, 2H), 7,15-7,18 (m, 2H), 7,75 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,98 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 H_2, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 27,9, 77,8, 110,9, 114,7, 116,7, 121,9 (q, J = 272,6 Hz), 128,1 (q, J = 4,8 Hz), 129,1, 130,7, 133,3, 133,5 (q, J = 33,2 Hz), 135,5, 140,3, 156,8, 179,9, 207,9.

Ejemplo 18

4-[3-(4-Hidroxifenil)-4,4-dimetil-2,5-dioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 18a, [RD60]

Se añadió gota a gota peróxido de hidrógeno del 30% (3 ml, 26 mmoles) a una disolución de **3c** (0,121 g, 0,4 mmoles) en ácido acético glacial (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y luego se añadieron 20 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua (3 × 15 ml), se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **18a** (0,102 g, 0,261 mmoles, 87%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,52 (s, 6H), 6,70-6,73 (m, 2H), 7,01-7,04 (m, 2H), 7,92 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,00 (dd, J_1 = 8,4 *Hz,* J_2 = 1,8 Hz, 1H), 8,15 (d, J = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 23,7, 63,7, 108,4, 115,0, 116,7, 121,9 (q, J = 272,6 Hz), 123,5 (q, J = 4,8 Hz), 124,0, 128,5, 130,5, 133,6 (q, J = 33,2 Hz), 135,5, 136,2, 153,4, 157,2, 174,5.

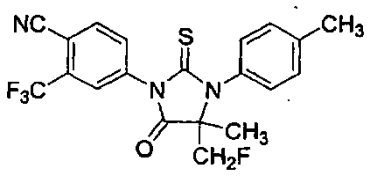
Ejemplo 19

19-1). 3-Fluoro-2-metil-2-(4-metilfenil)aminopropionitrilo, 19a

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,146 ml, 1,1 mmoles) a la mezcla de *p*-toluidina (0,107 g, 1 mmol) y fluoroacetona (0,082 g, 1,1 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y luego se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano) dando **19a** (0,179 g, 0,93 mmoles, 93%) como un sólido amarillento.

19-2). 4-(4-Fluorometil-4-metil-5-oxo-2-tioxo-3-(4-metilfenil)imidazolidin-1-il)-2-tritluorometilbenzonitrilo,19b, [RD68]

Una mezcla de **1a** (0,16 g, 0,7 mmoles) y **19a** (0,096 g, 0,5 mmoles) en DMF seca (0,3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. 2 N (2 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **19b** (0,168 g, 0,4 mmoles, 80%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,49 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 4,35 (dd, J_1 = 47,2 *Hz,* J_2 = 10,0 Hz, 1H), 4,71 (dd, J_1 = 45,2 Hz, J_2 = 10 Hz, 1H), 7,22-7,26 (m, 2H), 7,35-7,39 (m, 2H), 7,82 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,93 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,98 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 17,0 (d, *J* = 4,6 Hz), 21,3, 69,3 (d, *J* = 18,3 Hz), 81,9 (d, *J* = 179,5 Hz), 109,9, 114,8, 121,8 (q, *J* = 272,6 Hz), 127,2 (q, *J* = 4,7 Hz), 129,3, 130,9, 131,6, 132,3, 133,3 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,3, 137,0, 140,5, 174,1, 181,4; RMN ^{19}F ($CDCl_3$, **376 MHz**) δ -62,5, 110,9.

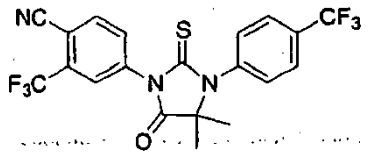
Ejemplo 20

20-1). 2-Metil-2-(4-trifluorometilfenil)aminopropanonitrilo, 20a

Una mezcla de 4-trifluorometilanilina (1,61 g, 10 mmoles), cianhidrina de acetona (5 ml) y sulfato de magnesio (2 g) se calentó a 80ºC y se agitó durante 12 h. Al medio se añadió acetato de etilo (50 ml) y luego se lavó con agua (3 × 30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró a vacío a sequedad dando **20a** (2,166 g, 9,5 mmoles, 95%) como un sólido marrón.

20-2). 4-(4,4-Dimetil-5-oxo-2-tioxo-3-(4-trifluorometilfenil)imidazolidin-1-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 20b, [RD66]

Una mezcla de **1a** (0,114 g, 0,5 mmoles) y **20a** (0,092 g, 0,4 mmoles) en DMF seca (0,3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. (3 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (20 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **20b** (0,117 g, 0,256 mmoles, 64%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,61 (s, 6H), 7,45-7,49 (m, 2H), 7,80-7,83 (m, 2H), 7,85 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,99 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 23,8, 66,6, 110,3, 114,8, 121,8 (q, *J* = 272,6 Hz), 123,5 (q, *J* = 271,1 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,6 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,7 Hz), 130,3,131,9 (q, *J* = 32,9 Hz), 132,2, 133,5 (q, *J* = 33,3 Hz), 135,3, 136,9, 138,4, 174,6, 179,9.

Ejemplo 21

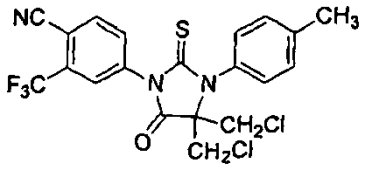
21-1). 3-Cloro-2-clorometil-2-(4-metilfenil)aminopropanonitrilo, 21a

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,27 ml, 2 mmoles) a una mezcla de *p*-toluidina (0,107 g, 1 mmol) y 1,3-dicloroacetona (0,254 g, 2 mmoles). La mezcla de reacción se calentó a 80ºC y se agitó durante 6 h. A la mezcla se añadieron 20 ml de acetato de etilo y luego se lavó con agua (2 x 20 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **21a** (0,192 g, 0,79 mmoles, 79%) como un polvo marrón.

21-2). 4-(4,4-Bisclorometil-5-oxo-2-tioxo-3-(4-metilfenil)imidazolidin-1-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 21b, [RD67]

Una mezcla de **1a** (0,16 g, 0,7 mmoles) y **21a** (0,122 g, 0,5 mmoles) en DMF seca (0,5 ml) se agitó a temperatura

ambiente durante 10 días. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. 2 N (2 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **21b** (0,09 g, 0,19 mmoles, 38%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 2,44 (s, 3H), 3,54 (d, *J* = 11,8 Hz, 2H), 3,93 (d, *J* = 11,8 Hz, 2H), 7,37-7,40 (m, 2H), 7,48-7,51 (m, 2H), 7,79 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,88 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,98 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 21,4, 42,8, 74,3, 110,7, 114,7, 121,7 (q, *J* = 272,6 Hz), 127,2 (q, *J* = *4,7* Hz), 128,8, 131,0, 131,1, 132,4, 133,8 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,5, 136,9, 140,9, 169,5, 182,5.

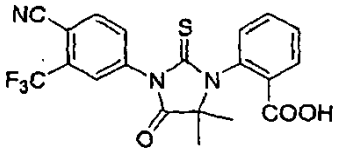
Ejemplo 22

22-1). 1-(4-Metilfenil)aminociclohexanonitrilo, 22a

Se añadió cianuro de sodio (0,245 g, 5 mmoles) a una mezcla de ácido antranílico (0,411 g, 3 mmoles) y acetona (1 ml, 13,6 mmoles) en ácido acético del 90% (3 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y luego se añadieron 50 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera (3 × 30 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 90:10) dando **22a** (0,551 g, 2,7 mmoles, 90%) como un sólido marrón.

22-2). Ácido 2-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]benzoico, 22b, [RD65]

Una mezcla de **1a** (0,114 g, 0,. mmoles) y **22a** (0,103 g, 0,5 mmoles) en DMF seca (0,5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. 2 N (3 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (acetato de etilo:pentano, 2:1) dando **22b** (0,143 g, 0,33 mmoles, 66%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,47 (s, 3H), 1,78 (s, 3H), 7,39 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,63 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H) 7,76-7,82 (m, 2H), 7,90-7,98 (m, 2H), 8,22 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 8,96 (s a, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 20,6, 26,2, 67,6, 110,1, 114,8, 121,9 (q, *J* = 272,6 Hz), 127,2 (q, *J* = 4,7 Hz), 128,9, 131,0, 130,2, 132,5, 133,2 (q, *J* = 33,3 Hz), 133,7, 134,7, 135,4, 135,8, 137,3, 169,8, 175,3, 180,7.

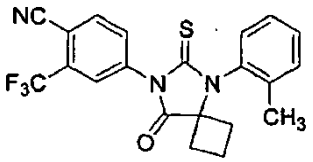
Ejemplo 23

23-1). 1-(2-Metilfenil)aminociclobutanonitrilo, 23a

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,66 ml, 5 mmoles) a la mezcla de *p*-toluidina (0,321 g, 3 mmoles) y ciclobutanona (0,28 g, 4 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h y luego se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano) dando **23a** (0,541 g, 2,91 mmoles, 97%) como un sólido amarillento.

23-2). 4-(8-Oxo-6-tioxo-5-(2-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 23b, [RD71]

Una mezcla de **1a** (0,114 g, 0,5 mmoles) y **23a** (0,093 g, 0,5 mmoles) en DMF seca (0,3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. 2 N (3 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **23b** (0,116 g, 0,28 mmoles, 56%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,63-1,69 (m, 1H), 2,26 (s, 3H), 2,28-2,41 (m, 2H), 2,58-2,76 (m, 3H), 7,21 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,39-7,49 (m, 3H), 7,89 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 8,00 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 14,2, 18,0, 30,7, 32,2, 67,6, 109,9, 114,9, 121,9 (q, *J* = 272,6 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,7 Hz), 127,5, 129,8, 130,2, 131,9, 132,3, 133,4, 133,5 (q, *J* = 34,3 Hz), 135,2, 35,8, 137,1,138,0, 175,3, 178,7.

Ejemplo 24

24-1). 1-Aminociclopentanocarbonitrilo, 24a

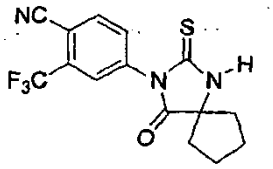
Se burbujeó amoniaco anhidro en una mezcla de ciclopentanona (0,452 g) y cianuro de trimetilsililo (0,66 ml, 5 mmoles). El exceso de amoniaco se sometió a reflujo por un condensador de nieve carbónica-acetona. Después de 1 h de reflujo se dejó que el amoniaco se desgasificara del medio y la mezcla restante se concentró luego a vacío dando **24a** (0,522 g, 4,75 mmoles, 95%) como un líquido incoloro.

24-2). 4-(4-Imino-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 24b

Se añadió trietilamina (0,101 g, 0,1 mmoles) a una disolución de **1a** (0,684 g, 3 mmoles) y **24a** (0,33 g, 3 mmoles) en THF seco (5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 h y luego se concentró dando un residuo marrón que se sometió a cromatografía ultrarrápida (diclorometano/acetona, 93:7) proporcionando **24b** (0,741 g, 2,19 mmoles, 73%).

24-3). 4-(4-Ozo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 24c, [RD77]

Una mezcla de **24b** (0,741 g, 2,19 mmoles) en HCl ac. 2 N (4 ml) y metanol (20 ml) se calentó a reflujo durante 1 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (40 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **24c** (0,72 g, 2,12 mmoles, 97%) como un polvo blanco.

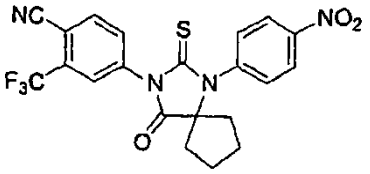


RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,86-190 (m, 2H), 1,96-2,05 (m, 4H), 2,26-2,30 (m, 2H), 7,80 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,92 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H) 8,20 (s a, NH); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 25,3, 38,1, 71,0, 110,1, 114,8, 121,8 (q, *J* = 272,7 Hz), 126,8 (q, *J* = 4,7 Hz), 131,9, 133,6 (q, *J* = 34,3 Hz), 135,3, 136,7, 176,1, 179,8.

Ejemplo 25

25). 4-[1-(4-Nitrofenil)-4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 25a, [RD55]

Una mezcla de **25c** (0,0678 g, 0,2 mmoles), 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno (0,05 g, 0,33 mmoles) y 4-fluoronitrobenceno (0,056 g, 0,4 mmoles) en dimetilformamida (0,5 ml) se dispuso bajo argón en un tubo cerrado y se calentó a 130ºC durante 40 h. La mezcla de reacción se vertió en acetato de etilo (5 ml) y se lavó con agua (2 x 10 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **25a** (0,038 g, 0,084 mmoles, 42%) como un polvo blanco.

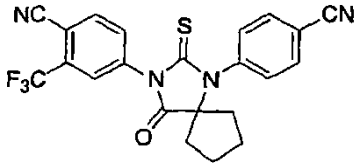


RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,53-1,56 (m, 2H), 1,90-1,93 (m, 2H), 2,14-2,18 (m, 2H), 2,37-2,40 (m, 2H), 7,54-7,57 (m, 2H), 7,85 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,98 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 8,39-8,43 (m, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 25,2, 36,5, 75,3, 110,3, 114,8, 121,8 (q, J = 272,6 Hz), 125,2, 127,0 (q, J = 4,7 Hz), 131,4, 132,1, 133,6 (q, J = 34,3 Hz), 135,3, 136,9, 141,7, 148,1, 175,6, 180,2.

Ejemplo 26

26). 4-[1-(4-Cianofenil)4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 26a, [RD54]

Una mezcla de **24c** (0,0678 g, 0,2 mmoles), 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno (0,061 g, 0,4 mmoles) y 4-fluorocianobenceno (0,048 g, 0,4 mmoles) en dimetilformamida (0,5 ml) se dispuso bajo argón en un tubo cerrado y se calentó a 140ºC durante 5 días. La mezcla de reacción se vertió en acetato de etilo (5 ml) y se lavó con agua (2 × 10 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **26a** (0,023 g, 0,052 mmoles, 26%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,51-1,55 (m, 2H), 1,90-1,93 (m, 2H), 2,12-2,16 (m, 2H), 2,33-2,38 (m, 2H), 7,47-7,50 (m, 2H), 7,81-7,87 (m, 3H), 7,95-7,99 (m, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz), δ 25,2, 36,5, 75,3, 110,3, 113,9, 114,7, 117,5, 121,8 (q, J = 272,6 Hz), 127,0 (q, J = 4,8 Hz), 131,2, 132,1, 133,6 (q, J = 34,3 Hz), 133,8, 135,3, 136,9, 140,0, 175,6, 180,1.

Ejemplo 27

27-1). 1-Metil-4-(4-metilfenilamino)piperidin-4-carbonitrilo, 27a

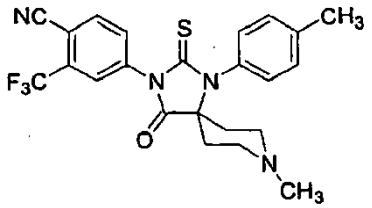
Se añadió cianuro de sodio (0,318 g, 6,5 mmoles) a una mezcla de *p*-toluidina (0,535 g, 5 mmoles) y 1-metil-4 piperidinona (0,678 g, 6 mmoles) en ácido acético del 90% (5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h y luego se añadieron 100 ml de diclorometano. La fase orgánica se lavó con una disolución de NaOH 2 N (2 × 50 ml), se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró y se cromatografió (DCM y luego acetona) para obtener **27a** (0,722 g, 3,15 mmoles, 63%).

27,2). 4-(4-Imino-8-metil-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]dec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 27b

Se añadió trietilamina (0,02, 0,2 mmoles) a una disolución de **1a** (0,228 g, 1 mmol) y **27a** (0,114 g, 0,5 mmoles) en THF seco (2 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 h y luego se concentró dando un residuo oscuro que se sometió a cromatografía ultrarrápida (diclorometano/acetona, 90:10, y luego acetona) proporcionando **27b** (0,059 g, 0,13 mmoles, 26%).

27-3). 4-(8-Metil-4-oxo-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]dec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 27c, [RD53]

Una mezcla de **27b** (0,059 g, 0,13 mmoles) en HCl ac. 2 N (1 ml) y metanol (3 ml) se calentó a reflujo durante 2 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (5 ml) y se extrajo con acetato de etilo (10 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 60:40) dando **27c** (0,055 g, 0,012 mmoles, 92%) como un polvo blanco.

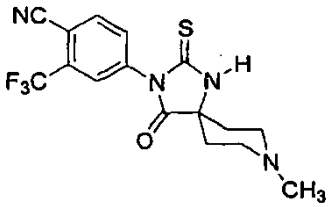


RMN ^{1}H (acetona-d_6, 400 MHz) δ 1,93-1,99 (m, 1H), 2,00-2,04 (m, 1H), 2,18 (s, 3H), 2,24-2,28 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,61-2,72 (m, 4H), 7,18-7-20 (m, 2H), 7,32-7,35 (m, 2H), 8,03 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 8,16 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 8,2 Hz, 1H); RMN ^{13}C (acetona-d_6, 100 MHz) δ 20,3, 31,4, 45,1, 49,8, 65,1, 109,1, 114,8, 122,4 (q, J = 275,1 Hz), 127,7 (q, J = 4,8 Hz), 130,0, 130,5, 131,9 (q, J = 32,6 Hz), 132,6, 133,5, 135,6, 138,3, 139,4, 174,0, 180,6.

Ejemplo 28

4-(8-Metil-4-oxo-2-tioxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]dec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 28a, [RD52]

El Compuesto **28a** se sintetizó según el procedimiento descrito en la patente US 5958936.

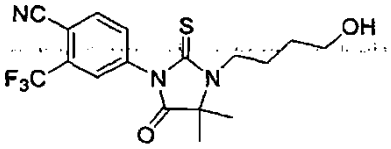


RMN ^{1}H (acetona-d_6, 400 MHz) δ 1,93-2,00 (m, 2H), 2,09-2,16 (m, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,42-2,49 (m, 2H), 2,75-2,80 (m, 2H), 7,97 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 8,11 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,20 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 9,80 (s a, NH); RMN ^{13}C (acetona-d_6, 100 MHz) δ 32,9, 45,4, 50,1, 62,3, 109,1, 114,8, 122,4 (q, J = 271,6 Hz), 127,5 (q, J = 4,8 Hz), 131,8 (q, J = 32,7 Hz), 133,2, 135,6, 135,6, 138,0, 175,2, 180,4.

Ejemplo 29

4-[3-(4-Hidroxibutil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, RU 59063

El Compuesto **RU 59063** se sintetizó según el procedimiento descrito por Teutsch y col. [J. Steroid. Biochem. Molec. Biol. 1994, 48(1), 111-119].



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,55 (s, 6H), 1,58-1,62 (m, 2H), 1,86-1,89 (m, 2H), 2,25 (s a, OH), 3,65-3,71 (m, 4H), 7,74 (dd, J_1 = 8,0 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,92 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,98 (d, J = 8,0 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 23,1, 24,7, 29,6, 43,9, 61,7, 65,2, 109,7, 114,9, 121,9 (q, J = 272,6 Hz), 127,1 (q, J = 4,8 Hz), 132,2, 133,7 (q, J = 34,3 Hz), 135,2, 137,2, 175,3, 178,2.

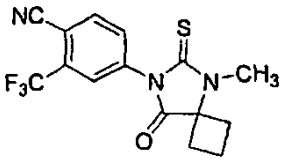
Ejemplo 30

30-1). 1-Metilaminociclobutanocarbonitrilo, 30a

Se burbujeó metilamina en una mezcla refrigerada de ciclobutanona (0,21 g, 3 mmoles) y cianuro de trimetilsililo (0,396 g, 4 mmoles) hasta que se duplicó el volumen. La mezcla se agitó 3 h y luego se concentró a sequedad para obtener **30a** (0,33 g, cuantitativo).

30-2). 4-(5-Metil-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilenzonitrilo, 30b, [RD73]

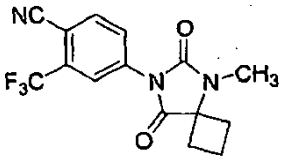
Una mezcla de **1a** (0,114 g, 0,5 mmoles) y **30a** (0,055 g, 0,5 mmoles) en DMF seca (0,2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h. A esta mezcla se añadieron 10 ml de metanol y 2 ml de HCl 2 N. La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 2 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **30b** (0,148 g, 0,435 mmoles, 87%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,95-2,06 (m, 1H), 2,21-2,32 (m, 1H), 2,58-2,71 (m, 4H), 3,44 (s, 3H), 7,77 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 2,0 Hz, 1H), 7,89 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 30,3, 30,4, 66,1, 109,7, 114,9, 121,9 (q, J = 272,6 Hz), 126,9 (q, J = 4,8 Hz), 132,1, 133,2 (q, J = 34,3 Hz), 135,2, 137,3, 175,1, 178,7.

30-3). 4-(5-Metil-6,8-dioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 30c, [RD74]

Se añadió peróxido de hidrógeno (2 ml, 30%) a la mezcla de **30b** (0,068 g, 0,2 mmoles) en ácido acético glacial (3 ml). Después de agitarse a temperatura ambiente durante 10 h, la mezcla de reacción se vertió en acetato de etilo (20 ml) y luego se lavó con agua (2 × 20 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona) dando **30c** (0,057 g, 0,176 mmoles, 88%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,91-2,35 (m, 1H), 2,21-2,31 (m, 1H), 2,50-2,61 (m, 4H), 3,12 (s, 3H), 7,89 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,97 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 2,0 Hz, 1H), 8,12 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H),; RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,9, 25,4, 29,3, 63,4, 108,1, 115,1, 121,6 (q, *J* = 272,6 Hz), 122,9 (q, *J* = 4,8 Hz), 127,9, 133,5 (q, *J* = 34,3 Hz), 135,3, 136,5, 152,7, 174,4.

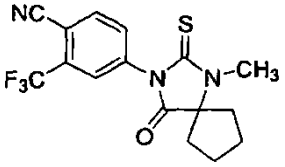
Ejemplo 31

31-1). 1-Metilaminociclopentanocarbonitrilo, 31a

Se burbujeó metilamina en una mezcla refrigerada de ciclopentanona (0,252 g, 3 mmoles) y cianuro de trimetilsililo (0,396 g, 4 mmoles) hasta que se duplicó el volumen. La mezcla se agitó 3 h y luego se concentró a sequedad para obtener **31a** (0,372 g, cuantitativo).

31-2). 4-(1-Metil-4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 31b, [RD75]

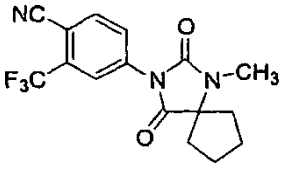
Una mezcla de **1a** (0,114 g, 0,5 mmoles) y **31a** (0,062 g, 0,5 mmoles) en DMF seca (0,2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h. A esta mezcla se añadieron 10 ml de metanol y 2 ml de HCl 2 N. La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 2 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **31b** (0,159 g, 0,45 mmoles, 90%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,91-2,05 (m, 6H), 2,16-2,21 (m, 2H), 3,27 (s, 3H), 7,77 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,89 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,91 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 26,4, 30,3, 35,4, 73,2, 109,5, 114,9, 121,9 (q, *J* = 272,6 Hz), 126,9 (q, *J* = 4,8 Hz), 132,2, 133,2 (q, *J* = 34,3 Hz), 135,2, 137,5, 176,8, 178,5.

31-3). 4-(1-Metil-2,4-dioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 31c, [RD76]

Se añadió peróxido de hidrógeno (2 ml, 30%) a la mezcla de **31b** (0,07 g, 0,2 mmoles) en ácido acético glacial (3 ml). Después de agitarse a temperatura ambiente durante 10 h, la mezcla de reacción se vertió en acetato de etilo (20 ml) y luego se lavó con agua (2 × 20 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona) dando **31c** (0,057 g, 0,168 mmoles, 84%) como un polvo blanco.

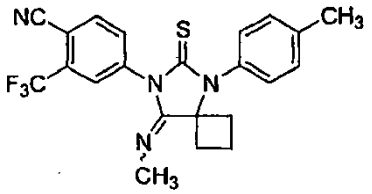


RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,88-1,99 (m, 6H), 2,12-2,17 (m, 2H), 2,98 (s, 3H), 7,88 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,97 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 8,12 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 25,2, 26,5, 34,8, 70,1, 108,0, 115,1, 122,0 (q, *J* = 272,5 Hz), 122,9 (q, *J* = 4,9 Hz), 127,9, 133,5 (q, *J* = 32,9 Hz), 135,3, 136,6, 152,7, 176,1.

Ejemplo 32

4-(8-Metilimino-6-tioxo-5-p-tolil-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo, 32a, [RD90]

Una mezcla de **7b** (0,042 g, 0,1 mmoles), DBU (0,023 g, 0,15 mmoles) y yodometano (0,073 g, 0,5 mmoles) en DMF (0,3 ml) se agitó durante 15 h a temperatura ambiente. Después de evaporarse la DMF, el medio se purificó por cromatografía (diclorometano) dando **32a** (0,011 g, 0,026 mmoles, 26%) como polvo blanco.

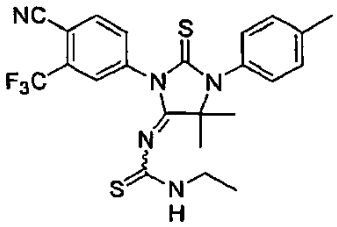


RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,58-1,65 (m, 1H), 2,04-2,13 (m, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,70-2,77 (m, 2H), 3,06-3,10 (m, 2H), 3,58 (s, CH_3-N, isómero principal) [2,70 (s, CH_3-N, isómero secundario)], 7,20-7,34 (m, 4H), 7,75-7,91 (in, 3H); ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 12,6, 21,4, 30,2, 33,7 (35,3 para el otro isómero), 66,9, 109,1, 115,2, 122,1 (q, *J* = 272,5 Hz), 128,5 (q, *J* = 4,9 Hz), 129,8, 130,4, 130,6, 132,8, 133,2 (q, *J* = 32,9 Hz), 133,5, 134,9, 139,8, 157,0, 180,2.

Ejemplo 33

1-[3-(4-Ciano-3-trifluorometil-fenil)-5,5-dimetil-2-tioxo-1-p-tolil-imidazolidin-4-iliden]-3-etil-tiourea, 33a, [RD91]

Una mezcla de **5b** (0,06 g, 0,149 mmoles), etiltioisocianato (0,087 g, 1 mmol) y CuI (0,01 g, 0,05 mmoles) en DMF (0,1 ml) se calentó bajo microondas durante 45 minutos. Luego el medio se lavó con salmuera y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y cromatografió (HPLC, columna de alúmina) dando **33a** (0,054 g, 0,108 mmoles, 72%) como polvo blanco.

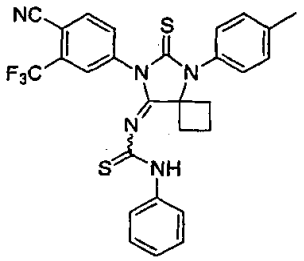


RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,15 (t, *J* = 7,23 Hz, 3H), 1,70 [1,75, isómero secundario] (s, 6H), 2,42 (s, 3H), 3,28-3,39 (m, 2H) [3,15-3,22 (m, 2H), isómero secundario], 6,50 (s a, 1H) [6,93 (s a, 1H), isómero secundario], 7,14-7,18 (m, 2H), 7,32-7,35 (m, 2H), 7,77-7,94 (m, 3H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,31 (13,83 secundario), 21,3, 25,22 (24,89 secundario), 40,31 (40,67 secundario), 68,1, 109,9, 114,9, 122,3 (q, *J* = 272,5 Hz), 127,6 (q, *J* = 4,9 Hz), 129,1, 129,59 (129,55 secundario), 130,52 (130,57 secundario), 132,27 (132,15 secundario), 132,9 (q, *J* = 32,9 Hz), 134,27 (134,15 secundario), 134,9, 135,2, 156,33 (156,06 secundario), 180,28 (180,06 secundario), 187,24 (186,63 secundario).

Ejemplo 34

1-[7-(4-Ciano-3-trifluorometil-fenil)-6-tioxo-5-p-tolil-5,7-diazaespiro[3.4]oct-8-iliden]-3-fenil-tiourea, 34a, [RD92]

Una mezcla de **7b** (0,021 g, 0,05 mmoles) y feniltioisocianato (0,027 g, 0,2 mmoles) en DMF (0,3 ml) se agitó durante 2 días a 60ºC. Después de evaporarse la DMF, el medio se purificó por cromatografía (diclorometano) dando **34a** (0,015 g, 0,028 mmoles, 57%) como polvo blanco.

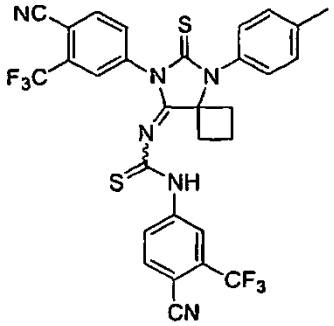


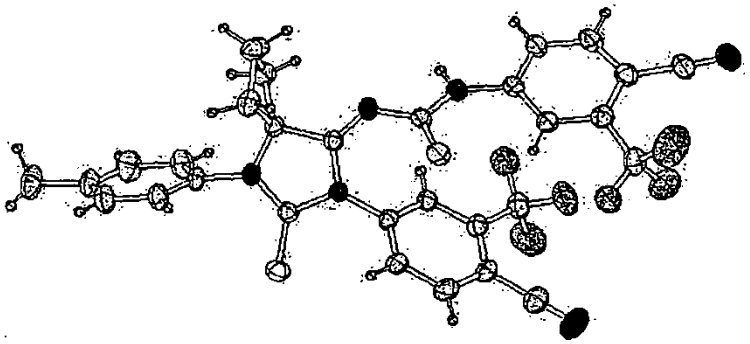
RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,59-1,67 (m, 1H), 2,12-2,22 (m, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,61-2,71 (m, 2H), 2,81-2,87 (m, 2H), 7,18-7,27 (m, 6H), 7,33-7,41 (m, 5H), 7,60-7,62 (m, 1H), 8,40 (s a, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,6, 21,4, 32,3, 69,6, 110,7, 114,8, 121,6, 122,0 (q, *J* = 272,5 Hz), 126,3, 128,0 (q, *J* = 4,9 Hz), 128,9, 129,4, 130,7, 132,5, 133,2 (q, *J* = 32,9 Hz), 134,1, 134,9, 137,7, 139,2, 140,2, 154,8, 180,3, 185,5.

Ejemplo 35

1-(4-Ciano-3-trifluorometil-fenil)-3-[7-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-6-tioxo-5-p-tolil-5,7-diaza-espiro[3.4]oct-8-iliden]-tiourea, 35a, [RD93]

Una mezcla de **1a** (0,502 g, 2,2 mmoles) y **7a** (0,186 g, 1 mmol) en DMF (1 ml) se agitó a temperatura ambiente. Después de 20 horas de agitación, la mezcla se concentró a presión reducida dando un líquido viscoso naranja que se purificó por cromatografía (diclorometano:acetona, 99:1) dando **35a** (0,269 g, 0,42 mmoles, 42%) como un polvo amarillo.





Estructura de rayos X de **35a**

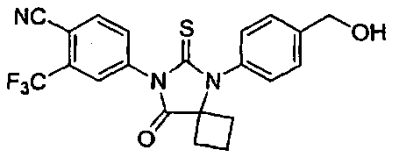
Ejemplo 36

36-1). 1-(4-Hidroximetilfenilamino)-ciclobutanocarbonitrilo, 36a

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,66 ml, 5 mmoles) a una mezcla de acido 4-aminobenzoico (0,492 g, 4 mmoles) y ciclobutanona (0,35 g, 5 mmoles) en diclorometano (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h y luego se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano) dando **36a** (0,677 g, 3,36 mmoles, 84%) como un sólido marrón.

36-2). 4-[8-(4-Hidroximetilfenil)-5-oxo-7-tioxo-6-azaespiro[3.4]oct-6-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 36b, [RD110]

Una mezcla de **1a** (0,342 g, 1,5 mmoles) y **36a** (0,21 g, 1 mmol) en DMF seca (0,5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. A esta mezcla se añadieron metanol (20 ml) y HCl ac. 2 N (5 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 6 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (40 ml) y se extrajo con acetato de etilo (60 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 90:10) dando **36b** (0,296 g, 0,69 mmoles, 69%) como un polvo blanco.

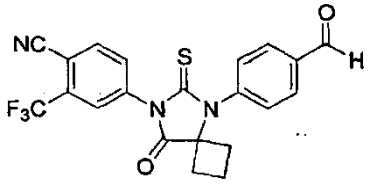


RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,63-1,68 (m, 1H), 2,17-2,26 (m, 1H), 2,52-2,68 (m, 4H), 4,75 (s, 2H), 7,30 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,58 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,88 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,95-7,98 (m, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,5, 64,4, 67,5, 109,9, 114,9, 121,9 (q, *J* = 272,6 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,7 Hz), 128,3, 130,0, 132,2, 133,3, 133,4 (q, *J* = 33,2 Hz), 134,2, 137,2, 142,9, 174,9, 179,9.

Ejemplo 37

4-[5-(4-Formilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 37a, [RD114]

A una mezcla de **36b** (0,303 g, 0,7 mmoles) y peryodinano de Dess-Martin (0,417 g, 1 mmol) en diclorometano (5 ml) se añadió piridina (1,01 g, 1 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente y luego se añadió éter etílico (10 ml) para precipitar el subproducto de la reacción. Después de la filtración y la concentración a presión reducida, la mezcla se purificó por cromatografía (diclorometano:acetona, 95:5) dando **37a** (0,24 g, 0,56 mmoles, 80%) como un polvo blanco.

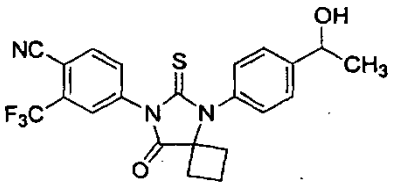


RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,62-1,73 (m, 1H), 2,24-2,30 (m, 1H), 2,50-2,58 (m, 2H), 2,69-2,75 (m, 2H), 7,53 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,85 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,97-7,99 (m, 2H), 8,11 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 10,12 (s, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,7, 67,5, 110,2, 114,8, 121,9 (q, *J* = 272,6 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,7 Hz), 129,1, 131,0, 131,2, 132,2, 133,3 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,3, 136,9, 140,5, 174,5, 179,8, 190,8.

Ejemplo 38

4-{5-[4-(1-Hidroxietil)-fenil]-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il}-2-trifluorometilbenzonitrilo, 38a [RD116]

La mezcla de **37a** (0,043 g, 0,1 mmoles) y THF seco (1 ml) en un matraz secado a la llama se dispuso bajo argón y se enfrió a -78ºC. Entonces se añadió yoduro de metilmagnesio (1,1 ml, 0,1 M). La mezcla se agitó a -78ºC durante 30 minutos y se calentó lentamente hasta temperatura ambiente. El medio se lavó con agua (3 ml) y se extrajo con acetato de etilo (10 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 95:5) dando **38a** (0,037 g, 0,082 mmoles, 82%) como un polvo blanco.



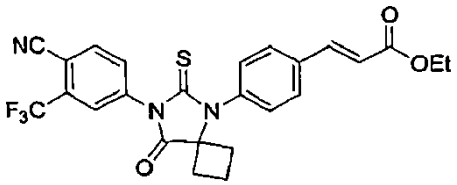
RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,57 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 1,61-1,71 (m, 1H), 2,09 (d, *J* = 3,2 Hz, OH), 2,16-2,28 (m, 1H), 2,52-2,60 (m, 2H), 2,63-2,69 (m, 2H), 5,00 (dd, J_1 = 6,5 Hz, q, J_2 = 3,1 Hz, 1H), 7,29 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,60 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,85 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,95-7,98 (m, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 25,3, 31,5, 67,4, 69,8, 110,0, 114,9, 121,9 (q, *J* = 272,6 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,7 Hz), 127,1, 129,9, 132,2, 133,4 (q, *J* = 33,2 Hz), 134,1, 135,2, 137,1, 147,6, 174,9, 179,9.

