

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 797**

51 Int. Cl.:

C07D 471/10	(2006.01)
A61K 31/438	(2006.01)
A61P 3/14	(2006.01)
A61P 5/18	(2006.01)
A61P 43/00	(2006.01)
C07D 519/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.12.2013 PCT/JP2013/083022**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.06.2014 WO14092061**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2013 E 13862318 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.02.2018 EP 2930176**

54 Título: **Derivados de hidantoína**

30 Prioridad:

10.12.2012 JP 2012269178

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

17.04.2018

73 Titular/es:

**CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA (100.0%)
5-1, Ukima 5-chome
Kita-ku, Tokyo 115-8543, JP**

72 Inventor/es:

**NISHIMURA, YOSHIKAZU;
ESAKI, TORU y
TAMURA, TATSUYA**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 663 797 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de hidantoína

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a productos farmacéuticos que comprenden como ingrediente activo un derivado de hidantoína que tiene una alta estabilidad metabólica y exhibe un potente efecto de tipo PTH.

10 Técnica antecedente

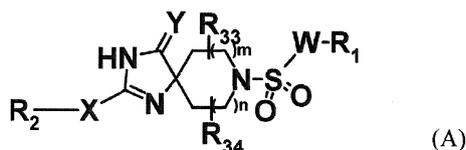
La hormona paratiroidea (PTH) se une al receptor PTH1 (PTH1R), que es un receptor acoplado a proteína G (GPCR), para activar la proteína G, y luego causa la activación de al menos una cascada de señalización tal como cascada de AMP cíclico (cAMP)/proteína quinasa A. La PTH se conoce como una hormona que actúa sobre las células diana en el riñón y el hueso para regular la homeostasis del calcio (Ca) y el fósforo (Pi) (Documento no patente 1). La PTH mantiene el nivel de concentración de Ca en suero principalmente a través de acciones directas o indirectas en el tracto gastrointestinal, el hueso y el riñón. La PTH promueve la reabsorción de Ca desde los túbulos renales y por lo tanto suprime la excreción de Ca en el cuerpo hacia el exterior. También aumenta la síntesis de una enzima que convierte la vitamina D en vitamina D activa en el riñón, y por lo tanto contribuye a facilitar la absorción activa de Ca mediada por vitamina D del tracto gastrointestinal. Además, la PTH mejora la diferenciación de los osteoclastos indirectamente a través de los osteoblastos y promueve la liberación de Ca del hueso. Se cree que estas acciones de PTH ocurren principalmente a través de la elevación cíclica de adenosina 3',5'-monofosfato (cAMP) y/o activación de fosfolipasa C (PLC) que ocurre cuando la PTH se une al PTH1R.

En humanos, las preparaciones de PTH [PTH (1-34) y PTH (1-84)] tienen un poderoso efecto osteogénico e inducen aumentos significativos en la densidad mineral ósea (DMO) y la resistencia ósea. Actualmente, la mayoría de los medicamentos contra la osteoporosis, disponibles para humanos son inhibidores de la resorción ósea, y el único tipo de fármaco osteogénico que aumenta activamente la DMO es la preparación de PTH. La preparación de PTH se considera como uno de los tratamientos más eficaces para la osteoporosis (Documento no patente 2); sin embargo, dado que es un péptido, debe administrarse por un método invasivo. Por lo tanto, existe una expectativa para la producción de un agente farmacéutico que tenga efectos similares a la PTH y que pueda administrarse de forma no invasiva.

El hipoparatiroidismo es una enfermedad metabólica que exhibe hipocalcemia e hiperfosfatemia causada por la insuficiencia de PTH secretada por la glándula paratiroidea y una variedad de síntomas asociados. Las preparaciones activas de vitamina D y los agentes de Ca se utilizan para el tratamiento del hipoparatiroidismo; sin embargo, dado que el mecanismo regulador mediado por la PTH no funciona, no se obtiene un efecto terapéutico suficiente. Además, dado que las formulaciones activas de vitamina D aumentan la excreción urinaria de Ca, el tratamiento a largo plazo sugiere un mayor riesgo de nefropatía. Para resolver estos problemas, hay una investigación en curso de terapia de reemplazo que usa preparaciones de PTH contra esta enfermedad; y se intentó llevar a cabo varias administraciones invasivas por día o una administración continua usando una bomba para obtener suficiente eficacia (Documento no patente 3). Por lo tanto, para el tratamiento del hipoparatiroidismo, es deseable la generación de un agente farmacéutico que tenga efectos similares a la PTH y que también pueda administrarse de forma no invasiva.

También, se desea un agente farmacéutico que tenga efectos de tipo PTH que también se puedan administrar de forma no invasiva para el tratamiento de enfermedades tales como fractura, enfermedad ósea adinámica, acondroplasia, hipocondroplasia, osteomalacia, osteoartritis, artritis, trombocitopenia, hiperfosfatemia y calcinosis tumoral.

En tales circunstancias, los presentes inventores presentaron una solicitud de patente por adelantado basándose en su descubrimiento de que el compuesto representado por la fórmula (A):



[El documento de patente 1 puede ser referencia para W, X, Y, m, n, R₁, R₂, R₃₃ y R₃₄ en la fórmula] y sus sales farmacológicamente aceptables son útiles como compuestos que tienen efectos similares a la PTH, o más preferiblemente, como un agonista de PTH1R, y son útiles para la prevención y/o tratamiento de osteoporosis, fracturas, osteomalacia, artritis, trombocitopenia, hipoparatiroidismo, hiperfosfatemia o calcinosis tumoral o movilización de células madre (Documento de patente 1).

Para producir agentes farmacéuticos que tengan un alto valor clínico y puedan administrarse de forma invasiva, es necesario considerar la cinética *in vivo* tal como absorción, distribución, metabolismo y excreción del fármaco además de sus acciones directas sobre la diana. Para permitir la administración oral en particular, es deseable tener un agente farmacéutico que tenga efectos similares a la PTH que sean de alta estabilidad metabólica frente a microsomas hepáticos humanos y una fuerte capacidad mediada por PTH1R humana de producir cAMP.

Proporcionar un agente farmacéutico que pueda administrarse por vía oral a seres humanos, en general un método para confirmar los efectos de la administración oral mediante pruebas *in vivo* que implica el uso de un animal modelo. Por ejemplo, una rata tiroparatiroidectomizada (TPTX) se conoce como modelo animal de hipoparatiroidismo. Para encontrar un agente terapéutico que tenga fuertes efectos parecidos a la PTH y alta estabilidad metabólica, y que funcione contra el hipoparatiroidismo cuando se administra por vía oral, es eficaz usar un método para encontrar un compuesto que actúe sobre PTH1R de rata y sea estable para las enzimas metabólicas de la rata, y luego examinar sus acciones cuando se administran por vía oral a un modelo de rata TPTX.

En la terapia actual para hipoparatiroidismo, el intervalo diana terapéutico para la concentración de Ca en suero se establece en un rango ligeramente inferior al límite inferior del rango normal a entre 7.6 y 8.8 mg/dL (Documento no patente 4). Dado que el rango normal para la concentración de Ca en suero de rata es el mismo nivel que para humanos a 10 mg/dL, para verificar el efecto terapéutico, es importante alcanzar una concentración sérica de Ca en el modelo de la enfermedad dentro del rango del rango objetivo terapéutico en humanos (7.6-8.8 mg/dL) al límite inferior para hipercalcemia en humanos (aproximadamente 11.2 mg/dL).

[Documentos de la técnica anterior]

[Documentos de Patente]

[Documento de Patente 1] WO 2010/126030

[Documentos no patente]

Documento no patente 1] Kronenberg, H.M., et al., In Handbook of Experimental Pharmacology, Mundy, G.R., and Martin, T.J., (eds), pp.185-201, Springer-Verlag, Heidelberg (1993)

[Documento no patente 2] Tashjian and Gagel, J. Bone Miner. Res. 21: 354-365 (2006)

[Documento no patente 3] Rejnmark et al., Osteoporosis Int. Published Online: 27 de noviembre de 2012

[Documento no patente 4] Winer KK et al., J. Clin. Endocrinol. Metab. 88(9): 4214-4220 (2003)

Resumen de la invención

[Problemas para resolver mediante la invención]

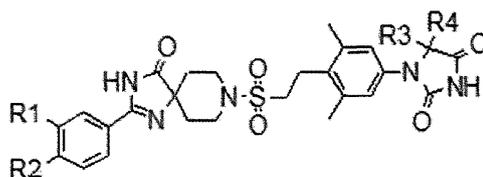
Un objetivo de la presente invención es descubrir compuestos con fuertes efectos de tipo PTH y alta estabilidad metabólica, y proporcionar composiciones farmacéuticas que comprendan tales compuestos para permitir el tratamiento de afecciones que puedan tratarse mediante acciones similares a las de la PTH, tales como hipoparatiroidismo.

[Medios para resolver los problemas]

En tales circunstancias, los presentes inventores continuaron llevando a cabo investigaciones, y descubrieron que los derivados de hidantoína recién descubiertos de la presente invención muestran una fuerte capacidad de producción de cAMP en células que expresan PTH1R humana, y tienen una alta estabilidad en microsomas hepáticos humanos. Los presentes inventores también descubrieron que los compuestos de la presente invención muestran una fuerte capacidad de producción de cAMP en células que expresan PTH1R de rata, y tienen una alta estabilidad en hepatocitos de rata. Además, en los modelos de rata TPTX sometidos a administración oral, se descubrió recientemente que una dosis de 30 mg/kg restablecía la concentración de Ca en suero al rango objetivo terapéutico de 7.6-8.8 mg/dL. Los resultados obtenidos de estos animales modelo sugieren que los compuestos representados por la fórmula (1), que muestran un fuerte efecto sobre PTH1R humana y alta estabilidad en microsomas hepáticos humanos, son útiles como agentes terapéuticos para el hipoparatiroidismo.

La presente invención se refiere a lo siguiente:

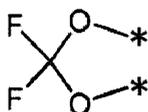
[1] Un compuesto representado por la fórmula general (1) a continuación o una sal farmacológicamente aceptable del mismo:



(1)

donde R1 y R2 son independientemente:

- 5 1) átomo de hidrógeno;
 2) átomo de halógeno;
 3) un grupo alquilo que comprende uno o dos carbonos que pueden estar sustituidos con uno a cinco átomos de flúor; o
 10 4) un grupo alcoxi que comprende uno o dos carbonos que pueden estar sustituidos con uno a cinco átomos de flúor, con la condición de que R1 y R2 no sean ambos hidrógeno; o R1 y R2 se unen entre sí para formar un grupo representado por la fórmula siguiente:



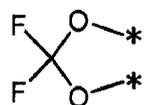
(donde cada * indica la posición de unión con la porción fenilo); y

- 20 R3 y R4 son independientemente un grupo metilo que puede estar sustituido con uno a tres átomos de flúor; o
 R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo carbocíclico de tres a seis miembros (donde, uno de los átomos de carbono que forman el anillo puede reemplazarse por un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o un átomo de nitrógeno sustituido con metilo o no sustituido).

25 En la presente invención, un compuesto en el que la combinación de R1 y R2 es un grupo trifluorometilo y un átomo de hidrógeno, y en el que R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo de ciclopentilo, puede excluirse de los compuestos representados por la fórmula (1) mencionados anteriormente.

30 [2] El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de [1], en donde R1 y R2 se seleccionan de las siguientes combinaciones:

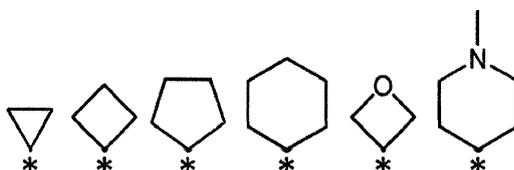
- 35 1) R1 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno, y R2 es un átomo de hidrógeno, un grupo trifluorometilo o un grupo trifluorometoxi (con la condición de que R1 y R2 no sean ambos átomos de hidrógeno);
 2) R1 es un grupo trifluorometilo o un grupo trifluorometoxi, y R2 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno;
 3) R1 y R2 se unen entre sí para formar un grupo representado por la fórmula siguiente:



40 (donde, cada * indica la posición de unión con la porción fenilo); y

45 R3 y R4 son grupos metilo; o

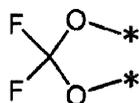
R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo seleccionado de lo que sigue:



(donde * indica la posición de unión con la porción de imidazolidin-2,4-diona).

[3] El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de [1], en donde R1 y R2 se seleccionan de las siguientes combinaciones:

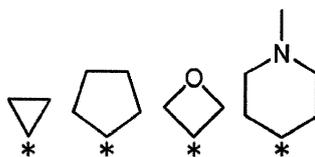
- 1) R1 es un grupo trifluorometoxi y R2 es un átomo de flúor;
- 2) R1 es un átomo de bromo y R2 es un átomo de hidrógeno;
- 3) R1 es un grupo trifluorometoxi y R2 es un átomo de flúor;
- 4) R1 es un átomo de flúor y R2 es un grupo trifluorometoxi;
- 5) R1 es un grupo trifluorometilo y R2 es un átomo de hidrógeno;
- 6) R1 es un átomo de hidrógeno y R2 es un grupo trifluorometoxi;
- 7) R1 y R2 se unen entre sí para formar un grupo representado por la fórmula siguiente:



(donde cada * indica la posición de unión con la porción fenilo); y

R3 y R4 son grupos metilo; o

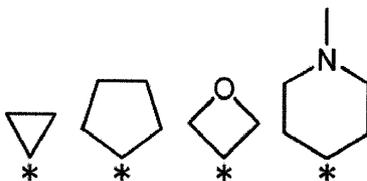
R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo seleccionado de lo que sigue:



(donde * indica la posición de unión con la porción de imidazolidin-2,4-diona).

[4] El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de [1], en donde R3 y R4 son grupos metilo.

[5] El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de [1], en donde R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo seleccionado de lo que sigue:



(donde * indica la posición de unión con la porción de imidazolidin-2,4-diona).

[6] El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de [1], en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

1-(4-(2-((2-(4-fluoro-3-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

1-(4-(2-((2-(3-bromofenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

1-(4-(2-((2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonilo)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

- 1-(4-(2-((2-(3-fluoro-4-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonilo)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;
- 5 1-(4-(2-((2-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;
- 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;
- 10 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;
- 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-1,3-diazaespiro[4.4]nonano-2,4-diona;
- 15 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-8-metil-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-2,4-diona;
- 5-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-2-oxa-5,7-diazaspiro[3.4]octano-6,8-diona; y
- 20 4-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-4,6-diazaspiro[2.4]heptano-5,7-diona.
- 25 [7] El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de [1], donde el compuesto es 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona
- 30 [8] El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de [1], en donde el compuesto es 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenilo)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona.
- 35 [9] El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de [1], en donde el compuesto es 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenilo)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-1,3-diazaespiro[4.4]nonano-2,4-diona.
- [10] Una composición farmacéutica, que comprende el compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de cualquiera de [1] a [9] como ingrediente activo.
- 40 [11] La composición farmacéutica de [10], que es para uso en administración oral.
- [12] Una composición farmacéutica para activar la respuesta de cAMP intracelular, que comprende el compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de cualquiera de [1] a [9] como ingrediente activo.
- 45 [13] Un agente movilizador de células madre, o un agente para prevenir o tratar osteoporosis, fracturas, enfermedad ósea adinámica, acondroplasia, hipocondroplasia, osteomalacia, osteoartritis, artritis, trombocitopenia, hipoparatiroidismo, hiperfosfatemia o calcinosis tumoral, que comprende el compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de cualquiera de [1] a [9] como ingrediente activo.
- 50 [14] Un compuesto de fórmula (I) para uso en un método para la prevención o tratamiento de osteoporosis, fracturas, enfermedad ósea adinámica, acondroplasia, hipocondroplasia, osteomalacia, osteoartritis, artritis, trombocitopenia, hipoparatiroidismo, hiperfosfatemia o calcinosis tumoral, o movilización de células madre, en donde el método comprende administrar una cantidad farmacéuticamente eficaz de una composición que comprende el compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de cualquiera de [1] a [9] a un paciente que necesita la prevención o el
- 55 tratamiento de la enfermedad o la movilización de células madre.
- [15] Uso del compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de cualquiera de [1] a [9] para la producción de un agente movilizador de células madre o un agente para prevenir o tratar la osteoporosis, fracturas, enfermedad ósea adinámica, acondroplasia, hipocondroplasia, osteomalacia, osteoartritis, artritis, trombocitopenia, hipoparatiroidismo, hiperfosfatemia o calcinosis tumoral.
- 60 [16] El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de cualquiera de [1] a [9] para el tratamiento o la prevención de osteoporosis, fracturas, enfermedad ósea adinámica, acondroplasia, hipocondroplasia, osteomalacia, osteoartritis, artritis, trombocitopenia, hipoparatiroidismo, hiperfosfatemia o calcinosis tumoral o
- 65 movilización de células madre.

También se describen métodos para tratar afecciones patológicas que puedan tratarse mediante acciones de tipo PTH, tales como hipoparatiroidismo, administrando un compuesto de fórmula (1) o una sal del mismo.

[Efectos de la invención]

5 La presente invención proporciona derivados de hidantoína con fuertes efectos de tipo PTH y alta estabilidad metabólica. Los derivados de hidantoína permiten el tratamiento de afecciones patológicas causadas por acciones similares a la PTH, como el hipoparatiroidismo.

10 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 representa un gráfico que muestra el cambio promedio de nivel en la concentración de Ca en suero para cada compuesto hasta 24 horas después de la administración, cuando el compuesto se administra por vía oral a una dosis de 30 mg/kg a un modelo de rata TPTX.

15 [Modo de llevar a cabo la invención]

La presente invención se refiere a derivados de hidantoína y su uso. Los presentes inventores por primera vez han sintetizado un compuesto representado por la fórmula (1) anterior o una sal farmacológicamente aceptable del mismo y han encontrado que el compuesto o una sal del mismo es un compuesto que tiene un efecto similar a la hormona paratiroidea (PTH) y alta estabilidad metabólica.

20 El "alquilo" en el presente documento se refiere a un grupo monovalente derivado por eliminación de cualquier átomo de hidrógeno de un hidrocarburo alifático, y cubre un subconjunto de estructuras de grupos hidrocarbilo o hidrocarburo que no contienen un heteroátomo o un enlace carbono-carbono insaturado y que contienen hidrógeno y átomos de carbono en el esqueleto. Ejemplos del grupo alquilo incluyen aquellos de estructuras lineales o ramificadas. El grupo alquilo es preferiblemente un grupo alquilo que comprende uno o dos átomos de carbono. El grupo alquilo es específicamente, por ejemplo, un grupo metilo o un grupo etilo, y es preferiblemente un grupo metilo.

30 El término "alcoxi" como se usa en el presente documento se refiere a un grupo oxi al que está unido el "alquilo" definido anteriormente, y preferiblemente se refiere a un grupo alcoxi que comprende uno o dos átomos de carbono. Ejemplos específicos incluyen grupos metoxi y etoxi, y un ejemplo preferido es el grupo metoxi.

35 El "B opcionalmente sustituido con A" en el presente documento indica que cualesquiera átomos de hidrógeno en B pueden estar sustituidos con cualquier número de As.

En la presente invención, el número de sustituyentes no está limitado a menos que se indique lo contrario. Por ejemplo, el número de sustituyentes puede ser de 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3, 1 a 2 o 1.

40 El "átomo de halógeno" en el presente documento se refiere a un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo o un átomo de yodo.

45 Aquí, el símbolo "*" en la fórmula química se refiere a la posición de unión.

Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (1) tienen fuertes efectos de tipo PTH y alta estabilidad metabólica.

50 El "efecto de tipo PTH" en este documento se refiere a la actividad de generar cAMP intracelular (AMPc: monofosfato de adenosina cíclico) por acción sobre el receptor de PTH o acción en la ruta de transducción de señal a través del receptor de PTH.

55 En la presente invención, si se produce un "efecto de tipo PTH fuerte" o si "es fuerte un efecto de tipo PTH" se puede confirmar midiendo la actividad de señalización de cAMP analizando la señalización de cAMP, por ejemplo, de acuerdo con el método descrito en J. Bone. Miner. Res. 14: 11-20, 1999. Específicamente, por ejemplo, de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo de prueba 1, la cantidad de cAMP producida en células forzadas a expresar PTH1R humana se determina usando un kit de EIA de cAMP disponible en el mercado (por ejemplo, Biotrack cAMP EIA system, GE Healthcare) para medir la concentración de cada compuesto a 20% de actividad de señalización de cAMP (EC20) o su concentración a 50% de actividad de señalización de cAMP (EC50), con la actividad de señalización de cAMP obtenida tras la administración de 100 nM de PTH humana (1-34) se define como 100%. En la presente invención, para un "efecto similar a PTH fuerte" o "es fuerte un efecto similar a PTH", por ejemplo, el valor EC20 (μM) medido por el método mencionado anteriormente es preferiblemente 5.0 o menos, más preferiblemente 3.0 o menos, e incluso más preferiblemente 2.0 o menos. Para EC50, el valor (μM) medido por el método mencionado anteriormente es, por ejemplo, preferiblemente 25.0 o menos, más preferiblemente 15.0 o menos, e incluso más preferiblemente 10.0 o menos.

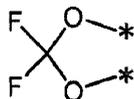
- Ya sea que exista una "alta estabilidad metabólica" o si la "estabilidad metabólica es alta" se puede confirmar usando un método de medición general. Por ejemplo, las células hepáticas, las células del intestino delgado, los microsomas hepáticos, los microsomas del intestino delgado, S9 de hígado, y otros, se pueden usar para la confirmación. Específicamente, por ejemplo, la estabilidad de un compuesto en microsomas hepáticos se puede confirmar tomando medidas de acuerdo con la descripción en T. Kronbach et al. (Oxidation of midazolam and triazolam by human liver cytochrome P450III A4. Mol. Pharmacol, 1989, 36(1), 89-96). Más específicamente, la estabilidad se puede confirmar siguiendo el método descrito en el Ejemplo de Prueba 3. En la presente invención, "alta estabilidad metabólica" o "la estabilidad metabólica es alta" son cuando el valor de aclaramiento ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$) en la prueba de estabilidad metabólica usando microsomas de hígado humano descritos en el ejemplo de prueba mencionado anteriormente, es preferiblemente de 60 o menos, más preferiblemente de 40 o menos, e incluso más preferiblemente de 35 o menos. Específicamente, se puede obtener alta estabilidad metabólica en la fórmula (1) mencionada anteriormente, excepto cuando la combinación de R1 y R2 es un grupo trifluorometilo y un átomo de hidrógeno, y R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo ciclopentilo.
- Los compuestos de acuerdo con la presente invención, ya sean formas libres o sales farmacológicamente aceptables, están incluidos en la presente invención. Ejemplos de tales "sales" incluyen sales de ácidos inorgánicos, sales de ácidos orgánicos, sales de bases inorgánicas, sales de bases orgánicas y sales de aminoácidos ácidos o básicas.
- Ejemplos preferidos de las sales de ácidos inorgánicos incluyen hidrocloruros, hidrobromuros, sulfatos, nitratos y fosfatos. Ejemplos preferidos de las sales de ácidos orgánicos incluyen acetatos, succinatos, fumaratos, maleatos, tartratos, citratos, lactatos, estearatos, benzoatos, metanosulfonatos, bencenosulfonatos y p-toluenosulfonatos.
- Ejemplos preferidos de las sales de bases inorgánicas incluyen sales de metales alcalinos tales como sales de sodio y potasio, sales de metales alcalinotérreos tales como sales de calcio y sales de magnesio, sales de aluminio y sales de amonio. Ejemplos preferidos de las sales de bases orgánicas incluyen sales de dietilamina, sales de dietanolamina, sales de meglumina y sales de N,N-dibenciletildiamina.
- Ejemplos preferidos de las sales ácidas de aminoácidos incluyen aspartatos y glutamatos. Ejemplos preferidos de las sales de aminoácidos básicas incluyen sales de arginina, sales de lisina y sales de ornitina.
- Los compuestos de la presente invención pueden absorber humedad, tener agua adsorbida o formar hidratos cuando se dejan en el aire. Dichos hidratos también se incluyen en las sales de la presente invención.
- Además, los compuestos de la presente invención pueden absorber ciertos otros disolventes para formar solvatos. Dichas sales también están incluidas en la presente invención como sales de los compuestos de la fórmula (1).
- Aquí, una fórmula estructural de un compuesto puede representar un cierto isómero en aras de la conveniencia. Sin embargo, los compuestos de la presente invención incluyen todos los isómeros tales como isómeros geométricos, isómeros ópticos basados en carbonos asimétricos, estereoisómeros y tautómeros, así como mezclas de estos isómeros que se producen debido a las estructuras de los compuestos, sin estar limitados por conveniencia a las fórmulas descritas, y puede ser uno de los isómeros o una mezcla de los mismos. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención pueden tener un átomo de carbono asimétrico en la molécula y pueden estar presentes como formas y racematos ópticamente activos, pero la presente invención no está limitada a ninguno de ellos e incluye a ambos.
- La presente invención incluye todos los isótopos de los compuestos representados por la fórmula (1). En los isótopos de los compuestos de la presente invención, al menos un átomo se reemplaza por un átomo que tiene el mismo número atómico (número de protones) pero que tiene un número de masa diferente (suma del número de protones y número de neutrones). Ejemplos de los isótopos contenidos en los compuestos de la presente invención incluyen un átomo de hidrógeno, un átomo de carbono, un átomo de nitrógeno, un átomo de oxígeno, un átomo de fósforo, un átomo de azufre, un átomo de flúor y un átomo de cloro, incluyendo ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente. En particular, los radioisótopos que se descomponen al emitir radioactividad, tales como ^3H y ^{14}C , son útiles en las pruebas de distribución en tejidos corporales para productos farmacéuticos o compuestos. Los isótopos estables no se descomponen, son casi iguales en abundancia y no emiten radioactividad, por lo que se pueden usar de forma segura. Los isótopos de los compuestos de la presente invención se pueden convertir de acuerdo con métodos convencionales mediante la sustitución de un reactivo que contiene un isótopo correspondiente por un reactivo utilizado para la síntesis.
- Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden exhibir polimorfismo cristalino, pero no están particularmente limitados a ninguno de ellos, pero pueden estar en cualquiera de estas formas cristalinas o existir como una mezcla de dos o más formas cristalinas.
- Los compuestos representados por la fórmula (1) anterior de acuerdo con la presente invención son preferiblemente como sigue.

En la fórmula, R1 y R2 se seleccionan de las siguientes combinaciones:

1) R1 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno, y R2 es un átomo de hidrógeno, un grupo trifluorometilo o un grupo trifluorometoxi (con la condición de que R1 y R2 no sean ambos átomos de hidrógeno);

2) R1 es un grupo trifluorometilo o un grupo trifluorometoxi, y R2 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno;

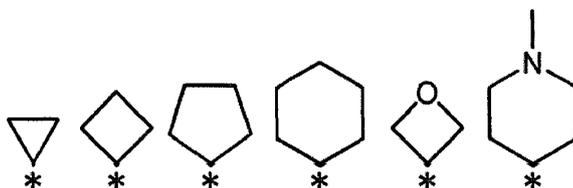
3) R1 y R2 se unen entre sí para formar un grupo representado por la fórmula siguiente:



en donde, * cada uno indica la posición de unión con la porción fenilo); y

R3 y R4 son grupos metilo; o

R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo seleccionado de lo que sigue:



(donde * indica la posición de unión con la porción de imidazolidin-2,4-diona).

Los compuestos representados por la fórmula (1) anterior de acuerdo con la presente invención son más preferiblemente como sigue.

En la fórmula, R1 y R2 se seleccionan de las siguientes combinaciones:

1) R1 es un grupo trifluorometoxi y R2 es un átomo de flúor;

2) R1 es un átomo de bromo y R2 es un átomo de hidrógeno;

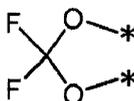
3) R1 es un grupo trifluorometoxi y R2 es un átomo de flúor;

4) R1 es un átomo de flúor y R2 es un grupo trifluorometoxi;

5) R1 es un grupo trifluorometilo y R2 es un átomo de hidrógeno;

6) R1 es un átomo de hidrógeno y R2 es un grupo trifluorometoxi;

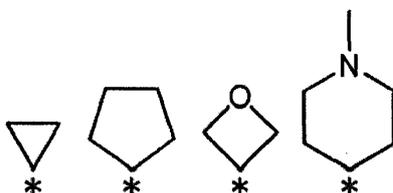
7) R1 y R2 se unen entre sí para formar un grupo representado por la fórmula siguiente:



(en donde * cada uno indica la posición de unión con la porción fenilo); y

R3 y R4 son grupos metilo; o

R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo seleccionado de lo que sigue:



(donde * indica la posición de unión con la porción de imidazolidin-2,4-diona).

Los compuestos representados por la fórmula (1) anterior de acuerdo con la presente invención son además preferiblemente un compuesto seleccionado del grupo que consiste en lo siguiente, o una sal farmacológicamente aceptable de los mismos.

Compuesto 1:

1-(4-(2-((2-(4-fluoro-3-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

Compuesto 2:

1-(4-(2-((2-(3-bromofenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

Compuesto 3:

1-(4-(2-((2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

Compuesto 4:

1-(4-(2-((2-(3-fluoro-4-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

Compuesto 5:

1-(4-(2-((2-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

Compuesto 6:

1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

Compuesto 7:

1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

Compuesto 8:

1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-1,3-diazaespiro[4.4]nonano-2,4-diona;

Compuesto 9:

1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-8-metil-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-2,4-diona;

Compuesto 10:

5-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-2-oxa-5,7-diazaspiro[3.4]octano-6,8-diona; y

Compuesto 11:

4-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-4,6-diazaspiro[2.4]heptano-5,7-diona.

De los Compuestos 1 a 11 anteriores, los Compuestos 6, 7 y 8 son más preferidos.

Tales compuestos representados por la fórmula (1) anterior o sus sales farmacológicamente aceptables de acuerdo con la presente invención son útiles como compuestos que tienen un efecto similar a la PTH, preferiblemente agonistas de PTH1R, y son útiles para la prevención y/o tratamiento de osteoporosis, fracturas, enfermedad ósea

adinámica, acondroplasia, hipocondroplasia, osteomalacia, osteoartritis, artritis, trombocitopenia, hipoparatiroidismo, hiperfosfatemia, calcinosis tumoral o similares, o movilización de células madre.