Ejemplo 39

Éster etílico de ácido 3-{4-[7-(4-ciano-3-trifloromethilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-acrílico, 39a [RD117]

Una mezcla de **37a** (0,043 g, 0,1 mmoles) y (carbetoxietiliden)trifenilfosforano (0,039 g, 0,12 mmoles) en diclorometano (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 10 horas. El medio se concentró y se cromatografió

(diclorometano) dando **39a** (0,048 g, 0,096 mmoles, 96%) como polvo blanco.

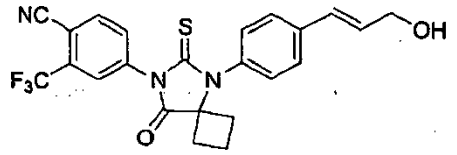


RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,35 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,66-1,70 (m, 1H), 2,19-2,65 (m, 1H), 2,51-2,69 (m, 2H), 2,66-2,72 (m, 2H), 4,28 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H), 6,51 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,72 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,73 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H), 7,85 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,96-7,98 (m, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 14,3, 31,6, 60,8, 67,5, 110,0, 114,9, 120,5, 121,8 (q, *J* = 272,6 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,7 Hz), 129,5, 130,5, 132,2, 133,4 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,2, 136,0, 136,5, 137,0, 142,7, 166,5, 174,7, 179,8.

Ejemplo 40

4-{5-[4-(3-Hidroxipropenil)-fenil]-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il}-2-trifluorometilbenzonitrilo, 40a [RD120]

A una mezcla de **39a** (0,05 g, 0,1 mmoles) en diclorometano (2 ml) a -78ºC se añadió una disolución de hidruro de diisobutilaluminio en THF (0,11 ml, 1M, 0,11 mmoles). La mezcla se agitó a -78ºC durante 3 horas. Después de calentarse hasta temperatura ambiente, la mezcla se lavó con una disolución acuosa de tiosulfato de sodio y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 95:5) dando **40a** (0,040 g, 0,089 mmoles, 89%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,57-1,68 (m, 1H), 2,17-2,39 (m, 1H), 2,55-2,61 (m, 2H), 2,61-2,67 (m, 2H), 4,39 (d, *J* = 4,7 Hz, 2H), 6,47 (dt, J_1 = 16,0 Hz, J_2 = 5,3 Hz, 1H), 6,70 (d, *J* = 16,0 Hz, 1H), 7,29 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,59 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,85 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,96-7,98 (m, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,5, 63,4, 67,4, 110,0, 114,8, 120,5, 121,8 (q, *J* = 272,6 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,7Hz), 127,9, 129,2, 130,1, 131,1, 132,1, 133,4 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,2, 137,1, 138,4, 174,8, 179,9.

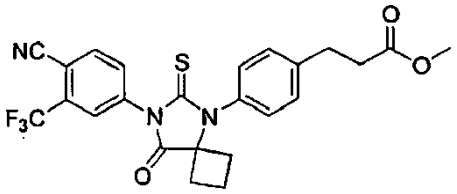
Ejemplo 41

41-1) Ácido 3-[4-(1-cianociclobutilamino)-fenil]-propiónico, 41a (41-1)

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,4 g, 4 mmoles) a una mezcla de ácido 3-(4-aminofenil)-propiónico (0,33 g, 2 mmoles), ciclobutanona (0,35 g, 5 mmoles) y sulfato de sodio (1 g) en 1,4-dioxano (5 ml). La mezcla se agitó durante 15 horas. Después de la filtración para eliminar el sulfato de sodio, el medio se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano:acetona, 50:50) dando **41a** (0,472 g, 1,93 mmoles, 97%) como un sólido amarillento.

41-2). Éster metílico de ácido 3-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-propiónico, 41b (41-2) [RD128]

Una mezcla de **1a** (0,661 g, 2,9 mmoles) y **41a** (0,472 g, 1,93 mmoles) en DMF seca (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. (5 ml, 2 M). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 3 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **41b** (0,582 g, 1,19 mmoles, 62%) como un polvo blanco.



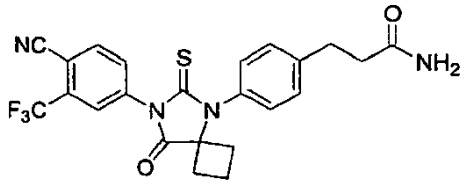
RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,60-1,70 (m, 1H), 2,14-2,26 (m, 1H), 2,51-2,56 (m, 2H), 2,58-2,67 (m, 2H), 2,71 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H), 3,05 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H), 3,69 (s, 3H), 7,23 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,41 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,85 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,98 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 30,5, 31,4, 35,1, 51,8, 67,5, 109,9, 114,9, 121,9 (q, *J* = 272,7 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,7 Hz), 129,9, 130,0, 133,2, 132,3, 133,3 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,7, 137,2, 142,5, 173,1, 174,9, 179,9.

41-3) Ácido 3-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-propiónico, 41c (41-3) [RD132]

Una mezcla de **41b** (0,487 g, 1 mmol) en metanol (10 ml) y disolución de hidróxido sódico (10 ml, 2 M) se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. Se evaporó el metanol. El residuo se ajustó a pH = 5 por HCl ac. (2 M) y luego se extrajo con acetato de etilo (3 × 50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró a sequedad para obtener **41c** (0,472 g, 0,99 mmoles, 99%).

41-4). 3-{4-[7-(4-Ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-propionamida, 41d (41-4) [RD133]

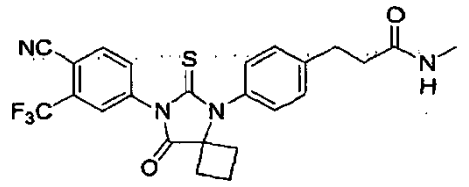
A una suspensión de **41c** (0,094 g, 0,2 mmoles) en THF (10 ml) a -5ºC se añadió cloruro de tionilo (0,019 ml, 0,26 mmoles). El medio se agitó a -5ºC durante una hora. Luego se burbujeó amoniaco en la mezcla. El exceso de amoniaco se condensó por condensador de reflujo a -78ºC durante 30 minutos y luego se dejó que se evaporara. El medio se filtró. El filtrado se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 70:30) dando **41d** (0,09 g, 0,19 mmoles, 95%) como un polvo blanquecino.



RMN ^{1}H (acetona-d_6, 400 MHz) δ 1,52-160 (m, 1H), 2,01-2,09 (m, 1H), 2,49-2,58 (m, 4H), 2,61-2,67 (m, 2H), 2,98 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 6,20 (s a, 1H), 6,78 (s a, 1H), 7,31 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,44 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 8,03 (dd, J_1 = 8,3 *Hz,* J_2 = 1,8 Hz, 1H), 8,15 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 8,22 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H); RMN ^{13}C (acetona-d_6, 100 MHz) δ 13,4, 30,7, 31,2, 36,4, 67,5, 109,0, 114,8, 122,5 (q, *J* = 271,5 Hz), 127,5 (q, *J* = 4,7 Hz), 129,5, 130,0, 131,8 (q, *J* = 32,5 Hz), 133,3, 133,8, 135,6, 138,4, 143,2, 171,6, 174,9, 178,0.

41-5). 3-{4-[7-(4-Ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-N-metil-propionamida, 41e (41-5) [RD134]

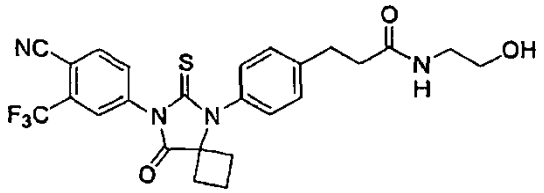
A una suspensión de **41c** (0,094 g, 0,2 mmoles) en THF (10 ml) a -5ºC se añadió cloruro de tionilo (0,019 ml, 0,26 mmoles). El medio se agitó a -5ºC durante una hora. Luego se burbujeó metilamina en la mezcla a -5ºC durante 30 minutos. El medio se filtró. El filtrado se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 75:25) dando **41e** (0,092 g, 0,19 mmoles, 95%) como un polvo blanquecino.



RMN ^{1}H (acetona-d_6, 400 MHz) δ 1,51-1,60 (m, 1H), 2,01-2,11 (m, 1H), 2,48-2,58 (m, 4H), 2,61-2,67 (m, 2H), 2,77 (d, *J* = 4,6 Hz, 3H), 2,98 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 7,03 (s a, NH), 7,33 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,42 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 8,01 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 8,13 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 8,20 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H); RMN ^{13}C (acetona-d_6, 100 MHz) δ 13,4, 25,3, 30,0, 31,2, 37,0, 67,6, 109,0, 114,8, 122,5 (q, *J* = 271,5 Hz), 127,4 (q, *J* = 4,7 Hz), 129,5, 130,0, 131,9 (q, *J* = 32,5 Hz), 133,3, 133,8, 135,6, 138,4, 143,1, 171,7, 175,0,178,0.

41-6). 3-{4-[7-(4-Ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-N-(2-hidroxietil)-propionamida, 41f (41-6) [RD135]

A una suspensión de **41c** (0,094 g, 0,2 mmoles) en THF (10 ml) a -5ºC se añadió cloruro de tionilo (0,019 ml, 0,26 mmoles). El medio se agitó a -5ºC durante una hora. Luego se añadió 2-aminoetanol (0,0183 g, 0,03 mmoles) en la mezcla a -5ºC. Después de agitar 30 minutos adicionales, el medio se filtró. El filtrado se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 50:50) dando **41f** (0,093 g, 0,18 mmoles, 90%) como un polvo blanquecino.



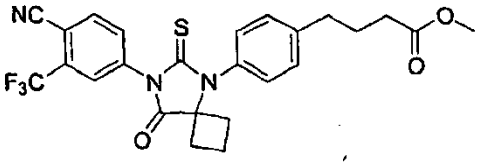
RMN ^{1}H (acetona-d_6, 400 MHz) δ 1,51-161 (m, 1H), 2,01-2,11 (m, 1H), 2,49-2,66 (m, 6H), 2,99 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 3,27 (dd, J_1 = 11,2 Hz, J_2 = 5,6 Hz, 3H), 3,51 (dd, J_1 = 11,2 Hz, J_2 = 5,6 Hz, 2H), 3,87 (s a, OH), 7,20 (s a, NH), 7,33 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,43 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 8,02 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 8,14 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 8,3 Hz, 1H); RMN ^{13}C (acetona-d_6, 100 MHz) δ 13,4, 31,0, 31,2, 37,1, 42,0, 61,2, 67,6, 109,0, 114,8, 122,5 (q, J = 271,5 Hz), 127,4 (q, J = 4,7 Hz), 129,6, 130,0, 131,9 (q, J = 32,5 Hz), 133,3, 133,8, 135,6, 138,4, 143,0, 171,9, 175,0, 178,1.

42-1) Ácido 4-[4-(1-cianociclobutilamino)-fenil]-butírico, 42a

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,50 g, 5 mmoles) a una mezcla de ácido 4-(4-aminofenil)-butírico (0,537 g, 3 mmoles), ciclobutanona (0,35 g, 5 mmoles) y sulfato de sodio (1 g) en 1,4-dioxano (10 ml). La mezcla se agitó durante 15 horas. Después de la filtración para eliminar el sulfato de sodio, el medio se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano:acetona, 50:50) dando **42a** (0,665 g, 2,58 mmoles, 86%) como un sólido amarillento.

42-2). Éster metílico de ácido 4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-butírico, 42b [RD129]

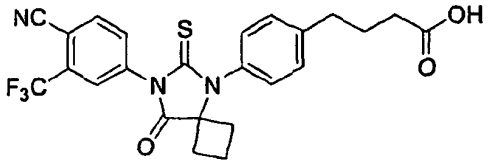
Una mezcla de **1a** (0,547 g, 2,4 mmoles) y **42a** (0,342 g, 1,5 mmoles) en DMF seca (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. (5 ml, 2 M). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 3 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano) dando **42b** (0,594 g, 1,18 mmoles, 79%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,60-1,70 (m, 1H), 1,98-2,07 (m, 2H), 2,14-2,26 (m, 1H), 2,40 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,52-2,60 (m, 2H), 2,62-2,68 (m, 2H), 2,74 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 3,68 (s, 3H), 7,22 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,38 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,86 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,98 (d, J = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 26,1, 31,4, 33,5, 34,8, 51,7, 67,5, 109,9, 114,9, 121,9 (q, J = 272,7 Hz), 127,1 (q, J = 4,7 Hz), 129,7, 130,1, 132,3, 133,0, 133,3 (q, J = 33,2 Hz), 135,2, 137,2, 143,5, 173,8, 175,0, 179,9.

42-3) Ácido 4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-butírico, 42c [RD141]

Una mezcla de **42b** (0,501 g, 1 mmol) en metanol (10 ml) y disolución de hidróxido sódico (10 ml, 2 M) se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. El metanol se evaporó. El residuo se ajustó a pH = 5 por HCl ac. (2 M) y luego se extrajo el medio con acetato de etilo (3 × 50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró a sequedad para obtener **42c** (0,482 g, 0,99 mmoles, 99%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 5.

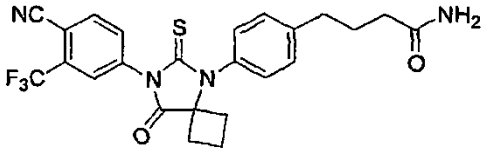


Fórmula 5

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,60-1,70 (m, 1H), 1,98-2,07 (m, 2H), 2,14-2,26 (m, 1H), 2,45 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,51-2,59 (m, 2H), 2,62-2,68 (m, 2H), 2,77 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 7,23 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,40 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,85 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 25,9, 31,4, 33,4, 34,7, 67,5, 109,9, 114,9, 121,9 (q, *J* = 272,6 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,7 Hz), 129,8, 130,1, 132,3, 133,0, 133,4 (q, *J* = 33,1 Hz), 135,2, 137,2, 143,3, 174,9, 178,9, 179,9.

42-4). 4-{4-[7-(4-Ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tiozo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-butiramida, 42d [RD130]

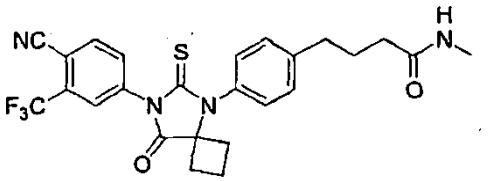
A una suspensión de **42c** (0,097 g, 0,2 mmoles) en THF (10 ml) a -5ºC se añadió cloruro de tionilo (0,019 ml, 0,26 mmoles). El medio se agitó a -5ºC durante una hora. Luego se burbujeó amoniaco en la mezcla. El exceso de amoniaco se condensó por condensador de reflujo a -78ºC durante 30 minutos y luego se dejó que se evaporara. El medio se filtró. El filtrado se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 70:30) dando **42d** (0,093 g, 0,19 mmoles, 95%) como un polvo blanquecino.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,57-1,70 (m, 1H), 2,00-2,08 (m, 2H), 2,16-2,25 (m, 1H), 2,31 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,51-2,59 (m, 2H), 2,62-2,68 (m, 2H), 2,77 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 5,56 (s a, 1H), 5,65 (s a, 1H), 7,22 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,39 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,85 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 26,5, 31,4, 34,8, 35,0, 67,5, 109,9, 114,9, 121,9 (q, *J* = 272,7 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,7 Hz), 129,8, 130,1, 132,2, 133,0, 133,3 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,2, 137,2, 143,5, 173,8, 174,9, 179,9.

42-5). 4-{4-[7-(4-Ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-N-metil-butiramida, 42e [RD131]

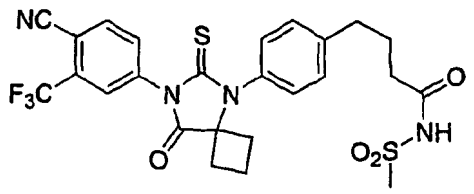
A una suspensión de **42c** (0,097 g, 0,2 mmoles) en THF (10 ml) a -5ºC se añadió cloruro de tionilo (0,019 ml, 0,26 mmoles). El medio se agitó a -5ºC durante una hora. Luego se burbujeó metilamina en la mezcla a -5ºC durante 30 minutos. El medio se filtró. El filtrado se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 75:25) dando **42e** (0,095 g, 0,19 mmoles, 95%) como un polvo blanquecino.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,52-1,64 (m, 1H), 1,94-2,01 (m, 2H), 2,10-2,17 (m, 1H), 2,20 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,46-2,62 (m, 4H), 2,69 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,73 (d, *J* = 4,7 Hz, 3H), 6,09 (s a, 1H), 7,16 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,33 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,82 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,91 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,94 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 26,2, 26,8, 31,4, 35,0, 35,7, 67,5, 109,7, 114,9, 121,9 (q, *J* = 272,7 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,7 Hz), 129,7, 130,0, 132,3, 133,8, 133,3 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,2, 137,3, 143,7, 173,3, 174,9, 179,8.

42-6) *N*-(4-{4-[7-(4-Ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil}-butanoil)-metanosulfonamida, 42f [RD157]

Una mezcla de ácido 4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil}butanoico (42c) (0,049 g, 0,1 mmoles), cloruro de 2,4,6-triclorobenzoílo (0,244 g, 1 mmol), 4-dimetilaminopiridina (0,122 g, 1 mmol) y metanosulfonamida (0,019 g, 0,2 mmoles) en diclorometano se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 80:20) dando *N*-(4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil}-butanoil)-metanosulfonamida (**42f**) [RD157] (0,053 g, 0,094 mmoles, 94%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 8, como un polvo blanco.

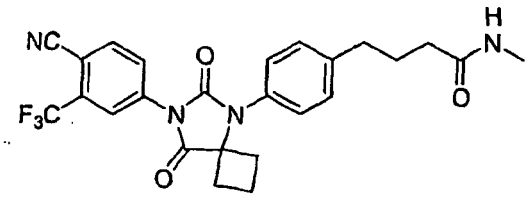


Fórmula 8

RMN ^{1}H (acetona-d_6, 400 MHz) δ 1,51-160 (m, 1H), 1,96-2,11 (m, 3H), 2,49 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,51-2,57 (m, 2H), 2,61-2,67 (m, 2H), 2,75 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 2,94 (s a, 1H), 3,24 (s, 3H), 7,33 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,43 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 8,02 (dd, *J* = 8,3, 1,6 Hz, 1H), 8,02 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 8,21 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H); RMN ^{13}C (acetona-d_6, 100 MHz) δ 13,4, 25,8, 31,2, 34,3, 35,2, 40,6, 67,6, 109,0, 114,8, 122,5 (q, *J* = 271,5 Hz), 127,5 (q, *J* = 4,9 Hz), 129,6, 130,1, 131,9 (q, *J* = 33,6 Hz), 133,3, 133,9, 135,6, 138,4, 143,1, 171,9, 175,0, 180,5.

42-7) *N*-Metil-4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-6,8-dioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}butiramida, 42 g [RD158]

Se añadió gota a gota peróxido de hidrógeno (30%, 0,4) a una disolución de *N*-metil-4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil}butanamida (**42e**) (0,032 g, 0,064 mmoles) en ácido acético glacial (0,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas y luego se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 80:20) dando *N*-metil-4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-6,8-dioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}butiramida (**42g**) [RD158] (0,029 g, 0,06 mmoles, 94%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 9, como un polvo blanco.



Fórmula 9

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,63-1,71 (m, 1H), 1,93-2,04 (m, 2H), 2,18-2,27 (m, 3H), 2,44-2,53 (m, 2H), 2,57-2,65 (m, 2H), 2,70 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,79 (d, *J* = 4,8 Hz, 3H), 5,79 (s a, 1H), 7,21 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,34 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,03 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 8,18 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H).

Ejemplo 43

43-1). Éster *terc*-butílico de ácido 4-(4-aminofenil)-piperazin-1-carboxílico, 43a

Una mezcla de 4-yodoanilina (0,654 g, 3 mmoles), éster *terc*-butílico de ácido piperazin-1-carboxílico (0,67 g, 3,6 mmoles), fosfato de potasio (1,272 g, 6 mmoles), etilenglicol (0,33 ml) y yoduro de cobre (0,03 g, 0,15 mmoles) en 2-propanol (3 ml) se dispuso bajo argón en un tubo cerrado y se calentó a 80ºC durante 30 horas. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, el medio se lavó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 70:30) dando **43a** (0,36 g, 1,3 mmoles, 43%) como un polvo amarillo.

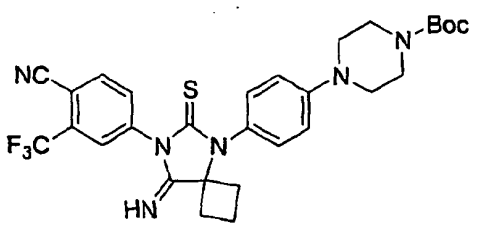
43-2). Éster *terc*-butílico de ácido 4-[4-(1-cianociclobutilamino)fenil]-piperazin-1-carboxílico, 43b

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,3 g, 3 mmoles) a una mezcla de **43a** (0,415 g, 1,5 mmoles), ciclobutanona (0,21 g, 3 mmoles) y sulfato de sodio (1 g) en diclorometano (5 ml). La mezcla se agitó durante 15 horas. Después de la filtración para eliminar el sulfato de sodio, el medio se concentró a vacío para obtener un líquido marrón que se sometió a cromatografía (diclorometano:acetona, 75:25) dando **43b** (0,448 g, 1,26 mmoles, 84%) como un sólido amarillo.

43-3). Éster *terc*-butílico de ácido 4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-imino-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-

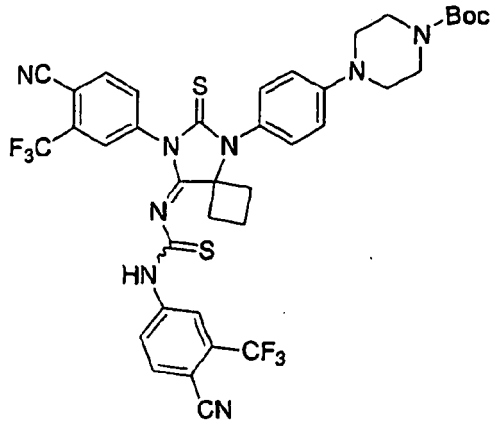
5-il]-fenil}-piperazin-1-carboxílico, 43c [RD139] y éster *terc*-butílico de ácido 4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-(4-ciano-3-trifluorometilfeniltiocarbamoilimino)-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-piperazin-1-carboxílico, 43d [RD140]

Una mezcla de **1a** (0,228 g, 1 mmol) y **43b** (0,472 g, 0,63 mmoles) en DMF seca (1 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 90:10) dando **43c** (0,173 g, 0,296 mmoles, 47%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 10, como un polvo blanquecino, y **43d** (0,169 g, 0,21 mmoles, 33%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 11, como un polvo amarillo.



Fórmula10

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,48, (s, 9H), 1,57-1,67 (m, 1H), 2,01-2,09 (m, 1H), 2,59-2,70 (m, 4H), 3,25 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 3,59 (t, *J* = 4,9 Hz, 4H), 7,02 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,20 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,81 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H).

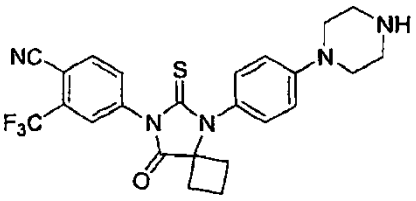


Fórmula 11

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,48, (s, 9H), 1,57-1,64 (m, 1H), 2,01-2,10 (m, 1H), 2,60-2,89 (m, 4H), 3,24 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 3,57 (t, *J* = 4,9 Hz, 4H), 7,02 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,20 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,54-7,98 (m, 4H), 7,97 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H).

43-4). 4-[8-Oxo-5-(4-piperazin-1-il-fenil)-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo, 43e [RD137]

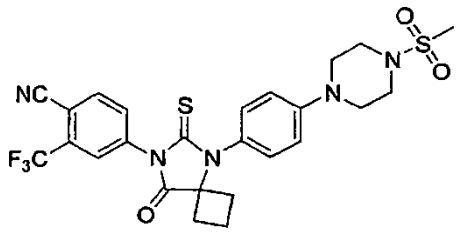
Una mezcla de **43c** (0,117 g, 0,2 mmoles), metanol (5 ml) y HCl ac. (2 ml, 2 M) se sometió a reflujo durante 2 horas. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 50:50 y luego metanol:acetona, 50:50) dando **43e** (0,089 g, 0,184 mmoles, 92%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H (CD_3OD, 400 MHz) δ 1,51-1,61 (m, 1H), 2,01-2,11 (m, 1H), 2,48-2,59 (m, 4H), 2,90-2,97 (m, 4H), 3,25-3,30 (m, 4H), 7,03 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,16 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,86 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 8,02 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,07 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C (CD_3OD, 100 MHz) δ 13,2, 30,9, 45,1, 48,9, 67,5, 108,9, 114,8, 115,9, 122,3 (q, *J* = 271,7 Hz), 126,4, 127,3 (q, *J* = 4,7 Hz), 130,4, 132,2 (q, *J* = 33,2 Hz), 133,0, 135,4, 138,1, 152,1, 175,4, 180,4.

43-5).4-{5-[4-(4-Metanosulfonilpiperazin-1-il)-fenil]-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il}-2-trifluorometilbenzonitrilo, 43f [RD138]

Una mezcla de **43e** (0,049 g, 0,1 mmoles), cloruro de metanosulfonilo (0,012 ml, 0,15 mmoles) y trietilamina (0,15 ml) en diclorometano se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. El medio se filtró. El filtrado se concentró y se cromatografió (diclorometano: acetona, 95:5) dando **43f** (0,042 g, 0,074 mmoles, 74%) como un polvo blanco.



RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,62-1,70 (m, 1H), 2,14-2,23 (m, 1H), 2,51-2,58 (m, 2H), 2,61-2,67 (m, 2H), 2,84 (s, 3H), 3,39 (s, 8H), 7,05 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,20 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,84 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,4, 34,6, 45,7, 48,4, 67,5, 109,8, 114,9, 117,0, 121,9 (q, *J* = 272,7 Hz), 126,8, 127,1 (q, *J* = 4,7 Hz), 130,7, 132,3, 133,4 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,2, 137,3, 151,1, 175,0, 180,2.

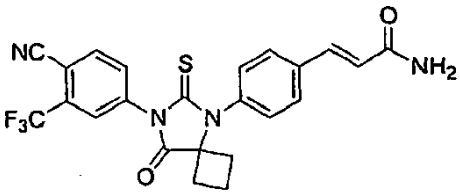
Ejemplo 44

44-1). Ácido 3-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-acrílico, 44a

Una mezcla de **39a** (0,025 g, 0,05 mmoles) en metanol (2 ml) y disolución de hidróxido sódico (2 ml, 2 M) se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. Se evaporó el metanol. El residuo se ajustó a pH = 5 por HCl ac. (2 M) y luego se extrajo con acetato de etilo (3 x50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró a sequedad para obtener **44a** (0,02 g, 0,042 mmoles, 85%).

44-2). 3-{4-[7-(4-Ciano-3-trifluorometil-fenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-acrilamida, 44b [RD119]

A una suspensión de **44b** (0,02 g, 0,042 mmoles) en THF (1 ml) a -5ºC se añadió cloruro de tionilo (0,007 ml, 0,1 mmoles). El medio se agitó a -5ºC durante una hora. Luego se burbujeó amoniaco en la mezcla. El exceso de amoniaco se condensó por condensador de reflujo a -78ºC durante 30 minutos y luego se dejó que se evaporara. El medio se filtró. El filtrado se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 70:30) dando **44b** (0,014 g, 0,03 mmoles, 71%) como un polvo blanquecino.



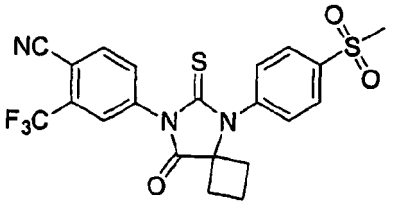
RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz) δ 1,49-1,52 (m, 1H), 1,88-1,93 (m, 1H), 2,37-2,46 (m, 2H), 2,57-2,62 (m, 2H), 6,66 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 7,16 (s a, 1H), 7,43 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,47 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 7,58 (s a, 1H), 8,03 (dd, J_1 = 8,3 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 8,23 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 8,34 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H).

Ejemplo 45 [RD145]

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,4 g, 4 mmoles) a una mezcla de clorhidrato de 4-metanosulfonilfenilamina (0,415 g, 2 mmoles), ciclobutanona (0,28 g, 4 mmoles) y sulfato de sodio (1 g) en DMF (3 ml). La mezcla se agitó durante 15 horas a 120ºC. Después de la filtración para eliminar el sulfato de sodio, el filtrado se lavó con salmuera y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 90:10) dando 1-(4-metanosulfonilfenilamino)ciclobutanocarbonitrilo (**45a**) (0,116 g, 0,44

mmoles, 22%) como un sólido amarillento. También se recuperó 4-metanosulfonilfenilamina (0,201 g, 1,17 mmoles, 59%).

Una mezcla de 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo (**1a**) (0,0,141 g, 0,62 mmoles) y 1-(4-metanosulfonilfenilamino)ciclobutanocarbonitrilo (**45a**) (0,11 g, 0,42 mmoles) en DMF seca (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. 2 N (5 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 3 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 97:3) dando 4-[5-(4-metanosulfonilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo (45b) [RD145] (0,031 g, 0,065 mmoles, 15%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 14, como un polvo blanco.



Fórmula 14

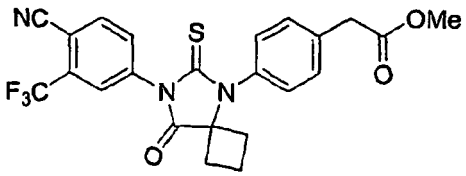
RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,63-1,72 (m, 1H), 2,21-2,28 (m, 1H), 2,46-2,54 (m, 2H), 2,68, 2,74 (m, 2H), 3,16 (s, 3H), 7,57 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,85 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,98 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,17 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,6, 31,8, 44,4, 67,5, 110,2, 114,8, 122,4 (q, *J* = 271,5 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,9 Hz), 129,4, 131,4, 132,1, 133,6 (q, *J* = 33,3 Hz), 135,3, 136,8, 140,3, 141,8, 174,4, 179,9.

Ejemplo 46

Se añadió gota a gota cianuro de trimetilsililo (0,69 g, 7 mmoles) a una mezcla de ácido 4-aminofenilacético (0,755 g, 5 mmoles) y ciclobutanona (0,49 g, 7 mmoles) en dioxano (20 ml). La mezcla se agitó durante 8 horas a 80ºC. La mezcla se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 60:40) dando ácido [4-(1-cianociclobutilamino)fenil]acético (**46a**) (1,138 g, 4,95 mmoles, 99%) como un sólido blanco.

46-1). RD146

Una mezcla de 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo (**1a**) (0,638 g, 2,8 mmoles) y ácido [4-(1-cianociclobutilamino)fenil]acético (**46a**) (0,46 g, 2,0 mmoles) en DMF (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. A esta mezcla se añadieron metanol (20 ml) y HCl ac. 2 N (10 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 1 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano puro y luego diclorometano:acetona, 95:5) dando éster metílico de ácido {4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil}acético (**46b**) [RD146] (0,532 g, 1,124 mmoles, 56%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 15, como un polvo blanco.

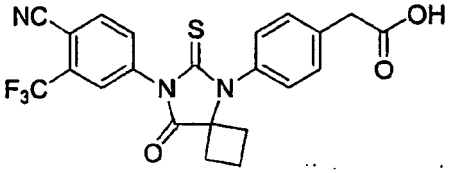


Fórmula 15

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,60-1,69 (m, 1H), 2,15-2,25 (m, 1H), 2,50-2,58 (m, 2H), 2,61-2,66 (m 2H), 3,72 (s a, 5H), 7,27 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,50 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,84 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 7,94 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,4, 44,7, 52,3, 67,4, 109,9, 114,9, 122,0 (q, *J* = 272,5 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,9 Hz), 130,0, 131,1, 132,3, 133,0 (q, *J* = 33,3 Hz), 134,1, 135,2, 135,9, 137,2, 171,4, 174,9, 179,9.

46-2). RD147

Una mezcla de éster metílico de ácido {4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil}acético (**46b**) (0,095 g, 0,2 mmoles) y una disolución de hidróxido sódico (1 ml, 2 M) en metanol (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se evaporó el metanol. El residuo se ajustó a pH 5 por HCl ac. 2 M y luego la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 × 10 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró a sequedad para obtener ácido {4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil} acético (46c) [**RD147**] (0,087 g, 0,19 mmoles, 95%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 16.

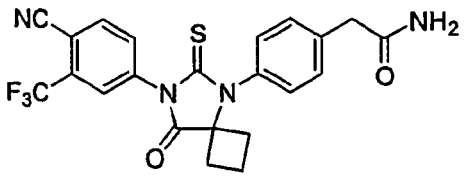


Fórmula 16

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,60-1,69 (m, 1H), 2,15-2,25 (m, 1H), 2,50-2,64 (m, 4H), 3,73 (s, 2H), 7,26 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,51 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,84 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,96 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,4, 40,2, 40,8, 67,4, 109,9, 114,9, 122,0 (q, *J* = 272,5 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,9 Hz), 129,9, 131,2, 132,3, 133,3 (q, *J* = 33,3 Hz), 133,9, 135,2, 136,1, 137,2, 174,1, 174,9, 179,9.

46-3). RD4148

Se añadió gota a gota cloruro de tionilo (0,238 g, 2 mmoles) a una mezcla de ácido {4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil}acético (**46c**) (0,357 g, 0,777 mmoles) en THF (5 ml) enfriado a 0ºC. La mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se burbujeó amoniaco en la mezcla. El exceso amoniaco se condensó por un condensador de reflujo a -78ºC durante 30 minutos y luego se dejó que se evaporara. El medio se filtró y el filtrado se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 70:30) dando 2-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil}acetamida (**46d**) **[RD148]** (0,345 g, 0,75 mmoles, 97%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 17, como un polvo blanquecino.

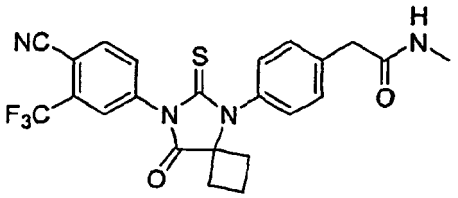


Fórmula 17

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,62-1,66 (m, 1H), 2,18,2,23 (m, 1H), 2,49-2,55 (m, 2H), 2,61-2,66 (m, 2H), 3,63 (s, 2H), 5,91 (s a, 1H), 6,10 (s a, 1H), 7,27 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,50 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,83 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,96 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,5, 42,5, 67,4, 109,9, 114,9, 121,9 (q, *J* = 272,4 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,9 Hz), 130,2, 131,1, 132,2, 133,3 (q, *J* = 33,3 Hz), 134,1, 135,2, 136,8, 137,2, 172,8, 174,8, 180,0.

46-4). RD149

Se añadió gota a gota cloruro de tionilo (0,238 g, 2 mmoles) a una mezcla de ácido {4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil}acético (**46c**) (0,357 g, 0,777 mmoles) en THF (5 ml) enfriado a 0ºC. La mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se añadió metilamina (0,5 ml) a la mezcla. La mezcla se agitó durante 2 horas adicionales. El medio se filtró y el filtrado se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 80:20) dando *N*-metil-2-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil}acetamida (**46e**) [RD149] (0,348 g, 0,738 mmoles, 95%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 18, como un polvo blanquecino.



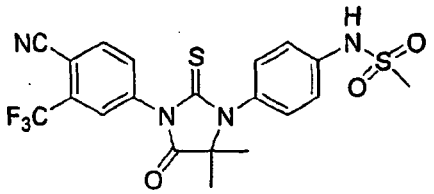
Fórmula 18

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,61-1,70 (m, 1H), 2,17-2,31 (m, 1H), 2,50-2,56 (m, 2H), 2,61-2,68 (m, 2H), 2,82 (d, *J* = 4,8 Hz, 3H), 3,62 (s, 2H), 7,27 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,50 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,84 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,96 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 26,6, 31,5, 43,1, 67,4, 110,0, 114,9, 122,0 (q, *J* = 272,5 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,9 Hz), 130,2, 131,0, 132,2, 133,3 (q, *J* = 33,3 Hz), 134,1, 135,2, 137,0, 137,1, 170,1, 174,8, 179,9.

Ejemplo 47

***N*-{4-[3-(4-Ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxo-imidazolidin-1-il]fenil}metanosulfonamida (47a) [RD150]**

Una mezcla de 4-[3-(4-aminofenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo (**2d**) (0,02 g, 0,05 mmoles), cloruro de metanosulfonilo (0,009 g, 0,075 mmoles) y piridina (0,006 g, 0,075 mmoles) en diclorometano (1 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. El medio se lavó con agua (2 ml) y se extrajo con acetato de etilo (5 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (HPLC, columna de alúmina) dando *N*-{4-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-4,5-dimetil-4-oxo-2-tioxo-imidazolidin-1-il]fenil}metanosulfonamida (**47a**) [RD150] (0,009 g, 0,018 mmoles, 36%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 2, como un polvo blanco.



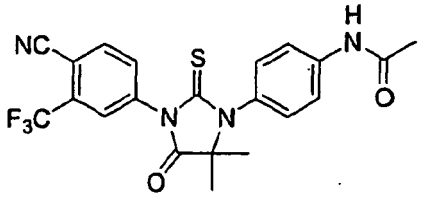
Fórmula 2

RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz) δ 1,46 (s, 6H), 3,07 (s, 3H), 7,32 (s, 4H), 8,05 (dd, *J* = 8,2, 1,2 Hz, 1H), 8,26 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 8,35 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 10,08 (s a, 1H); RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz) δ 23,3, 40,4, 66,7, 109,0, 115,5, 119,9, 122,6 (q, *J* = 272,2 Hz), 128,5 (q, *J* = 4,7 Hz), 130,8, 131,2, 131,5 (q, *J* = 32,3 Hz), 134,5, 136,6, 138,6, 139,5, 175,4, 180,4.

Ejemplo 48

***N*-{4-[3-(4-Ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxo-imidazolidin-1-il]fenil}acetamida, 48a, [RD151]**

Una mezcla de 4-[3-(4-aminofenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo (**2d**) [RD9] (0,008 g, 0,02 mmoles), cloruro de acetilo (0,004 g, 0,03 mmoles) y trietilamina (0,003 g, 0,03 mmoles) en diclorometano (1 ml) se agitó a 0ºC durante 2 horas. La mezcla se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 90:10) dando *N*-{4-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxo-imidazolidin-1-il]fenil}acetamida, **48a**, [RD151] (0,007 g, 0,016 mmoles, 80%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 3, como un polvo blanco.



Fórmula 3

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,58 (s, 6H), 2,21 (s, 3H), 7,24 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,48 (s a, 1H), 7,69 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,83 (dd, *J* = 8,2, 1,9 Hz, 1H), 7,96 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$,100 MHz) δ 23,6, 53,4, 66,4, 110,0, 114,8, 120,7, 122,6 (q, *J* = 272,2 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,7 Hz), 129,1, 130,2, 132,2, 133,5 (q, *J* = 32,3 Hz), 135,2, 137,1, 139,2, 168,1, 175,0, 180,0.

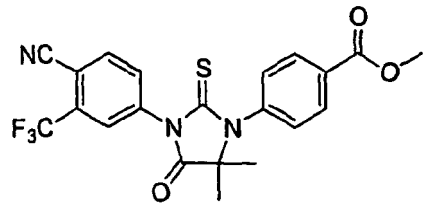
Ejemplo 49

Se añadió lentamente ácido sulfúrico concentrado a una mezcla de acido 4-aminobenzoico (4 g, 29,2 mmoles) en metanol enfriado a 0ºC. Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. La mezcla se lavó con una disolución saturada de bicarbonato sódico y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró a vacío para obtener éster metílico de ácido 4-aminobenzoico (**49a**) (4,22 g, 27,9 mmoles, 96%) como un sólido blanquecino.

Una mezcla de éster metílico de ácido 4-aminobenzoico (0,32 g, 2,12 mmoles), cianhidrina de acetona (3 ml) y sulfato de sodio (1 g) se sometió a reflujo durante 15 horas. Después de la filtración para eliminar el sulfato de sodio, el filtrado se lavó con salmuera y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 60:40) dando éster metílico de ácido 4-[(cianodimetilmetil)-amino]-benzoico (**49b**) (0,398 g, 1,95 mmoles, 92%) como un sólido blanco.

49-1). RD152

Una mezcla de 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo (**1a**) (0,228 g, 1 mmol) y éster metílico de ácido 4-[(cianodimetilmetil)-amino]-benzoico (**49b**) (0,14 g, 0,64 mmoles) en DMF (2 ml) se calentó bajo irradiación por microondas a 60ºC durante 12 horas. A esta mezcla se añadieron metanol (6 ml) y HCl ac. 2 N (2 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 4 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano; diclorometano:acetona, 75:25) dando éster metílico de ácido 4-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxo-imidazolidin-1-il]benzoico (**49c**) **[RD152]** (0,18 g, 0,4 mmoles, 63%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 19, como un polvo blanco.



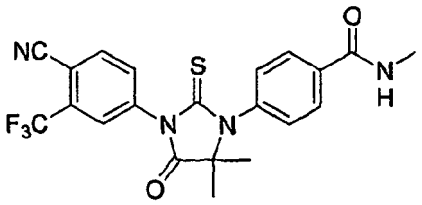
Fórmula 19

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,60 (s, 6H), 3,95 (s, 3H), 7,40 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,84 (dd, *J* = 8,2, 1,9 Hz, 1H), 7,96 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 8,21 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 23,8, 52,6, 66,6, 110,3, 114,8, 121,9 (q, *J* = 272,7 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,7 Hz), 129,8, 131,2, 131,4, 132,2, 133,5 (q, *J* = 32,3 Hz), 135,3, 137,0, 139,2, 165,9, 174,7, 179,7.

49-2). RD153

Una mezcla de éster metílico de ácido 4-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxo-imidazolidin-1-il]benzoico (49c) (0,02 g, 0,0435 mmoles) y metilamina (2 ml destilados de su disolución acuosa del 40%) se mantuvo a -20ºC durante 15 horas. Después de la evaporación de la metilamina, la mezcla se purificó por cromatografía (diclorometano:acetona, 80:20) dando 4-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxo-

imidazolidin-1-il]-N-metilbenzamida (**49d**) **[RD153]** (0,01 g, 0,0224, 51%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 20. También se recuperó el éster éster metílico de ácido 4-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxo-imidazolidin-1-il]benzoico (**49c**) (0,08 g, 0,0179 mmoles, 41%).



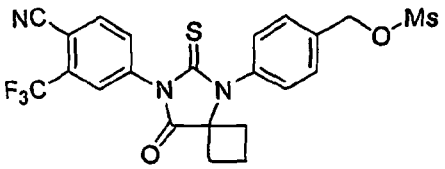
Fórmula 20

RMN ^{1}H (acetona-d_6, 400 MHz) δ 1,60 (s, 6H), 2,90 (d, *J* = 4,6 Hz, 3H), 7,48 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,80 (s a, 1H), 7,99 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 8,06 (dd, *J* = 8,2, 1,8 Hz, 1H), 8,18 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 8,25 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); RMN ^{13}C (acetona-d_6, 100 MHz) δ 23,8, 54,0, 66,5, 110,3, 114,8, 121,9 (q, *J* = 272,7 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,7 Hz), 128,2, 129,9, 133,5 (q, *J* = 32,3 Hz), 135,7, 135,8, 138,2, 138,3, 139,2, 166,0, 174,9, 179,7.

Ejemplo 50

50-1). RD154

Una mezcla de 4-[8-(4-hidroximetilfenil)-5-oxo-7-tioxo-6-azaespiro[3.4]oct-6-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo (36b) (0,086 g, 0,2 mmoles) y anhídrido de metanosulfonilo (0,07 g, 0,4 mmoles) en diclorometano (1 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 98:2) dando éster 4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenilmetílico de ácido metanosulfónico (**50a**) [RD154] (0,089 g, 0,175 mmoles, 88%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 22, como un polvo blanco.

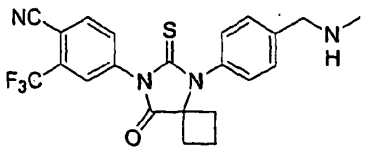


Fórmula 22

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,63-1,70 (m, 1H), 2,17-2,31 (m, 1H), 2,48-2,57 (m, 2H), 2,64-2,70 (m, 2H), 3,04 (s, 3H), 5,30 (s, 2H), 7,37 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,62 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,84 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,98 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H).

50-2). RD155

Se burbujeó metilamina (0,5 ml) en una mezcla de éster 4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenilmetílico de ácido metanosulfónico (**50a**) (0,059 g, 0,115 mmoles) en THF (3 ml) enfriada a -78ºC. Después de 1 hora de reacción a -78ºC, la mezcla se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 95:5; metanol) dando 4-[5-(4-metilaminometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo (**50b**) **[RD155]** (0,042 g, 0,095 mmoles, 82%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 23, como un polvo blanco.

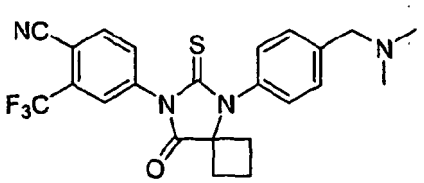


Fórmula 23

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,57-1,70 (m, 1H), 2,16-2,24 (m, 1H), 2,52 (s, 3H), 2,53-2,57 (m, 2H), 2,60-2,68 (m, 2H), 3,85 (s, 2H), 7,27 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,55 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,84 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,5, 36,4, 55,6, 67,4, 110,0, 114,9, 122,0 (q, *J* = 272,5 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,9 Hz), 129,1, 129,6, 129,8, 132,2, 133,3 (q, *J* = 33,3 Hz), 133,7, 135,2, 142,4, 174,8, 179,9.

50-3). RD156

Una mezcla de éster 4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenilmetílico de ácido metanosulfónico (**50a**) (0,02 g, 0,039 mmoles) y dimetilamina (0,5 ml; destilados de su disolución acuosa del 40%) en THF (1 ml) se agitó durante 2 horas a -78ºC. La mezcla se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 95:5; acetona) dando 4-[5-(4-dimetilaminometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo (**50c**) **[RD156]** (0,017 g, 0,037 mmoles, 95%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 24, como un polvo blanco.



Fórmula 24

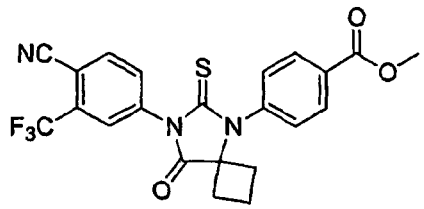
RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,57-1,70 (m, 1H), 2,16-2,24 (m, 1H), 2,32 (s, 6H), 2,55-2,60 (m, 2H), 2,63-2,69 (m, 2H), 3,53 (s, 2H), 7,27 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,55 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,84 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,5, 45,5, 63,7, 67,4, 110,0, 114,9, 122,0 (q, *J* = 272,5 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,9 Hz), 129,1, 129,6, 129,8, 132,2, 133,3 (q, *J* = 33,3 Hz), 133,7, 135,2, 142,4, 174,8, 179,9.

Ejemplo 51

Se añadió cianuro de sodio (0,245 g, 5 mmoles) a una mezcla de acido 4-aminobenzoico (0,274 g, 2 mmoles) y ciclobutanona (0,21 g, 3 mmoles) en ácido acético del 90% (4,5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla se lavó con HCl acuoso (pH 2) y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a sequedad a vacío dando ácido 4-(1-cianociclobutilamino)benzoico (**51a**) (0,426 g, 1,97 mmoles, 99%) como un sólido blanco.

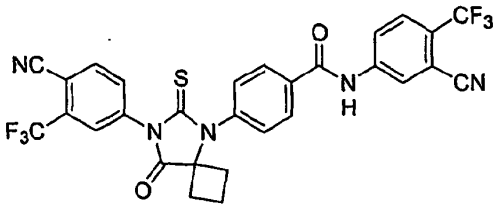
51-1). RD159 y RD160

Una mezcla de 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo (**1a**) (0,51 g, 2,22 mmoles) y ácido 4-(1-cianociclobutilamino)benzoico (**51a**) (0,343 g, 1,59 mmoles) en DMF (2 ml) se calentó bajo irradiación por microondas a 60ºC y se agitó durante 16 horas. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. 2 M (5 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 12 horas. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 95:5) dando éster metílico de ácido 4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-benzoico (**51b**) **[RD159]** (0,09 g, 0,196 mmoles, 12%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 25, como un polvo blanco y N-(3-ciano-4-trifluorometilfenil)-4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]benzamida (**51b'**) **[RD160]** (0,28 g, 0,45 nmoles, 29%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 26, como un polvo blanco.



´Fórmula 25

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,67-1,71 (m, 1H), 2,20-2,26 (m, 1H), 2,49-2,57 (m, 2H), 2,66-2,73 (m, 2H), 3,96 (s, 3H), 7,42 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,85 (dd, *J* = 8,3, 1,7 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,98 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 8,26 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,7, 31,6, 52,6, 67,5, 110,1, 114,8, 121,8 (q, *J* = 272,7 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,7 Hz), 130,2, 131,4, 131,5, 132,2, 133,4 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,2, 137,0, 139,2, 165,9, 174,6, 179,7.

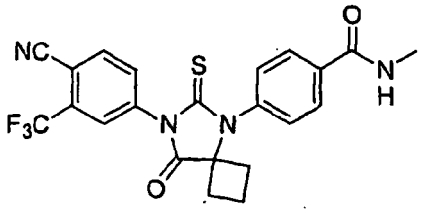


Fórmula 26

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,67-1,71 (m, 1H), 2,18-2,26 (m, 1H), 2,50-2,58 (m, 2H), 2,68-2,74 (m, 2H), 7,47 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,83 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,84 (dd, *J* = 8,3, 1,9 Hz, 1H), 7,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 9,97 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,10-8,14 (m, 3H), 8,21 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,88, (s, 1H).

51-2). RD161

Una mezcla de éster metílico de ácido 4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-benzoico (**51b**) (0,046 g, 0,1 mmoles) y metilamina (1 ml destilado de su disolución acuosa del 40%) se mantuvo a -20ºC durante 15 horas. Después de la evaporación de la metilamina, la mezcla se purificó por cromatografía (diclorometano:acetona, 80:20) dando *N*-metil-4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]benzamida (**51c**) **[RD161]** (0,041 g, 0,085, 84%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 27.



Fórmula 27

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,63-1,70 (m, 1H), 2,18-2,26 (m, 1H), 2,48-2,56 (m, 2H), 2,65-2,71 (m, 2H), 3,05 (d, *J* = 4,8 Hz, 3H), 6,32 (s a, 1H), 7,39 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,84 (dd, *J* = 8,3, 1,7 Hz, 1H), 7,95-7,98 (m, 4H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,6, 27,0, 31,6, 67,4, 110,3, 114,8, 121,8 (q, *J* = 272,7 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,7 Hz), 128,7, 130,3, 132,1, 133,3 (q, *J* = 33,2 Hz), 135,2, 136,3, 137,0, 137,8, 167,2, 174,6, 179,8.

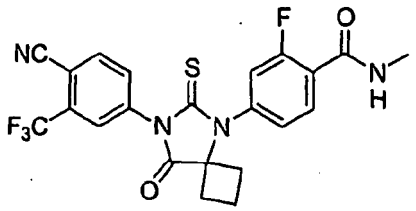
Ejemplo 52 [RD162]

Se añadió lentamente cloruro de tionilo (2,38 g, 20 mmoles) a una disolución de ácido 2-fluoro-4-nitrobenzoico (2,97 g, 16 mmoles) en DMF (50 ml) enfriada a -5ºC. La mezcla se agitó durante 1 hora adicional a -5ºC. Se añadió metilamina (0,62 g, 20 mmoles; recientemente destilada de su disolución acuosa del 40%) al medio de reacción. La segunda mezcla se agitó durante 1 hora adicional. Se añadió acetato de etilo (300 ml) a la mezcla, que se lavó con salmuera (3 × 150 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró dando *N*-metil-2-fluoro-4-nitrobenzamida (52a) (2,89 g, 14,6 mmoles, 91%) como un sólido amarillo. RMN ^{1}H (acetona-d_6, 400 MHz) δ 3,05 (d, *J* = 4,3 Hz, 3H), 6,31 (dd, *J* = 13,5, 2,1 Hz, 1H), 6,40 (dd, *J* = 8,5, 2,1 Hz, 1H), 7,64 (dd, *J* = 8,6, 8,6 Hz, 1H).

Una mezcla de *N*-metil-2-fluoro-4-nitrobenzamida (52a) (2,89 g, 14,6 mmoles) y hierro (5,04 g, 90 mmoles) en acetato de etilo (40 ml) y ácido acético (40 ml) se sometió a reflujo durante 1 hora. Las partículas sólidas se separaron por filtración. El filtrado se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 95:5) dando *N*-metil-2-fluoro-4-aminobenzamida (**52b**) (2,3 g, 13,7 mmoles, 94%) como un sólido blanquecino. RMN ^{1}H (acetona-d_6, 400 MHz) δ 2,86 (d, *J* = 4,3 Hz, 3H), 5,50 (s a, 2H), 6,37 (dd, J_1 = 14,7 Hz, J_2 = 2,1 Hz, 1H), 6,50 (dd, *J* = 8,5, 2,1 Hz, 1H), 7,06 (s a, 1H), 7,68 (dd, *J* = 8,8 8,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C (acetona-d_6, 100 MHz) δ 25,8, 99,6 (d, *J* = 13,8 Hz), 109,2 (d, *J* = 12,8 Hz), 110,0 (d, *J* = 1,6 Hz), 132,5 (d, *J* = 4,8 Hz), 153 ,5 (d, *J* = 12,6 Hz), 162,2 (d, *J* = 242,5 Hz), 164,0 (d, *J* = 3,1 Hz).

Se añadió cianuro de sodio (1,47 g, 30 mmoles) a una mezcla de N-metil-2-fluoro-4-aminobenzamida (**52b**) (1,68 g, 10 mmoles) y ciclobutanona (1,4 g, 20 mmoles) en ácido acético del 90% (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a 80ºC durante 24 horas. La mezcla se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a sequedad a vacío. El sólido se lavó con una mezcla 50:50 de éter etílico y hexano (10 ml) para eliminar la cianhidrina de ciclobutanona proporcionando después de la filtración *N*-metil-4-(1-cianociclobutilamino)-2-fluorobenzamida (**52c**) (2,19 g, 8,87 mmoles, 89%). RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,87-1,95 (m, 1H), 2,16-2,27 (m, 1H), 2,35-2,41 (m, 2H), 2,76-2,83 (m, 2H), 2,97 (d, *J* = 4,4 Hz, 3H), 4,68 (s a, 1H), 6,29 (dd, *J* = 14,3, 1,8 Hz, 1H), 6,48 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 6,75 (q, *J* = 4,4 Hz, 1H), 7,90 (dd, *J* = 8,3, 8,3 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 15,7, 26,7, 33,9, 49,4, 100,2 (d, *J* = 29,5 Hz), 110,6, 111,0 (d, *J* = 11,8 Hz), 133,1 (d, *J* = *4,2* Hz), 148,4 (d, *J* = 12,0 Hz), 162,0 (d, *J* = 244,1 Hz), 164,4 (d, *J* = 3 ,6 Hz).

Una mezcla de 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo (**1a**) (2,16 g, 9,47 mmoles) y *N*-metil-4-(1-cianociclobutilamino)-2-fluorobenzamida (**52c**) (1,303 g, 5,27 mmoles) en DMF (20 ml) se calentó bajo irradiación por microondas a 80ºC durante 16 horas. A esta mezcla se añadió metanol (50 ml) y HCl ac. 2 N (20 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 3 horas. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (150 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 95:5) dando *N*-metil-4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-2-fluorobenzamida (**52d**) **[RD162]** (1,43 g, 3,0 mmoles, 57%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 28, como un polvo amarillo.



Fórmula 28

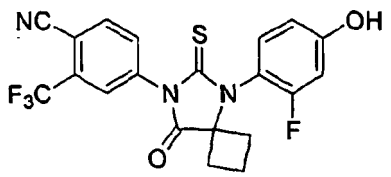
RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,65-1,75 (m, 1H), 2,18-2,30 (m, 1H), 2,49-2,57 (m, 2H), 2,67-2,73 (m, 2H), 3,07 (d, *J* = 4,4 Hz, 3H), 6,75 (q, *J* = 4,6 Hz, 1H), 7,17 (dd, *J* = 11,5, 1,9 Hz, 1H), 7,26 (dd, *J* = 8,3, 1,9 Hz, 1H), 7,83 (dd, *J* = 8,2, 2,0 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H) 8,30 (dd, *J* = 8,3, 8,3 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,6, 27,0, 31,7, 67,4, 110,3, 114,8, 118,2, 118,5, 121,9 (q, *J* = 272,7 Hz), 126,6, 127,0 (q, *J* = 4,8 Hz), 132,1, 133,3 (q, *J* = 33,2 Hz), 133,8, 135,3, 136,8, 139,1 (d, *J* = 10,9 Hz), 160,5 (d, *J* = 249,1 Hz), 162,7 (d, *J* = 3,3 Hz), 174,3, 179,8; RMN ^{19}F ($CDCl_3$, 100 MHz) δ -111,13, -62,58.

Ejemplo 53 [RD163]

Una mezcla de 4-nitro-3-fluorofenol (0,314 g, 2 mmoles) y hierro (0,56 g, 10 mmoles) en acetato de etilo (4 ml) y ácido acético (2 ml) se sometió a reflujo durante 3 horas. Las partículas sólidas se separaron por filtración. El filtrado se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró dando 4-amino-3-fluorofenol (**53a**) (0,25 g, 19,6 mmoles, 98%) como un sólido marrón. RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 6,48-6,58 (m, 2H), 6,61-6,70 (m, 1H), 7,87 (s a, 3H).

Se añadió cianuro de sodio (0,194 g, 4 mmoles) a una mezcla de 4-amino-3-fluorofenol (0,29 g, 2,28 mmoles) y ciclobutanona (0,175 g, 2,5 mmoles) en ácido acético del 90% (3 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. El medio se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 90:10) dando 1-(2-fluoro-4-hidroxifenilamino)-ciclobutanocarbonitrilo (**53b**) (0,271 g, 1,31 mmoles, 58%) como un sólido blanquecino. RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 2,13-2,20 (m, 2H), 2,36-2,41 (m, 2H), 2,70,2,75 (m, 2H), 4,00 (s a, 1H), 6,46 (s a, 1H), 6,52 (ddd, J_1 = 2,2 Hz, J_2 = 0,65 Hz, J_3 = 0,22 Hz, 1H), 6,57 (d, *J* = 2,3 Hz), 6,62 (dd, J_1 = 3,0 Hz, J_2 = 0,67 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 15,7, 34,1, 50,9, 104,0 (d, *J* = 21,9 Hz), 111,0 (d, *J* = 3,4 Hz), 115,8 (d, **J** = 3,7 Hz), 121,8, 125,3 (d, *J* = 12,3 Hz), 150,1 (d, *J* = 10,4 Hz), 152,8 (d, *J* = 239,3 Hz).

Una mezcla de 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo (**1a**) (0,228 g, 1,0 mmoles) y 1-(2-fluoro-4-hidroxifenilamino)-ciclobutanocarbonitrilo (**53b**) (0,145 g, 0,7 mmoles) en DMF seca (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. A esta mezcla se añadieron metanol (10 ml) y HCl ac. 2 M (2 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano puro y luego diclorometano:acetona, 90:10) dando 4-[5-(2-fluoro-4-hidroxifenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo (**53c**) [RD163] (0,17 g, 0,39 mmoles, 56%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 29, como un polvo blanquecino.



Fórmula 29

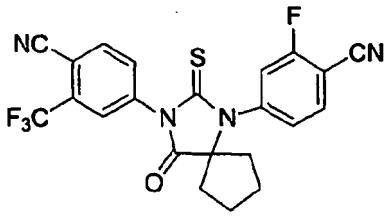
RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,66-1,75 (m, 1H), 2,18-2,28 (m, 1H), 2,42-2,50 (m, 1H), 2,54-2,67 (m, 3H), 6,76 (d, *J* = 2,2 Hz, 2H), 7,15 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H), 7,35 (s a, 1H), 7,87 (dd, J_1 = 8,2 Hz, J_2 = 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,98 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 13,8, 31,0, 67,6, 104,8 (d, *J* = 22,3 Hz), 109,8, 112,6, 114,4 (d, *J* = 13,1 Hz), 114,9, 121,9 (q, *J* = 272,8 Hz), 127,1 (q, *J* = 4,8 Hz), 132,0, 132,3, 133,5 (q, *J* = 33,3 Hz), 135,3, 137,2, 159,3 (d, *J* = 11,2 Hz), 159,6 (d, *J* = 249,7 Hz), 175,2, 180,5; RMN ^{19}F ($CDCl_3$, 100 MHz) δ -117,5, -62,49.

Ejemplo 54 [RD168]

Una mezcla de 4-nitro-2-fluorobenzonitrilo (1,83 g, 5 mmoles) y hierro (1,68 g, 6 mmoles) en una mezcla de ácido acético (40 ml) y acetato de etilo (40 ml) se sometió a reflujo durante 2 horas. El sólido se separó por filtración y el filtrado se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 95:5) dando 4-amino-2-fluorobenzonitrilo (**54a**) (0,653 g, 4,8 mmoles, 96%).

Se añadió cianuro de sodio (0,74 g, 15 mmoles) a una mezcla de 4-amino-2-fluorobenzonitrilo (1,36 g, 10 mmoles) y ciclopentanona (1,26 g, 15 mmoles) en ácido acético del 90% (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y luego el medio se calentó a 80ºC y se agitó durante 5 horas adicionales. El medio se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 97:3) dando 4-(1-cianociclopentilamino)-2-fluorobenzonitrilo (**54b**) (2,07 g, 9,03 mmoles, 90%) como un sólido amarillo. RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,69-1,91 (m, 4H), 2,13-2,18 (m, 2H), 2,37-2,42 (m, 2H), 5,08 (s a, 1H), 6,54-6,62 (m, 2H), 7,39 (t, *J* = 7,3 H_2, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 23,7, 39,8, 56,8, 89,6 (d, *J* = 15,8 Hz), 101,2 (d, *J* = 23,8 Hz), 110,9, 115,2, 120,8, 134,1 (d, *J* = 2,4 Hz), 150,3 (d, *J* = 11,2 Hz), 164,5 (d, *J* = 254,1 Hz).

Una mezcla de 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo (**1a**) (0,171 g, 0,75 mmoles) y 4-(1-cianociclopentilamino)-2-fluorobenzonitrilo (**54b**) (0,115 g, 0,5 mmoles) en DMF seca (1 ml) se calentó bajo irradiación por microondas a 60ºC durante 48 horas. A esta mezcla se añadieron metanol (3 ml) y HCl ac. 2 M (2 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (15 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 98:2) dando 4-[1-(4-ciano-3-fluorofenil)-4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo (**54c**) **[RD168]** (0,017 g, 0,037 mmoles, 7%), cuya estructura se ilustra en la Fórmula 30, como un polvo blanquecino.

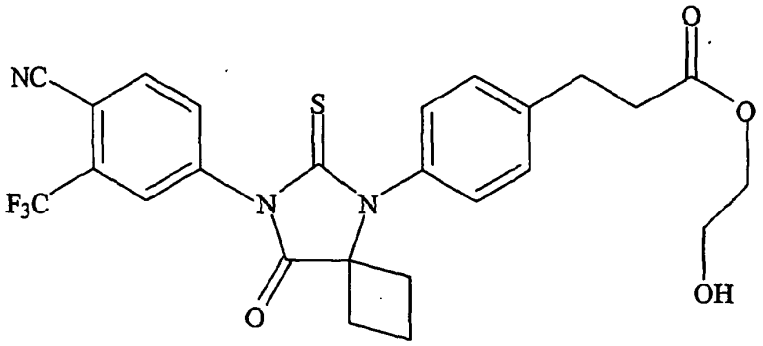


Fórmula 30

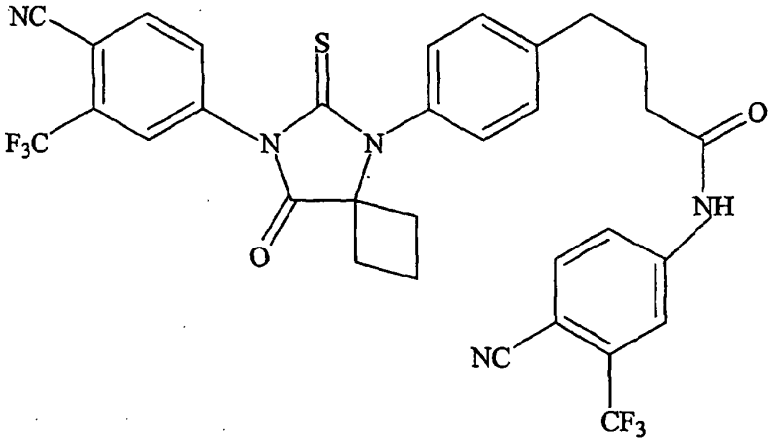
RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1,53-1,63 (m, 2H), 1,89-2,00 (m, 2H), 2,09-2,16 (m, 2H), 2,35-2,42 (m, 2H), 7,27-7,37 (m, 2H), 7,78-7,90 (m, 3H), 7,95 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H); RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 25,2, 36,5, 75,3, 103,2 (d, *J* = 15,3 Hz), 110,4, 112,8, 114,7, 119,2 (d, *J* = 20,7 Hz), 121,9 (q, *J* = 272,8 Hz), 127,0 (q, *J* = 4,8 Hz), 132,1, 133,7 (q, *J* = 33,2 Hz), 134,6, 135,3, 135,8, 136,8, 141,8 (d, *J* = 9,5 Hz), 163,4 (d, *J* = 261,5 Hz), 175,3, 180,1.

Ejemplo 55 [RD136 y RD142]

Pueden sintetizar compuestos de diarilhidantoína adicionales, que incluyen los siguientes compuestos ilustrados en las Fórmulas 35 y 36.



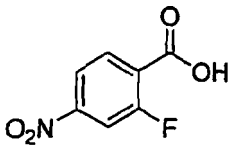
Fórmula 35 [RD136]



Fórmula 36 [RD142]

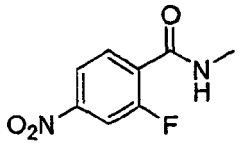
Ejemplo 56 [RD162']

A continuación, reacciones sensibles al aire o a la humedad se realizaron bajo atmósfera de argón usando material de vidrio secado en horno y técnicas de jeringuilla/septos convencionales. Las reacciones se monitorizaron con una placa de CCF de SiO_2 bajo luz UV (254 nm), seguido de visualización con una disolución de tinción de *p*-anisaldehído o ninhidrina. La cromatografía en columna se realizó sobre gel de sílice 60. Los espectros de RMN ^{1}H se midieron a 400 MHz en $CDCl_3$, a menos que se declare lo contrario, y los datos se informaron del siguiente modo en ppm (δ) a partir del patrón interno (TMS, 0,0 ppm): desplazamiento químico (multiplicidad, integración, constante de acoplamiento en Hz).



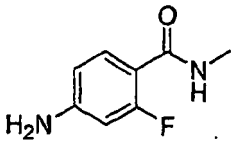
Fórmula 37

Se disolvió ácido peryódico (1,69 g, 7,41 mmoles) en acetonitrilo (25 ml) por agitación vigorosa y luego se disolvió trióxido de cromo (0,16 g, 1,60 mmoles) en la disolución. Se añadió 2-fluoro-4-nitrotolueno (0,33 g, 2,13 mmoles) a la disolución anterior con agitación. Se formó un precipitado blanco inmediatamente con reacción exotérmica. Después de 1 h de agitación, el sobrenadante líquido de la mezcla de reacción se decantó a un matraz y el disolvente se eliminó mediante evaporación. Los residuos se extrajeron con cloruro de metileno (2 × 30 ml) y agua (2 × 30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró dando ácido 2-fluoro-4-nitrobenzoico (Fórmula 37) (0,32 mg, 81%) como un sólido blanco. RMN ^{1}H δ 8,06 (ddd, 1 H, *J* = 9,9, 2,2 y 0,3), 8,13 (ddd, 1 H, *J* = 8,6, 2,2 y 0,9), 8,25 (ddd, 1 H, *J* = *8,6,* 7,0 y 0,3).



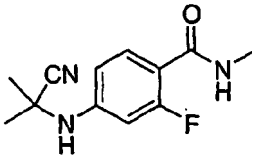
Fórmula 38

Se añadió lentamente cloruro de tionilo (0,15 g, 1,30 mmoles) a una disolución de ácido 2-fluoro-4-nitrobenzoico (Fórmula 37) (0,20 g, 1,10 mmoles) en DMF (5 ml) enfriada a -5ºC. La mezcla se agitó durante 1 hora adicional a -5ºC. Se añadió metilamina en exceso (recientemente destilada de su disolución acuosa del 40%) al medio de reacción. La segunda mezcla se agitó durante 1 hora adicional. Se añadió acetato de etilo (50 ml) a la mezcla, que se lavó con salmuera (2 × 50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró dando *N*-metil-2-fluoro-4-nitrobenzamida (Fórmula 38) (0,18 g, 85%) como un sólido amarillento. RMN ^{1}H (acetona-d_6) δ 3,05 (d, 3 H, *J* = 4,3), 6,31 (dd, 1 H, *J* = 13,5 y 2,1), 6,40 (dd, 1H, *J* = 8,6 y 2,1), 7,64 (dd, 1H, *J* = 8,6 y 8,6).



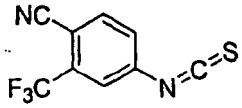
Fórmula 39

Una mezcla de *N*-metil-2-fluoro-4-nitrobenzamida (Fórmula 38) (0,18 g, 0,91 mmoles) y hierro (0,31 g, 5,60 mmoles) en acetato de etilo (5 ml) y ácido acético (5 ml) se sometió a reflujo durante 1 h. Las partículas sólidas se separaron por filtración. El filtrado se lavó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de SiO_2 (diclorometano:acetona, 95:5) dando *N*-metil-2-fluoro-4-aminobenzamida (Fórmula 39) (0,14 g, 92%) como un sólido blanquecino. RMN ^{1}H (acetona-d_6) δ 2,86 (d, 3 H, *J* = 4,3), 5,50 (s a, 2 H), 6,37 (dd, 1 H, *J* = 14,7 y 2,1), 6,50 (dd, 1H, *J* = 8,6 y 2,1), 7,06 (s a, 1H), 7,68 (dd, 1H, *J* = 8,8 y 8,8).



Fórmula 40

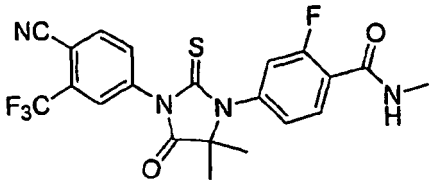
Una mezcla de *N*-metil-2-fluoro-4-aminobenzamida (Fórmula 39) (96 mg, 0,57 mmoles), cianhidrina de acetona (0,3 ml, 3,14 mmoles) y sulfato de magnesio (50 mg) se calentó a 80ºC y se agitó durante 12 h. Al medio se añadió acetato de etilo (25 ml) y luego se lavó con agua (2 × 25 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de SiO_2 (diclorometano:acetona, 95:5) dando *N*-metil-2-fluoro-4-(1,1-dimetilcianometil)-aminobenzamida (Fórmula 40) (101 mg, 75%) como un sólido blanco. RMN ^{1}H δ 1,74 (s, 6 H), 2,98 (dd, 3 H, *J* = 4,8 y 1,1), 6,58 (dd, 1 H, *J* = 14,6 y 2,3), 6,63 (dd, 1 H, *J* = 8,7 y 2,3), 6,66 (s a, 1 H), 7,94 (dd, 1 H, *J* = 8,7 y 8,7).