Los compuestos o sales de los mismos de acuerdo con la presente invención pueden formularse por métodos convencionales en tabletas, polvos, gránulos finos, gránulos, comprimidos recubiertos, cápsulas, jarabes, trociscos, inhalaciones, supositorios, inyecciones, ungüentos, ungüentos oftálmicos, preparaciones oftálmicas, preparaciones nasales, preparaciones para el oído, cataplasmas, lociones y similares. Los excipientes, aglutinantes, lubricantes, colorantes, correctores y, según sea necesario, estabilizantes, emulsionantes, promotores de la absorción, tensioactivos, ajustadores de pH, conservantes, antioxidantes y similares utilizados comúnmente se pueden usar para la formulación, y se mezclan con ingredientes comúnmente utilizados como materias de preparaciones farmacéuticas y formulados por métodos convencionales.

Por ejemplo, las preparaciones orales se fabrican añadiendo, al compuesto o una sal farmacológicamente aceptable del mismo de acuerdo con la presente invención, un excipiente, y según sea necesario, un aglutinante, un desintegrante, un lubricante, un colorante, un agente corrector y similares y luego formulándolos en polvo, gránulos finos, gránulos, tabletas, tabletas recubiertas, cápsulas y similares mediante un método convencional.

Ejemplos de estos ingredientes incluyen aceites animales y vegetales tales como aceite de soja, sebo de res y glicérido sintético; hidrocarburos tales como parafina líquida, escualano y parafina sólida; aceites de éster tales como miristato de octildodecilo y miristato de isopropilo; alcoholes superiores tales como alcohol cetosteárico y alcohol behenílico; resina de silicona; aceite de silicona; tensioactivos tales como éster de ácidos grasos de polioxietileno, ésteres de ácidos grasos de sorbitán, ésteres de ácidos grasos de glicerol, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno sorbitano, aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno y un copolímero de bloque de polioxietileno-polioxipropileno; polímeros solubles en agua tales como hidroxietilcelulosa, ácido poliacrílico, un polímero de carboxivinilo, polietilenglicol, polivinilpirrolidona y metilcelulosa; alcoholes inferiores tales como etanol e isopropanol; alcoholes polihídricos tales como glicerol, propilenglicol, dipropilenglicol y sorbitol; azúcares tales como glucosa y sacarosa; polvos inorgánicos tales como anhídrido silícico, silicato de aluminio y magnesio y silicato de aluminio; y agua purificada.

Ejemplos de los excipientes incluyen lactosa, almidón de maíz, azúcar blanda blanca, glucosa, manitol, sorbitol, celulosa microcristalina y dióxido de silicio.

Ejemplos de los aglutinantes incluyen poli(alcohol vinílico), poli(éter de vinilo), metilcelulosa, etilcelulosa, goma arábiga, tragacanto, gelatina, goma laca, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, polivinilpirrolidona, un polímero de bloque de polipropilenglicol-polioxietileno y meglumina.

Ejemplos de los desintegranes incluyen almidón, agar, polvo de gelatina, celulosa microcristalina, carbonato de calcio, bicarbonato de sodio, citrato de calcio, dextrina, pectina y carboximetilcelulosa cálcica.

Ejemplos de los lubricantes incluyen estearato de magnesio, talco, polietilenglicol, sílice y aceite vegetal hidrogenado.

Los colorantes usados son aquellos aprobados como aditivos para productos farmacéuticos. Los correctores utilizados son cacao en polvo, alcanfor de menta, empasma, aceite de menta, borneol, corteza de canela en polvo y similares.

Obviamente, estas tabletas y gránulos pueden revestirse con azúcar o recubrirse de otro modo según sea necesario. Las preparaciones líquidas tales como jarabes y preparaciones inyectables se fabrican añadiendo un ajustador de pH, un solubilizante, un agente de ajuste de la tonicidad y similares, y según sea necesario, un agente solubilizante, un estabilizante y similares para el compuesto o una sal farmacológicamente aceptable del mismo de acuerdo con la presente invención y formularlos mediante un método convencional.

El método de fabricación de preparaciones externas no está limitado y se pueden fabricar por métodos convencionales. Específicamente, se pueden usar diversas materias primas comúnmente usadas para productos farmacéuticos, cuasifármacos, cosméticos y similares como materiales de base para la formulación. Ejemplos específicos de los materiales base utilizados incluyen materias primas tales como aceites animales y vegetales, aceites minerales, aceites de éster, ceras, alcoholes superiores, ácidos grasos, aceite de silicona, surfactantes, fosfolípidos, alcoholes, alcoholes polihídricos, polímeros solubles en agua, minerales de arcilla y agua purificada. Además, pueden agregarse ajustadores de pH, antioxidantes, quelantes, conservantes y fungicidas, colorantes, aromas y similares según sea necesario. Los materiales de base para preparaciones externas de acuerdo con la presente invención no están limitados a estos materiales.

También se pueden mezclar ingredientes tales como ingredientes que tienen un efecto inductor de la diferenciación, promotores del flujo sanguíneo, bactericidas, agentes antiinflamatorios, activadores celulares, vitaminas, aminoácidos, humectantes y agentes queratolíticos, según sea necesario. Los materiales de base mencionados

anteriormente se añaden en una cantidad correspondiente a la concentración usualmente elegida para la fabricación de preparaciones externas.

5 El modo de administración de los compuestos o sales de los mismos, o hidratos de los compuestos o sales de acuerdo con la presente invención no está particularmente limitado, y pueden administrarse por vía oral o parenteral mediante los métodos comúnmente usados. Por ejemplo, pueden formularse en preparaciones tales como tabletas, polvos, gránulos, cápsulas, jarabes, trociscos, inhalaciones, supositorios, inyecciones, ungüentos, pomadas oftálmicas, preparaciones oftálmicas, preparaciones nasales, preparaciones para el oído, cataplasmas y lociones y administradas.

10 Los compuestos de la presente invención son particularmente adecuados para la formulación en agentes orales ya que muestran una actividad de señalización de cAMP excelente y tienen estabilidad metabólica.

15 La dosificación del medicamento de acuerdo con la presente invención puede seleccionarse apropiadamente dependiendo de la gravedad del síntoma, la edad, el sexo, el peso corporal, el modo de administración, el tipo de sal, el tipo específico de la enfermedad y similares.

20 Aunque la dosificación varía significativamente según el tipo de la enfermedad y la gravedad del síntoma del paciente, la edad del paciente, la diferencia de sexo y la diferencia en la sensibilidad a las drogas entre los pacientes, y similares, la dosificación es habitualmente de aproximadamente 0.03 a 1000 mg, preferiblemente de 0.1 a 500 mg y más preferiblemente de 0.1 a 100 mg por día para adultos y se administra dividida en una a varias dosis al día.

25 En la fabricación de los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (1) anterior, los compuestos de materia prima y diversos reactivos pueden formar sales, hidratos o solvatos, todos varían según el material de partida, el disolvente utilizado y el cómo, y no están particularmente limitados en la medida en que no inhiben la reacción.

30 El disolvente usado también varía de acuerdo con el material de partida, el reactivo y similares, y no está particularmente limitado en la medida en que no inhiba la reacción y disuelva el material de partida en cierta medida, obviamente.

35 Diversos isómeros (por ejemplo, isómeros geométricos, isómeros ópticos basados en carbonos, rotámeros, estereoisómeros y tautómeros asimétricos) pueden purificarse y aislarse usando medios de separación comunes, por ejemplo, métodos de recristalización, sal diastereomérica, métodos de resolución enzimática y diversos métodos de cromatografía (por ejemplo, cromatografía en capa fina, cromatografía en columna, cromatografía líquida de alta resolución y cromatografía de gases).

40 Los compuestos de acuerdo con la presente invención obtenidos como formas libres se pueden convertir en sales que se pueden formar mediante los compuestos o en los hidratos de los compuestos de acuerdo con métodos convencionales. Los compuestos de acuerdo con la presente invención obtenidos como sales o hidratos de los compuestos también se pueden convertir en formas libres de los compuestos de acuerdo con métodos convencionales.

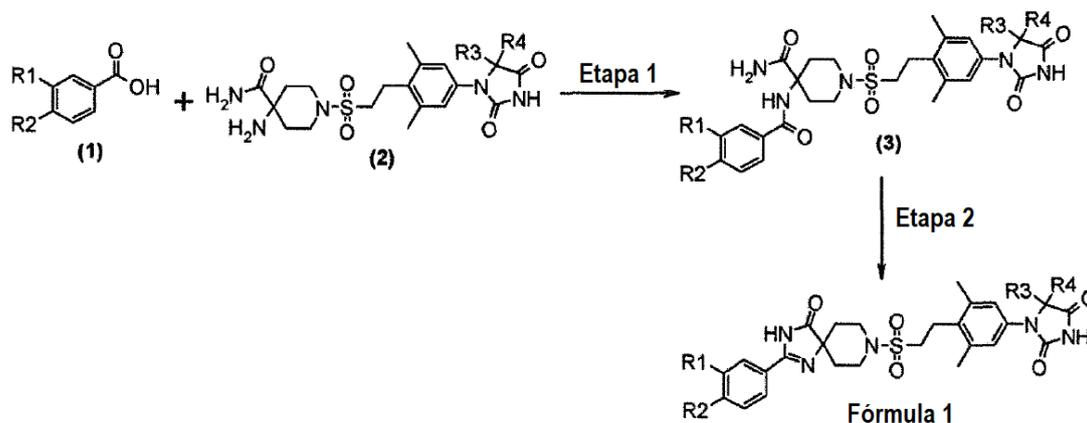
45 Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden aislarse y purificarse aplicando operaciones químicas comunes tales como extracción, concentración, evaporación, cristalización, filtración, recristalización y diversos métodos de cromatografía.

50 Métodos generales de síntesis

55 Los compuestos de la presente invención se pueden sintetizar mediante diversos métodos, algunos de los cuales se describirán con referencia a los siguientes esquemas. Los esquemas son ilustrativos y la presente invención no está limitada solo por las reacciones químicas y condiciones explícitamente indicadas. Aunque algunos sustituyentes se excluyen en los siguientes esquemas en aras de la claridad, dicha exclusión no pretende limitar la divulgación de los esquemas. Los compuestos representativos de la presente invención pueden sintetizarse usando intermedios, compuestos conocidos y reactivos apropiados. R₁, R₂, R₃ y R₄ en las fórmulas en los siguientes métodos generales de síntesis son como se define para R₁, R₂, R₃ y R₄ en los compuestos representados por la fórmula general (1) anterior (compuestos representados por la fórmula 1 en los siguientes métodos generales de síntesis).

60 Los compuestos de la presente invención (Fórmula 1) se pueden sintetizar mediante los métodos de fabricación (Métodos A y B) que se muestran a continuación.

Esquema 1 (Método A)



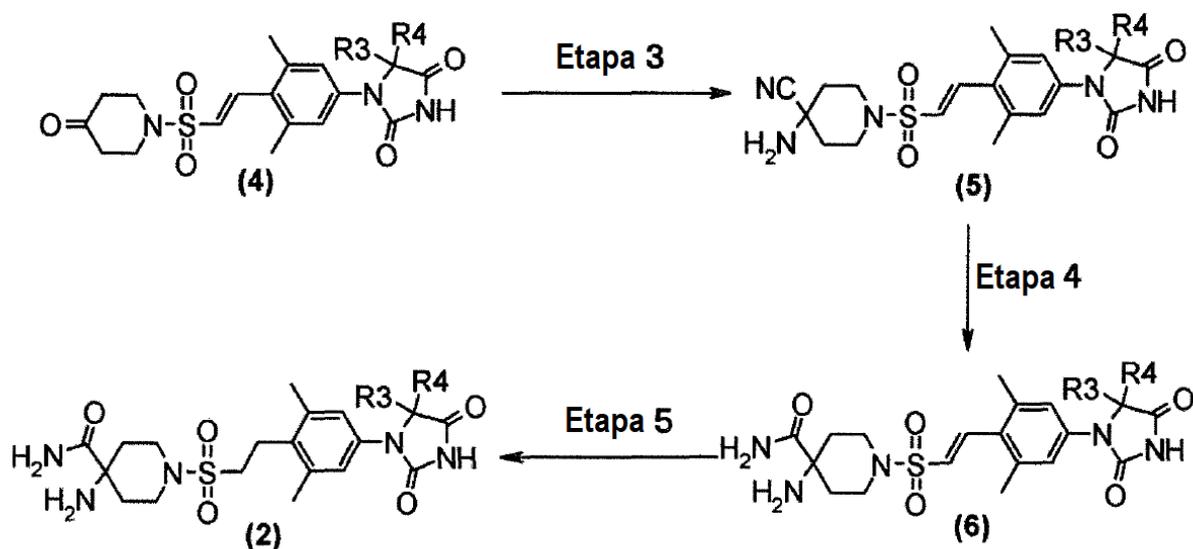
El esquema 1 muestra un método para obtener un derivado de hidantoína (Fórmula 1) por amidación del derivado de ácido carboxílico (1) y el derivado de amino-amida (2) para obtener el derivado de amida-amida (3) y luego construir el anillo de espiroimidazolona por ciclización intramolecular.

La etapa 1 es un método de amidación de un derivado de ácido carboxílico (1) y un derivado de amino-amida (2). Ejemplos del reactivo de acoplamiento incluyen N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), hidrocloreto de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-hexafluorofosfato de 3-tetrametiluronio (HATU) y n-hidrato de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (DMT-MM). Ejemplos de la base incluyen trietilamina o N,N-diisopropiletilamina. Si es necesario, se puede usar 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) como catalizador. Ejemplos del disolvente apropiado incluyen diclorometano o N,N-dimetilformamida. Ejemplos del disolvente de reacción apropiado cuando se usa DMT-MM incluyen metanol, etanol y acetonitrilo. La temperatura de reacción es de 0°C hasta temperatura ambiente, por ejemplo, y el tiempo de reacción es de 0.5 a 24 horas. El derivado de amino-amida resultante (3) se aísla mediante una técnica común y, si es necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.

La etapa 2 es un método para la ciclización del derivado amida-amida (3) en presencia de una base adecuada tal como una solución acuosa de hidróxido de sodio o t-butoxido de potasio en un disolvente adecuado tal como etanol, tert-butanol o dimetilsulfóxido. La temperatura de reacción se lleva a cabo, por ejemplo, a temperatura ambiente hasta condiciones de reflujo durante una a 24 horas. El derivado de hidantoína obtenido (Fórmula 1) se aísla por técnicas comunes y, cuando es necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.

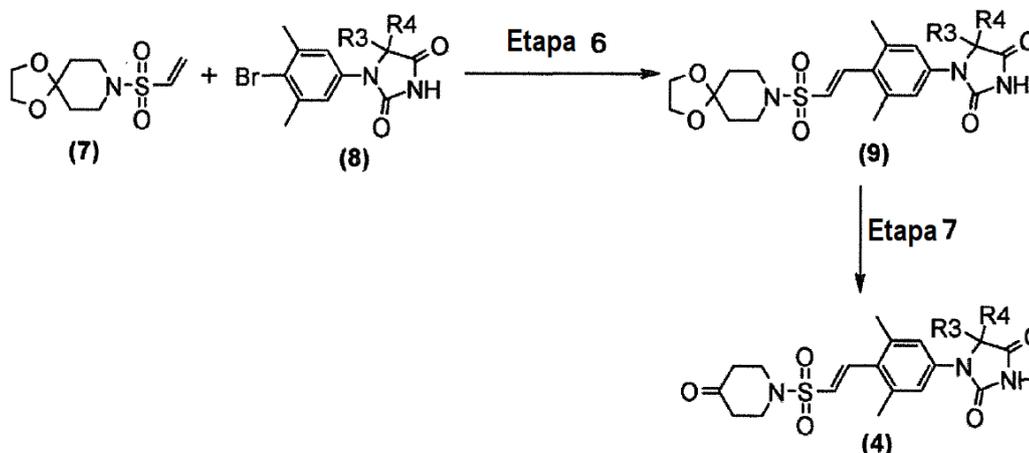
El derivado de amino-amida (2) indicado en el Esquema 1 se puede sintetizar a partir del derivado de piperidina (4). El método sintético para el derivado de amino-amida (2) se muestra en el Esquema 2.