Fórmula 41

Se añadió 4-amino-2-trifluorometilbenzonitrilo (2,23 g, 12 mmoles) en porciones durante 15 min a una mezcla heterogénea bien agitada de tiofosgeno (1 ml, 13 mmoles) en agua (22 ml) a temperatura ambiente. La agitación continuó durante 1 h adicional. El medio de reacción se extrajo con cloroformo (3 × 15 ml). La fase orgánica combinada se secó sobre $MgSO_4$ y se evaporó a sequedad a presión reducida dando el producto deseado 4-

isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo (Fórmula 41) como un sólido parduzco y se usó como tal para la siguiente etapa (2,72 g, 11,9 mmoles, 99%). RMN ^{1}H δ 7,49 (dd, 1 H, *J* = 8,3 y 2,1), 7,59 (d, 1 H, *J* = 2,1), 7,84 (d, 1 H, *J* = 8,3).

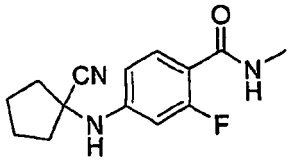


RD162' (Fórmula 42)

56-1). RD162'

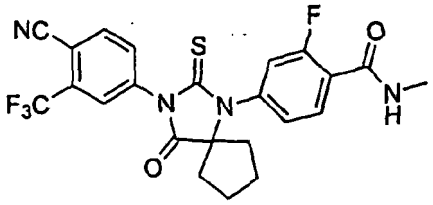
Una mezcla de *N*-metil-2-fluoro-4-(1,1-dimetil-cianometil)-aminobenzamida (Fórmula 40) (30 mg, 0,13 mmoles) y 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo (Fórmula 41) (58 mg, 0,26 mmoles) en DMF (1 ml) se calentó bajo irradiación por microondas a 100ºC durante 11 horas. A esta mezcla se añadió metanol (20 ml) y HCl ac. 1 N (5 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 1,5 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de SiO_2 (diclorometano:acetona, 95:5) dando **RD162'** (Fórmula 42) (15 mg, 25%) como un cristal incoloro. RMN ^{1}H δ 1,61 (s, 6 H), 3,07 (d, 3 H, *J* = 4,1), 6,71 (m, 1 H), 7,15 (dd, 1H, *J* = 11,7 y 2,0), 7,24 (dd, 1H, *J* = 8,4 y 2,0), 7,83 (dd, 1H, *J* = 8,2 y 2,1), 7,95 (d, 1H, *J* = 2,1), 7,99 (d, 1H, *J* = 8,2), 8,28 (dd, 1H, *J* = 8,4 y 8,4).

Ejemplo 57



Fórmula 43

Una mezcla de *N*-metil-2-fluoro-4-aminobenzamida (Fórmula 39) (62 mg, 0,37 mmoles), ciclopentanona (0,07 ml, 0,74 mmoles) y TMSCN (0,1 ml, 0,74 mmoles) se calentó a 80ºC y se agitó durante 13 h. Al medio se añadió acetato de etilo (2 × 20 ml) y luego se lavó con agua (2 × 20 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano:acetona, 95:5) dando *N*-metil 2-fluoro-4-(1-cianociclopentil)aminobenzamida (Fórmula 43) (61 mg, 63%) como un sólido blanco. RMN ^{1}H δ 7,95 (dd, 1H, *J* = 8,8, 8,8 Hz), 6,65 (s a, 1H), 6,59 (dd, 1H, *J* = 8,8, 2,3 Hz), 6,50 (dd, 1H, *J* = 14,6, 2,3 Hz), 4,60 (s a, 1H), 2,99 (dd, 3H, *J* = 4,8, 1,1 Hz), 2,36-2,45 (m, 2H), 2,10-2,18 (m, 2H), 1,82-1,95 (m, 4H).

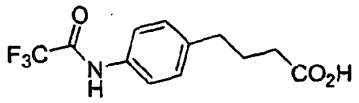


RD162" (Fórmula 44)

57-1). RD162"

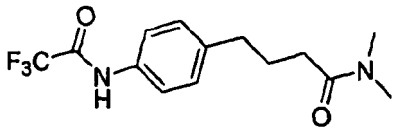
Una mezcla de *N*-metil-2-fluoro-4-(1-cianociclopentil)aminobenzamida (Fórmula 43) (57 mg, 0,22 mmoles) y 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo (0,15 g, 0,65 mmoles) en DMF (3 ml) se calentó bajo irradiación por microondas (recipiente abierto) a 130ºC durante 12 horas. A esta mezcla se añadió metanol (20 ml) y HCl ac. 1 N (5 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 1,5 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano:acetona, 95:5) dando 4-(3-(4-ciano-3-(trifluorometil)fenil)-4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]nonan-1-il)-2-fluoro-*N*-metilbenzamida, **RD162"** (Fórmula 44) (8 mg, 7%) como un sólido amarillento pálido. RMN ^{1}H δ 8,28 (dd, 1H, *J* = 8,4, 8,4 Hz), 7,98 (d, 1H, *J* = 8,3 Hz), 7,96 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz), 7,84 (dd, 1H, *J* = 8,3, 1,8 Hz), 7,27 (dd, 1H, *J* = 8,4, 1,8 Hz), 7,17 (dd, 1H, *J* = 11,7, 1,8 Hz), 6,67-6,77 (m, 1H), 3,07 (d, 3H, *J* = 4,3 Hz), 2,32-2,41 (m, 2H), 2,13-2,21 (m, 2H), 1,85-1,96 (m, 2H), 1,49-1,59 (m, 2H).

Ejemplo 58



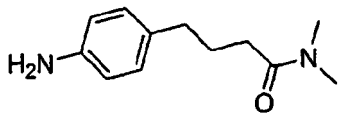
Fórmula 45

Se añadió anhídrido trifluoroacético (0,85 ml, 6,14 mmoles) a una disolución de ácido 4-(4-aminofenil)butírico (0,5 g, 2,79 mmoles) en cloroformo (10 ml) a 0ºC. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La mezcla se repartió entre cloroformo (20 ml) y agua (20 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano:acetona, 9:1) dando ácido 4-[4-(2,2,2-trifluoroacetilamino)fenil]butanoico (Fórmula 45) (0,53 g, 69%). RMN ^{1}H δ 7,81 (s a, 1H), 7,48 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz), 7,22 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz), 2,68 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,38 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,96 (p, *2H, J* = 7,5 Hz).



Fórmula 46

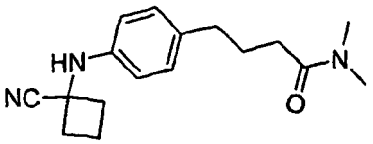
Se añadió lentamente cloruro de tionilo (71 mg, 0,60 mmoles) a una disolución de ácido 4-[4-(2,2,2-trifluoroacetilamino)fenil]butanoico (Fórmula 45) (0,15 g, 0,55 mmoles) en DMF (5 ml) enfriada a -5ºC. La mezcla se agitó durante 1 hora adicional a -5ºC. Se añadió dimetilamina en exceso (recientemente destilada de su disolución acuosa del 40%) al medio de reacción. La segunda mezcla se agitó durante 1 hora adicional. Se añadió acetato de etilo (50 ml) a la mezcla, que se lavó con salmuera (2 × 50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró dando *N,N*-dimetil-4-[4-(2,2,2-trifluoroacetilamino)fenil]butanamida (Fórmula 46) (0,17 g, cuant.) como un sólido amarillento. RMN ^{1}H δ 9,70 (s a, 1H), 7,55 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz), 7,11 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz), 2,91 (s, 3H), 2,89 (s, 3H), 2,60 (t, 2H, *J* = 7,7 Hz), 2,27 (t, 2H, J = 7,7 Hz), 1,89 (p, 2H, *J* = 7,7 Hz).



Fórmula 47

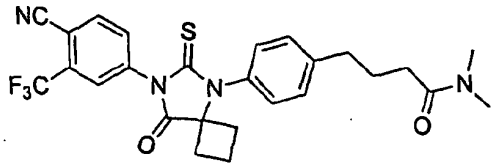
Se añadió disolución de NaOH 1 N (3 ml) a una disolución de *N,N*-dimetil-4-[4-(2,2,2-trifluoroacetilamino)fenil]butanamida (Fórmula 46) (0,17 g, 0,55 mmoles) en metanol (2 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 14 horas. La mezcla se repartió entre cloroformo (25 ml) y agua (25 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice

(diclorometano:acetona, 9:1) dando *N,N*-dimetil-4-(4-aminofenil)butanamida (Fórmula 47) (74 mg, 66%) como un sólido blanco. RMN ^{1}H δ 6,97 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz), 6,61 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz), 3,56 (s a, 2H), 2,92 (s, 6 H), 2,56 (t, 2H, *J* = 7,7 Hz), 2,28 (t, 2H, *J* = 7,7 Hz), 1,91 (p, 2H, *J* = 7,7 Hz).



Fórmula 48

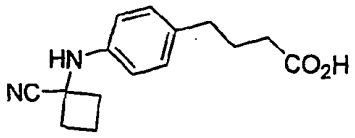
Una mezcla de *N,N*-dimetil-4-(4-aminofenil)butanamida (Fórmula 47) (74 mg, 0,36 mmoles), ciclobutanona (54 mg, 0,78 mmoles) y TMSCN (77 mg, 0,78 mmoles) se calentó a 80ºC y se agitó durante 15 h. Al medio se añadió acetato de etilo (2 × 20 ml) y luego se lavó con agua (2 x 20 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano:acetona, 9:1) dando *N,N*-dimetil-4-[4-(1-cianociclobutilamino)fenil]butanamida (Fórmula 48) (58 mg, 57%) como un sólido blanco. RMN ^{1}H δ 7,07 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz), 6,59 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz), 3,94 (s a, 1H), 2,94 (s, 3H), 2,93 (s, 3H), 2,75-2,83 (m, 2H), 2,60 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz), 2,33-2,42 (m, 2H), 2,30 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz), 2,11-2,28 (m, 2H), 1,93 (p, 2H, *J* = 7,6 Hz).



RD169 Fórmula 49

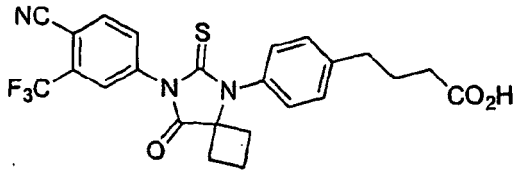
Una mezcla de *N,N*-dimetil-[4-(1-cianociclobutilamino)fenil]butanamida (Fórmula 48) (58 mg, 0,20 mmoles) y 4-isotiocianato-2-trifluorometilbenzonitrilo (74 mg, 0,32 mmoles) en DMF (3 ml) se calentó a reflujo durante 2 horas. A esta mezcla se añadió metanol (20 ml) y HCl ac. 1 N (5 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 1,5 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano:acetona, 95:5) dando 4-(4-(7-(4-ciano-3-(trifluorometil)fenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]octan-5-il)fenil)-*N,N*-dimetilbutanamida, **RD169** (Fórmula 49) (44 mg, 42%) como un sólido amarillento pálido. RMN ^{1}H δ 7,98 (s, 1H), 7,97 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz), 7,86 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz), 7,42 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz), 7,22 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz), 2,99 (s, 3H), 2,96 (s, 3H), 2,78 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,62-2,70 (m, 2H), 2,52-2,63 (m, 2H), 2,40 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,15-2,30 (m, 1H), 2,04 (p, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,62-1,73 (m, 1H).

Ejemplo 59



Fórmula 50

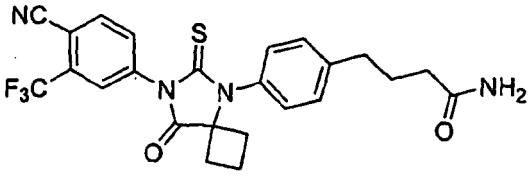
Una mezcla de ácido 4-(4-aminofenil)butírico (0,20 g, 1,12 mmoles), ciclobutanona (0,17 ml, 2,23 mmoles) y TMSCN (0,30 ml, 2,23 mmoles) se calentó a 80ºC y se agitó durante 13 h. Al medio se añadió acetato de etilo (2 × 30 ml) y luego se lavó con agua (2 x 30 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano:acetona, 9:1) dando ácido 4-[4-(1-cianociclobutilamino)fenil]butanoico (Fórmula 50) (0,21 g, 74%) como un sólido amarillento. RMN ^{1}H δ 7,06 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz), 6,59 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz), 2,75-2,83 (m, 2H), 2,59 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,37 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,33-2,42 (m, 2H), 2,11-2,28 (m, 2H), 1,92 (p, 2H, *J* = 7,5 Hz).



Fórmula 51

Una mezcla de ácido 4-[4-(1-cianociclobutilamino)fenil]butanoico (Fórmula 50) (0,21 g, 0,83 mmoles) y 4-isotiocianato-2-trifluorobenzonitrilo (0,25 g, 1,08 mmoles) en tolueno (10 ml) se calentó a reflujo durante 1 horas. A esta mezcla se añadió HCl ac. 1 N (5 ml). La segunda mezcla se sometió a reflujo durante 1,5 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano:acetona, 95:5) dando ácido 4-(4-(7-(4-ciano-3-(trifluorometil)fenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]octan-5-il)fenil)butanoico, **RD141** (Fórmula 51) (60 mg, 15%). RMN ^{1}H δ 7,98 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz), 7,97 (d, 1H, *J* = 8,3 Hz), 7,86 (dd, 1H, *J* = 8,3, 1,8 Hz), 7,42 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz), 7,24 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz), 2,79 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,62-2,68 (m, 2H), 2,51-2,59 (m, 2H), 2,47 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,14-2,26 (m, 1H), 2,06 (p, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,60-1,70 (m, 1H).

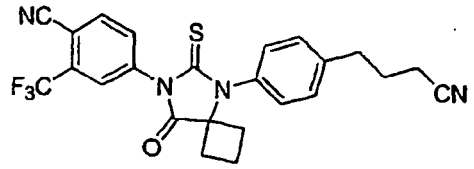
Ejemplo 60



RD130 Fórmula 52

A una disolución de ácido 4-(4-(7-(4-ciano-3-(trifluorometil)fenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]octan-5-il)fenil)butanoico, **RD141** (Fórmula 51) (60 mg, 0,12 mmoles) en DMF (3 ml) se añadió cloruro de tionilo (0,01 ml, 0,15 mmoles) a 0ºC. La mezcla se agitó a 0ºC durante 1 hora. Luego se burbujeó amoniaco en la mezcla. La mezcla se repartió entre acetato de etilo (25 ml) y agua (25 ml). La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 70:30) dando 4-(4-(7-(4-ciano-3-(trifluorometil)fenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]octan-5-il)fenil)butanamida, **RD130** (Fórmula 52) (37 mg, 61%) como un polvo blanco. RMN ^{1}H δ 7,97 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz), 7,95 (d, 1H, *J* = 8,3 Hz), 7,85 (dd, 1H, *J* = 8,3 Hz), 7,39 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz), 7,22 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz), 5,59 (s a, 2H), 2,77 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,62-2,68 (m, 2H), 2,51-2,59 (m, 2H), 2,31 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,16-2,25 (m, 1H), 2,05 (p, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,57-1,70 (m, 1H).

Ejemplo 61



RD170 Fórmula 53

Una disolución de DMSO (0,01 ml, 0,12 mmoles) en diclorometano seco (1 ml) se añadió a una disolución con agitación de cloruro de oxalilo (0,01 ml, 0,09 mmoles) en diclorometano seco (2 ml) a -78ºC. Después de 15 min, una disolución en diclorometano de 4-(4-(7-(4-ciano-3-(trifluorometil)fenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]octan-5-il)fenil)butanamida, **RD130** (Fórmula 52) (35 mg, 0,07 mmoles) se añadió a la mezcla de reacción. La agitación continuó durante 20 min a -78ºC, y luego se añadió trietilamina (0,03 ml, 0,22 mmoles). Después de 30 min a -78ºC, la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y luego la reacción se inactivó con disolución ac.

saturada de NH_4Cl. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se concentró y se cromatografió (diclorometano:acetona, 95:5) dando 4-(5-(4-(3-cianopropil)fenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]octan-7-il)-2-(trifluorometil)benzonitrilo, **RD4170** (Fórmula 53) (29 mg, 87%) como un aceite viscoso. RMN ^{1}H δ 7,98 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz), 7,98 (d, 1H, *J* = 8,3 Hz), 7,86 (dd, 1H, *J* = 8,3, 1,8 Hz), 7,43 (d, 2H, *J* = 8,4 Hz), 7,27 (d, 2H, *J* = 8,4 Hz), 2,90 (t, 2H, *J* = 7,3 Hz), 2,63-2,73 (m, 2H), 2,52-2,62 (m, 2H), 2,42 (t, 2H, *J* = 7,3 Hz), 2,18-2,30 (m, 1H), 2,07 (p, 2H, *J* = 7,3 Hz), 1,63-1,73 (m, 1H).

Examen farmacológico de los compuestos

Los compuestos para los que se han descrito anteriormente las rutas de síntesis se identificaron mediante cribado de células de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal para actividades antagonista y agonista contra RA utilizando procedimientos de cribado similares a aquellos en las solicitudes PCT US04/42221 y US05/05529. Varios compuestos presentaron potentes actividades antagonistas con mínimas actividades agonistas para RA expresado en exceso en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal.

Ensayo biológico *in vitro*

Efecto de compuestos sobre RA por un ensayo indicador

Los compuestos se sometieron a pruebas usando un sistema indicador de respuestas de RA artificial en una línea de células de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. En este sistema, las células LNCaP de cáncer de próstata se manipularon para expresar establemente un nivel de RA aproximadamente 5 veces superior al del nivel endógeno. El RA exógeno tiene propiedades similares al RA endógeno porque ambos son estabilizados por un andrógeno R1881 sintético. Las células expresadas por exceso por RA también se manipularon para incorporar establemente un indicador de respuestas de RA y la actividad indicadora de estas células muestra características de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. Responde a baja concentración de un andrógeno R1881 sintético, se inhibe sólo por altas concentraciones de bicalutamida (véase la Tabla 1) y muestra actividad agonista con bicalutamida (Figura 1 y Tabla 2). De acuerdo con los datos publicados, la bicalutamida inhibió el indicador de respuestas de RA y no tuvo actividad agonista en células de cáncer de próstata sensible a hormonas (Figura 2).

Los inventores examinaron la actividad antagonista de los compuestos para los que se ha descrito anteriormente la síntesis en presencia de 100 pM de R1881. Las células LNCaP manipuladas (LNCaP-RA, también abreviadas LN-RA) se mantuvieron en medio de Iscove que contenía suero bovino fetal (SBF) al 10%. Dos días antes del tratamiento con fármaco, las células se cultivaron en medio de Iscove que contenía SBF al 10% tratado con carbón vegetal (SBF-CV) para privar de andrógeno. Las células se fraccionaron y se cultivaron en medio de Iscove que contenía SBF-CV al 10% con 100 pM de R1881 y concentraciones crecientes de compuestos de prueba. Después de dos días de incubación se ensayaron las actividades indicadoras.

La Tabla 1 enumera la CI_{50} de estos compuestos para inhibir RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. La sustancia de control bicalutamida tiene una CI_{50} de 889 nM. La mayoría de los compuestos identificados (diariltiohidantoínas) tienen CI_{50} entre 100 y 200 nM en la inhibición de RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. A diferencia, los compuestos antiandrogénicos enumerados como ejemplos en la patente de EE.UU. nº 5.705.654, tales como los Ejemplos 30-2, 30-3, 31-2, 31-3 y 24-3 (RD73-RD77), no tienen actividades inhibitorias sobre el RA en este sistema.

Tabla 1

Actividades antagonistas contra RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal, medidas por un indicador de respuestas de RA y por expresión de PSA endógeno.

		CI_{50} (nM)	**CI_{50} (nM)**
Ejemplo	**Nombre**	**Indicador**	**PSA**
Bicalutamida comparativa	N-[4-ciano-3-(trifluorometil)fenil]-3-[(4-fluorofenil)sulfonil]-2-hidroxi-2-metilpropanamida	889	>1000
29 Comparativo	4-[3-(4-hidroxibutil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	No (*)	No
6-2 (6b) [RD10]	4-[3-fenil-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	149	n/a (**)
5-3b (5c) [RD7]	4-[3-(4-metilfenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	125	132

(continuación)

Actividades antagonistas contra RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal, medidas por un indicador de respuestas de RA y por expresión de PSA endógeno.			
		CI_{50} (nM)	**CI_{50} (nM)**
Ejemplo	**Nombre**	**Indicador**	**PSA**
3-3 (3c) [RD8]	4-[3-(4-hidroxifenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	137	122
2-4 (2d) [RD9]	4-[3-(4-aminofenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	273	n/a
4 (4a) [RD13]	éster 4-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]fenílico de ácido cloroacético	131	n/a
8-2 (8b) [RD35]	4-(4-oxo-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	147	n/a
7-3b (7c) [RD37]	4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	124	128
9-3 (9c) [RD48]	4-(4-oxo-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3-diazaespiro[4.5]dec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	194	n/a
10-3 (10c) [RD49]	4-(4-oxo-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3-diazaespiro[4.5]undec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	232	n/a
28 Comparativo (28a) [RD52]	4-(8-metil-4-oxo-2-tioxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]dec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	No	n/a
27-3 (27c) [RD53]	4-(8-metil-4-oxo-2-tioxo-1-(4-metilfenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]dec-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	638	n/a
26 (26a) [RD54]	4-[1-(4-cianofenil)-4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	469	n/a
25 (25a) [RD55]	4-[1-(4-nitrofenil)-4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	498	n/a
12-2 (12b) [RD57]	4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-bifenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	283	n/a
11-2 (11b) [RD58]	4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-hidroxifenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	162	n/a
17 (17a) [RD59]	4-[3-(4-hidroxifenil)-4,4-dimetil-2,5-ditioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	278	287
18 (18a) [RD60]	4-[3-(4-hidroxifenil)-4,4-dimetil-2,5-dioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	369	511
22-2 (22b) [RD65]	ácido 2-[3-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]benzoico	523	>500
20-2 (20b) [RD66]	4-(4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxo-3-(4-trifluorometilfenil)imidazolidin-1-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	143	144
21-2 (21b) [RD67]	4-(4,4-biscloromethil-5-oxo-2-tioxo-3-(4-metilfenil)imidazolidin-1-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	521	>500
19-2 (19b) [RD68]	4-(4-fluorometil-4-metil-5-oxo-2-tioxo-3-(4-metilfenil)imidazolidin-1-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	126	129

(continuación)

Actividades antagonistas contra RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal, medidas por un indicador de respuestas de RA y por expresión de PSA endógeno.			
		CI_{50} (nM)	**CI_{50} (nM)**
Ejemplo	**Nombre**	**Indicador**	**PSA**
23-2 (23b) [RD71]	4-(8-oxo-6-tioxo-5-(2-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	258	232
30-2 Comparativo (30b) [RD73]	4-(5-metil-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilenzonitrilo	No	No
30-3 Comparativo (30c) [RD74]	4-(5-metil-6,8-dioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	No	No
31-2 Comparativo (31b) [RD75]	4-(1-metil-4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	No	No
31-3 Comparativo (31c) [RD76]	4-(1-metil-2,4-dioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	No	No
24-3 Comparativo (24c) [RD77]	4-(4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	No	No
15-2 (15b) [RD82]	4-[4,4-dimetil-3-(4-piridin-2-il)-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	723	n/a
14-2 (14b) [RD83]	4-[4,4-dimetil-3-(4-metilpiridin-2-il)-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	457	n/a
16-2 Comparativo (16b) [RD84]	4-[5-(5-metil-2H-pirazol-3-il)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	>1000	n/a
13-2 (12b) [RD85]	4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-bifenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	>1000	n/a
32 (32a) [RD90]	4-(8-metilimino-6-tioxo-5-p-tolil-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	222	421
33 (33a) [RD91]	1-[3-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-5,5-dimetil-2-tioxo-1-p-tolil-imidazolidin-4-iliden]-3-etil-tiourea	157	239
34 (34a) [RD92]	1-[7-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-6-tioxo-5-p-tolil-5,7-diazaespiro[3.4]oct-8-iliden]-3-fenil-tiourea	176	276
35 (35a) [RD93]	1-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-3-[7-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-6-tioxo-5-p-tolil-5,7-diazaespiro[3.4]oct-8-iliden]-tiourea	144	158
36-2 (36b) [RD110]	4-[8-(4-hidroximetil-fenil)-5-oxo-7-tioxo-6-azaespiro[3.4]oct-6-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	311	337
37 (37a) [RD114]	4-[5-(4-formilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	n/a	263
38 (38a) [RD116]	4-{5-[4-(1-hidroxietil)-fenil]-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il}-2-trifluorometilbenzonitrilo	n/a	187
39 (39a) [RD117]	éster etílico de ácido 3-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-acrílico	n/a	197
40 (40a) [RD120]	4-{5-[4-(3-hidroxipropenil)-fenil]-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il}-2-trifluorometilbenzonitrilo	n/a	114

(continuación)

Actividades antagonistas contra RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal, medidas por un indicador de respuestas de RA y por expresión de PSA endógeno.			
		CI_{50} (nM)	**CI_{50} (nM)**
Ejemplo	**Nombre**	**Indicador**	**PSA**
41-2 (41b) [RD128]	éster metílico de ácido 3-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-propiónico	No	n/a
41-4 (41d) [RD133]	3-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil)-propionamida	224	n/a
41-5 (41e) [RD134]	3-(4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil)-N-metil-propionamida	234	n/a
41-6 (41f) [RD135]	3-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-N-(2-hidroxietil)-propionamida	732	n/a
42-2 (42b) [RD129]	éster metílico de ácido 4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-butírico	432	n/a
42-4 (42d) [RD130]	4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-butiramida	112	n/a
42-5 (42e) [RD131]	4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-N-metil-butiramida	92	n/a
43-4 (43e) [RD 137]	4-[8-oxo-5-(4-piperazin-1-il-fenil)-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	718	n/a
43-5 (43f) [RD138]	4-{5-[4-(4-metanosulfonilpiperazin-1-il)-fenil]-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il}-2-trifluorometilbenzonitrilo	138	n/a
44-2 (44b) [RD119]	44-2). 3-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-fenil}-acrilamida		113
(*) No: el compuesto no inhibió el indicador de respuestas de **RA**; (**) n/a: el compuesto no se examinó en este ensayo.			

Una propiedad previamente no reconocida de la expresión en exceso de **RA** en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal es su capacidad para cambiar antagonistas a agonistas. Por tanto, sólo aquellos compuestos con mínimas actividades agonistas o sin actividad agonista están cualificados para ser antiandrógenos para esta enfermedad. Para determinar las actividades agonistas de diferentes compuestos, los inventores examinaron sus actividades estimulantes sobre RA usando el indicador de respuestas de RA como medida en el sistema de LN-RA en ausencia de R1881. La Tabla 2 enumera las actividades agonistas de diferentes compuestos. De acuerdo con los resultados previos, la bicalutamida activó RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. Los derivados de diariltiohidantoína tales como los Ejemplos 7-3b (RD37), 33 (RD91), 34 (RD92) y 35 (RD93) no tienen actividad agonista. A diferencia, RU59063, y otros compuestos antiandrogénicos enumerados como ejemplos en la patente de EE.UU. número 5.705.654 tales como los Ejemplos 30-2, 30-3, 31-2, 31-3 y 24-3 (RD73-RD77), activaron fuertemente RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal.

Tabla 2

Actividades agonistas de sustancias de prueba selectivas sobre el indicador de respuestas de RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal				
		Veces de inducción por concentraciones crecientes de compuestos		
Ejemplo	**Nombre**	**0,1 µM**	**1 µM**	**10 µM**
DMSO	sulfóxido de dimetilo	1,00 (*)	1,00	1,00
R1881	metiltrienolona	44,33	n/a (**)	n/a

Actividades agonistas de sustancias de prueba selectivas sobre el indicador de respuestas de RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal Veces de inducción por concentraciones crecientes de compuestos				
Ejemplo	**Nombre**	**0,1 µM**	**1 µM**	**10 µM**
Bicalutamida	N-[4-ciano-3-(trifluorometil)fenil]-3-[(4-fluorofenil)sulfonil]-2-hidroxi-2-metilpropanamida	1,66	3,04	10,40
29 Comp.	4-[3-(4-hidroxibutil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	10,99	20,84	34,62
7-3b (7c) [RD37]	4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	0,87	1,19	0,89
33 (33a) [RD91]	1-[3-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-5,5-dimetil-2-tioxo-1-p-tolil-imidazolidin-4-iliden)-3-etil-tiourea	1,30	1,18	1,28
34 (34a) [RD92]	1-[7-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-6-tioxo-5-p-tolil-5,7-diazaespiro[3.4]oct-8-iliden]-3-fenil-tiourea	1,19	1,41	1,17
35 (35a) [RD93]	1-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-3-[7-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-6-tioxo-5-p-tolil-5,7-diazaespiro[3.4]oct-8-iliden]-tiourea	1,26	1,10	1,30
30-2 Comp. (30b) [RD73]	4-(5-metil-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	14,88	19,41	35,22
30-3 Comp. (30c) [RD74]	4-(5-metil-6,8-dioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	11,39	14,26	30,63
31-2 Comp. (31b) [RD76]	4-(1-metil-4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	17,03	16,63	33,77
31-3 Comp. (31c) [RD76]	4-(1-metil-2,4-dioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	11,99	19,77	38,95
24-3 Comp. (24c) [RD77]	4-(4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	14,88	22,48	37,09
(*) Veces de inducción: actividades inducidas por una sustancia de prueba específica con respecto a las actividades en vehículo de DMSO; (**) n/a: el compuesto no se examinó en este ensayo.				

Para examinar la especificidad de inhibidores de RA se probaron compuestos selectivos en células LNCaP con una expresión en exceso del receptor de glucocorticoides (RG), el miembro más cercano de RA en la familia de receptores nucleares. Estas células también llevan un indicador de respuestas de RG y la actividad indicadora se indujo por dexametasona, un agonista de RG y la inducción se bloqueó por RU486, un inhibidor de RG. El Ejemplo 7-3b (RD37) (4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo) no tuvo efecto sobre el RG en este sistema.

Efecto de compuestos sobre RA midiendo niveles secretados de antígeno específico de próstata (PSA)

Está bien establecido que los niveles de PSA son indicadores de actividades de RA en cáncer de próstata. Para examinar si los compuestos afectan la función de RA en un entorno fisiológico, los inventores determinaron los niveles secretados de PSA endógeno inducido por R1881 en las células LNCaP expresadas en exceso por RA (LNCaP-RA, también abreviado LN-RA). Las células LNCaP-RA son una línea de carcinoma de ganglios linfáticos de células de la próstata transducidas con un plásmido que hace expresar los receptores de andrógenos. Las células LNCaP-RA se mantuvieron en medio de Iscove que contenía SBF al 10%. Dos días antes del tratamiento con fármaco, las células se cultivaron en medio de Iscove que contenía SBF-CV al 10% para privar de andrógeno. Las células se fraccionaron y se cultivaron en medio de Iscove que contenía SBF-CV al 10% con concentraciones apropiadas de R1881 y los compuestos de prueba. Después de cuatro días incubación, los niveles de PSA secretados se ensayaron usando kits de ELISA de PSA (American Qualex, San Clemente, CA)

El nivel secretado de PSA de células LNCaP-RA se indujo fuertemente por 25 pM de R1881. A diferencia, el PSA no

se indujo en las células LNCaP parentales hasta que la concentración de R1881 alcanzó 100 pM. Esto está de acuerdo con el informe previo de los inventores de que el RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal es hipersensible a andrógenos. Una inhibición dependiente de la dosis sobre la actividad de RA se llevó a cabo para determinar las CI_{50} de diferentes compuestos en la inhibición de la expresión de PSA, y los resultados se enumeraron en la Tabla 1. Las CI_{50} de los compuestos selectivos sobre la expresión de PSA se parecen mucho a las medidas por el ensayo indicador, confirmando que los derivados de diarilhidantoína son fuertes inhibidores de RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal.

Los inventores también examinaron las actividades agonistas de compuestos selectivos sobre RA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal usando PSA secretado como marcador sustituto. Para hacer esto, las células LNCaP expresadas en exceso por RA privadas de andrógeno se incubaron con concentraciones crecientes de los compuestos para los cuales se describe una síntesis anteriormente en ausencia de R1881 y el PSA secretado en el medio de cultivo se midió 4 días después.

La Tabla 3 enumera las actividades agonistas de los compuestos selectivos. De acuerdo con los resultados obtenidos del ensayo indicador, los derivados de diariltiohidantoína tales como los Ejemplos 7-3b (RD37), 33 (RD91), 34 (RD92) y 35 (RD93) no tienen actividades agonistas. A diferencia, RU59063, y otros compuestos antiandrogénicos enumerados como ejemplos en la patente de EE.UU. nº 5.705.654 tales como los Ejemplos 30-2 (RD73), 30-3 (RD74) y 31-2 (RD75), estimularon la expresión de PSA en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal.

Tabla 3

Actividades agonistas de sustancias de prueba selectivas sobre PSA endógeno en cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal **Veces de inducción por concentraciones crecientes de compuestos**				
Ejemplo	**Nombre**	**0,1 µM**	**1 µM**	**10 µM**
DMSO	sulfóxido de dimetilo	1,00 (*)	1,00	1,00
R1881	metiltrienolona	20,69	n/a (**)	n/a
Bicalutamida	N-[4-ciano-3-(trifluorometil)fenil]-3-[(4-fluorofenil)sulfonil]-2-hidroxi-2-metilpropanamida	2,00	2,55	5,55
29 Comp.	4-[3-(4-hidroxibutil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo	6,88	11,50	21,50
7-3b (7c) [RD37]	4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	1,25	1,20	1,15
33 (33a) [RD91]	1-[3-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-5,5-dimetil-2-tioxo-1-p-tolil-imidazolidin-4-iliden]-3-etil-tiourea	1,06	1,30	0,85
34 (34a) [RD92]	1-[7-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-6-tioxo-5-p-tolil-5,7-diazaespiro[3.4]oct-8-iliden]-3-fenil-tiourea	1,31	1,05	0,90
35 (35a) [RD93]	1-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-3-[7-(4-ciano-3-trifluorometil-fenil)-6-tioxo-5-p-tolil-5,7-diazaespiro[3.4]oct-8-iliden]-tiourea	1,44	1,30	1,05
30-2 Comp. (30b) [RD73]	4-(5-metil-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilenzonitrilo	6,25	17,95	25,65
30-3 Comp. (30c) [RD74]	4-(5-metil-6,8-dioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	7,50	15,20	23,75
31-2 Comp. (31b) [RD75]	4-(1-metil-4-oxo-2-tioxo-1,3-diazaespiro[4.4]non-3-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo	8,13	18,20	17,50
(*) Veces de inducción: actividades inducidas por una sustancia de prueba específica con respecto a las actividades en vehículo de DMSO; (**) n/a: el compuesto no se examinó en este ensayo.				

Efecto de compuestos sobre la actividad mitocondrial de RA por ensayo de MTS

Se mantuvieron células LNCaP-RA en medio de Iscove que contenía SBF al 10%. Los compuestos se examinaron para su efecto sobre el crecimiento de células de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. Se usaron células LNCaP expresadas en exceso debido a que estas células se comportan como células de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal *in vitro* e *in vivo (1)*. Los inventores midieron la actividad de mitocondrias por ensayo de MTS, un sustituto del crecimiento. Las células LNCaP con RA expresado en exceso (LN-RA) se mantuvieron en medio de Iscove que contenía SBF al 10%. Dos días antes del tratamiento con fármaco, las células se cultivaron en medio de Iscove que contenía SBF-CV al 10% para privar de andrógeno. Las células se fraccionaron luego y se cultivaron en medio de Iscove que contenía SBF-CV al 10% con concentraciones apropiadas de R1881 y concentraciones crecientes de los compuestos de prueba. Después de cuatro días incubación, el crecimiento celular se monitorizó por MTS (Promega, Madison, WI).

De acuerdo con el ensayo indicador y el ensayo de PSA, el crecimiento de LNCaP expresadas en exceso por RA se estimuló por 25 microM de R1881, pero las células parentales no se estimularon hasta que la concentración de R1881 alcanzó 100 microM. La Figura 2 muestra el efecto inhibidor de los compuestos seleccionados sobre el crecimiento de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal en presencia de 100 pM de R1881. El presente fármaco clínico bicalutamida no inhibió el cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. A diferencia, el Ejemplo 5-3b (RD7) (4-[3-(4-metilfenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo) y el Ejemplo 7-3b (RD37) (4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo) inhibieron cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal con alta potencia.

Los inventores examinaron si la inhibición del crecimiento en el ensayo de MTS se produce eligiendo como diana RA, el Ejemplo 5-3b (RD7) (4-[3-(4-metilfenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxomidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo) y el Ejemplo 7-3b (RD37) (4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo) se probaron en células DU-145, una línea de células de cáncer de próstata que carece de expresión de RA. Estos compuestos no tuvieron efecto inhibidor del crecimiento sobre células DU-145. Los compuestos no inhibieron células distintas de células de cáncer de próstata expresadas por RA, ya que no tuvieron efecto del crecimiento sobre MCF7 y SkBr3, dos células de cáncer de mama comúnmente usadas, o 3T3, una línea celular de fibroblastos de ratón normal.

Ejemplos de actividad biológica *in vitro* de derivados de diariltiohidantoína se muestran en las Figuras 3, 4 y 5. Por ejemplo, basándose en la actividad de la luciferasa relativa, la Fig. 3 indica que a una concentración de 500 nM los compuestos se clasificaron, en orden del más activo al menos activo, del siguiente modo: RD152 > RD153 > RD145 > RD163 > RD161 = RD162 > bicalutamida. Por ejemplo, basándose en el nivel de PSA relativo, la Fig. 4 indica que a una concentración de 500 nM los compuestos se clasificaron, en orden del más activo al menos activo, del siguiente modo: RD138 > RD131 > RD37 > RD133 > RD134 > RD137 > RD138 > RD135 > bicalutamida. Por ejemplo, basándose en unidades de MTS relativas, la Fig. 5 indica que a una concentración de 500 nM los compuestos se clasificaron, en orden del más activo al menos activo, del siguiente modo: RD168 > RD37 > RD141 > RD162 > bicalutamida.

Efecto inhibidor sobre tumores de xenoinjerto de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal.

El Ejemplo 7-3b (RD37) (4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo) se usó para examinar si los derivados de diarilhidantoína tenían efectos *in vivo* sobre cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. Primero, los inventores examinaron este compuesto sobre tumores de xenoinjerto establecidos a partir de células LNCaP expresadas en exceso por RA. Las células manipuladas en Matrigel (Collaborative Biomedical) se inyectaron subcutáneamente en los flancos de ratones SCID macho castrados. El tamaño del tumor se midió semanalmente en tres dimensiones usando compases calibradores. Después de establecerse los tumores de xenoinjerto (tamaño del tumor alcanzado al menos 40 mm^3), los ratones con tumores se aleatorizaron y se trataron con diferentes dosis de compuestos por vía oral una vez al día. De acuerdo con la observación clínica, el presente fármaco clínico bicalutamida no inhibió el crecimiento de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal (igual que el vehículo) (Figura 7a). A diferencia, el Ejemplo 7-3b (RD37) (4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo) inhibió fuertemente el crecimiento de estos tumores (Figura 7a) y la inhibición depende de la dosis (Figura 7b). Además, el Ejemplo 7-3b (RD37) inhibió la expresión de PSA (Figura 8), el marcador clínico para cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal.

El Ejemplo 7-3b (RD37) (4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo) también se probó en otro modelo de xenoinjerto de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal, LAPC4 resistente al tratamiento hormonal. Este modelo se estableció pasando cáncer de próstata sensible a hormonas en ratones castrados, que imita la progresión clínica de cáncer de próstata (2). Similar al hallazgo usando modelo de xenoinjerto de LNCaP expresado en exceso por RA, el presente fármaco clínico bicalutamida no inhibió el crecimiento y la expresión de PSA en el modelo de xenoinjerto de LAPC4 resistente al tratamiento hormonal (igual que el vehículo) (Figura 9a y 9b). A diferencia, el Ejemplo 7-3b (RD37) inhibió fuertemente el crecimiento y la expresión de PSA de estos tumores (Figura 9a y 9b).

Efecto inhibidor sobre el crecimiento de células de cáncer de próstata sensible a hormonas.

Para determinar si los derivados de diariltiahidantoína también inhiben células de cáncer de próstata sensible a hormonas, los inventores probaron algunos compuestos selectivos sobre el crecimiento de células LNCaP midiendo MTS de actividades de mitocondria. A diferencia de no tener efecto sobre el crecimiento de cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal, el presente fármaco clínico bicalutamida inhibió ligeramente las células LNCaP sensibles a hormonas de un modo dependiente de la dosis. El Ejemplo 5-3b (RD7) (4-[3-(4-metilfenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il]-2-trifluorometilbenzonitrilo) y el Ejemplo 7-3b (RD37) (4-(8-oxo-6-tioxo-5-(4-metilfenil)-5,7-diazaespiro[3.4]oct-7-il)-2-trifluorometilbenzonitrilo) inhibieron cáncer de próstata sensible a hormonas con una potencia 10 veces superior a la bicalutamida (Figura 10).

Ensayo biológico *in vivo*

Todos los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con las pautas del Comité de investigación animal de la Universidad de California, Los Angeles. Los animales se compraron de Taconic y se mantuvieron en una torre de flujo laminar en una colonia de flora definida. Las células LNCaP-RA y LNCaP-vector se mantuvieron en medio RPMI complementado con SBF al 10%. 10^6 células en 100 µl de 1:1 Matrigel con respecto a medio RPMI se inyectaron subcutáneamente en los flancos de ratones SCID macho intactos o castrados. El tamaño del tumor se midió semanalmente en tres dimensiones (longitud x ancho x profundidad) usando compases calibradores. Los ratones se aleatorizaron a grupos de tratamiento cuando el tamaño del tumor alcanzó aproximadamente 100 mm^3. Los fármacos se administraron por vía oral cada día a 10 mg/kg y 50 mg/kg. Para obtener la lectura farmacodinámica se obtuvieron imágenes de los animales por una cámara CCD óptica 3 horas después de la última dosis del tratamiento. Se extrae una ROI sobre el tumor para la medición de la actividad de la luciferasa en fotón/segundo. Los paneles derechos fueron una representación de las mediciones de ROI. Los datos se muestran en las Figuras 11 y 12. Durante 18 días, RD162 fue eficaz en prevenir el crecimiento tumoral e incuso en producir el encogimiento del tumor, y fue claramente más eficaz que la bicalutamida.

La farmacocinética de bicalutamida, 4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-tolueno [RD37], *N*-metil-4-{4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]fenil}butanamida [RD131] y *N*-metil-4-[7-(4-ciano-3-trifluorometilfenil)-8-oxo-6-tioxo-5,7-diazaespiro[3.4]oct-5-il]-2-fluorobenzamida (52d) [RD162] se evaluó *in vivo* usando ratones FVB de 8 semanas de edad que se compraron de Charles River Laboratories. Los ratones se dividieron en grupos de tres para cada momento de tiempo. Dos ratones no se trataron con fármaco y otros dos ratones se trataron con disolución de vehículo. Cada grupo se trató con 10 mg por kilogramo de peso corporal.

El fármaco se disolvió en una mezcla 1:5:14 de DMSO : PEG400 : H_2O (disolución de vehículo) y se administró a ratones por la vena de la cola. Los animales se calientan bajo una lámpara de calor durante aproximadamente 20 minutos antes del tratamiento para dilatar su vena de la cola. Cada ratón se colocó en una jaula para ratones (Fisher Sci. nº de cat. 01-288-32A) y se inyectó con 200 µl de fármaco en disolución de vehículo en la vena de la cola dilatada. Después de la administración del fármaco, los animales se sacrificaron por inhalación de CO_2 a diferentes momentos de tiempo: 5 min, 30 min, 2 h, 6 h, 16 h. Los animales se sangraron inmediatamente después de la exposición a CO_2 por punción cardíaca (jeringuilla BD de 1 ml + aguja 27G 5/8). Para la dosificación oral, el fármaco se disolvió en una mezcla 50:10:1:989 de DMSO : carboximetilcelulosa : Tween 80 : H_2O antes de la administración por vía oral por una jeringuilla de alimentación.

Las muestras de suero se analizaron para determinar la concentración de fármaco por HPLC (bomba Waters 600, controlador Waters 600 y detector Waters 2487) que se equipó con una columna Alltima C18 (3 µ, 150 mm × 4,6 mm). Los compuestos RD37, RD131 y RD162 se detectaron a 254 nm de longitud de onda y la bicalutamida se detectó a 270 nm de longitud de onda.

Las muestras para análisis de HPLC se prepararon según el siguiente procedimiento:

- Los glóbulos sanguíneos se separaron del suero por centrifugación.
- A 400 µl de suero se añadieron 80 µl de una disolución 10 µM de un patrón interno y 520 µl de acetonitrilo. Se produjo la precipitación.
- La mezcla se agitó con vórtex durante 3 minutos y luego se dispuso bajo ultrasonidos durante 30 minutos.
- Las partículas sólidas se separaron por filtración o se separaron por centrifugación.
- El filtrado se secó bajo un flujo de argón a sequedad. La muestra se reconstituyó a 80 µl con acetonitrilo antes de analizarse por HPLC para determinar la concentración de fármaco.
- La curva estándar de fármaco se usó para mejorar la precisión.

La concentración de RD162 en plasma en función del tiempo resultante de la administración intravenosa y por vía oral se muestra en la Figura 13. La concentración en estado estacionario (C_{ee}) de bicalutamida, RD131 y RD162 se muestra en la Tabla 4. La concentración en estado estacionario de RD162 es esencialmente tan buena como la de la bicalutamida, y sustancialmente mejor que RD131.

Tabla 4. Concentración en estado estacionario de bicalutamida, RD131 y RD162 en plasma de ratones

Nombre	CI_{50} [nM]	log P	C_{ee}, 10 mg/kg [μM]	C_{ee}, 25 mg/kg [μM]	C_{ee}, 50 mg/kg [μM]
Bic.	1000	2,91	10,0	11,4	11,9
RD131	92	3,44	0,39	0,43	0,40
RD162	122	3,20	9,9	10,7	10,2

Clasificación de compuestos en niveles

Las Tablas 5 - 10 presentan compuestos de diarilhidantoína agrupados en los Niveles 1-6. La Tabla 11 presenta compuestos de diarilhidantoína que no han sido asignados a un nivel. La asignación de compuestos a niveles se basó en datos disponibles acoplados al juicio analítico. Los datos considerados incluyeron ensayos *in vitro* (sistema indicador de respuestas de RA en la línea de células LNCaP, medición del nivel de PSA, ensayo mitocondrial de MTS) y experimentos *in vivo* (tamaño del tumor medido directamente o por emisión inducida por el gen indicador de luciferasa, ensayos farmacocinéticos basados en niveles de plasma en sangre). No todos los compuestos se sometieron a cada ensayo. No se muestran todos los datos que se generaron. Se aplicó el juicio en la clasificación de los compuestos entre sí para su utilidad en el tratamiento de cáncer de próstata, en particular cuando la clasificación de dos compuestos para los que no se realizaron los mismos experimentos. Las características consideradas en el establecimiento de la clasificación incluyen actividad del antagonismo de RA, falta de agonismo de AR en células resistentes al tratamiento hormonal, prevención del crecimiento tumoral, encogimiento del tumor y comportamiento farmacocinético, siendo ventajoso un mayor tiempo de residencia en sangre.

Nivel 1

Generalmente, los compuestos del Nivel 1 son diariltiohidantoínas con un anillo de arilo izquierdo disustituido que están disustituidas en el carbono de hidantoína derecho, y tienen tanto un sustituyente de oxígeno como de N en el carbono de hidantoína izquierdo. Se espera que el sustituyente amido hidrolice un oxígeno en disoluciones acuosas tales como las encontradas en sistemas biológicos, *in vitro* e *in vivo*. RD100 tiene buena actividad con un sustituyente yodo en lugar de CF_3 en el anillo de arilo izquierdo.

Se juzgó que los compuestos del Nivel 1 (véase la Tabla 5) eran mucho mejores que la bicalutamida para tratar cáncer de próstata. Sin embargo, se encontró que RD437 y RD131 se metabolizaban rápido, es decir, tenían un tiempo de residencia corto en la sangre. RD162 tenía farmacocinética deseable.

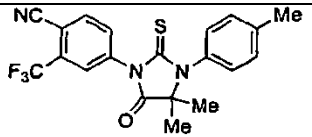
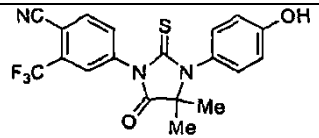
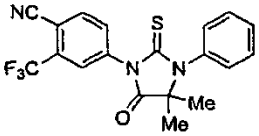
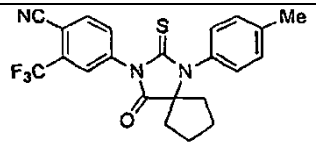
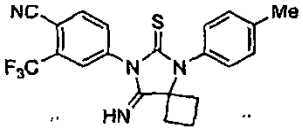
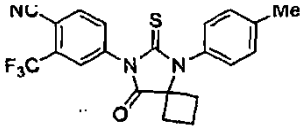
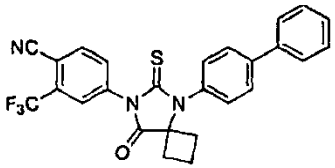
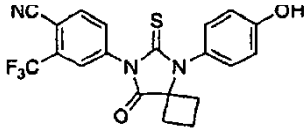
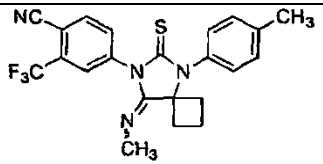
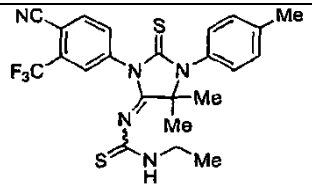
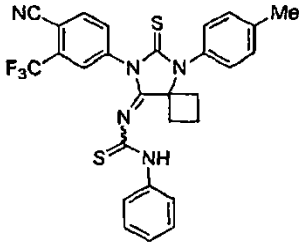
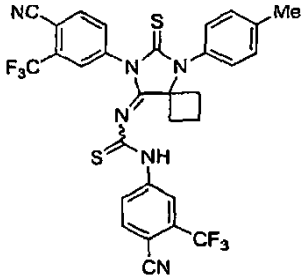
La Figura 17 muestra que bajo tratamiento con bicalutamida, los niveles de PSA para células LNCaP permanecieron iguales o aumentados con respecto al tratamiento con disolución de vehículo, mientras que bajo tratamiento con RD162, los niveles de PSA disminuyeron. La Figura 18 ilustra que bajo tratamiento con disolución de vehículo, los tumores continuaron aumentando en tamaño. En comparación, bajo tratamiento con RD162 a una dosis de 1 mg por kg de peso corporal por día, la tasa de aumento del tumor disminuyó, y el tamaño del tumor pareció estabilizarse después de aproximadamente 17 días. Bajo tratamiento con RD162 a una dosis de 10 mg por kg de peso corporal por día, el tamaño del tumor disminuyó con el tiempo. La Figura 19 ilustra que bajo tratamiento con RD162 a una dosis de 10 mg por kg de peso corporal por día, la emisión de fotones asociada a la actividad de la luciferasa disminuyó. La Figura 20 muestra que el tratamiento con RD162 a esta dosis produjo una disminución o estabilización del tamaño del tumor y una disminución en la emisión de fotones asociada a la actividad de la luciferasa.

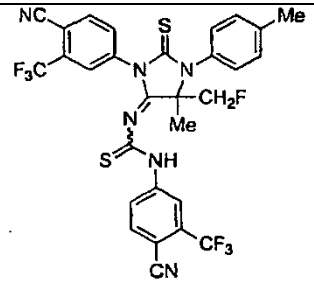
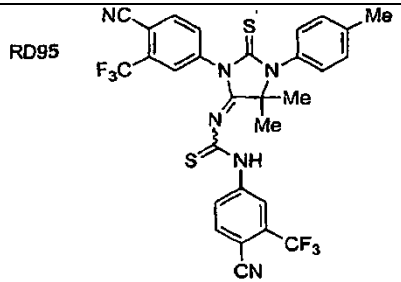
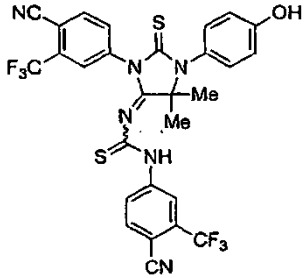
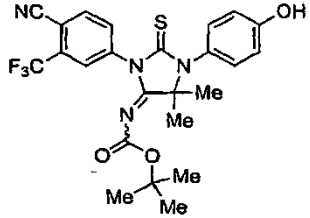
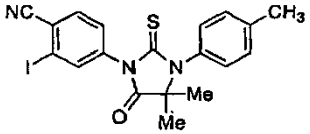
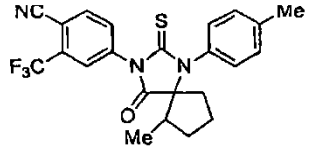
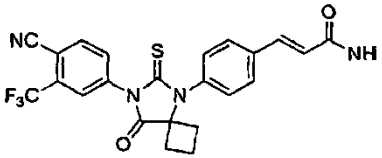
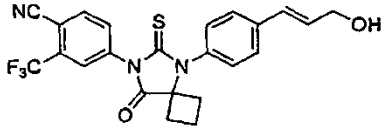
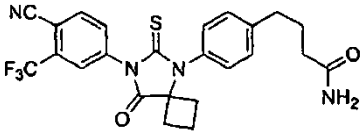
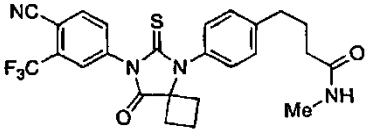
La Figura 21 muestra que bajo tratamiento con RD162, RD162', RD162", RD169 y RD170 a la dosis de 100, 200, 500 y 1000 nM, los niveles de PSA de células LN-RA disminuyeron. Además, cuanto mayor era la dosis, menor era el nivel de PSA. La Figura 23 presenta el peso del aparato genitourinario y la tasa de emisión de fotones asociada a la actividad de la luciferasa inicialmente y después de 14 días de tratamiento con bicalutamida o con RD162 para ratones intactos y castrados. El peso y la tasa de emisión de fotones aumentaron tanto para ratones intactos como castrados. El tratamiento de ratones castrados con RD162 produjo una disminución en el peso y la emisión de fotones con respecto a los ratones castrados sin tratar, como lo hizo el tratamiento con bicalutamida.

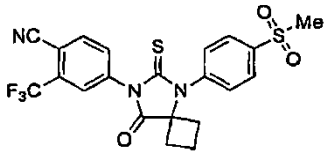
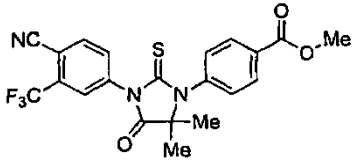
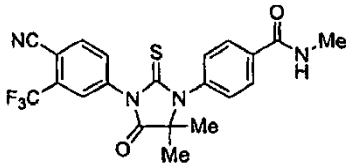
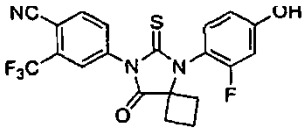
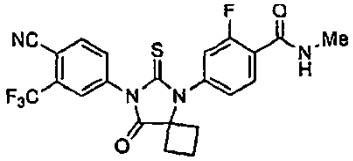
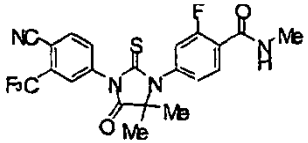
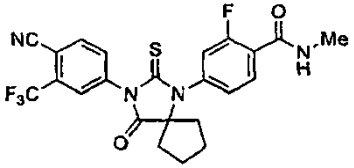
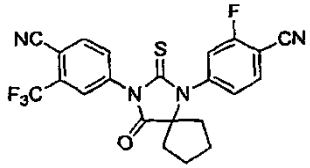
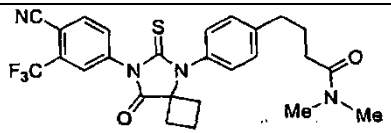
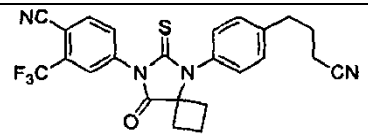
Por tanto, los compuestos del Nivel 1 son particularmente ventajosos para su uso como antagonistas de RA y como agentes terapéuticos para cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. Pueden ser útiles para tratar otras enfermedades o afecciones relacionadas con RA tales como hiperplasia benigna de próstata, pérdida de pelo y acné. Éstos y compuestos relacionados también pueden ser útiles como moduladores de otros receptores nucleares

tales como receptor de glucocorticoides, receptor de estrógenos y receptor activado por los proliferadores de peroxisomas, y como agentes terapéuticos para enfermedades en las que los receptores nucleares desempeñan una función tales como cáncer de mama, cáncer de ovario, diabetes, enfermedades cardíacas y enfermedades relacionadas con el metabolismo. Pueden ser útiles en ensayos, por ejemplo, como patrones, o como productos intermedios o profármacos.

TABLAS

COMPUESTOS DEL NIVEL 1			
RD7		RD8	
RD10		RD35	
RD36		RD37	
RD57		RD58	
RD90		RD91	
RD92		RD93	

COMPUESTOS DEL NIVEL 1			
RD94		RD95	
RD96		RD97	
RD100		RD102	
RD119		RD120	
RD4130		RD131	

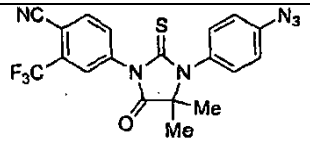
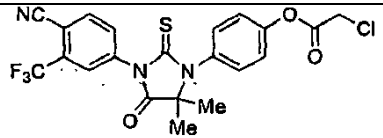
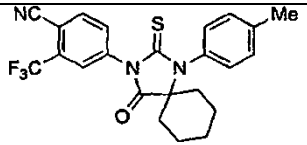
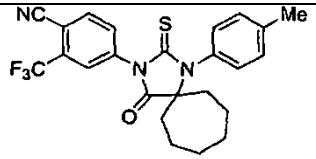
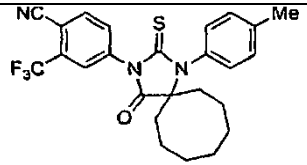
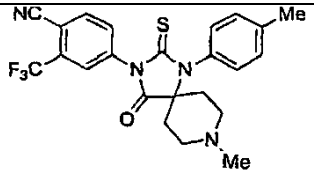
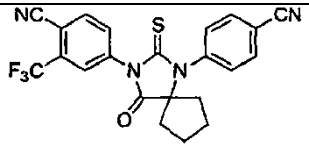
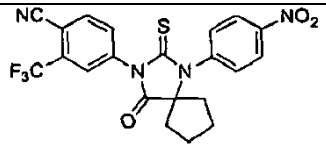
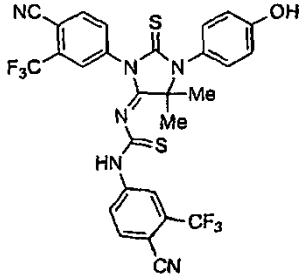
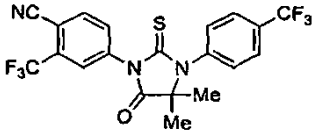
COMPUESTOS DEL NIVEL 1			
RD145		RD152	
RD153		RD163	
RD162		RD162	
RD162”		RD168	
RD169		RD170	

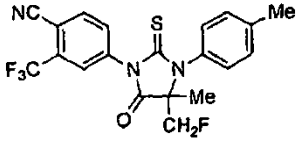
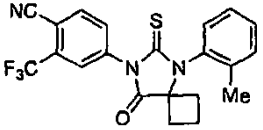
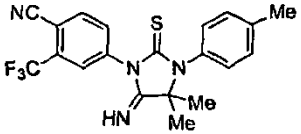
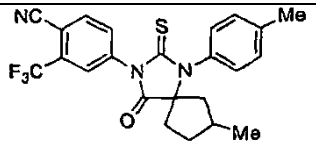
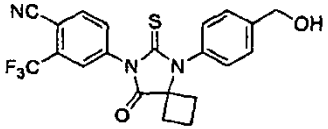
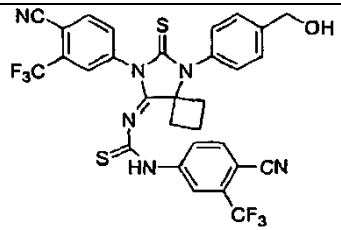
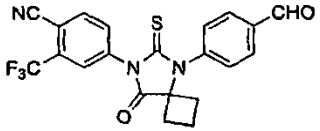
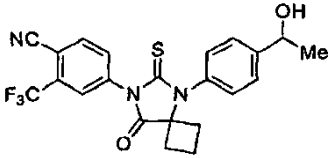
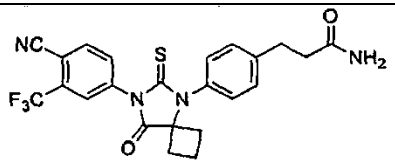
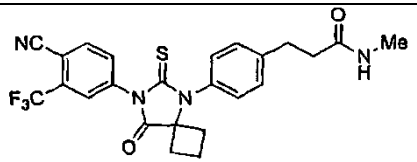
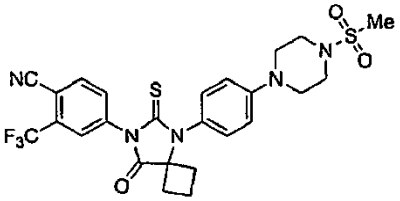
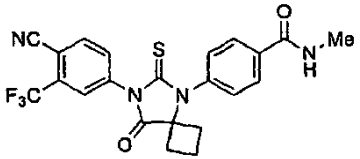
Nivel 2

Los compuestos del Nivel 2 (véase la Tabla 6) fueron significativamente mejores que la bicalutamida para tratar cáncer de próstata, aunque hubo indicaciones de que RD54 podría actuar de agonista. La Figura 3 ilustra que los compuestos RD145, RD152, RD153, RD162 y RD163 en el Nivel 1 y RD161 en el Nivel 2 dosificados a concentraciones que oscilan de 125 nM a 1000 nM actuaron reduciendo la actividad de la luciferasa en células LNCaP-RA, mientras que las disoluciones de control de DMSO y de bicalutamida tuvieron poco o ningún efecto. La Figura 4 ilustra, por ejemplo, que a concentraciones de 1000 nM, los compuestos RD37 y RD131, en el Nivel 1, produjeron una mayor disminución en el nivel de PSA de células LNCaP-RA que RD133, RD134 y RD138 en el Nivel 2. La Figura 11 presenta el volumen del tumor con el tiempo, e ilustra que bajo tratamiento con bicalutamida o disolución de vehículo los tumores continuaron creciendo, mientras que bajo tratamiento con RD162, en el Nivel 1, los tumores disminuyeron en tamaño. La Figura 12 ilustra que la emisión de fotones asociada a la actividad de la luciferasa permaneció aproximadamente la misma o disminuyó bajo tratamiento con bicalutamida con respecto al tratamiento con disolución de vehículo, mientras que la emisión de fotones disminuyó bajo tratamiento con RD162. La Figura 14 ilustra que bajo tratamiento con bicalutamida hubo poca o ninguna disminución en los niveles de PSA, mientras que bajo tratamiento con RD131 y RD162 los niveles de PSA disminuyeron. La Figura 15 ilustra que la CI_{50} para RD37, RD 131 y RD162, en el Nivel 1, fue mucho menor que la CI_{50} para la bicalutamida.

Generalmente, los compuestos del Nivel 2 son estructuralmente similares a los compuestos del Nivel 1, pero con diferentes sustituyentes en el anillo de arilo derecho. Los compuestos del Nivel 2 son ventajosos para uso como antagonistas de RA, y como agentes terapéuticos para cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. Pueden ser útiles para tratar otras enfermedades o afecciones relacionadas con RA tales como hiperplasia benigna de próstata, pérdida de pelo y acné. Éstos y compuestos relacionados también pueden ser útiles como moduladores de otros receptores nucleares tales como receptor de estrógenos y receptor activado por los proliferadores de peroxisomas, y como agentes terapéuticos para enfermedades en las que los receptores nucleares desempeñan una función tales como cáncer de mama, cáncer de ovario, diabetes, enfermedades cardíacas y enfermedades relacionadas con el metabolismo. Pueden ser útiles en ensayos, por ejemplo, como patrones, o como productos intermedios o profármacos.

TABLA 6

COMPUESTOS DEL NIVEL 2			
RD6 (comparativo)		RD13	
RD48		RD49	
RD51		RD53	
RD54		RD55	
RD63		RD66	

COMPUESTOS DEL NIVEL 2			
RD68		RD71	
RD87		RD103	
RD110		RD111	
RD114		RD116	
RD133		RD134	
RD138		RD161	

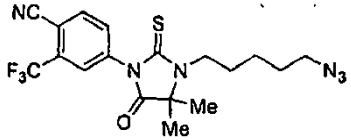
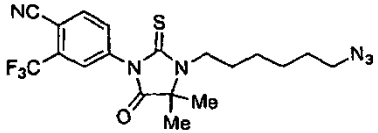
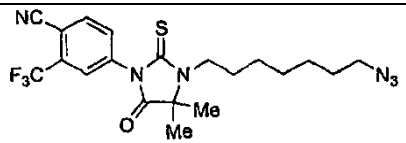
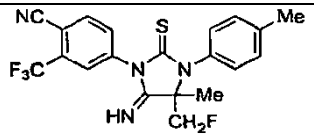
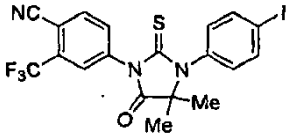
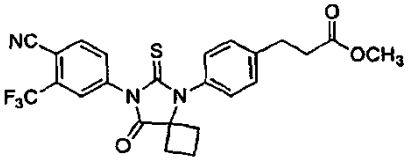
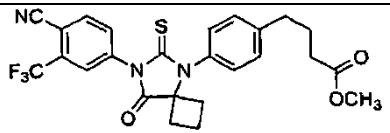
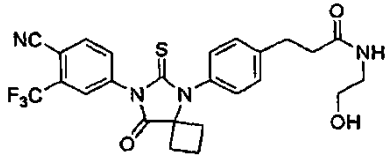
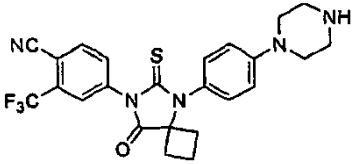
Nivel 3

Se juzgó que los compuestos del Nivel 3 (véase la Tabla 7) eran ligeramente mejores que la bicalutamida para tratar cáncer de próstata. RD133, RD134 y RD138 (en el Nivel 2) produjeron una mayor disminución en el nivel de PSA de células LNCaP-RA que RD135 y RD137, en el Nivel 3. Todos estos compuestos produjeron una mayor disminución en el nivel de PSA que la bicalutamida.

Otros compuestos del Nivel 3 (no mostrados) no fueron diariltiohidantoínas, y fueron comparables en actividad a los compuestos de monoarilhidantoína de la técnica anterior RD2, RD4 y RD5.

Por tanto, los compuestos del Nivel 3 son útiles como antagonistas de RA y como agentes terapéuticos para cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal. Pueden ser útiles para tratar otras enfermedades o afecciones relacionadas con RA tales como hiperplasia benigna de próstata, pérdida de pelo y acné. Éstos y compuestos relacionados también pueden ser útiles como moduladores de otros receptores nucleares tales como receptor de estrógenos y receptor activado por los proliferadores de peroxisomas, y como agentes terapéuticos para enfermedades en las que los receptores nucleares desempeñan una función tales como cáncer de mama, cáncer de ovario, diabetes, enfermedades cardíacas y enfermedades relacionadas con el metabolismo. Pueden ser útiles en ensayos, por ejemplo, como patrones, o como productos intermedios o profármacos.

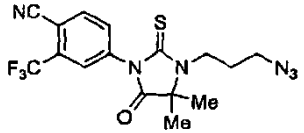
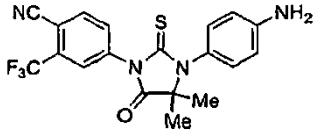
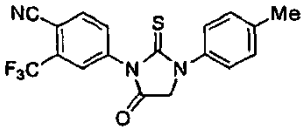
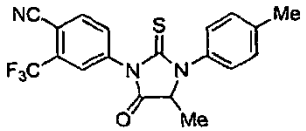
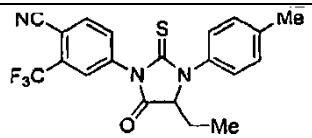
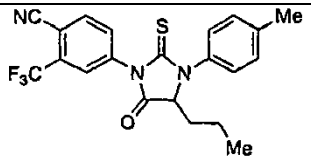
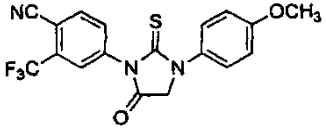
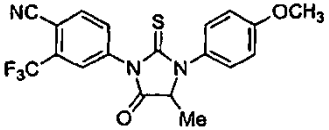
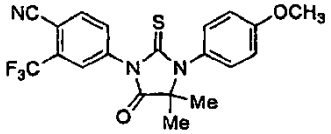
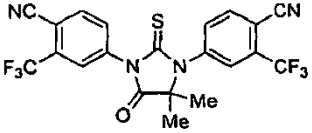
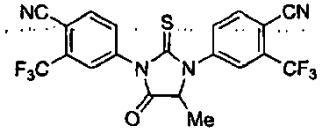
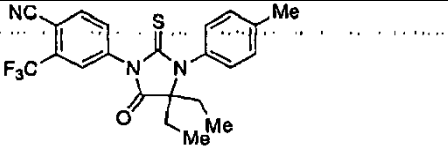
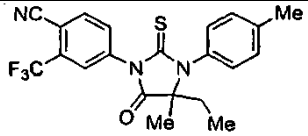
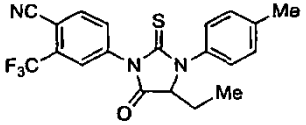
TABLA 7

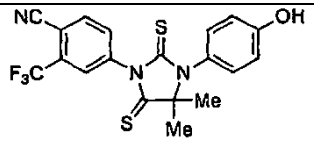
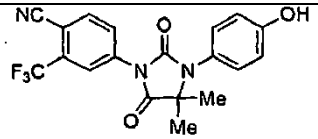
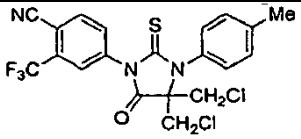
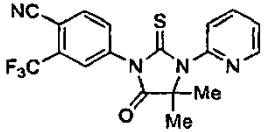
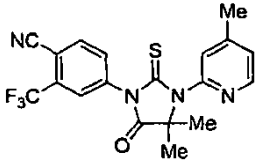
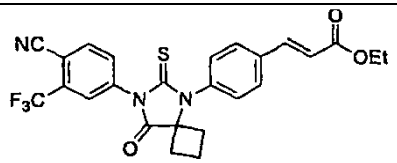
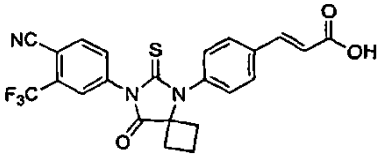
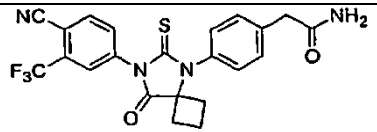
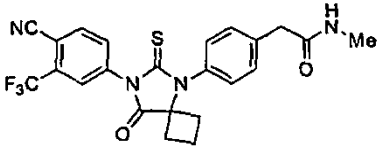
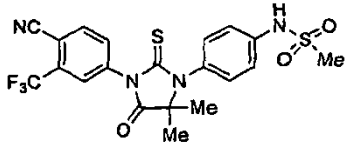
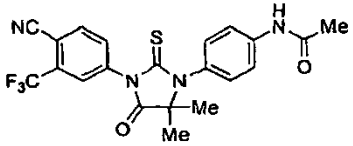
COMPUESTOS DEL NIVEL 3	
RD3 (comparativo) 	RD4 (comparativo) 
RD5 (comparativo) 	RD69 
RD127 	RD128 
RD129 	RD135 
RD137 	

Se juzgó que los compuestos del Nivel 4 (véase la Tabla 8) no eran mejores que la bicalutamida para tratar cáncer de próstata. RD39 y RD40 del Nivel 4 y RD37 del Nivel 1, por ejemplo, sólo se diferencian en el sustituyente en el carbono derecho inferior del anillo de hidantoína. Los sustituyentes en el anillo de arilo derecho también pueden afectar la actividad.