Esquema 2



- La etapa 3 es una síntesis de Strecker de conversión de un derivado de piperidinona (4) en un derivado de amino-nitrilo (5). Específicamente, este es un método para hacer reaccionar una piperidinona (4) con cianuro de sodio o cianuro de potasio y cloruro de amonio o acetato de amonio en un disolvente apropiado tal como metanol, etanol o tetrahidrofurano en presencia/ausencia de agua. La temperatura de reacción es desde temperatura ambiente hasta 80°C, por ejemplo, y el tiempo de reacción es de 2 a 72 horas. El derivado de amino-nitrilo resultante (5) se aísla mediante una técnica común y, si es necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.
- La etapa 4 es un método para convertir el grupo nitrilo en un grupo amido en condiciones de hidrólisis básica en presencia de peróxido de hidrógeno. Esta reacción puede realizarse con referencia a Chemistry-A European Journal (2002), 8(2), 439-450, por ejemplo.
- La Etapa 5 es un método de hidrogenación de un Compuesto de olefina (6) en un disolvente inerte tal como metanol, etanol, trifluoroetanol, dimetilformamida o dimetilacetamida en presencia de un catalizador tal como carbono con paladio o hidróxido de paladio, respectivamente, bajo una atmósfera de H₂. La temperatura de reacción es desde temperatura ambiente hasta 80°C, y la reacción puede realizarse a presión. El derivado de amino-amida resultante (2) se aísla mediante una técnica común y, si es necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.
- El derivado de piperidinona (4) mostrado en el Esquema 2 se puede sintetizar a partir de un derivado de vinylsulfonilo cetal (7) conocido y un derivado de hidantoína-arilbromuro (8). El método sintético para el derivado de piperidina (4) se muestra en el Esquema 3.

Esquema 3

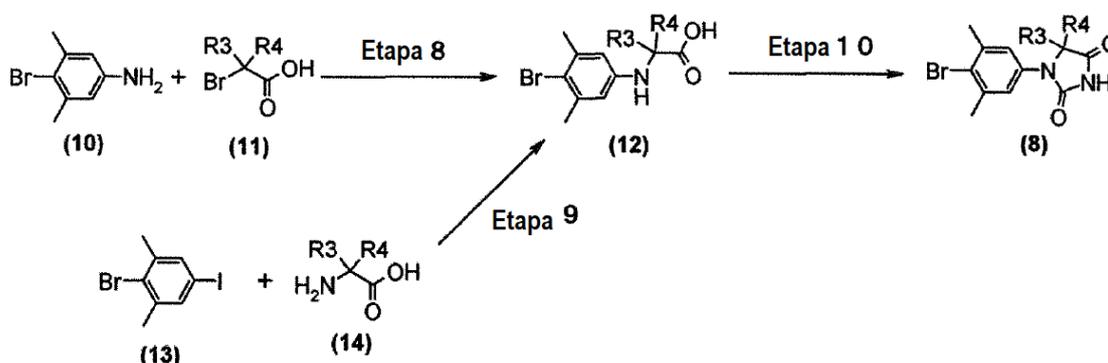


La etapa 6 es un método para la síntesis de un derivado de cetal-arilvinilsulfonilo (9) acoplado el derivado de vinilsulfonilo cetal (7) y el derivado hidantoína-arilbromuro (8) bajo atmósfera de N_2 en presencia de un catalizador de paladio tal como tris(dibenzilidinaacetona)paladio(0) o bis(dibenzilidinaacetona)paladio, y añadiendo un ligando de fosfina tal como ácido tri-*tert*-butilfosfina tetrafluorobórico y una base adecuada tal como metildiciclohexilamina, en un disolvente adecuado tal como N-metil-2-piperidona (NMP). La temperatura de reacción está entre $90^\circ C$ y la temperatura de reflujo. El derivado de cetal-arilvinilsulfonilo obtenido (9) se aísla mediante técnicas comunes, y cuando es necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.

La etapa 7 es un método para la conversión de cetal del derivado de cetal-arilvinilsulfonilo (9) en cetona en un disolvente adecuado tal como tetrahidrofurano acuoso en presencia de un ácido tal como ácido clorhídrico. La temperatura de reacción es, por ejemplo, el punto de ebullición del disolvente, y el tiempo de reacción es aproximadamente de 1 a 24 horas. El derivado de piperidina obtenido (4) se aísla por técnicas comunes, y cuando es necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.

El derivado de hidantoína-arilbromuro (8) mostrado en el Esquema 3 puede sintetizarse a partir de 4-bromo-3,5-dimetilanilina (10) y el derivado de ácido bromoacético (11), o a partir de 2-bromo-5-yodo-1,3-dimetilbenceno (13) y el derivado de aminoácido (14). Un método sintético para el derivado de hidantoína-arilbromuro (8) se muestra en el Esquema 4.

Esquema 4



La etapa 8 es un método para la alquilación de 4-bromo-3,5-dimetilanilina (10) con el derivado de ácido bromoacético (11) en presencia de una base adecuada tal como diisopropilamina y en un disolvente adecuado tal como N-metil-2-piperidona (NMP). La temperatura de reacción es, por ejemplo, temperatura ambiente a $100^\circ C$, y el

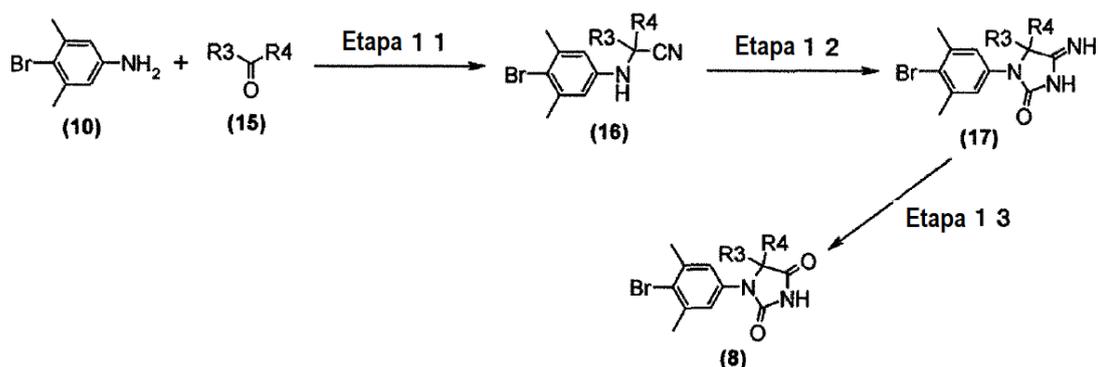
tiempo de reacción es de 1 a 24 horas. El derivado de arilbromuro de aminoácido obtenido (12) se aísla mediante técnicas comunes y, cuando es necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.

La etapa 9 es un método para la síntesis del derivado de bromuro de arilo (12), mediante el acoplamiento de 2-bromo-5-yodo-1,3-dimetilbenceno (13) y el derivado de aminoácido (14) en la presencia de un catalizador metálico tal como yoduro de cobre (I). La reacción se puede llevar a cabo en presencia de una base adecuada tal como diazabicycloundeceno (DBU) y en un disolvente adecuado tal como N,N-dimetilacetamida (DMA), a una temperatura de reacción de aproximadamente 80°C a 120°C. El derivado de arilbromuro de aminoácido obtenido (12) se aísla mediante técnicas comunes y, cuando es necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.

La etapa 10 es un método para la síntesis del derivado de hidantoína-arilbromuro (8) haciendo reaccionar el derivado de arilbromuro-aminoácido (12) con cianato de sodio en una condición ácida. El disolvente es, por ejemplo, un disolvente mixto tal como ácido acético-diclorometano; la temperatura de reacción es desde temperatura ambiente hasta 60°C; y el tiempo de reacción es de 1 a 24 horas. El derivado de hidantoína-arilbromuro obtenido (8) se puede aislar mediante técnicas comunes, y cuando sea necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.

El derivado de hidantoína-arilbromuro (8) mostrado en el Esquema 3 también se puede sintetizar a partir de 4-bromo-3,5-dimetilanilina (10) y un derivado de cetona (15). Un método sintético para el derivado de hidantoína-arilbromuro (8) se muestra en el Esquema 5.

Esquema 5



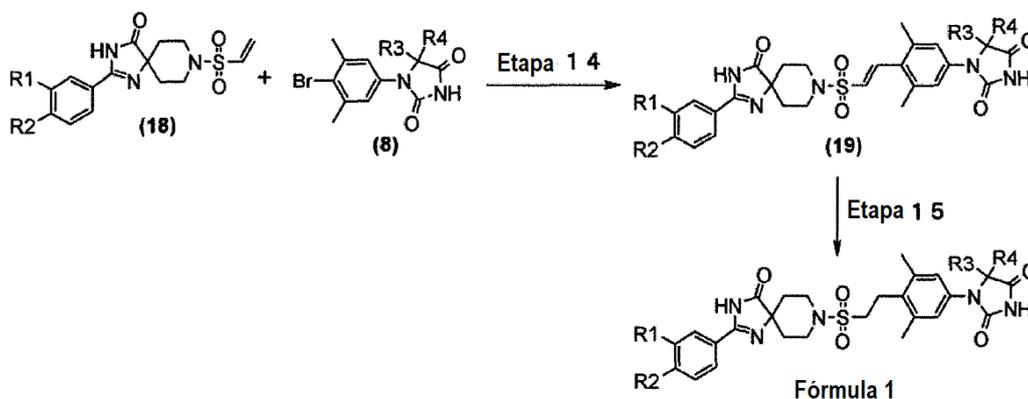
La etapa 11 es la síntesis de Strecker que dirige el derivado de cetona (15) para convertirse en un derivado de arilamino-nitrilo (16). Más específicamente, es un método que reacciona el derivado de cetona (15) con 4-bromo-3,5-dimetilanilina (10) y cianuro de trimetilsililo en un disolvente adecuado tal como ácido acético. La temperatura de reacción puede ser temperatura ambiente, y el tiempo de reacción es de una a tres horas más o menos. El derivado de arilamino-nitrilo obtenido (16) se aísla por técnicas comunes, y cuando es necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.

La etapa 12 es un método para hacer reaccionar el derivado de arilamino-nitrilo (16) con 2,2,2-tricloroacetilisocianato en un disolvente adecuado tal como diclorometano, y luego sintetizar un derivado de iminohidantoína (17) mediante la adición de reactivos tales como metanol, agua y trietilamina y les permite reaccionar en condiciones de calor. El derivado de iminohidantoína obtenido (17) se aísla mediante técnicas comunes y, cuando es necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.

La etapa 13 es un método para la conversión del derivado de iminohidantoína (17) en el derivado de hidantoína-arilbromuro (8) bajo condiciones ácidas. Por ejemplo, la síntesis puede llevarse a cabo en un disolvente de ácido acético-agua con calentamiento a aproximadamente 65°C durante una a seis horas más o menos. El derivado de hidantoína-arilbromuro obtenido (8) se aísla por técnicas comunes, y cuando es necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.

El esquema 6 es un método para una reacción de Heck de un derivado de vinilsulfonamida (18) y el derivado de hidantoína-arilbromuro (8) en presencia de un catalizador metálico, y luego la hidrogenación del compuesto de olefina (19) para dar la hidantoína derivado (Fórmula 1).

Esquema 6 (Método B)



5 El derivado de hidantoína (Fórmula 1) puede sintetizarse realizando la reacción de la Etapa 14 de acuerdo con el método de la Etapa 6 y la reacción de la Etapa 15 según el método de la etapa 5. El derivado de hidantoína obtenido (Fórmula 1) se aísla por técnicas comunes, y cuando sea necesario, se puede purificar por cristalización o cromatografía.

10 El derivado de vinilsulfonamida (18) usado en la Etapa 14 puede sintetizarse haciendo referencia a los Esquemas 2, 3 y 12 de WO2010/126030 (A1).

Todos los documentos de la técnica anterior citados en esta memoria descriptiva se incorporan aquí como referencia.

15

[EJEMPLOS]

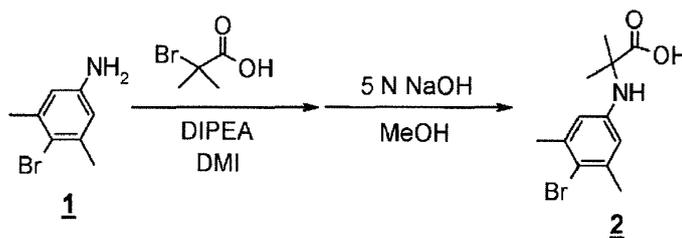
El contenido de la presente invención se describirá con más detalle mediante los siguientes ejemplos y ejemplos de prueba; sin embargo, la presente invención no está limitada al contenido de los ejemplos y el ejemplo de prueba. Todos los materiales de partida y reactivos se obtuvieron de proveedores comerciales o se sintetizaron utilizando métodos conocidos. Los espectros de ^1H -RMN se midieron usando Mercury300 (fabricado por Varian), ECP-400 (fabricado por JEOL) o 400-MR (fabricado por Varian) con o sin Me_4Si como estándar interno (s = singlete, d = doblete, t = triplete, brs = singlete ancho, m = multiplete). La medición de espectrometría de masas se realizó usando un espectrómetro de masas, ZQ2000 (fabricado por Waters), SQD (fabricado por Waters) o 2020 (fabricado por Shimadzu).

25

Ejemplo 1

30 1-(4-(2-((2-(4-fluoro-3-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-1,3,8-triazaspiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (Compuesto 1)

Reacción (1-1)



35

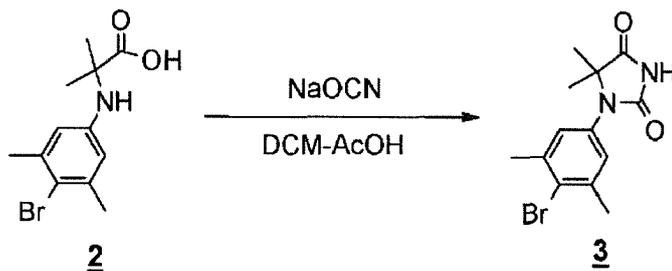
A una solución de 4-bromo-3,5-dimetilanilina (3.47 g, 17.4 mmol) y diisopropiletilamina (5.3 mL, 30.4 mmol) en DMI (13 mL), se añadió ácido 2-bromoisobutírico (3.86 g, 23.1 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 100°C durante una hora. Y luego se añadió 2-bromoisobutirato (496 mg, 2.97 mmol) y diisopropiletilamina (0.8 mL, 4.59 mmol) y la mezcla se agitó a 100°C durante una hora.

Se añadieron metanol (52 mL) y una solución acuosa de hidróxido de sodio 5 N (52 mL, 260 mmol) a la mezcla de reacción a temperatura ambiente, y luego esta mezcla se agitó a 75°C durante 1.5 horas. La mezcla de reacción se enfrió, seguido de la adición de agua y el ajuste del pH a 5 usando una solución acuosa 1 N de hidrogenosulfato de potasio, y luego se extrajo usando acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua, luego se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y se concentró para proporcionar

ácido 2-((4-bromo-3,5-dimetilfenil)amino)-2-metil propanoico como producto crudo (5.79 g).

MS(ESI) m/z = 286,288 (M+H)+

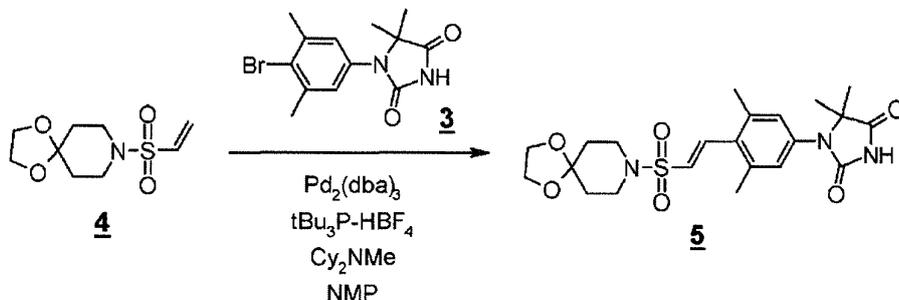
(Reacción 1-2)



A una mezcla de ácido 2-((4-bromo-3,5-dimetilfenil)amino)-2-metil propanoico (5.79 g del compuesto obtenido de la Reacción 1-1) en diclorometano (62 mL) y ácido acético (62 mL), se añadió cianato de sodio (5.03 g, 59.8 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante tres horas. Se añadió una solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (400 mL) para ajustar el pH a 7-8 usando un hidróxido de sodio acuoso 5 N, y esta mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y luego se concentró a presión reducida. El sólido obtenido se lavó secuencialmente con acetato de etilo-hexano y luego con diclorometano-hexano para obtener 1-(4-bromo-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (3.80 g, 66%)

MS(ESI) m/z = 311, 313 (M+H)+

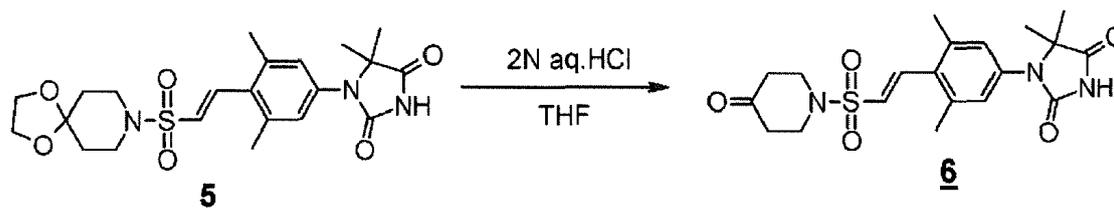
(Reacción 1-3)



Una mezcla de 8-(vinilsulfonyl)-1,4-dioxa-8-azaespiro[4.5]decano (431 mg, 1.85 mmol), 1-(4-bromo-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (575 mg, 1.85 mmol), tris(dibencilidinaacetona)paladio(0) (508 mg, 0.55 mmol), ácido tri-tert-butilfosfina tetrafluorobórico (165 mg, 0.55 mmol), y metildiciclohexilamina (2.1 mL, 9.25 mmol) en N-metil-2-pirrolidona (18.5 mL) se agitó en atmósfera de nitrógeno a 110°C durante dos horas. La mezcla de reacción se enfrió, se inactivó con agua, y luego se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de amino-sílice (diclorometano-metanol) para proporcionar

(E)-1-(4-(2-(1,4-dioxa-8-azaespiro[4.5]decan-8-ilsulfonyl)vinil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (584 mg, 68%).

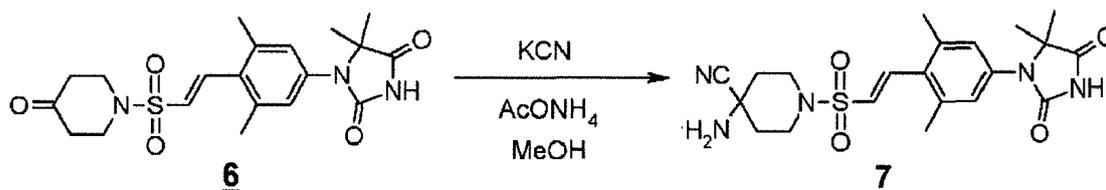
MS(ESI) m/z = 464 (M+H)+

(Reacción 1-4)

5 A una solución de (E)-1-(4-(2-(1,4-dioxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-ilsulfonyl)vinil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (1.2 g, 2.58 mmol) en tetrahidrofurano (26 mL), se añadió una solución acuosa de ácido clorhídrico 2 N (26 mL, 52 mmol) gota a gota durante diez minutos. La mezcla se agitó a 60°C durante dos horas. La mezcla de reacción se enfrió, seguido de ajuste de su pH a 7 usando una solución de hidróxido de sodio acuoso 2 N, y esta mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano-acetato de etilo) para proporcionar

(E)-1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxopiperidin-1-il)sulfonyl)vinil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (998 mg, 92%).

15 MS(ESI) m/z = 420 (M+H)+

(Reacción 1-5)

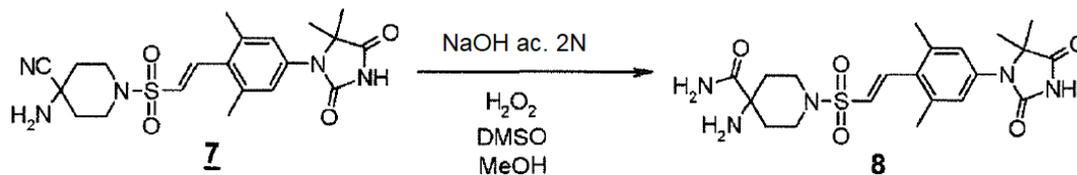
20 A una solución de (E)-1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxopiperidin-1-il)sulfonyl)vinil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (994 mg, 2.37 mmol) en metanol (24 mL), se añadieron cianuro de potasio (188 mg, 2.84 mmol) y acetato de amonio (237 mg, 3.08 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 60-70°C durante tres horas. La mezcla de reacción se enfrió, se concentró a presión reducida, y luego se diluyó con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano-acetato de etilo) para proporcionar

(E)-4-amino-1-((4-(5,5-dimetil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il)-2,6-dimetilestilil)sulfonyl)piperidina-4-carbonitrilo (681 mg, 68%).

30 ¹H-RMN (300MHz, DMSO-d₆) δ: 1.3 (6H, s), 1.7 (2H, m), 2.0 (2H, m), 2.3 (6H, s), 2.7 (2H, s), 2.9 (2H, m), 3.4 (2H, m), 6.9 (1H, d, J = 15.9 Hz), 7.1 (2H, s), 7.4 (1H, d, J = 15.9 Hz), 11.2 (1H, brs)

(Reacción 1-6)

35



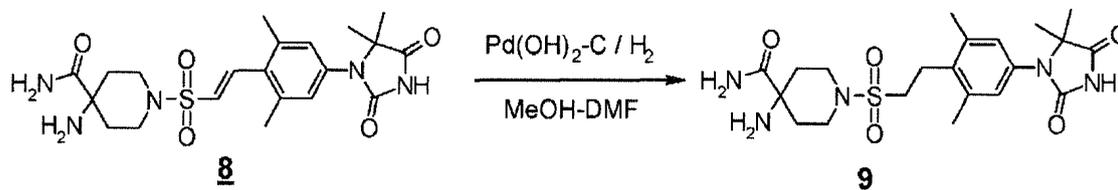
40 A una solución de (E)-4-amino-1-((4-(5,5-dimetil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il)-2,6-dimetilestilil)sulfonyl)piperidina-4-carbonitrilo (675 mg, 1.50 mmol) en metanol (7.5 mL) y dimetilsulfóxido (0.195 mL) a temperatura ambiente, se añadió una solución acuosa 2 N de hidróxido de sodio (1.6 ml, 1.6 mmol) y luego se añadió una solución acuosa de peróxido de hidrógeno al 30% (0.2 mL, 1.95 mmol) lentamente gota a gota. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. Se añadieron acetato de etilo, hexano y una solución acuosa saturada de cloruro de amonio a la mezcla de reacción. El sólido se recogió por filtración, se lavó y se secó para proporcionar

(E)-4-amino-1-((4-(5,5-dimetil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il)-2,6-dimetilfenil)sulfonyl)piperidina-4-carboxamida (498 mg, 72%).

MS(ESI) m/z = 464 (M+H)⁺

5

(Reacción 1-7)



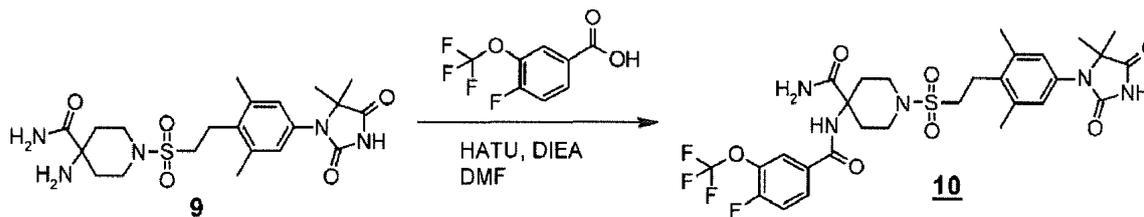
10 Una mezcla de (E)-4-amino-1-((4-(5,5-dimetil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il)-2,6-dimetilfenil)sulfonyl)piperidina-4-carboxamida (1.3 g, 2.8 mmol) e hidróxido de paladio sobre carbón (20% Pd) (humedecido con aproximadamente 50% de agua) (1.3 g) en metanol (21 mL) y dimetilformamida (7 mL) se agitó en atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante cuatro horas. La mezcla de reacción se filtró y se lavó, y luego el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 4-amino-1-((4-(5,5-dimetil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il)-2,6-dimetilfenil)sulfonyl)piperidina-4-carboxamida (998 mg, 77%).

15

MS (ESI) m/z = 466 (M+H)⁺

(Reacción 1-8)

20



25 A una solución de 4-amino-1-((4-(5,5-dimetil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il)-2,6-dimetilfenil)sulfonyl)piperidina-4-carboxamida (120 mg, 0.258 mmol), ácido 4-fluoro-3-(trifluorometoxi)benzoico (69 mg, 0.309 mmol) y diisopropiletilamina (0.09 mL, 0.516 mmol) en dimetilformamida (2.5 mL), se añadió O-(7-azabenzotriazol-1-ilo)-1,1,3,3-tetrametiluroniohexafluorofosfato (HATU) (118 mg, 0.309 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1.5 horas. La mezcla de reacción se inactivó con agua, y luego se extrajo con diclorometano. La capa orgánica se lavó con salmuera, se lavó con sulfato de sodio anhidro y luego se concentró a presión reducida para proporcionar

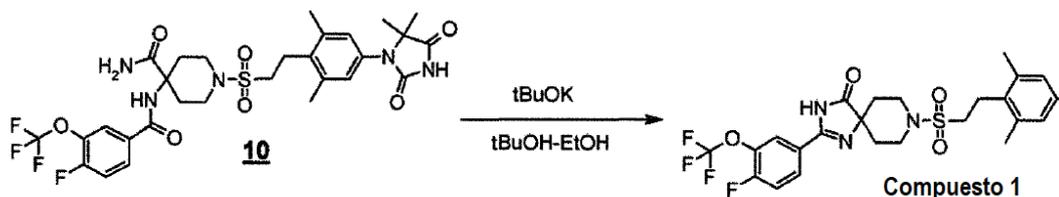
30

1-((4-(5,5-dimetil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il)-2,6-dimetilfenil)sulfonyl)-4-(4-fluoro-3-(trifluorometoxi)benzamida)piperidina-4-carboxamida (150 mg, 67%).

MS(ESI) m/z = 672 (M+H)⁺

35

(Reacción 1-9)



40 A una solución mixta de 1-((4-(5,5-dimetil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il)-2,6-dimetilfenil)sulfonyl)-4-(4-fluoro-3-(trifluorometoxi)benzamida)piperidina-4-carboxamida (150 mg, 0.223 mmol) en tert-butanol (2.5 mL) y etanol (2.5 mL), se añadió tert-butoxido de potasio (75 mg, 0.670 mmol) a 0°C. La mezcla se agitó en atmósfera de nitrógeno a 50°C durante 1.5 horas. La mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con agua, se detuvo con una solución acuosa

saturada de cloruro de amonio, y luego se extrajo con diclorometano. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano-metanol) para proporcionar

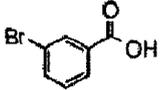
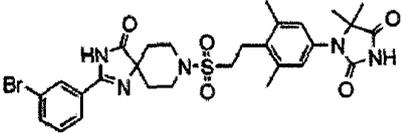
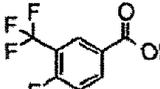
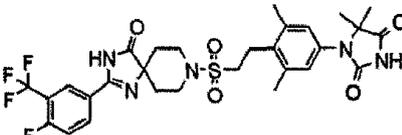
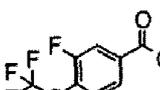
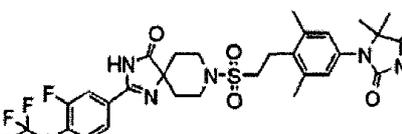
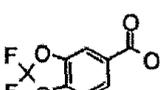
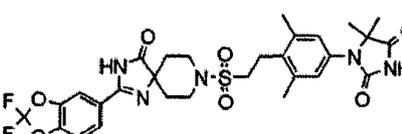
- 5 1-(4-(2-((2-(4-fluoro-3-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona 118 mg, 81%).

MS(ESI) $m/z = 654$ (M+H)⁺. ¹H-RMN (400MHz, CD₃OD) δ : 1.40 (6H, s), 1.71-1.80 (2H, m), 2.00-2.08 (2H, m), 2.43 (6H, s), 3.22 (4H, s), 3.47-3.57 (2H, m), 3.80-3.88 (2H, m), 7.01 (2H, s), 7.50-7.57 (1H, m), 7.97-8.04 (1H, m), 8.05-8.12 (1H, m)

Los siguientes compuestos de los Ejemplos se sintetizaron mediante operaciones similares a las de las Reacciones 1-8 y 1-9 en el Ejemplo 1, usando materiales de partida, reactivos y disolventes de ácido carboxílico apropiados.