Algunos compuestos del Nivel 4 (incluyendo aquellos mostrados y otros que no se muestran) no fueron compuestos de diarilo (que carecían del anillo de arilo derecho), no fueron tiohidantoínas, no estuvieron disustituidos en el carbono derecho inferior del anillo de hidantoína y/o tuvieron sustituyentes distintos de oxígeno o amido en el carbono derecho inferior del anillo de hidantoína. Esto proporciona pruebas de las sorprendentes ventajas de las diariltiohidantoínas que están disustituidas en el carbono derecho inferior del anillo de hidantoína y tienen oxígeno o amido en el carbono izquierdo inferior del anillo de hidantoína.
Por tanto, los compuestos del Nivel 4 pueden ser útiles como antagonistas de RA y como agentes terapéuticos para cáncer de próstata resistente al tratamiento hormonal, al menos hasta el punto que sean comparables a la bicalutamida. Pueden ser útiles para tratar otras enfermedades o afecciones relacionadas con RA tales como hiperplasia benigna de próstata, pérdida de pelo y acné. Éstos y compuestos relacionados también pueden ser útiles como moduladores de otros receptores nucleares tales como receptor de estrógenos y receptor activado por los proliferadores de peroxisomas, y como agentes terapéuticos para enfermedades en las que los receptores nucleares desempeñan una función tales como cáncer de mama, cáncer de ovario, diabetes, enfermedades cardíacas y enfermedades relacionadas con el metabolismo. Pueden ser útiles en ensayos, por ejemplo, como patrones, o como productos intermedios o profármacos.

TABLA 8

COMPUESTOS DEL NIVEL 4			
RD2 (comparativo)		RD9	
RD21		RD22	
RD23		RD24	
RD25		RD26	
RD27		RD30	
RD31		RD39	
RD40		RD44	

COMPUESTOS DEL NIVEL 4			
RD59		RD60	
RD67		RD82	
RD83		RD11	
RD118		RD148	
RD149		RD150	
RD151			

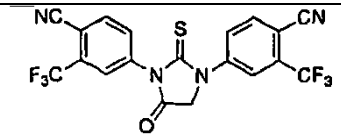
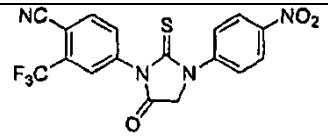
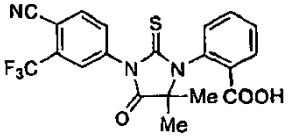
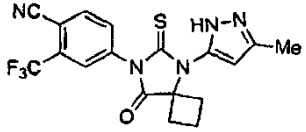
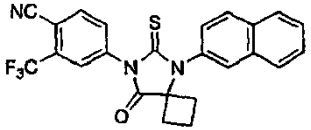
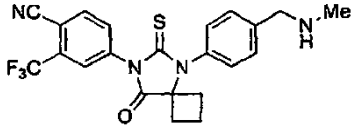
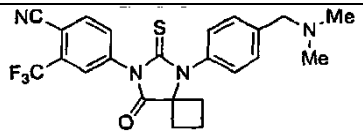
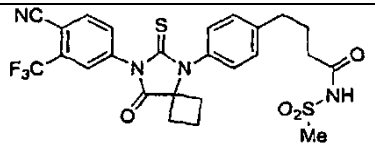
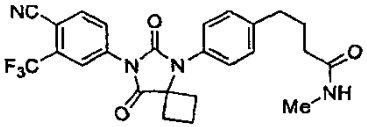
Nivel 5

Los compuestos del Nivel 5 (véase la Tabla 9) fueron inactivos o casi inactivos y, por tanto, fueron peores que la bicalutamida para tratar cáncer de próstata. Los sustituyentes en el anillo de arilo derecho son importantes para determinar actividad.

Algunos compuestos del Nivel 5 (algunos de los cuales se muestran y algunos que no se muestran) no fueron compuestos de diarilo (que carecían del anillo de arilo derecho), no fueron tiohidantoínas, no estuvieron disustituidos en el carbono derecho inferior del anillo de hidantoína y/o tuvieron sustituyentes distintos de oxígeno o amido en el carbono izquierdo inferior del anillo de hidantoína. Esto proporciona pruebas de las sorprendentes ventajas de las diariltiohidantoínas que están disustituidas en el carbono derecho inferior del anillo de hidantoína y tienen oxígeno o amido en el carbono izquierdo inferior del anillo de hidantoína. En particular, no se observa que el sustituyente terminal en RD155, RD 156 y 158 ($CH_2NR_xR_y$ en la que $R_{x,y}$ = H o metilo) contribuya a la actividad en estos compuestos.

Los compuestos del Nivel 5 no serían deseables para el tratamiento de cáncer de próstata o como antagonistas de RA, aunque éstos y compuestos relacionados pueden ser útiles como moduladores de otros receptores nucleares tales como receptor de estrógenos y receptor activado por los proliferadores de peroxisomas, y como agentes terapéuticos para enfermedades en las que los receptores nucleares desempeñan una función tales como cáncer de mama, cáncer de ovario, diabetes, enfermedades cardíacas y enfermedades relacionadas con el metabolismo. Pueden ser útiles en ensayos, por ejemplo, como patrones, o como productos intermedios o profármacos.

TABLA 9

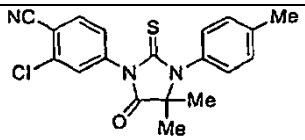
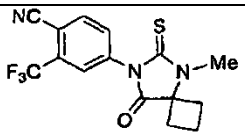
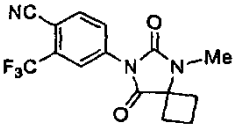
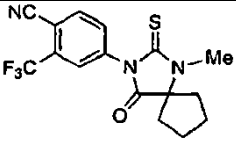
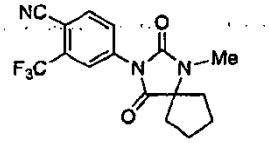
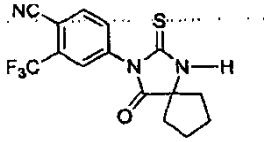
COMPUESTOS DEL NIVEL 5			
RD32		RD33	
RD65		RD84	
RD85		RD155	
RD156		RD157	
RD158			

Nivel 6

Los compuestos del Nivel 6 (véase la Tabla 10) fueron inactivos o casi inactivos, y además fueron fuertes agonistas y, por tanto, fueron mucho peores que la bicalutamida para tratar cáncer de próstata. Los compuestos comparativos se clasificaron muy malamente con respecto a los compuestos inventivos. Notablemente, RD72 tuvo muy mala actividad con un sustituyente de cloro en el anillo de arilo izquierdo, mientras que RD7 con un trifluorometano y RD100 con yodo se clasificaron en el Nivel 1. Los resultados para los compuestos del Nivel 6 proporcionan pruebas de las sorprendentes ventajas de las diariltiohidantoínas que están disustituidas en el carbono derecho inferior del anillo de hidantoína y tienen oxígeno o amido en el carbono izquierdo inferior del anillo de hidantoína, y tienen ciertos sustituyentes en el anillo de arilo izquierdo.

Los compuestos del Nivel 6 no serían deseables para el tratamiento de cáncer de próstata o como antagonistas de RA.

TABLA 10

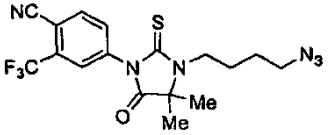
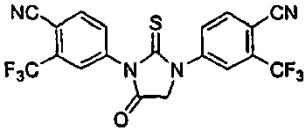
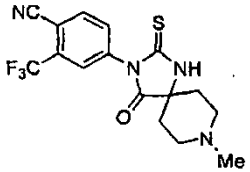
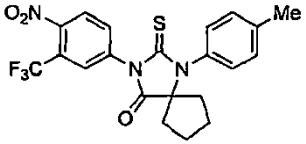
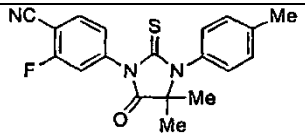
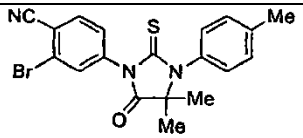
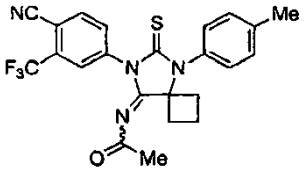
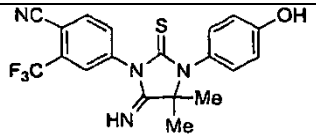
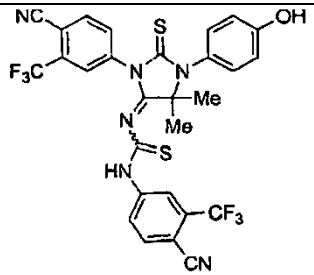
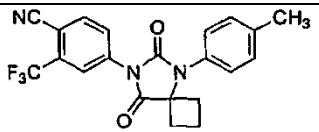
COMPUESTOS DEL NIVEL 6	
RD72 	RD73  (comparativo)
RD74  (comparativo)	RD75 
RD76  (comparativo)	RD77 

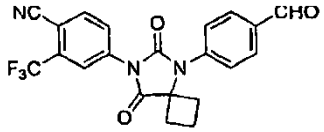
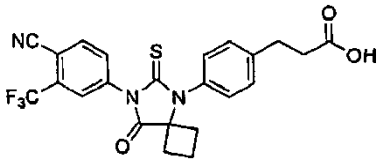
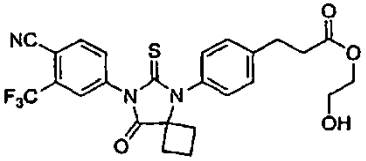
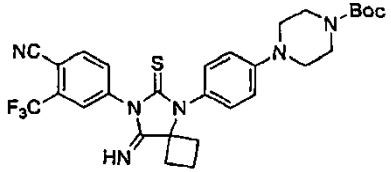
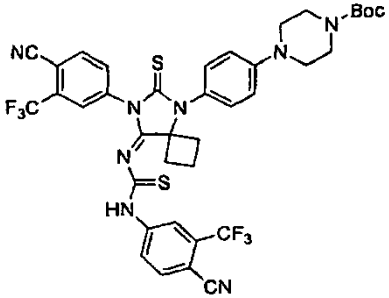
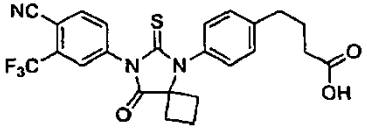
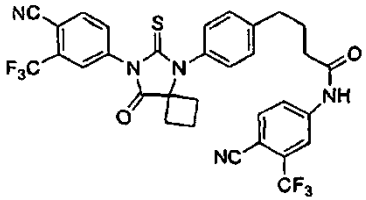
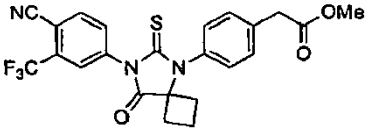
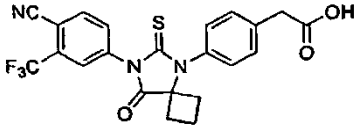
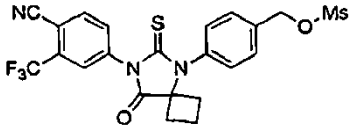
Compuestos sin nivel

Para varios compuestos hubo datos experimentales insuficientes para clasificarlos. Estos compuestos sin nivel se presentan en la Tabla 11.

Basándose en los datos y procedimientos de la invención, y aplicando el juicio basado en la revisión de muchos compuestos, incluyendo algunos no mostrados aquí, pueden hacerse algunas observaciones sobre los compuestos sin nivel. Se espera que el Ejemplo comparativo RD1 esté en el Nivel 3 con los Ejemplos comparativos RD3-RD5. Se espera que RD89 se hidrolice a RD37 (Nivel 1) y, por tanto, deba tener actividad comparable. Se espera que RD104 se hidrolice a RD58 (Nivel 1) y, por tanto, deba tener actividad comparable. Se espera que RD105 se hidrolice a RD8 (Nivel 1) y se espera que RD139 y RD140 se hidrolicen a RD138 (Nivel 2) y, por tanto, deban tener actividad comparable.

TABLA 11

COMPUESTOS SIN NIVEL			
RD1 (comparativo)		RD19	
RD52		RD79	
RD80		RD81	
RD89		RD104	
RD105		RD106	

COMPUESTOS SIN NIVEL			
RD115		RD132	
RD136		RD139	
RD140		RD141	
RD142		RD146	
RD147		RD154	

En resumen, se identificaron y se produjeron compuestos novedosos que muestran pruebas de ser muy superiores a la bicalutamida en el tratamiento de cáncer de próstata.

Sensibilidad de la actividad anticancerígena de compuestos a diferencias estructurales

Los inventores han determinado que lo que podría parecer un pequeño cambio en la estructura de los compuestos de hidantoína puede producir un gran cambio en el rendimiento de ese compuesto en el tratamiento de cáncer de próstata. Por ejemplo, RD161 y RD162 sólo se diferencian en un único sustituyente de flúor en un anillo de arilo y RD162 está en el Nivel 1, mientras que RD161 está en el Nivel 2, siendo ambos mejores que la bicalutamida para el tratamiento de cáncer de próstata, pero siendo RD162 superior. Sin embargo, RD149, que se diferencia de RD161 sólo en que tiene un átomo de carbono adicional entre el grupo metilcarbamoílo y el anillo de arilo, no es mejor que la bicalutamida para el tratamiento de cáncer de próstata y se clasifica en el Nivel 4. El efecto de RD161, RD162 y RD149 sobre la actividad de la luciferasa puede observarse en la Figura 24. A una concentración de compuesto dada, la actividad de la luciferasa tras la exposición a RD161 y RD162 es inferior a la actividad de la luciferasa tras la exposición a RD149.

RD9 se diferencia de RD8 sólo en que un grupo hidroxilo está sustituido por un grupo amino. Sin embargo, mientras que RD8 está en el Nivel 1, es mucho mejor que la bicalutamida para el tratamiento de cáncer de próstata, RD9 está en el Nivel 4, no es mejor que la bicalutamida. El efecto de RD8 y RD9 sobre la actividad de la luciferasa en la línea celular 1RA puede observarse en la Figura 27. Para una dosis dada, la actividad de la luciferasa tras la exposición a RD8 es inferior a la actividad de la luciferasa tras la exposición a RD9. El efecto de RD8 y RD9 sobre la actividad de la luciferasa en la línea celular 4RA puede observarse en la Figura 26. Para una dosis dada, la actividad de la luciferasa tras la exposición a RD8 es inferior a la actividad de la luciferasa tras la exposición a RD9. El efecto de RD8 y RD9 sobre los niveles de PSA en la línea celular LN/RA puede observarse en la Figura 25. Para una dosis dada, el nivel de PSA tras la exposición a RD8 es inferior al nivel de PSA tras la exposición a RD9.

RD130 y RD131 se diferencian entre sí sólo por un sustituyente metilo en el extremo de un grupo carbamoílo y ambos compuestos se clasifican en el Nivel 1, aunque se ha encontrado que RD131 es particularmente ventajoso. RD129 es el mismo que RD130, con la excepción de un grupo amino que está sustituido por un grupo metoxi. Sin embargo, RD129 se clasifica en el Nivel 3. RD128 es similar a RD129, pero tiene un carbono menos en la cadena que enlaza el grupo éster con el anillo de arilo; RD128 se clasifica en el Nivel 3. El efecto de RD130, RD131, RD128 y RD129 sobre los niveles de PSA en la línea celular LN/RA puede observarse en la Figura 28. Para una concentración dada, el nivel de PSA tras la exposición a RD130 y RD131 es inferior al nivel de PSA tras la exposición a RD128 y RD129.

RD153 y RD4155 se diferencian entre sí en que el primero tiene un grupo metilcarbamoílo unido a un anillo de arilo y un sustituyente dimetilo unido al grupo tiohidantoína, mientras que el último tiene un grupo metilamino unido al anillo de arilo derecho y un sustituyente ciclobutilo unido al grupo tiohidantoína. Mientras que RD153 está en el Nivel 1, mucho mejor que la bicalutamida para el tratamiento de cáncer de próstata, RD155 está en el Nivel 5, inactivo o casi inactivo en el tratamiento de cáncer de próstata. El efecto de RD153 y RD155 sobre la actividad de la luciferasa en la línea celular LN/RA puede observarse en la Figura 29. Para una concentración dada, la actividad de la luciferasa tras la exposición a RD153 es inferior a la actividad de la luciferasa tras la exposición a RD155.

RD458 y RD60 se diferencian entre sí en la sustitución de un grupo oxo por un tio y un sustituyente ciclobutilo por uno dimetilo. Mientras que RD58 está en el Nivel 1, RD60 está en el Nivel 4.

Composiciones farmacéuticas y administración

El compuesto para uso de la invención puede ser útil en la forma de una composición farmacéutica preparada con una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto, como se define en este documento, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

El compuesto para uso de la invención puede formularse como composiciones farmacéuticas y administrarse a un sujeto en necesidad de tratamiento, por ejemplo, un mamífero tal como un paciente humano, en una variedad de formas adaptadas a la vía de administración elegida, por ejemplo, por vía oral, nasalmente, intraperitonealmente o parenteralmente, por vías intravenosa, intramuscular, tópica o subcutánea, o mediante inyección en el tejido.

Por tanto, el compuesto para uso de la invención puede administrarse sistémicamente, por ejemplo, por vía oral, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como un diluyente inerte o un vehículo comestible asimilable, o por inhalación o insuflación. Puede encerrarse en cápsulas de gelatina de vaina dura o blanda, puede comprimirse en comprimidos o puede incorporarse directamente con el alimento de la dieta del paciente. Para administración terapéutica oral, el compuesto para uso puede combinarse con uno o más excipientes y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos para chupar, trociscos, cápsulas, elixires, suspensión, jarabes, obleas y similares. El compuesto para uso puede combinarse con un vehículo en polvo inerte y ser inhalado por el sujeto o insuflado. Tales composiciones y preparaciones deberían contener al menos el 0,1% de compuesto de diarilhidantoína. El porcentaje de las composiciones y preparaciones puede, por supuesto, variarse y puede estar

convenientemente entre aproximadamente el 2% y aproximadamente el 60% del peso de una forma de dosificación unitaria dada. La cantidad de compuesto para uso en tales composiciones terapéuticamente útiles es de forma que se obtenga un nivel de dosificación eficaz.

Los comprimidos, trociscos, píldoras, cápsulas y similares también pueden contener los siguientes: aglutinantes tales como goma tragacanto, goma arábiga, almidón de maíz o gelatina; excipientes tales como fosfato de dicalcio; un agente de disgregación tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico y similares; un lubricante tal como estearato de magnesio; y un edulcorante tal como sacarosa, fructosa, lactosa o aspartamo o un aromatizante tal como menta, aceite de gaulteria, o puede añadirse aromatizante de cereza. Si la forma de dosificación unitaria es una cápsula, además de los materiales del tipo anterior puede contener un vehículo líquido tal como un aceite vegetal o un polietilenglicol. Diversos otros materiales pueden estar presentes como recubrimientos o modificar de otro modo la forma física de la forma sólida de dosificación unitaria. Por ejemplo, comprimidos, píldoras o cápsulas pueden recubrirse con gelatina, cera, Shellac o azúcar y similares. Un jarabe o elixir puede contener el compuesto activo, sacarosa o fructosa como edulcorante, metil y propilparabenos como conservantes, un colorante y aromatizante tal como aroma de cereza o de naranja. Por supuesto, cualquier material usado en la preparación de cualquier forma de dosificación unitaria debería ser farmacéuticamente aceptable y sustancialmente no tóxico en las cantidades empleadas. Además, el compuesto para uso de diarilhidantoína puede incorporarse en preparaciones y dispositivos de liberación sostenida. Por ejemplo, el compuesto para uso de diarilhidantoína puede incorporarse en cápsulas de liberación con el tiempo, comprimidos de liberación con el tiempo y píldoras de liberación con el tiempo.

El compuesto para uso de la invención también puede administrarse intravenosamente o intraperitonealmente por infusión o inyección. Pueden prepararse disoluciones del compuesto para uso en agua, opcionalmente mezcladas con un tensioactivo no tóxico. Las dispersiones también pueden prepararse en glicerol, polietilenglicoles líquidos, triacetina y mezclas de los mismos y en aceites. Bajo condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones pueden contener un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

Las formas de dosificación farmacéuticas adecuadas para inyección o infusión pueden incluir disoluciones o dispersiones acuosas estériles o polvos estériles que comprenden el compuesto para uso de diarilhidantoína que están adaptados para la preparación extemporánea de disoluciones o dispersiones inyectables o infundibles estériles, opcionalmente encapsulados en liposomas. En todos los casos, la forma de dosificación final debe ser estéril, fluida y estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento. El soporte o vehículo líquido puede ser un disolvente o medio de dispersión líquido que comprende, por ejemplo, agua, etanol, un poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicoles líquidos y similares), aceites vegetales, ésteres de glicerilo no tóxicos y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, por formación de liposomas, por el mantenimiento de la partícula requerida, tamaño en el caso de dispersiones, o por el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos pueden provocarse por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, tampones o cloruro sódico. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede provocarse por el uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las disoluciones inyectables estériles se preparan incorporando el compuesto para uso de diarilhidantoína en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con diversos de los otros componentes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En el caso de polvos estériles para la preparación de disoluciones inyectables estériles, los procedimientos preferidos de preparación son técnicas de secado a vacío y de liofilización que dan un polvo del principio activo más cualquier componente deseado adicional presente en las disoluciones esterilizadas por filtración previas.

Para administración tópica, el compuesto para uso de diarilhidantoína puede aplicarse en forma pura. Sin embargo, generalmente se deseará administrarlos a la piel como composiciones o formulaciones, en combinación con un vehículo dermatológicamente aceptable, que puede ser un sólido o un líquido.

Vehículos sólidos útiles incluyen sólidos finamente divididos tales como talco, arcilla, celulosa microcristalina, sílice, alúmina y similares. Otros vehículos sólidos incluyen nanopartículas o micropartículas poliméricas no tóxicas. Vehículos líquidos útiles incluyen agua, alcoholes o glicoles o mezclas de agua/alcohol/glicol, en los que el compuesto para uso de diarilhidantoína puede disolverse o dispersarse a niveles eficaces, opcionalmente con la ayuda de tensioactivos no tóxicos. Adyuvantes tales como fragancias y agentes antimicrobianos adicionales pueden añadirse para optimizar las propiedades para un uso dado. Las composiciones líquidas resultantes pueden aplicarse a partir de almohadillas absorbentes usadas para impregnar vendajes y otros apósitos, o pulverizarse sobre el área afectada usando pulverizadores tipo bomba o de aerosol.

También pueden emplearse espesantes tales como polímeros sintéticos, ácidos grasos, sales y ésteres de ácidos grasos, alcoholes grasos, celulosas modificadas o materiales minerales modificados con vehículos líquidos para formar pastas extensibles, geles, pomadas, jabones y similares, para la aplicación directamente a la piel del usuario.

Ejemplos de composiciones dermatológicas útiles que pueden usarse para administrar el compuesto para uso de

diarilhidantoína a la piel son conocidos en la técnica; por ejemplo, véase Jacquet y col. (patente de EE.UU. nº 4.608.392), Geria (patente de EE.UU. nº 4.992.478), Smith y col. (patente de EE.UU. nº 4.559.157) y Wortzman (patente de EE.UU. nº 4.820.508).

Dosificaciones útiles del compuesto para uso de la presente invención pueden determinarse comparando su actividad *in vitro* y actividad *in vivo* en modelos animales. Procedimientos para la extrapolación de dosificaciones eficaces en ratones, y otros animales, a seres humanos son conocidos en la técnica; por ejemplo, véase la patente de EE.UU. nº 4.938.949.

Por ejemplo, la concentración del compuesto para uso de diarilhidantoína en una composición líquida, tal como una loción, puede ser de aproximadamente el 0,1-25% en peso, o de aproximadamente el 0,5-10% en peso. La concentración en una composición semisólida o sólida tal como un gel o un polvo puede ser de aproximadamente el 0,1-5% en peso, o aproximadamente el 0,5-2,5% en peso.

La cantidad del compuesto para uso de la invención requerida para su uso en tratamiento variará no sólo con la sal particular seleccionada, sino también con la vía de administración, la naturaleza de esta afección que está tratándose y la edad y afección del paciente, y será en última instancia a discreción del médico adjunto o médico práctico.

Las dosificaciones eficaces y las vías de administración de agentes de la invención son convencionales. La cantidad exacta (dosis eficaz) del agente variará de sujeto a sujeto dependiendo de, por ejemplo, la especie, edad, peso y estado general o clínico del sujeto, la gravedad o mecanismo de cualquier trastorno que está tratándose, el agente particular o vehículo usado, el procedimiento y programa de administración, y similares. Una dosis terapéuticamente eficaz puede determinarse empíricamente mediante procedimientos convencionales conocidos para aquellos expertos en la materia. Véase, por ejemplo, The Pharmacological Basis of Therapeutics, Goodman y Gilman, eds., Macmillan Publishing Co., Nueva York. Por ejemplo, una dosis eficaz puede estimarse inicialmente tanto en ensayos de cultivo celular como en modelos animales adecuados. El modelo animal también puede usarse para determinar los intervalos de concentración apropiados y las vías de administración. Tal información puede luego usarse para determinar dosis útiles y vías para la administración a seres humanos. Una dosis terapéutica también puede seleccionarse por analogía a dosificaciones para agentes terapéuticos comparables.

El modo particular de administración y la pauta de dosificación se seleccionarán por el médico adjunto teniendo en cuenta los detalles del caso (por ejemplo, el sujeto, la enfermedad, el estado de enfermedad implicado y si el tratamiento es profiláctico). El tratamiento puede implicar dosis diarias o múltiples dosis al día del compuesto durante un periodo de algunos días a meses, o incluso años.

En general, sin embargo, una dosis adecuada estará en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/kg, por ejemplo, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día, tal como superior a aproximadamente 0,1 mg por kilogramo, o en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal del receptor por día. Por ejemplo, una dosis adecuada puede ser aproximadamente 1 mg/kg, 10 mg/kg o 50 mg/kg de peso corporal por día.

El compuesto para uso de la invención se administra convenientemente en forma de dosificación unitaria; por ejemplo, conteniendo 0,05 a 10000 mg, 0,5 a 10000 mg, 5 a 1000 mg o aproximadamente 100 mg de principio activo por forma de dosificación unitaria.

El compuesto para uso puede administrarse para lograr concentraciones en plasma pico de, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 75 μM, aproximadamente 1 a 50 μM, aproximadamente 2 a aproximadamente 30 μM, o aproximadamente 5 a aproximadamente 25 μM. Concentraciones en plasma deseables a modo de ejemplo incluyen al menos o no más de 0,25, 0,5, 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100 ó 200 μM. Por ejemplo, los niveles en plasma puede ser de aproximadamente 1 a 100 micromolar o de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 micromolar. Esto puede lograrse, por ejemplo, por la inyección intravenosa de una disolución al 0,05 al 5% del compuesto para uso, opcionalmente en solución salina, o administrada por vía oral como un bolo que contienen aproximadamente 1-100 mg del compuesto para uso de diarilhidantoína. Niveles en sangre deseables pueden mantenerse por infusión continua proporcionando aproximadamente 0,00005 - 5 mg por kg de peso corporal por hora, por ejemplo, al menos o no más de 0,00005, 0,0005, 0,005, 0,05, 0,5, ó 5 mg/kg/h. Alternativamente, tales niveles pueden obtenerse por infusiones intermitentes que contienen aproximadamente 0,0002 - 20 mg por kg de peso corporal, por ejemplo, al menos o no más de 0,0002, 0,002, 0,02, 0,2, 2, 20 ó 50 mg del compuesto para uso de diarilhidantoína por kg de peso corporal.

El compuesto para uso de la invención puede presentarse convenientemente en una dosis única o como dosis divididas administradas a intervalos apropiados, por ejemplo, como dos, tres, cuatro o más subdosis por día. La propia subdosis puede dividirse adicionalmente, por ejemplo, en varias administraciones libremente separadas discretas; tal como múltiples inhalaciones de un insuflador.

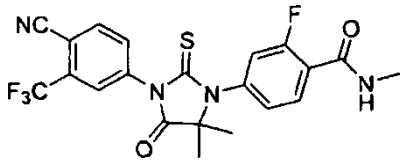
El compuesto para uso de la invención presenta poca o ninguna actividad agonista con respecto a células de cáncer

de próstata resistente al tratamiento hormonal. Debido a que este compuesto es un fuerte inhibidor de RA, puede usarse en el tratamiento de benigna de próstata. Debido a que el RA pertenece a la familia de los receptores nucleares, este compuesto puede usarse en el tratamiento de cáncer de mama o cáncer de ovario, en las que los receptores nucleares desempeñan una función.

Las realizaciones ilustradas y tratadas en esta memoria descriptiva están previstas sólo para enseñar a aquellos expertos en la materia la mejor forma conocida por los inventores para preparar y usar la invención. Nada en esta memoria descriptiva debe considerarse limitante del alcance de la presente invención. Todos los ejemplos presentados son representativos y no limitantes.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula



[RD162']

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un metodo de tratamiento de un trastorno hiperproliferativo en donde el trastorno hiperproliferativo esta seleccionado entre el grupo que comprende hiperplasia benigna de próstata, cáncer de mama, y cáncer de ovarios

2.- El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el trastorno hiperproliferativo es hiperplasia benigna de próstata.

3.- El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el trastorno hiperproliferativo es cáncer de mama.

4.- El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el trastorno hiperproliferativo es cáncer de ovario.

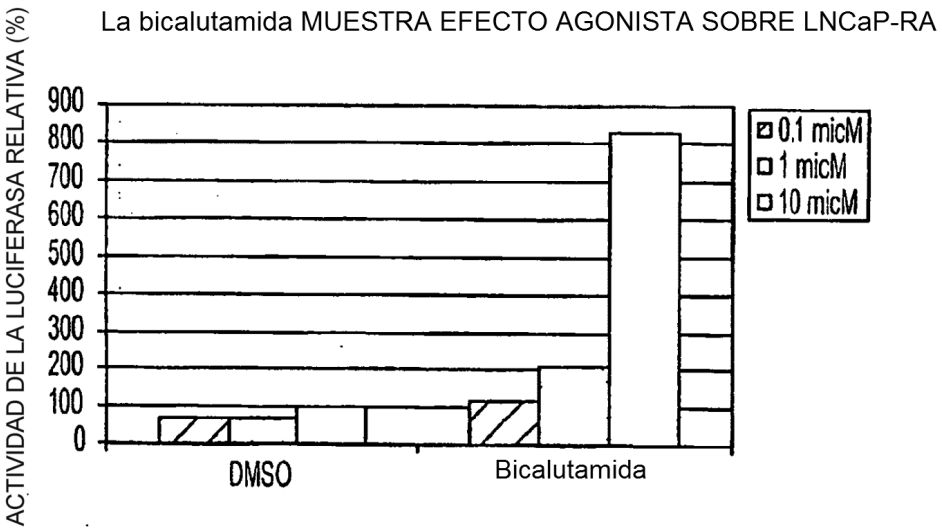

La bicalutamida MUESTRA EFECTO AGONISTA SOBRE LNCaP-RA
ACTIVIDAD DE LA LUCIFERASA RELATIVA (%)
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
DMSO
Bicalutamida
0.1 micM
1 micM
10 micM

FIG. 1

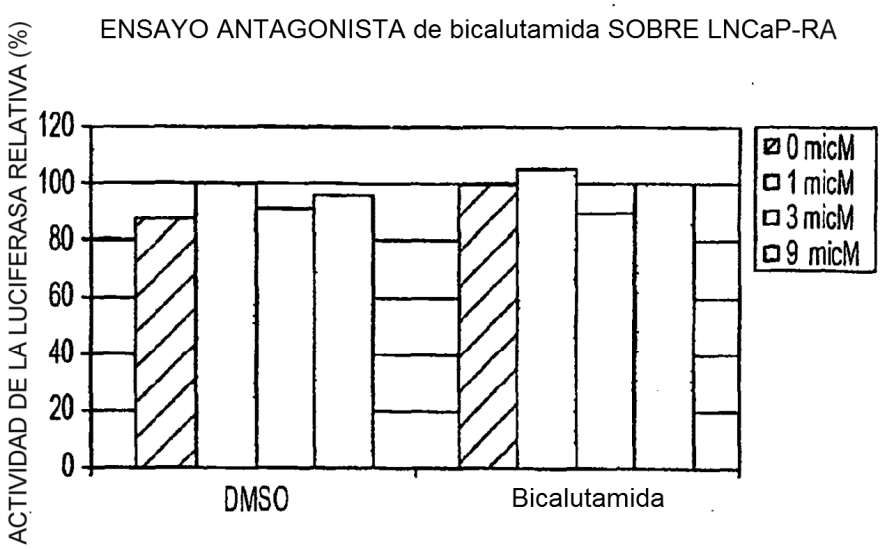

ENSAYO ANTAGONISTA de bicalutamida SOBRE LNCaP-RA
ACTIVIDAD DE LA LUCIFERASA RELATIVA (%)
120
100
80
60
40
20
0
DMSO
Bicalutamida
0 micM
1 micM
3 micM
9 micM

FIG. 2

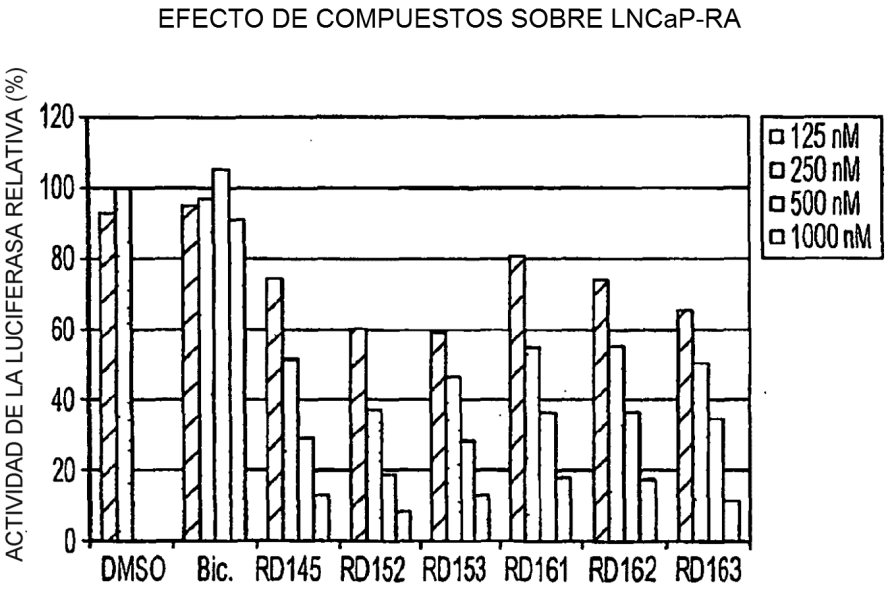

EFECTO DE COMPUESTOS SOBRE LNCaP-RA
ACTIVIDAD DE LA LUCIFERASA RELATIVA (%)
120
100
80
60
40
20
0
DMSO
Bic.
RD145
RD152
RD153
RD161
RD162
RD163
125 nM
250 nM
500 nM
1000 nM

FIG. 3

EFECTO DE COMPUESTOS SOBRE LNCaP-RA

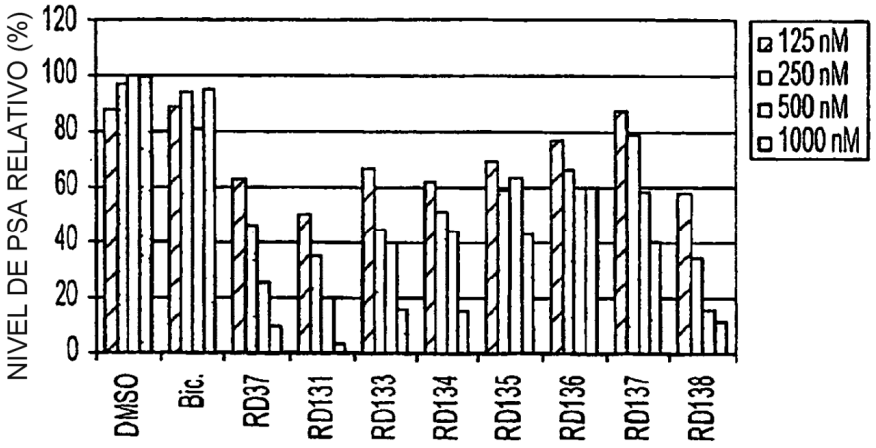


FIG. 4

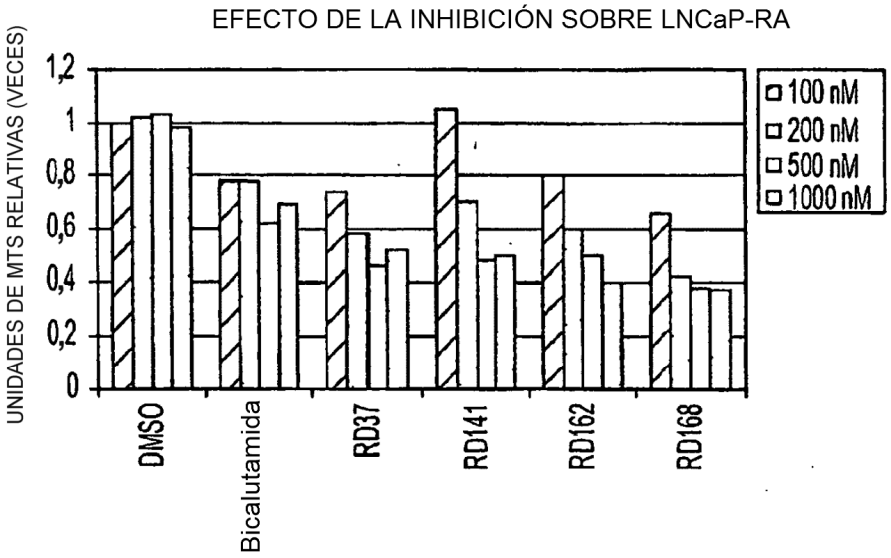

EFECTO DE LA INHIBICIÓN SOBRE LNCaP-RA
UNIDADES DE MTS RELATIVAS (VECES)
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
100 nM
200 nM
500 nM
1000 nM
DMSO
Bicalutamida
RD37
RD141
RD162
RD168

FIG. 5

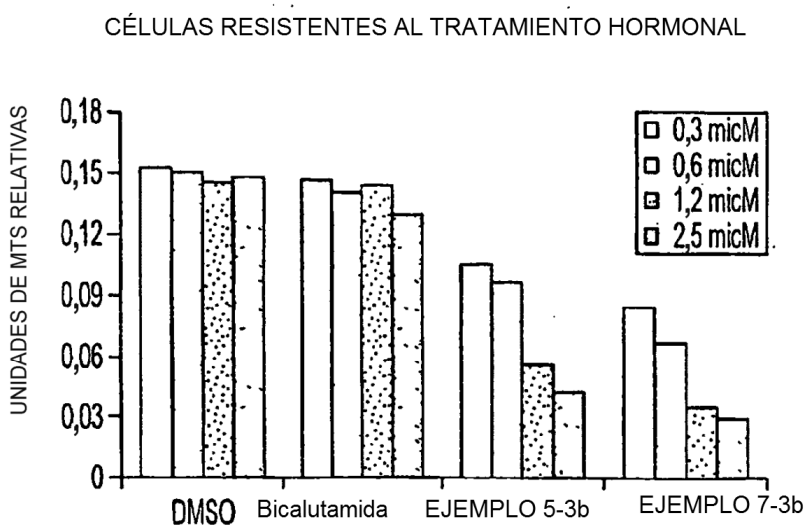

CÉLULAS RESISTENTES AL TRATAMIENTO HORMONAL
UNIDADES DE MTS RELATIVAS
0,18
0,15
0,12
0,09
0,06
0,03
0
0,3 micM
0,6 micM
1,2 micM
2,5 micM
DMSO
Bicalutamida
EJEMPLO 5-3b
EJEMPLO 7-3b

FIG. 6

Bic y EJEMPLO 7-3b SOBRE EL CRECIMIENTO DE LN/RA (n=8)

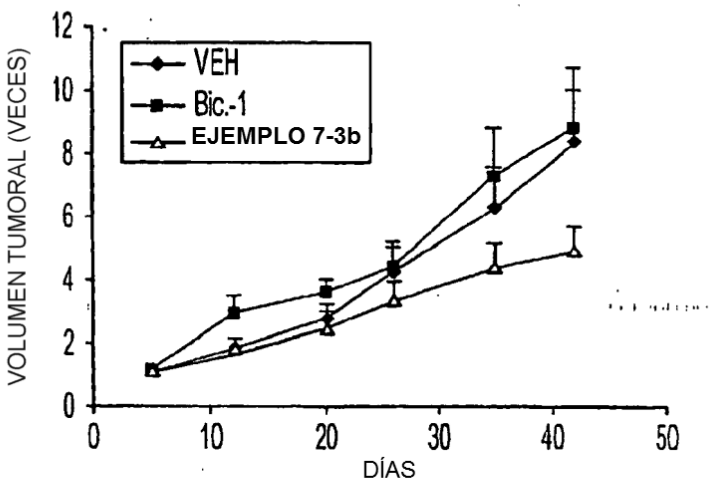


FIG. 7A

EJEMPLO 7-3b SOBRE EL CRECIMIENTO DE LN/RA (n=8)

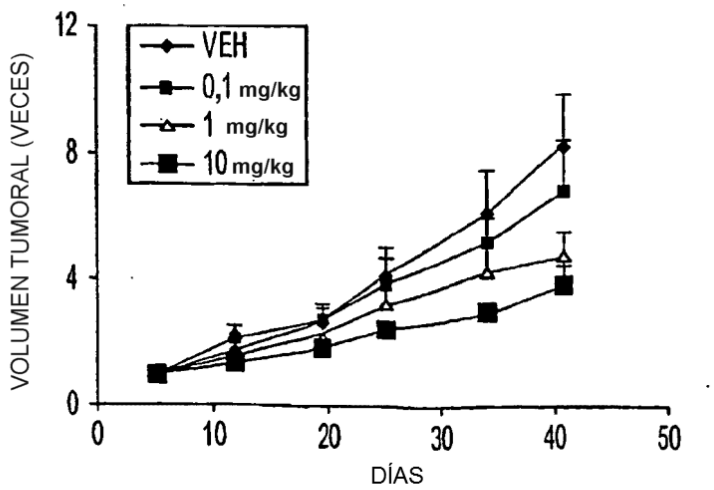


FIG. 7B

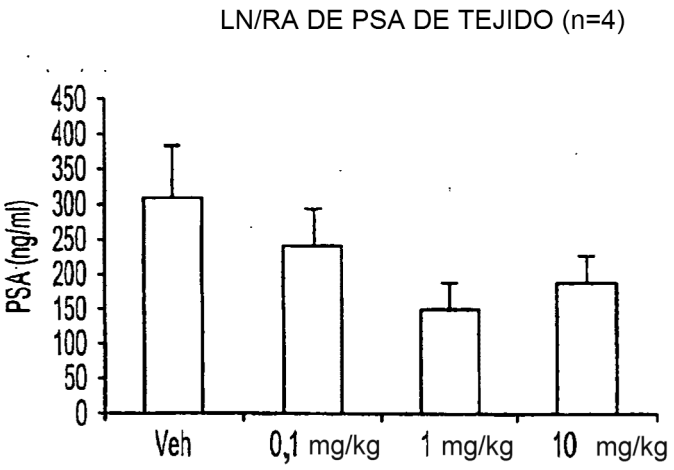

LN/RA DE PSA DE TEJIDO (n=4)
PSA (ng/ml)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Veh
0,1 mg/kg
1 mg/kg
10 mg/kg

FIG. 8

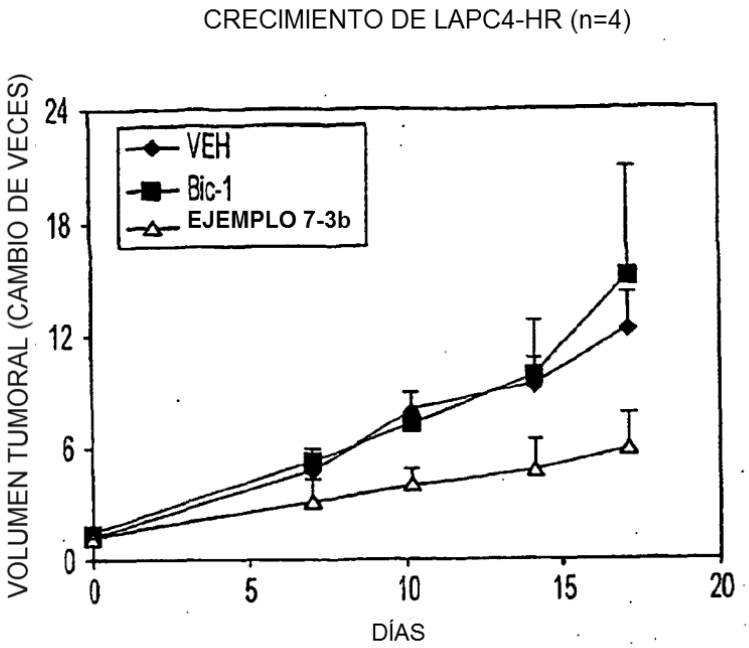

CRECIMIENTO DE LAPC4-HR (n=4)
VOLUMEN TUMORAL (CAMBIO DE VECES)
24
18
12
6
0
VEH
Bic-1
EJEMPLO 7-3b
0
5
10
15
20
DÍAS

FIG. 9A

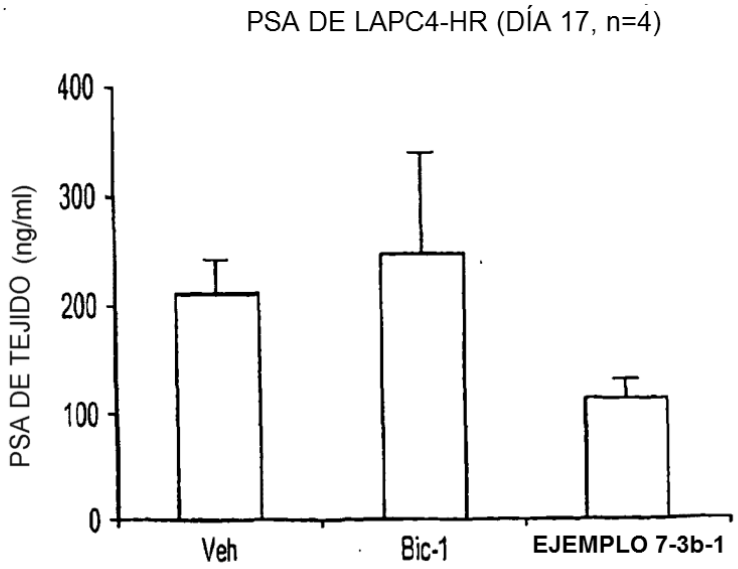

PSA DE LAPC4-HR (DÍA 17, n=4)
PSA DE TEJIDO (ng/ml)
400
300
200
100
0
Veh
Bic-1
EJEMPLO 7-3b-1

FIG. 9B

CÉLULAS SENSIBLES A HORMONAS

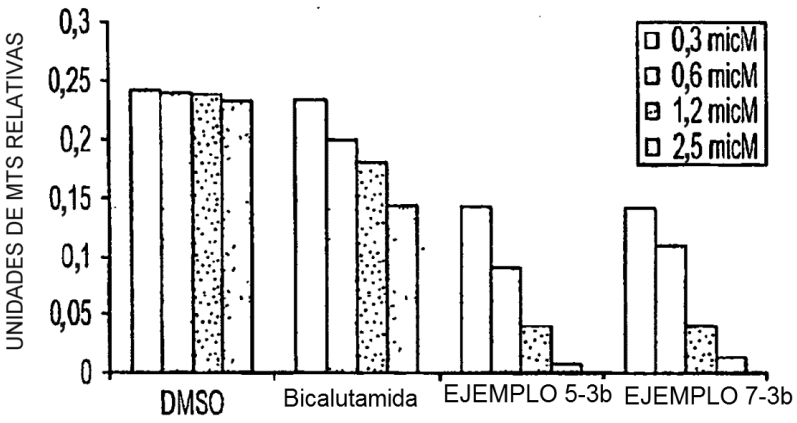


FIG. 10

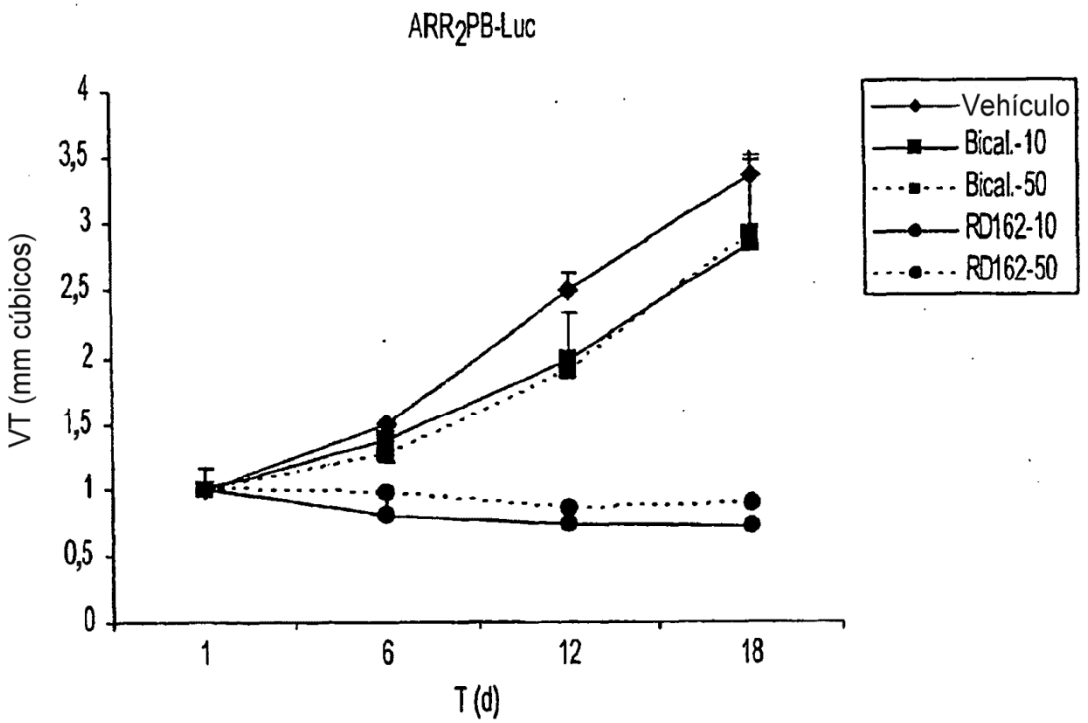

ARR2PB-Luc
VT (mm cúbicos)
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
1
6
12
18
T (d)
Vehículo
Bical.-10
Bical.-50
RD162-10
RD162-50

FIG. 11

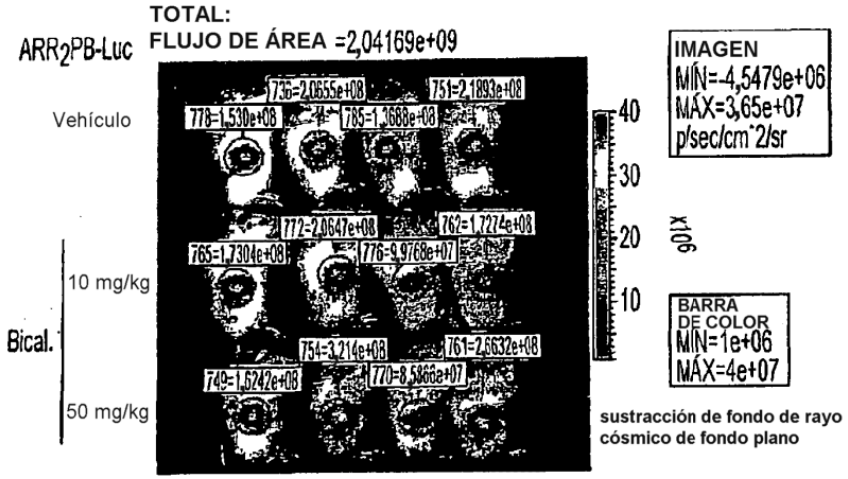


FIG. 12A

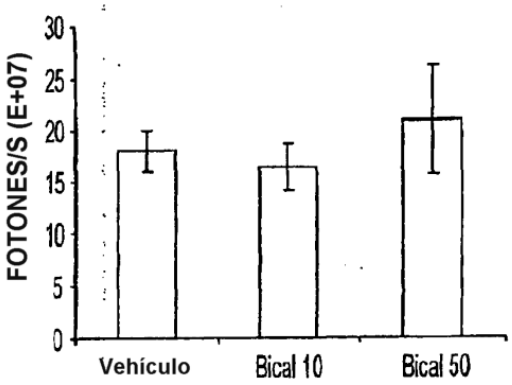


FIG. 12C

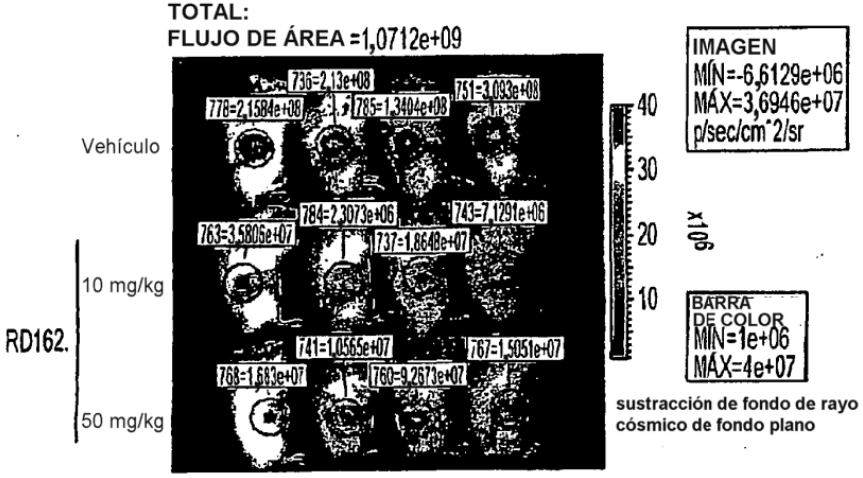


FIG. 12B

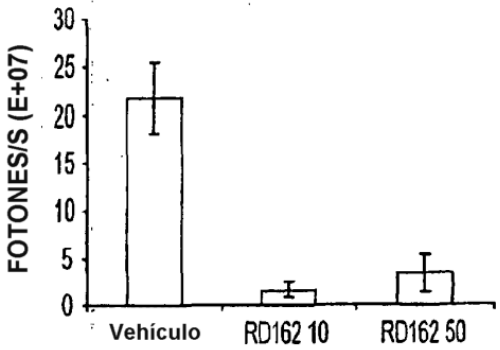


FIG. 12D

PK DE RD162: ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA Y ORAL

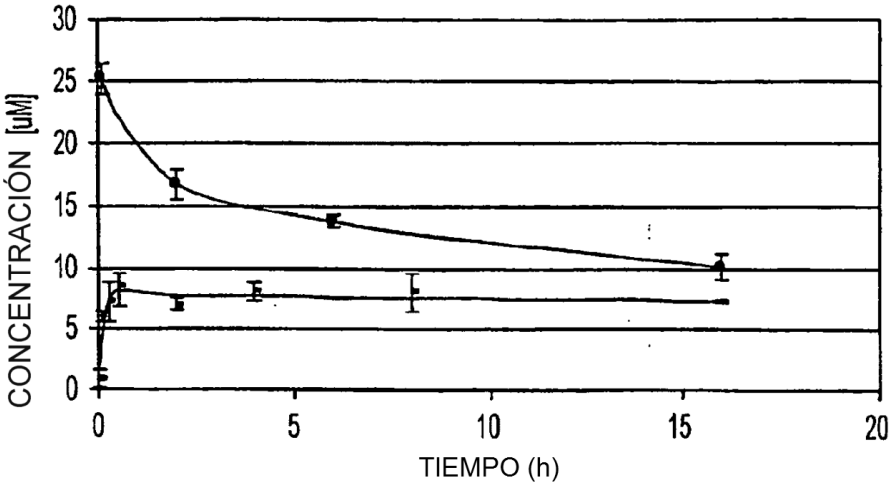


FIG. 13

LN-RA (HR)

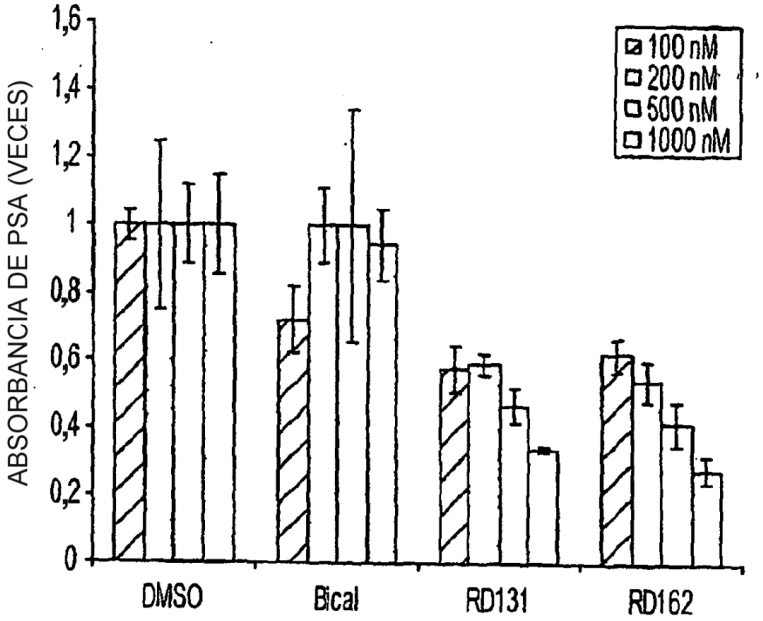


FIG. 14

CARACTERÍSTICAS DE bicalutamida, RD37, RD131 Y RD162

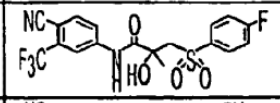
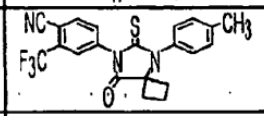
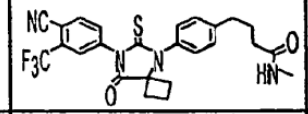
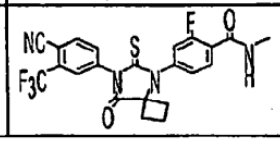
NOMBRE	ESTRUCTURA	CI_{50} [nM]	LogP	C_{SS}, 10 mg/kg [µM]	C_{SS}, 25 mg/kg [µM]	C_{SS}, 50 mg/kg [µM]
Bic.		1000	2,91	10,0	11,4	11,9
RD37		124	4,20	NA	NA	NA
RD131		92	3,44	0,39	0,43	0,40
RD162		122	3,20	9,9	10,7	10,2

FIG. 15A

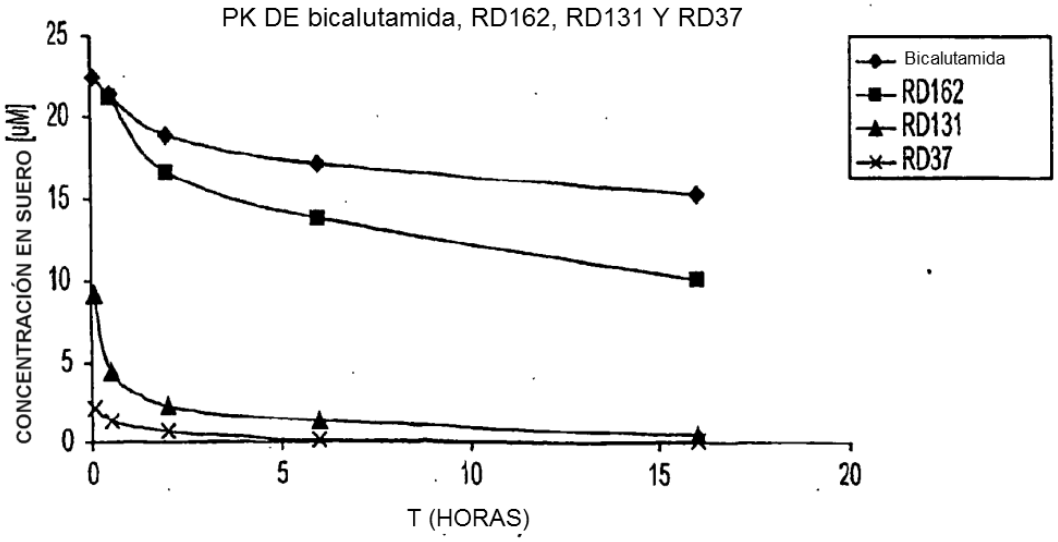


FIG. 15B

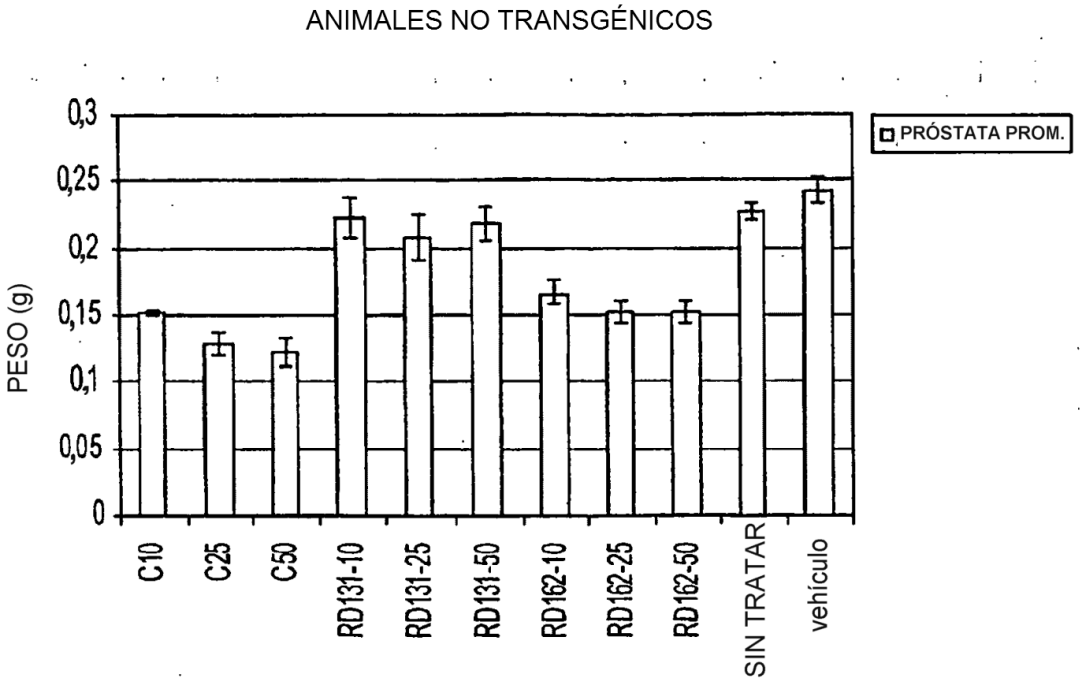

ANIMALES NO TRANSGÉNICOS
PESO (g)
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
PRÓSTATA PROM.
C10
C25
C50
RD131-10
RD131-25
RD131-50
RD162-10
RD162-25
RD162-50
SIN TRATAR
vehículo

FIG. 16

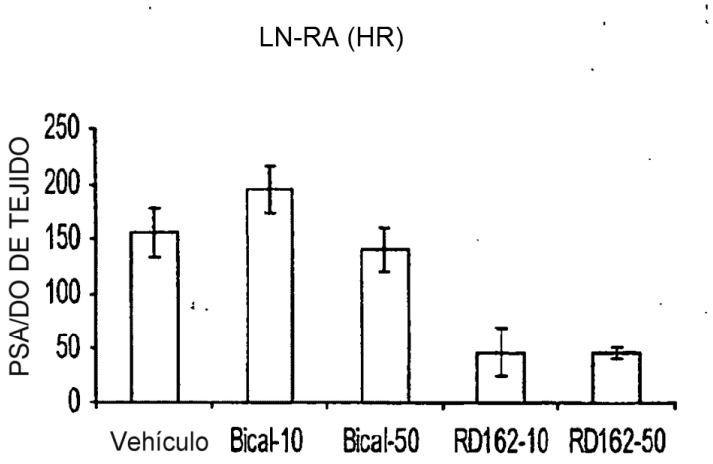

LN-RA (HR)
PSA/DO DE TEJIDO
250
200
150
100
50
0
Vehículo
Bical-10
Bical-50
RD162-10
RD162-50

FIG. 17

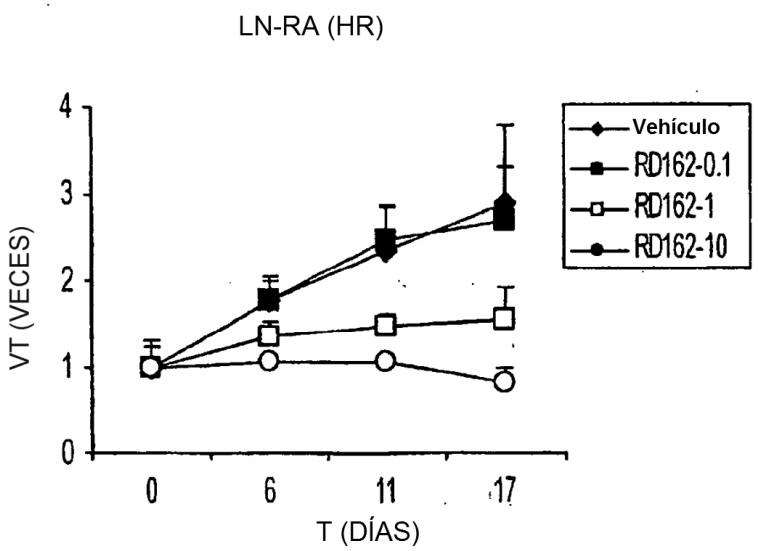

LN-RA (HR)
VT (VECES)
4
3
2
1
0
0
6
11
17
T (DÍAS)
Vehículo
RD162-0.1
RD162-1
RD162-10