- 15 (Compuesto 2-5)

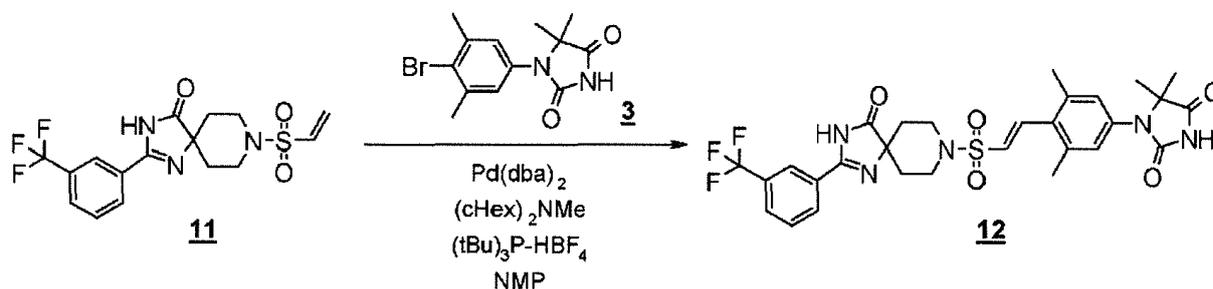
Tabla 1

Compuesto	Material de partida ácido carboxílico	Fórmula estructural del compuesto	Datos analíticos
2			MS(ESI) $m/z = 630, 632$ (M+H) ⁺ . ¹ H-RMN (400MHz, DMSO-d ₆) δ : 1.30 (6H, s), 1.56-1.63 (2H, m), 1.80-1.90 (2H, m), 2.37 (6H, s), 3.00-3.08 (2H, m), 3.23-3.30 (2H, m), 3.32-3.41 (2H, m), 3.67-3.73 (2H, m), 7.00 (2H, s), 7.50 (1H, dd, J = 8,8 Hz), 7.77-7.82 (1H, m), 7.95-8.00 (1H, m), 8.13-8.20 (1H, m), 11.10 (1H, brs), 11.70 (1H, brs)
3			MS(ESI) $m/z = 638$ (M+H) ⁺ . ¹ H-RMN (400MHz, CDCl ₃) δ : 1.47 (6H, s), 1.70-1.78 (2H, m), 2.09-2.18 (2H, m), 2.40 (6H, s), 3.00-3.08 (2H, m), 3.20-3.28 (2H, m), 3.44-3.54 (2H, m), 3.80-3.88 (2H, m), 6.94 (2H, s), 7.34 (1H, t, J = 9.6 Hz), 8.02 (1H, brs), 8.08-8.13 (1H, m), 8.20-8.24 (1H, m), 10.10 (1H, brs)
4			MS(ESI) $m/z = 654$ (M+H) ⁺ . ¹ H-RMN (400MHz, DMSO-d ₆) δ : 1.30 (6H, s), 1.58-1.64 (2H, m), 1.81-1.91 (2H, m), 2.37 (6H, s), 3.00-3.08 (2H, m), 3.22-3.31 (2H, m), 3.32-3.42 (2H, m), 3.68-3.73 (2H, m), 7.00 (2H, s), 7.76-7.82 (1H, m), 7.95 (1H, d, J = 9.6Hz), 8.05 (1H, dd, J = 9.6, 2 Hz), 11.09 (1H, s), 11.79 (1H, s)
5			MS(ESI) $m/z = 632$ (M+H) ⁺ . ¹ H-RMN (400MHz, CDCl ₃) δ : 1.47 (6H, s), 1.65-1.73 (2H, m), 2.11-2.20 (2H, m), 2.39 (6H, s), 2.98-3.04 (2H, m), 3.18-3.25 (2H, m), 3.40-3.52 (2H, m), 3.82-3.90 (2H, m), 6.94 (2H, s), 7.17 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.63 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.75 (1H, s), 8.49 (1H, brs), 10.46 (1H, brs)

20 Ejemplo 2

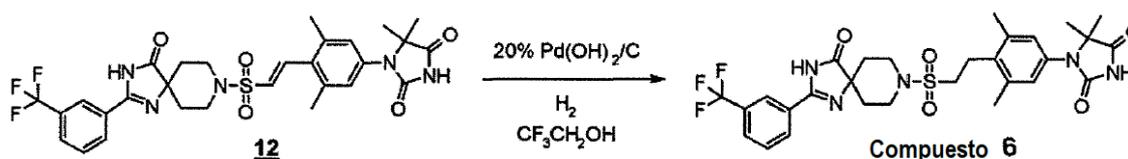
1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (Compuesto 6)

25

(Reacción 2-1)

5 Una mezcla de 2-(3-(trifluorometil)fenil)-8-(vinilsulfonyl)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-4-ona (150 mg, 0.387 mmol) sintetizada de acuerdo con el método descrito en los Esquemas 2, 3 y 12 de WO2010/126030 (A1), 1-(4-bromo-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (169 mg, 0.542 mmol), bis(dibencilidinaacetona)paladio (45 mg, 0.077 mmol), ácido tri-tert-butilfosfina tetrafluorobórico (22 mg, 0.077 mmol) y metildiciclohexilamina (0.123 mL, 0.581 mmol) en N-metil-2-pirrolidona (0.97 mL), se agitó a 100°C durante una hora bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió, se inactivó con agua, y luego se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo-hexano) para proporcionar (E)-1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(3-(trifluorometilo)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)vinil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (197 mg, 82%).

15 MS(ESI) m/z = 618 (M+H)⁺

(Reacción 2-2)

20 Una mezcla de (E)-1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)vinil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (195 mg, 0.316 mmol) e hidróxido de paladio/carbono (20% Pd) (humedecido con aproximadamente 50% de agua) (195 mg, 0.139 mmol) en 2,2,2-trifluoroetanol (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 14 horas bajo atmósfera de hidrógeno. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo-hexano) para proporcionar 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (121 mg, 62%).

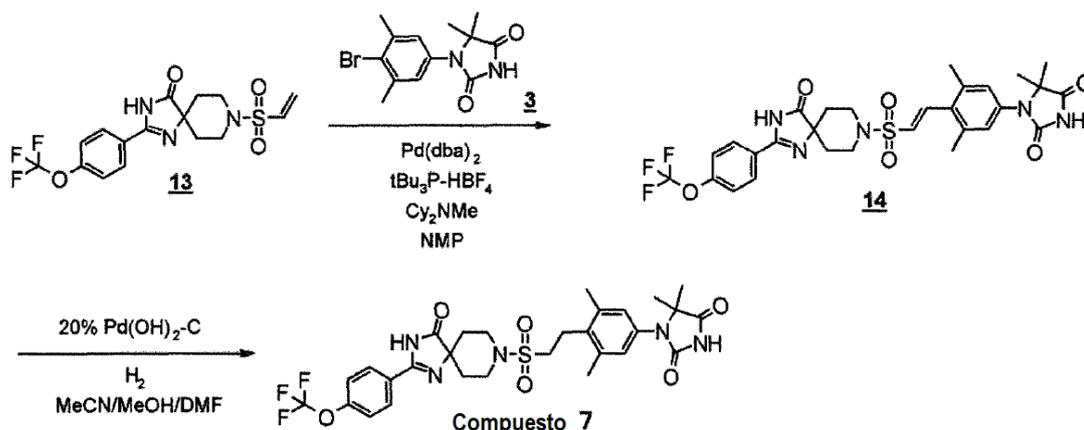
30 MS(ESI) m/z = 620 (M+H)⁺. ¹H-RMN (400MHz, CD₃OD) δ: 1.40 (6H, s), 1.72-1.81 (2H, m), 2.00-2.10 (2H, m), 2.44 (6H, s), 3.22 (4H, s), 3.50-3.58 (2H, m), 3.80-3.88 (2H, m), 7.01 (2H, s), 7.72-7.79 (1H, m), 7.88-7.94 (1H, m), 8.16-8.23 (1H, m), 8.31 (1H, s)

Ejemplo 3

35 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaspiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (Compuesto 7)

(Reacción 3)

40



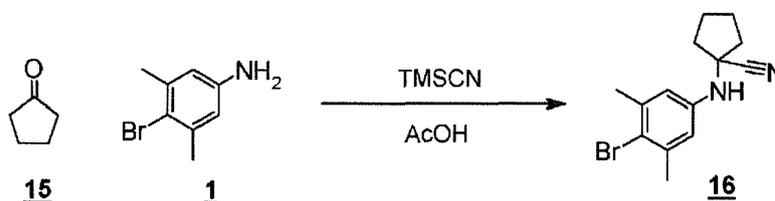
Con el uso de materiales de partida y disolventes apropiados, se sintetizó 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (Compuesto 7) mediante operaciones similares a las descritas en el Ejemplo 2.

MS(ESI) $m/z = 636$ (M+H)⁺. ¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) δ: 1.47 (6H, s), 1.70-1.78 (2H, m), 2.10-2.19 (2H, m), 2.40 (6H, s), 3.00-3.07 (2H, m), 3.19-3.25 (2H, m), 3.45-3.53 (2H, m), 3.81-3.88 (2H, m), 6.94 (2H, s), 7.35 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.73 (1H, brs), 7.93 (2H, d, J = 8.0 Hz), 9.37 (1H, brs)

Ejemplo 4

1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-1,3-diazaespiro[4.4]nonano-2,4-diona (Compuesto 8)

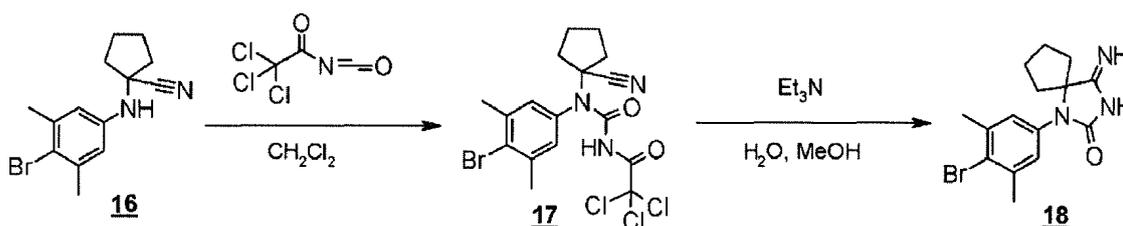
(Reacción 4-1)



A una mezcla de ciclopentanona (42 mg, 0.500 mmol) y 4-bromo-3,5-dimetilanilina (100 mg, 0.500 mmol) en ácido acético (0.5 mL), se agregó cianuro de trimetilsililo (0.063 mL, 0.500 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1.5 horas bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se detuvo con amoníaco acuoso al 28% (1 mL), se diluyó con agua y se extrajo con diclorometano. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y luego se concentró a presión reducida para proporcionar 1-((4-bromo-3,5-dimetilfenil)amino)ciclopentancarbonitrilo como un producto crudo (152 mg).

¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) δ: 1.83-1.92 (4H, m), 2.07-2.15 (2H, m), 2.33-2.42 (2H, m), 2.37 (6H, m), 3.71 (1H, brs), 6.56 (2H, s)

(Reacción 4-2)

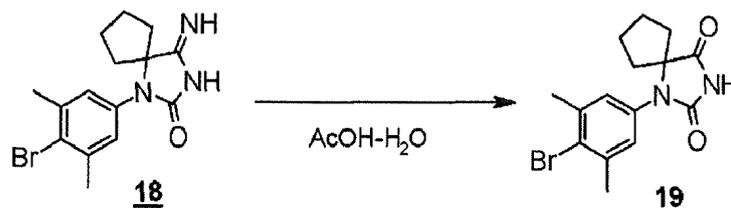


A una solución de 1-((4-bromo-3,5-dimetilfenil)amino)ciclopentancarbonitrilo (145 mg, 0.495 mmol) en diclorometano (5 mL), se añadió 2,2,2-tricloroacilisocianato (0.070 mL, 0.593 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora bajo atmósfera de nitrógeno.

Se añadieron trietilamina (0.103 mL, 0.742 mmol), agua (0.045 mL) y metanol (0.10 mL) y la mezcla se sometió a reflujo durante 1.5 horas bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió, seguido de dilución con agua y ajuste de su pH a 5 usando una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico, y luego se extrajo con diclorometano. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y luego se concentró a presión reducida para proporcionar 1-(4-bromo-3,5-dimetilfenil)-4-imino-1,3-diazaespiro[4.4]nonano-2-ona como un producto crudo.

MS(ESI) m/z = 336, 338 (M+H)+

10 (Reacción 4-3)

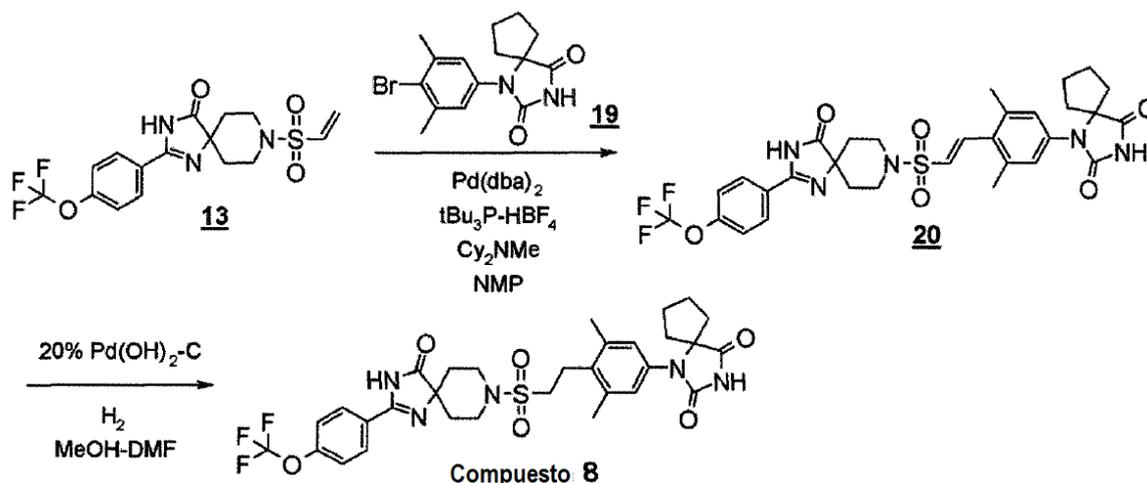


Una mezcla de 1-(4-bromo-3,5-dimetilfenil)-4-imino-1,3-diazaespiro[4.4]nonan-2-ona (el producto crudo obtenido en la reacción previa) en ácido acético (1.0 mL) y agua (0.25 mL) se agitó durante 1.5 horas a 65°C en atmósfera de nitrógeno. Después de la adición adicional de ácido acético (1.0 mL) y agua (0.25 mL), la mezcla se agitó durante 17 horas a 65°C bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió, seguido de dilución con agua y ajuste de su pH a 8 usando una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio, y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo-hexano) para proporcionar

1-(4-bromo-3,5-dimetilfenil)-1,3-diazaespiro[4.4]nonan-2,4-diona (121 mg).

25 MS(ESI) m/z = 337, 339 (M+H)+

(Reacción 4-4)



30 Con el uso de materiales de partida y disolventes apropiados, se obtuvo 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonyl)etil)fenil)-1,3-diazaespiro[4.4]nonano-2,4-diona (Compuesto 8) mediante operaciones similares a las descritas en el Ejemplo 2.

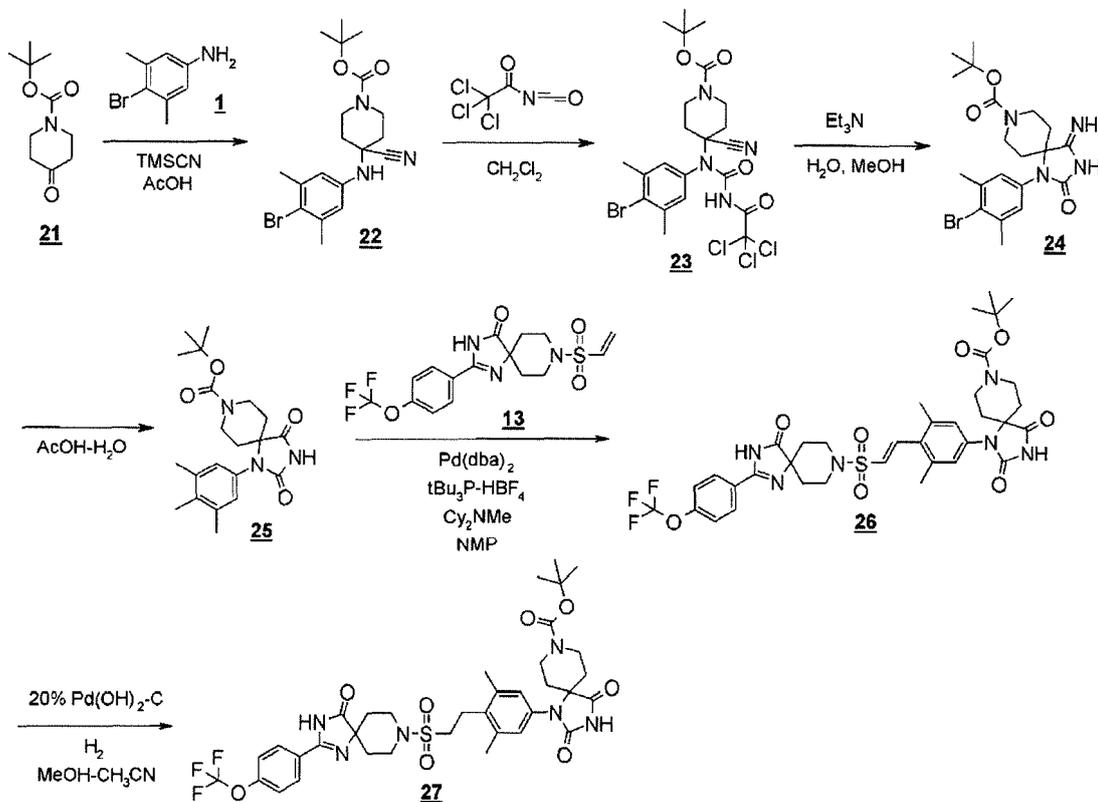
35 MS(ESI) m/z = 662 (M+H)+. ¹H-RMN (400MHz, DMSO-d₆) δ: 1.36-1 (2H, m), 1.60-1.70 (4H, m), 1.82-1.91 (2H, m), 1.91-2.06 (4H, m), 2.38 (6H, s), 3.01-3.09 (2H, m), 3.22-3.30 (2H, m), 3.30-3.42 (2H, m), 3.70-3.77 (2H, m), 7.03 (2H, s), 7.57 (2H, d, J = 8.4 Hz), 8.14 (2H, d, J = 8.4 Hz)

Ejemplo 5

1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonyl)etil)fenil)-8-metil-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-2,4-diona (Compuesto 9)

5

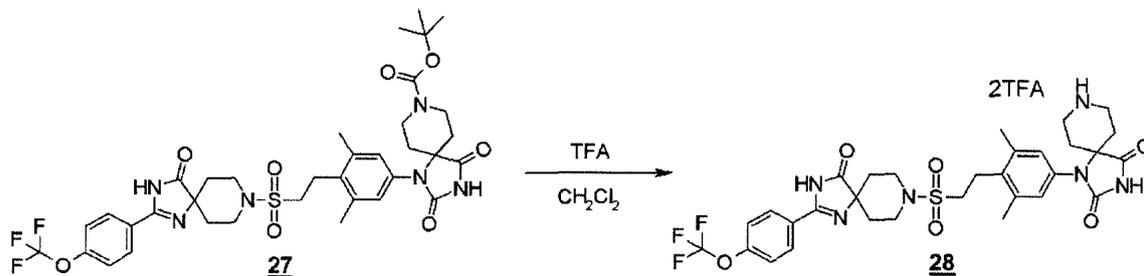
(Reacción 5-1)



10 Con el uso de éster tert-butilico del ácido 4-oxopiperidina-1-carboxílico como material de partida, y el uso de un disolvente apropiado, se obtuvo el éster tert-butilico del ácido 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonyl)etil)fenil)-2,4-dioxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]decan-8-carboxílico mediante operaciones similares a las descritas en el Ejemplo 4.

15 MS(ESI) $m/z = 777 (M+H)^+$.

(Reacción 5-2)



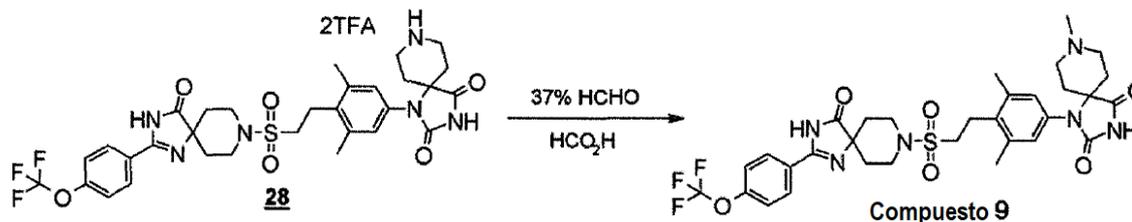
20 A una solución mezclada del éster tert-butilico del ácido 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonyl)etil)fenil)-2,4-dioxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]decan-8-carboxílico (11.7 mg, 0.015 mmol) en diclorometano (0.13 mL), se añadió ácido trifluoroacético (0.05 mL, 0.673 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se colocó bajo una corriente de nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener

25

1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonyl)etil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]decan-2,4-diona.2. sal de ácido trifluoroacético (13.6 mg) de

MS(ESI) m/z = 677 (M+H)+.

(Reacción 5-3)



5

A una mezcla de 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-2,4-diona 2 sal del ácido trifluoroacético (21.1 mg, 0.022 mmol) y ácido fórmico (0.033 mL), se añadió una solución acuosa al 37% de formaldehído (0.055 mL). La mezcla se colocó bajo una corriente de nitrógeno y se agitó durante tres horas mientras se calentaba a 80°C. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con una solución diluida de hidróxido de sodio acuoso, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y luego se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se sometió a cromatografía en columna (diclorometano-metanol) para purificación para obtener

10

15 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonil)etil)fenil)-8-metil-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-2,4-diona (4.5 mg, 30%).

15

MS(ESI) m/z = 691 (M+H)+. ¹H-RMN (400MHz, CD₃OD) δ: 1.76-1.84 (2H, m), 1.92-2.02 (2H, m), 2.02-2.12 (4H, m), 2.38 (3H, s), 2.46 (6H, s), 2.81-2.88 (2H, m), 2.92-3.02 (2H, m), 3.23 (4H, s), 3.51-3.60 (2H, m), 3.72-3.80 (2H, m), 7.01 (2H, s), 7.48 (2H, d, J = 8.0 Hz), 8.10 (2H, d, J = 8.0 Hz)

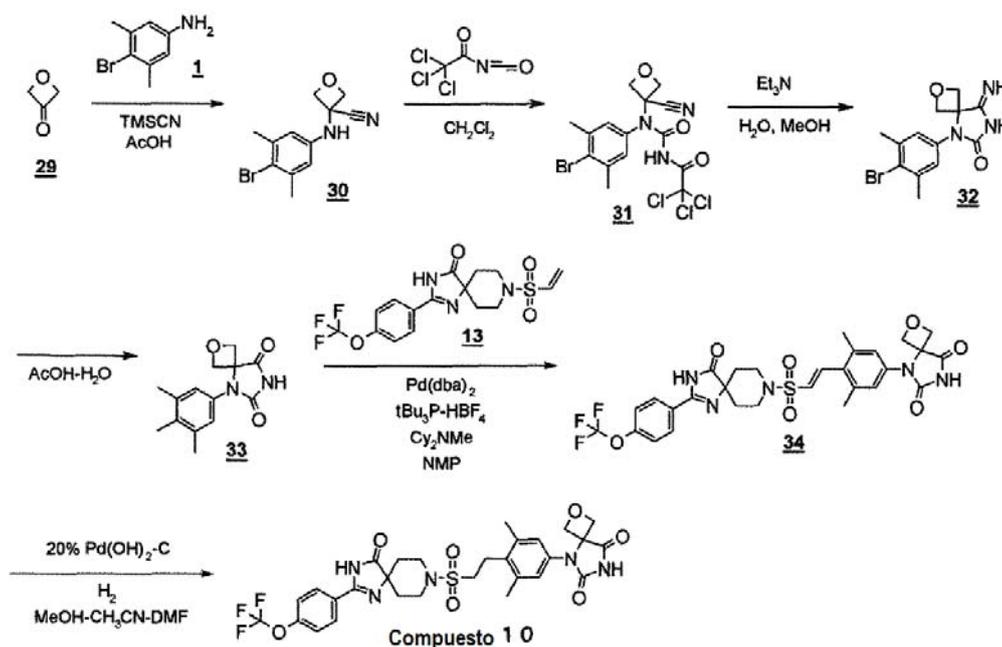
20

Ejemplo 6

5-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonil)etil)fenil)-2-oxa-5,7-diazaspiro[3.4]octano-6,8-diona (Compuesto 10)

25

(Reacción 6)



30

Con el uso de oxetano-3-ona como material de partida y el uso de solventes apropiados, se obtuvo 5-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenilo)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-2-oxa-5,7-diazaspiro[3.4]octano-6,8-diona mediante operaciones similares a las del Ejemplo 4.

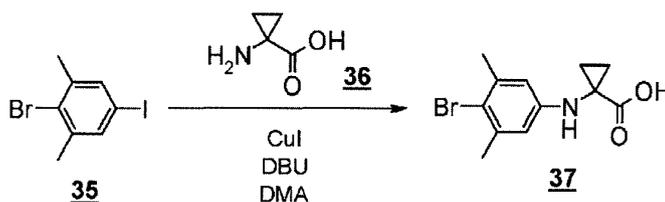
- 5 MS(ESI) $m/z = 650$ (M+H)⁺. ¹H-RMN (400MHz, CDCl₃) δ : 1.69-1.77 (2H, m), 2.12-2.22 (2H, m), 2.45 (6H, s), 3.03-3.11 (2H, m), 3.22-3.29 (2H, m), 3.46-3.53 (2H, m), 3.84-3.91 (2H, m), 4.86 (2H, d, J = 7.2 Hz), 5.03 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.07 (2H, s), 7.35 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.98 (2H, d, J = 8.4 Hz), 8.56 (1H, s), 10.34 (1H, s)

Ejemplo 7

- 10 4-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonyl)etil)fenil)-4,6-diazaspiro[2.4]heptano-5,7-diona (Compuesto 11)

(Reacción 7-1)

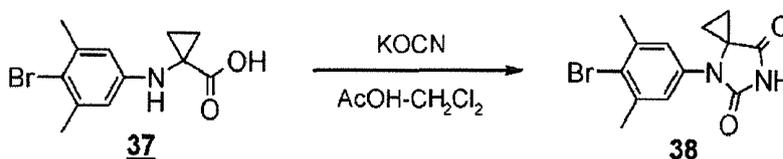
15



- 20 Una mezcla de 2-bromo-5-yodo-1,3-dimetilbenceno (300 mg, 0.965 mmol), ácido 1-aminociclopropano carboxílico (195 mg, 1.93 mmol), yoduro de cobre (I) (37 mg, 0.194 mmol), y diazabicycloundeceno (0.50 mL, 3.35 mmol) en dimetilacetamida (2.6 mL) se agitó a 120°C durante tres horas bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Wakosil C18, acetonitrilo-agua (0.1% de ácido fórmico)) para proporcionar ácido 1-((4-bromo-3,5-dimetilfenil)amino)ciclopropano carboxílico (219 mg, 80 %).

- 25 MS(ESI) $m/z = 284, 286$ (M+H)⁺.

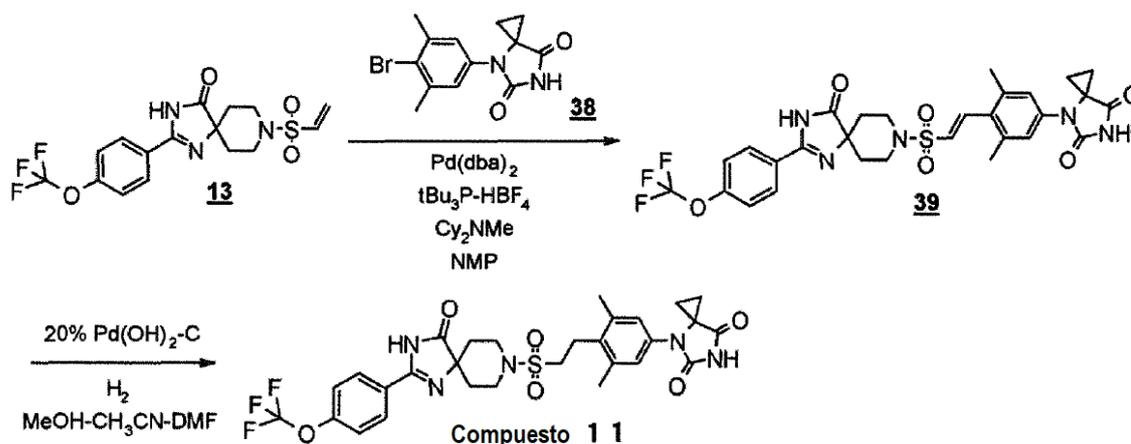
(Reacción 7-2)



- 30 A una mezcla de ácido 1-((4-bromo-3,5-dimetilfenil)amino)ciclopropano carboxílico (198 mg, 0.697 mmol) en ácido acético (3 mL) y diclorometano (1.5 mL), cianato de potasio (424 mg, 5.23 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora, y luego se agitó a 60°C durante dos horas. Se añadió una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio para ajustar el pH a 8, y esta mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo-hexano) para proporcionar 4-(4-bromo-3,5-dimetilfenil)-4,6-diazaspiro[2.4]heptano-5,7-diona (49 mg, 23%).

- 35 MS(ESI) $m/z = 309, 311$ (M+H)⁺.

- 40 (Reacción 7-3)



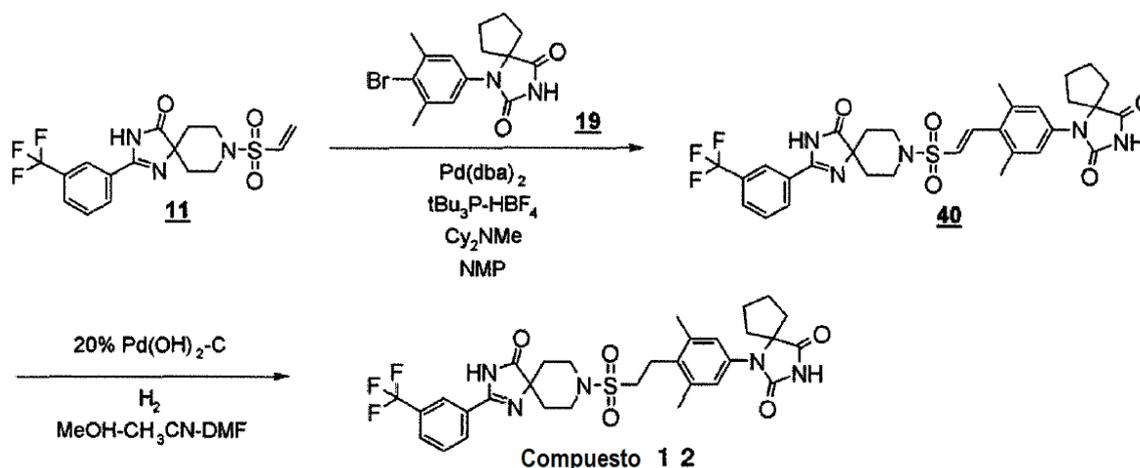
Con el uso de materiales de partida y disolventes apropiados, se obtuvo 4-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-4,6-diazaespiro[2.4]heptano-5,7-diona (Compuesto 11) mediante operaciones similares a las del Ejemplo 2.