FIG. 18

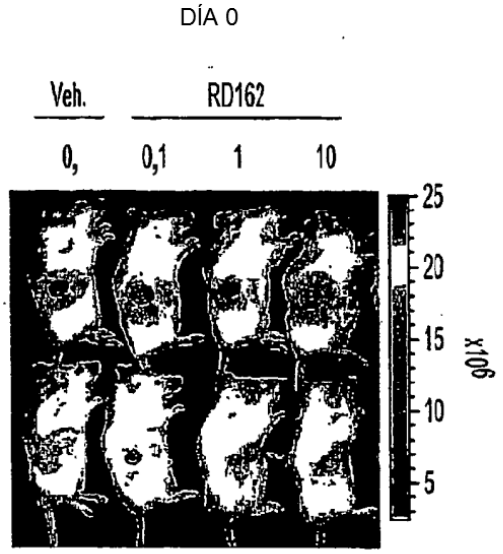


FIG. 19A

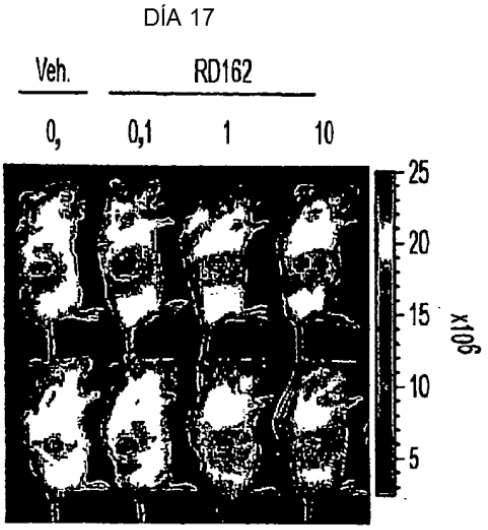


FIG. 19B

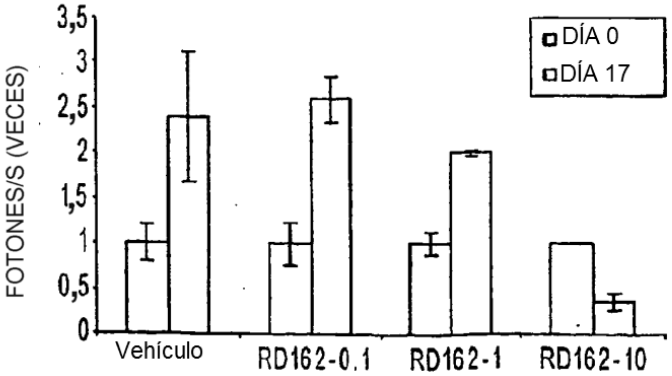


FIG. 19C

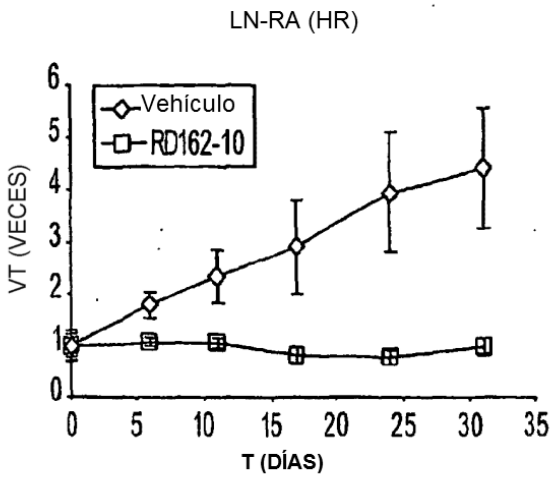


FIG. 20A

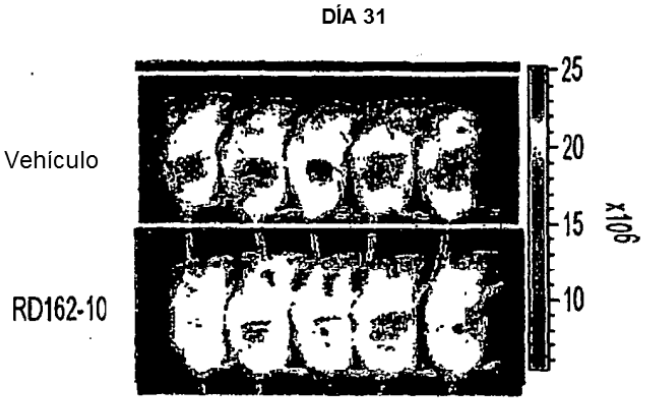


FIG. 20B

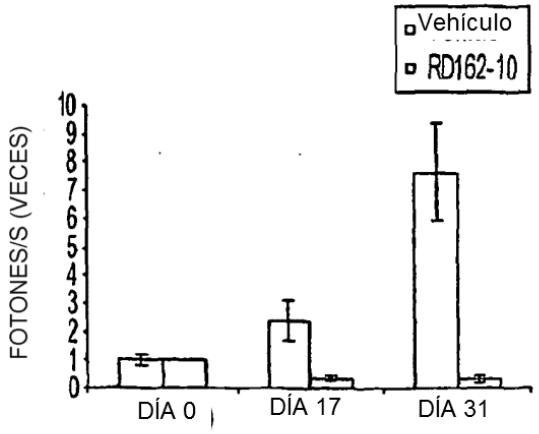


FIG. 20C

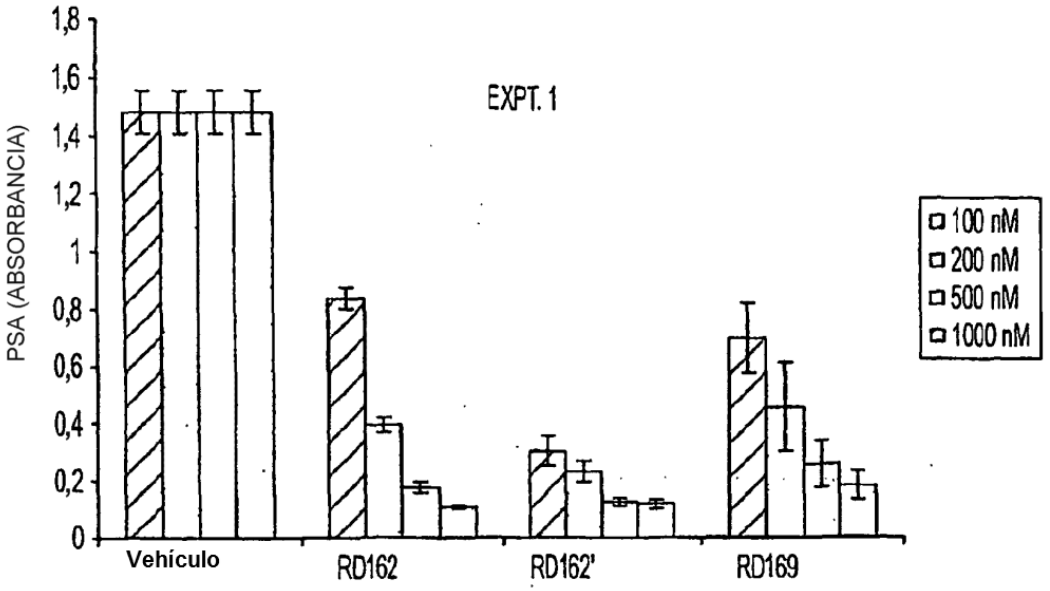


FIG. 21A

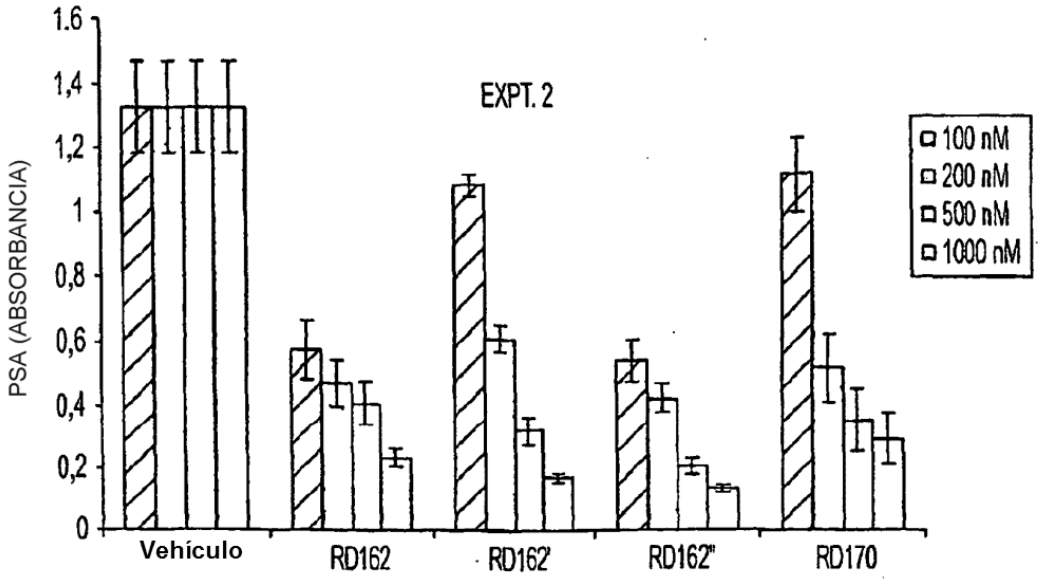


FIG. 21B

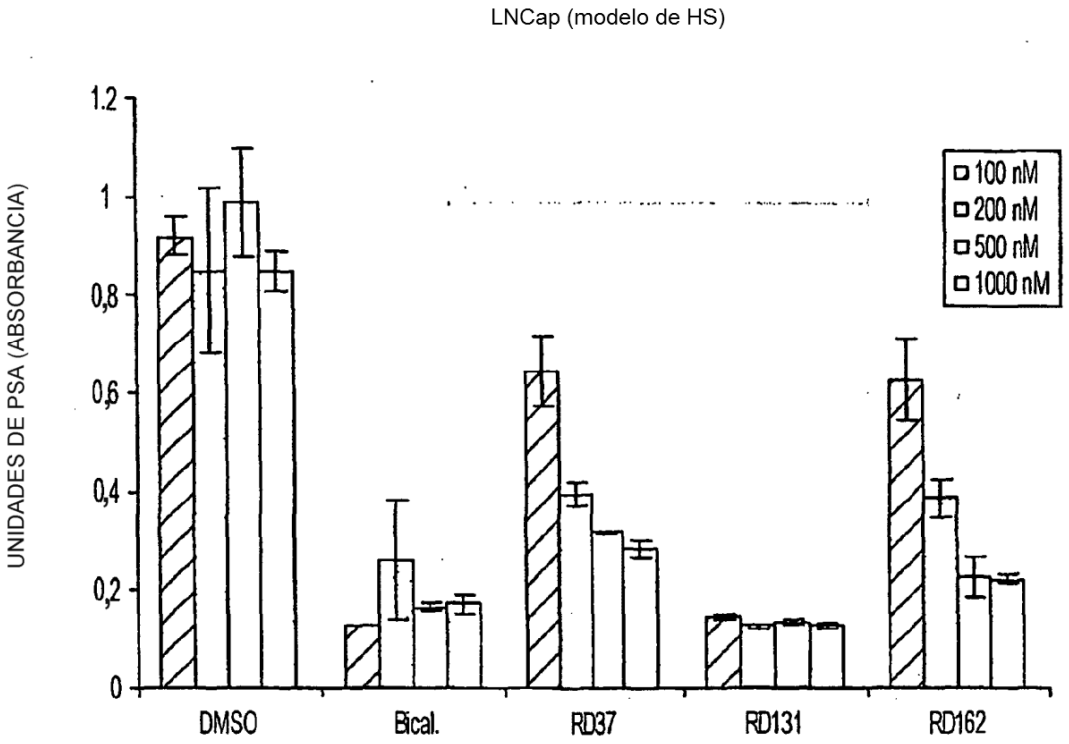

LNCap (modelo de HS)
UNIDADES DE PSA (ABSORBANCIA)
1.2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
100 nM
200 nM
500 nM
1000 nM
DMSO
Bical.
RD37
RD131
RD162

FIG. 22

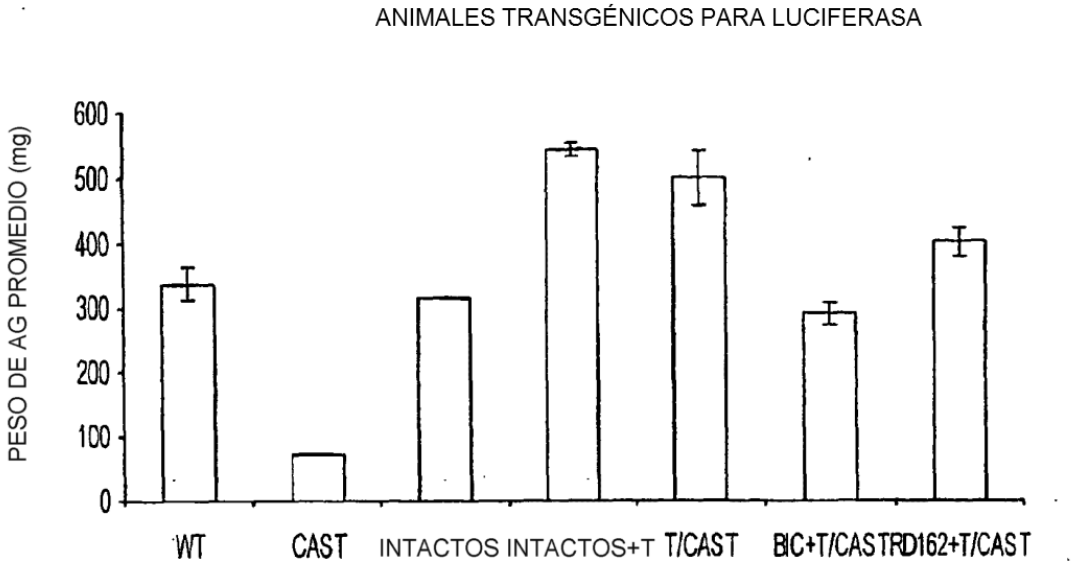


FIG. 23A

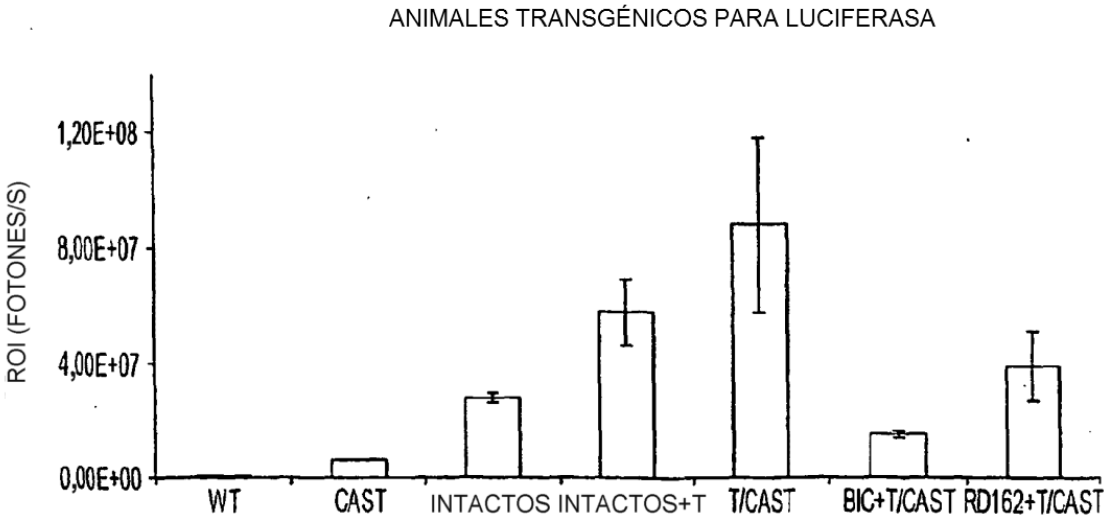


FIG. 23B

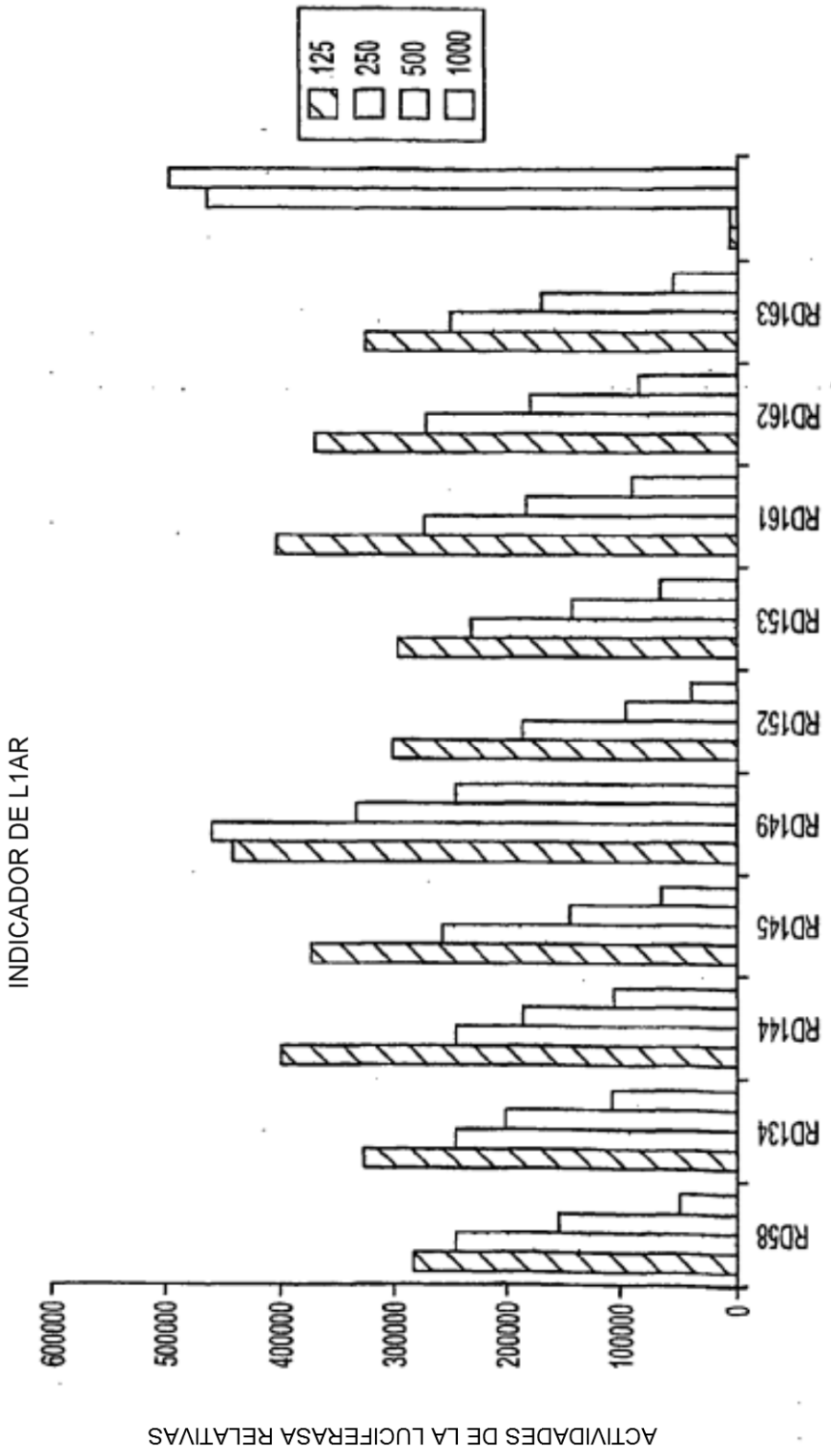

125
250
500
1000
INDICADOR DE L1AR
ACTIVIDADES DE LA LUCIFERASA RELATIVAS
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
RD58
RD134
RD144
RD145
RD149
RD152
RD153
RD161
RD162
RD163

FIG. 24

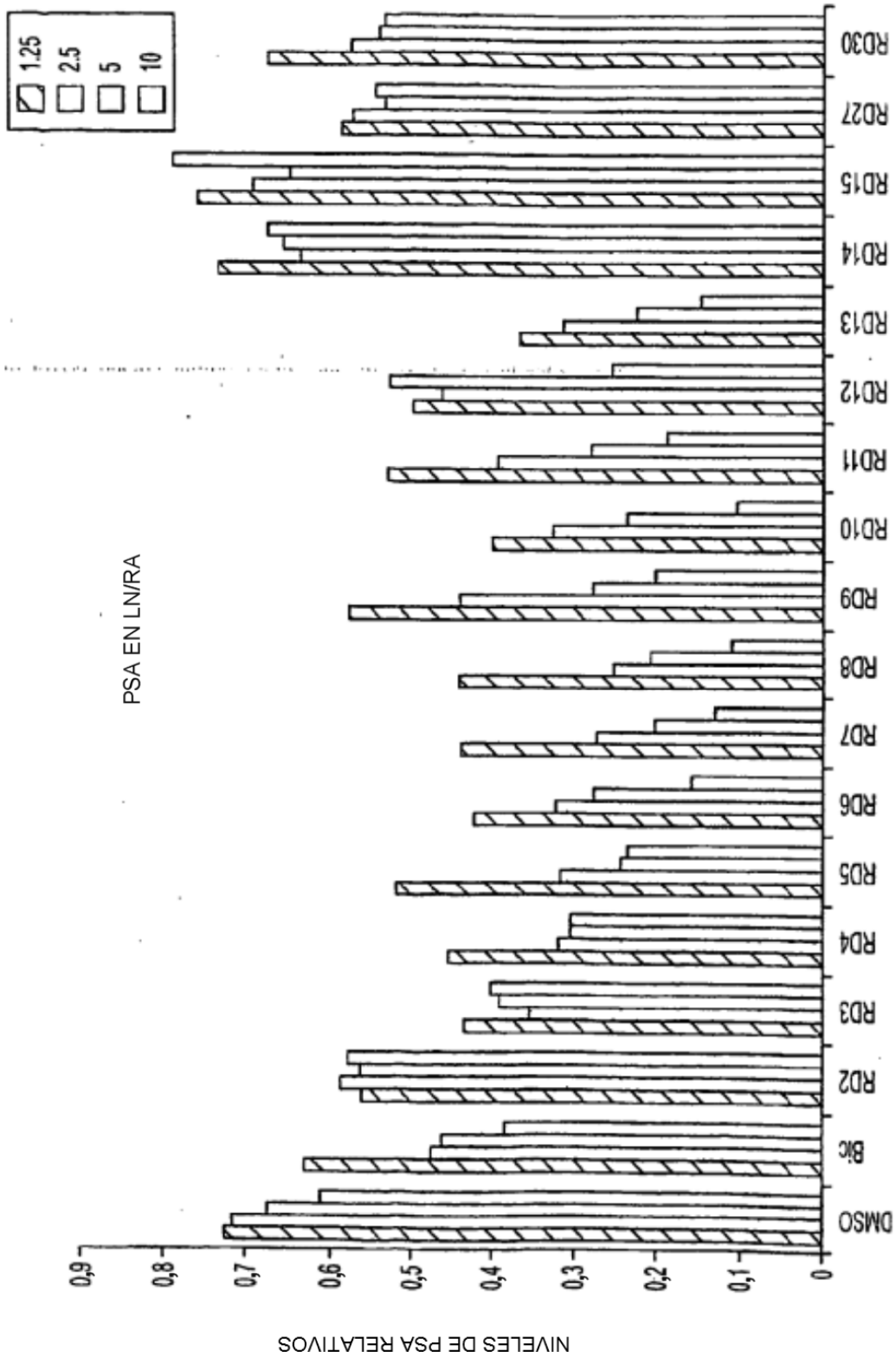

PSA EN LN/RA
1.25
2.5
5
10
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
DMSO
Bic
RD2
RD3
RD4
RD5
RD6
RD7
RD8
RD9
RD10
RD11
RD12
RD13
RD14
RD15
RD27
RD30
NIVELES DE PSA RELATIVOS

FIG. 25

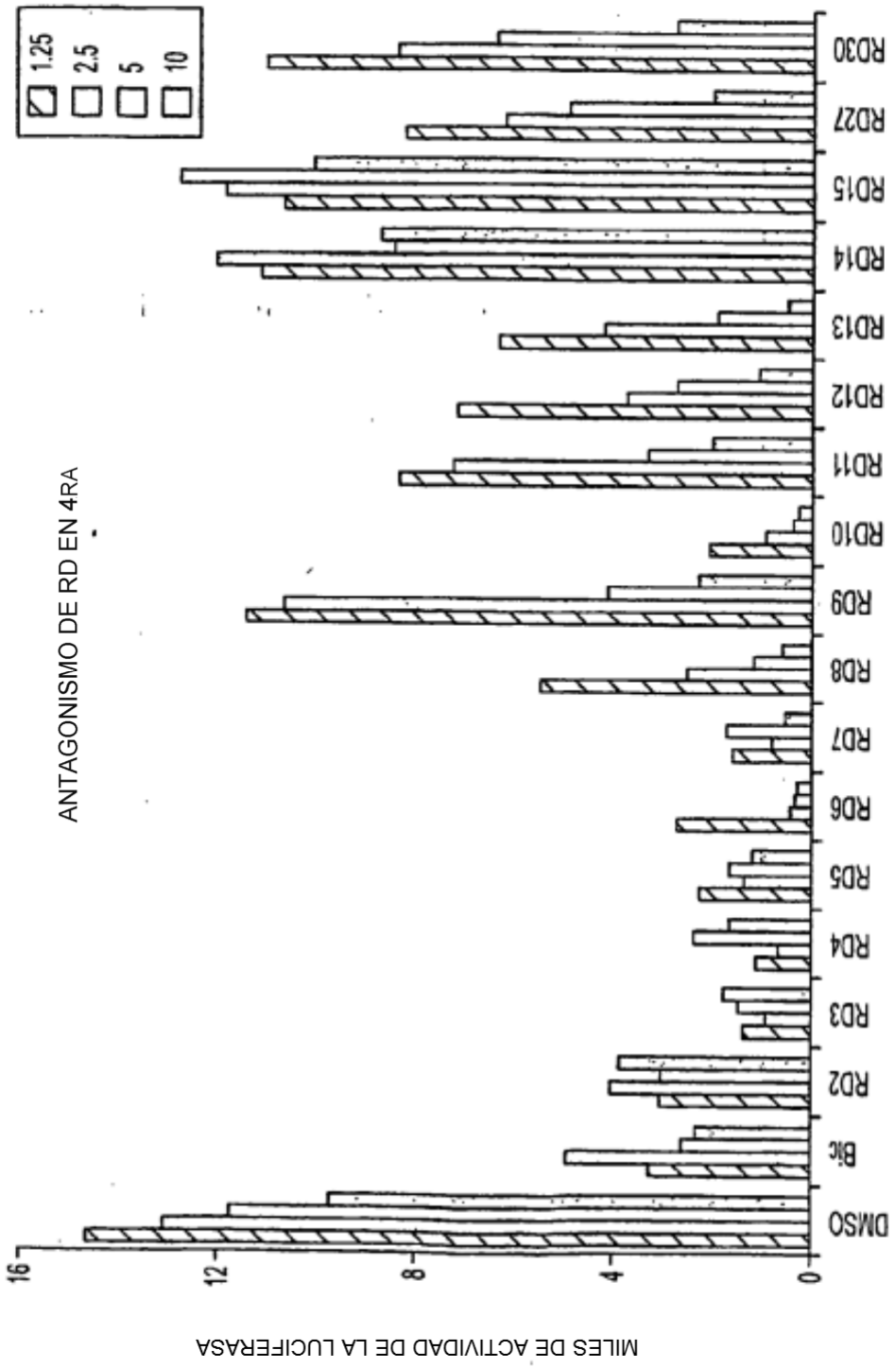

ANTAGONISMO DE RD EN 4RA
1.25
2.5
5
10
16
12
8
4
0
MILES DE ACTIVIDAD DE LA LUCIFERASA
DMSO
Bic
RD2
RD3
RD4
RD5
RD6
RD7
RD8
RD9
RD10
RD11
RD12
RD13
RD14
RD15
RD27
RD30

FIG. 26

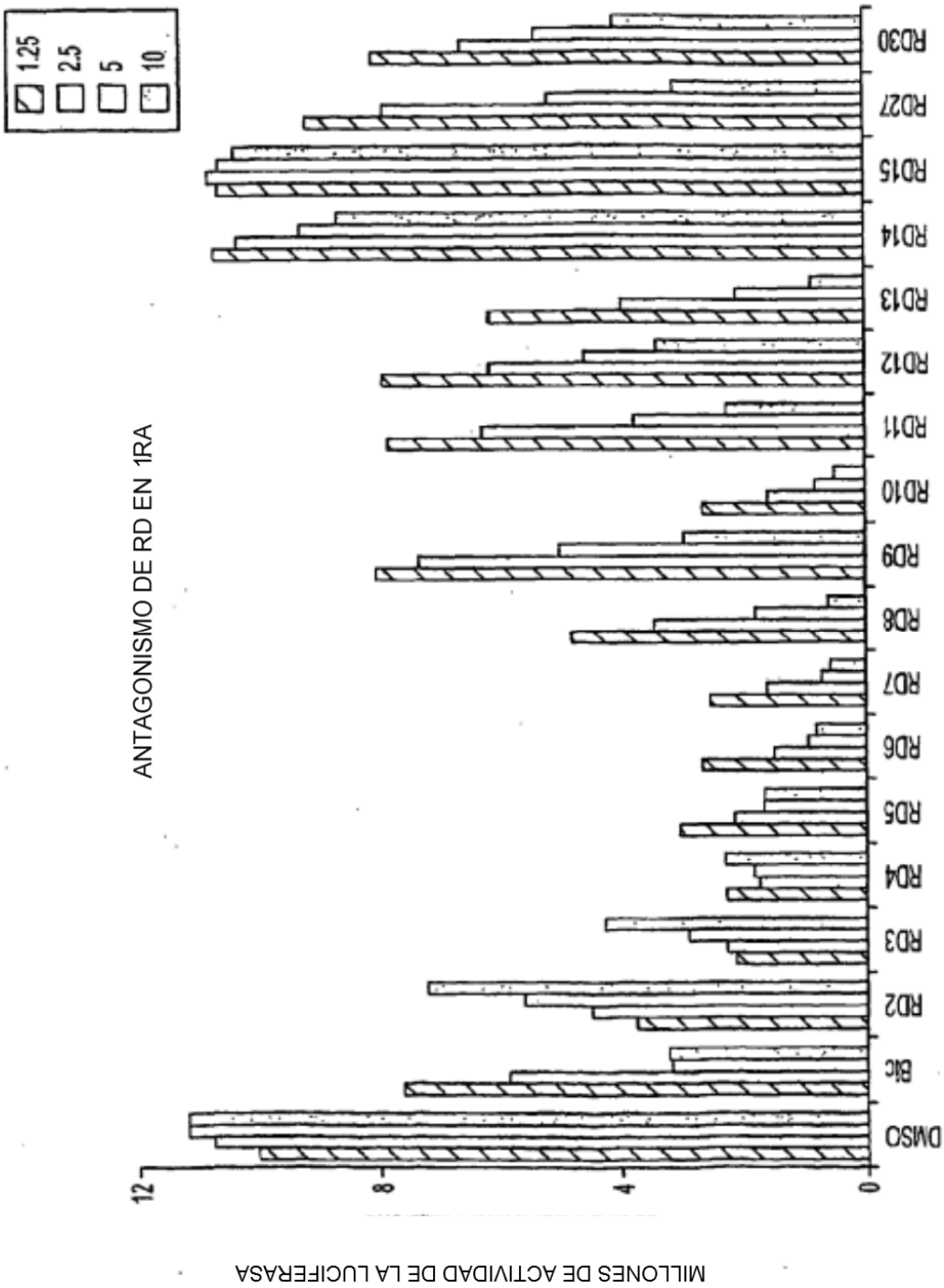

ANTAGONISMO DE RD EN 1RA
1.25
2.5
5
10
MILLONES DE ACTIVIDAD DE LA LUCIFERASA
12
8
4
0
DMSO
Bic
RD2
RD3
RD4
RD5
RD6
RD7
RD8
RD9
RD10
RD11
RD12
RD13
RD14
RD15
RD27
RD30

FIG. 27

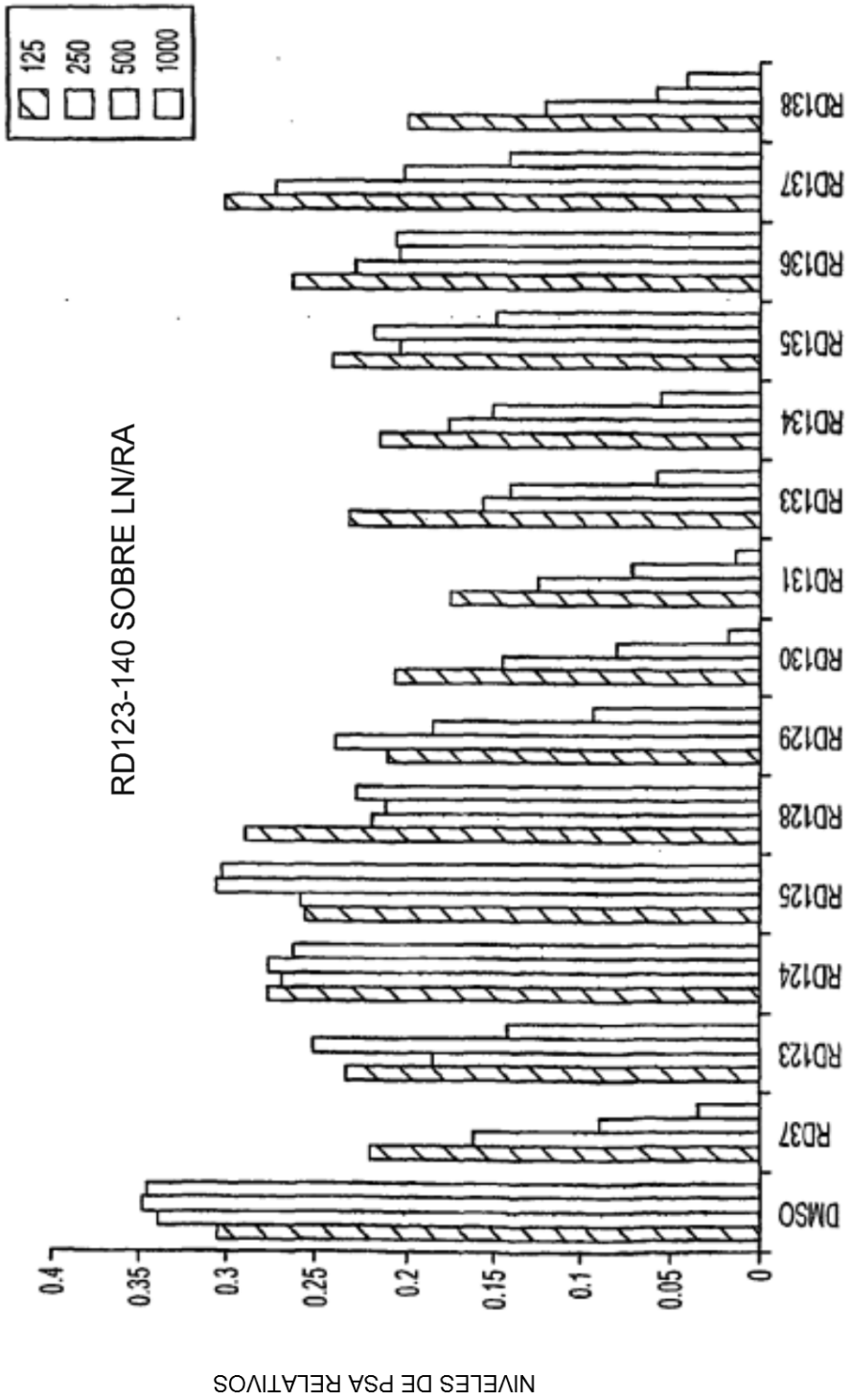

RD123-140 SOBRE LN/RA
125
250
500
1000
0.4
0.35
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
DMSO
RD37
RD123
RD124
RD125
RD128
RD129
RD130
RD131
RD133
RD134
RD135
RD136
RD137
RD138
NIVELES DE PSA RELATIVOS

FIG. 28

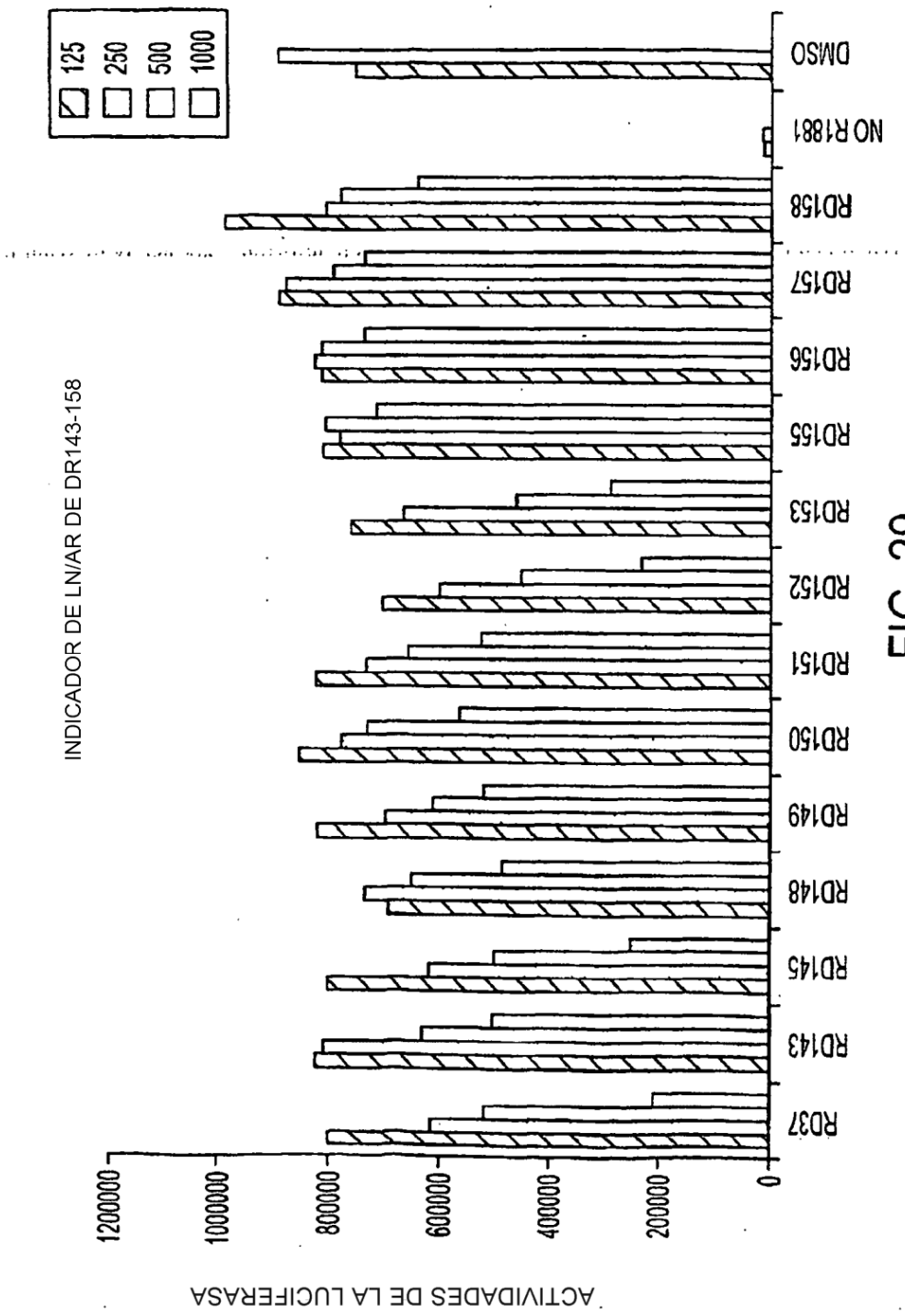

INDICADOR DE LN/AR DE DR143-158
125
250
500
1000
ACTIVIDADES DE LA LUCIFERASA
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
RD37
RD143
RD145
RD148
RD149
RD150
RD151
RD152
RD153
RD155
RD156
RD157
RD158
NO R1881
DMSO

FIG. 29