MS(ESI) $m/z = 634$ (M+H)⁺. ¹H-RMN (400MHz, DMSO- d_6) δ : 0.99-1.03 (2H, m), 1.19-1.27 (4H, m), 1.58-1.64 (2H, m), 1.81-1.90 (2H, m), 2.35 (6H, s), 2.99-3.04 (2H, m), 3.22-3.29 (2H, m), 3.67-3.73 (2H, m), 6.95 (2H, s), 7.56 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.12 (2H, d, $J = 8.4$ Hz)

Ejemplo 8

1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-1,3-diazaespiro[4.4]nonano-2,4-diona (Compuesto 12)

(Reacción 8)



Con el uso de materiales de partida y disolventes apropiados, se obtuvo 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonyl)etil)fenil)-1,3-diazaespiro[4.4]nonano-2,4-diona mediante operaciones similares a las del Ejemplo 2.

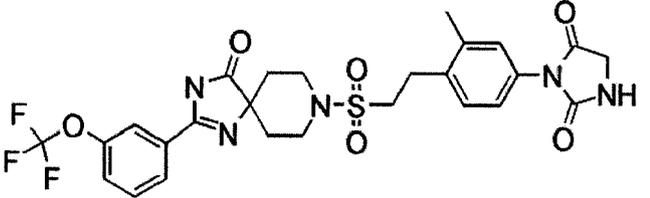
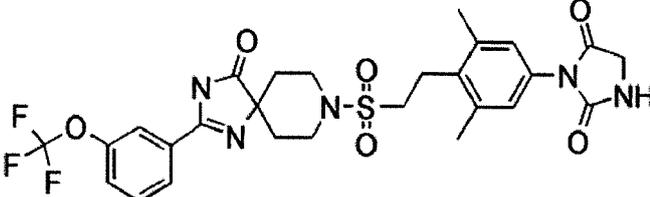
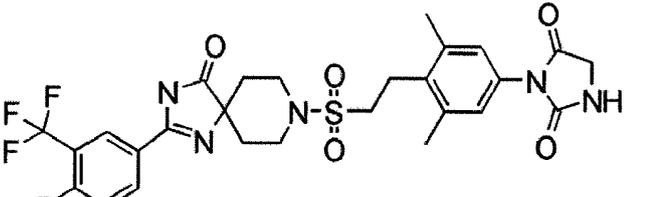
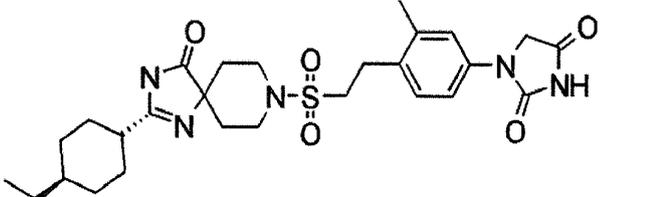
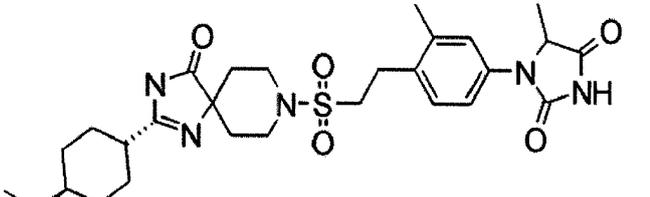
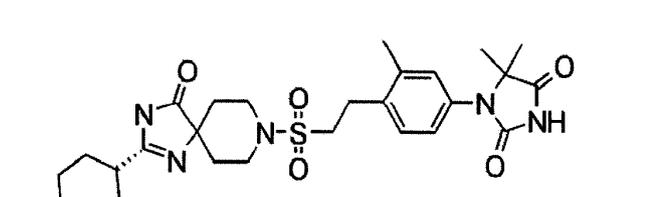
MS(ESI) $m/z = 646$ (M+H)⁺. ¹H-RMN (400MHz, DMSO- d_6) δ : 1.40-1.48 (2H, m), 1.62-1.71 (4H, m), 1.88-1.97 (2H, m), 1.97-2.08 (4H, m), 2.41 (6H, s), 3.03-3.10 (2H, m), 2.29-3.34 (2H, m), 3.38-3.47 (2H, m), 3.72-3.79 (2H, m), 7.06 (2H, s), 7.84 (1H, dd, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 8.02 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 8.33 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 8.38 (1H, s)

Ejemplos de prueba

Para los compuestos de la presente invención, se muestran en los Ejemplos de prueba 1 a 5, respectivamente, los resultados de prueba sobre la actividad de la producción de AMPc a través del PTH1R humano, la actividad de la producción de AMPc a través del PTH1R de rata, la estabilidad metabólica utilizando microsomas hepáticos humanos, la estabilidad metabólica usando hepatocitos de rata y la acción calcémica en los modelos de rata TPTX.

Los compuestos descritos en WO2010/126030A1, que se muestran en la Tabla 2, se usaron como compuestos comparativos.

Tabla 2

Ejemplo comparativo	Fórmula estructural
Ejemplo comparativo 1 WO2010/126030A1 Compuesto 792	
Ejemplo comparativo 2 WO2010/126030A1 Compuesto 799	
Ejemplo comparativo 3 WO2010/126030A1 Compuesto 800	
Ejemplo comparativo 4 WO2010/126030A1 Compuesto 878	
Ejemplo comparativo 5 WO2010/126030A1 Compuesto 879	
Ejemplo comparativo 6 WO2010/126030A1 Compuesto 887	

Ejemplo de ensayo 1: Medición de la actividad de la señal de cAMP *in vitro* de compuestos a través del PTH1R humano

(Péptidos)

5 La PTH (1-34) humana y la calcitonina se compraron de Peptide Institute, Inc. (Osaka, Japón), se disolvieron en ácido acético 10 mM a 1 mM y se almacenaron en un congelador a -80°C.

(Cultivo de células)

10 Se cultivaron células en medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) suplementado con suero bovino fetal al 10% (Hyclone), penicilina G 100 unidades/ml y sulfato de estreptomina 100 µg/ml (Invitrogen Corp) a 37°C en una atmósfera humidificada que contenía 5% de CO₂.

15 El análisis de transducción de señales de cAMP utilizó células LLC-PK1 que no expresaban las células PTH1R y HKRK-B7, es decir, células LLC-PK1 que sobreexpresaban la PTH1R humana a 9.5 x 10⁵ receptores/célula (Takasu et al., J. Bone. Miner. Res. 14: 11-20, 1999).

(Estimulación AMPc)

20 Se sembraron células HKRK-B7 o LLC-PK1 en una placa de 96 pozos a 1x10⁵ células/pozo y se incubaron durante la noche. Al día siguiente, se añadieron 50 µl de regulador de ensayo cAMP (DMEM, IBMX 2 mM, albúmina de suero bovino 0.2 mg/ml, Hepes-NaOH 35 mM, pH 7.4) que contenían PTH humana (1-34) o cada compuesto y la placa se colocó en una incubadora a 37°C. Las células se incubaron durante 20 minutos. Después de eliminar el medio, las células se lavaron con 100 µl de regulador de ensayo de cAMP una vez. La placa se colocó en polvo de hielo seco para congelar las células y luego se retiró del hielo seco. Las células se sometieron a lisis con 40 µl de HCl 50 mM y se congelaron de nuevo en hielo seco. La cantidad de cAMP intracelular producido se midió usando un kit de EIA de cAMP disponible en el mercado (sistema Biotrack cAMP EIA, GE Healthcare).

30 (Cálculo de 20% de concentración efectiva (EC20) y 50% de concentración efectiva (EC50) en la medición de la capacidad de inducción de cAMP *in vitro*)

35 Los análisis se realizaron usando una ecuación de curva de respuesta a la dosis en forma de S de gradiente variable. La actividad de señalización de cAMP de PTH humana (1-34) a 100 nM se definió como 100%, y la concentración a la que cada compuesto muestra 20% o 50% de actividad de señalización de cAMP se calculó como EC20 o EC50.

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos con células HKRK-B7.

40 El grado de respuesta de cAMP en células LLC-PK1 fue menor que el grado en células HKRK-B7.

Tabla 3

Compuesto	EC20 (µM)	EC50 (µM)	Compuesto	EC20 (µM)	EC50 (µM)
Compuesto 1	1.3	5.8	Compuesto 10	5.0	21
Compuesto 2	2.4	14	Compuesto 11	1.5	11
Compuesto 3	1.5	7.2	Ejemplo Comparativo 1	1.5	4.8
Compuesto 4	1.6	7.4	Ejemplo Comparativo 2	3.1	13
Compuesto 5	1.7	8.1	Ejemplo Comparativo 3	2.0	9.0
Compuesto 6	2.0	9.0	Ejemplo Comparativo 4	>505	>1000
Compuesto 7	1.1	4.1	Ejemplo Comparativo 5	3.1	25
Compuesto 8	1.0	3.6	Ejemplo Comparativo 6	3.6	32
Compuesto 9	2.6	12			

45 Ejemplo de ensayo 2: Medición de la actividad de señalización de cAMP *in vitro* de los compuestos a través de PTH1R de rata

En lugar de células HKRK-B7, se usaron células LLC-PK46_RATIO_PTH1R que sobreexpresaban PTH1R de rata, las cuales se establecieron en Chugai Pharmaceutical, para tomar medidas de una manera similar al Ejemplo de Ensayo 1.

5 Los resultados obtenidos usando células LLC-PK46_RATIO_PTH1R se muestran en la Tabla 4.

Los valores de EC20 de la actividad de señalización de cAMP *in vitro* del receptor de PTH1 de rata tenían una buena correlación con los de PTH1R humano. También se observó una buena correlación entre rata y humano para los valores EC50.

10

Tabla 4

Compuesto	EC20 (µM)	EC50 (µM)	Compuesto	EC20 (µM)	EC50 (µM)
Compuesto 7	0.5	2.4	Compuesto 11	0.8	3.2
Compuesto 8	0.4	1.9	Ejemplo Comparativo 1	0.8	2.3
Compuesto 10	3.0	12			

Ejemplo de prueba 3: Examen de estabilidad metabólica usando microsomas hepáticos humanos

15

En regulador fosfato 0.1 M (pH 7.4), se incubaron microsomas hepáticos humanos con un compuesto o un ejemplo comparativo en la coexistencia de NADPH a 37°C durante una cantidad de tiempo específica. La concentración del compuesto original en cada tiempo de reacción se midió usando LC/MS/MS, y se calculó la eliminación inherente (µl/min/mg de proteína) a partir de la pendiente del tiempo de reacción frente a la velocidad residual.

20

<Condiciones de ensayo>

Concentración de compuesto: 1 µM

25

Microsoma: 0.5 mg/ml

NADPH: 1 mM

30

Tiempo de reacción: 0, 5, 15 y 30 minutos

Los resultados se muestran en la Tabla 5. Los compuestos 1 a 11 mostraron una alta estabilidad metabólica frente a microsomas hepáticos humanos en comparación con los Ejemplos Comparativos 1 a 6.

Tabla 5

Compuesto	Eliminación (µl/min/mg)	Compuesto	Eliminación (µl/min/mg)
Compuesto 1	21	Compuesto 10	29
Compuesto 2	38	Compuesto 11	19
Compuesto 3	29	Compuesto 12	63
Compuesto 4	27	Ejemplo Comparativo 1	84
Compuesto 5	37	Ejemplo Comparativo 2	61
Compuesto 6	29	Ejemplo Comparativo 3	74
Compuesto 7	30	Ejemplo Comparativo 4	74
Compuesto 8	35	Ejemplo Comparativo 5	112
Compuesto 9	28	Ejemplo Comparativo 6	154

35

Ejemplo de ensayo 4: Examen de la estabilidad metabólica usando hepatocitos de rata

40

Se prepararon células hepáticas a partir del hígado de ratas (SD, hembra) mediante un método de perfusión de colagenasa. Se añadió un compuesto de los ejemplos o un ejemplo comparativo, y se incubó a 37°C durante una cantidad de tiempo específica, seguido de la adición de una solución que detiene la reacción. La concentración del

compuesto original en cada tiempo de reacción se midió usando LC/MS/MS, y se calculó la eliminación inherente ($\mu\text{L}/10^6$ células/min) a partir de la pendiente del tiempo de reacción frente a la velocidad residual.

<Condiciones de ensayo>

- 5 Concentración celular: 1×10^6 células/mL
- Concentración de compuesto: $1 \mu\text{M}$
- 10 Medio: medio E de Williams
- Tiempo de reacción: 0, 15, 30, 60, 120 y 240 minutos
- 15 Solución para detener la reacción: acetonitrilo/2-propanol (4/6, v/v)
- Los resultados se muestran en la Tabla 6. La estabilidad metabólica de los hepatocitos de las ratas de los Compuestos 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10 y 11 aumentó en comparación con los Ejemplos Comparativos 1, 2, 3, 5 y 6.

Tabla 6

Compuesto	Eliminación ($\mu\text{L}/10^6$ células/min)	Compuesto	Eliminación ($\mu\text{L}/10^6$ células/min)
Compuesto 1	7.6	Compuesto 9	1.8
Compuesto 2	3.0	Compuesto 10	0.3
Compuesto 3	17	Compuesto 11	-0.6
Compuesto 4	2.2	Ejemplo Comparativo 1	5.8
Compuesto 5	1.0	Ejemplo Comparativo 2	5.9
Compuesto 6	1.4	Ejemplo Comparativo 3	22
Compuesto 7	0.9	Ejemplo Comparativo 5	22
Compuesto 8	3.0	Ejemplo Comparativo 6	22

20 Ejemplo de ensayo 5: Acción calcémica en el modelo de rata TPTX

25 Se obtuvieron ratas Cri:CD(SD) hembras de cuatro semanas de edad de Charles River Japan (Atsugi Breeding Center), y se aclimataron a condiciones de laboratorio estándar de 20-26°C y 35-75% de humedad durante una semana. Las ratas recibieron agua del grifo y se alimentaron *ad libitum* con alimento estándar para roedor (CE-2) (CLEA Japan, Inc.) que contenía 1.1% de calcio, 1.0% de ácido fosfórico y 250 UI/100 g de vitamina D3.

30 Se ejecutó TPTX en ratas de cinco semanas de edad. Algunas de los individuos fueron sometidos a una operación simulada (Simulación). Los individuos cuya concentración sérica de Ca fue inferior a 8 mg/dL cuatro días después de la operación se seleccionaron para su uso como ratas TPTX. Cinco días después de la operación, las ratas se asignaron a ocho grupos TPTX y un grupo simulado (n=5, cada grupo) en función de su peso corporal y la concentración sérica de Ca medida cuatro días después de la operación. El disolvente solo se administró por vía oral al grupo Simulación y al grupo con vehículo TPTX a un volumen de 10 mL/kg. Cada artículo de prueba se administró por vía oral individualmente a cada grupo de artículos de prueba TPTX disolviéndolo en un disolvente a una dosis de 30 mg/10 mL/kg. La composición de disolvente fue 10% de dimetilsulfóxido (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), 10% de Cremophor EL (Sigma-Aldrich Japan LLC), 20% de hidroxipropil- β -ciclodextrina (Nihon Shokuhin Kako Co., Ltd.), glicina (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.); y el pH se ajustó a 10. Inmediatamente antes de la administración de cada muestra, se realizó la recolección previa de sangre y se realizó la extracción de sangre a las 40 2, 6, 10 y 24 horas después de la administración para medir la concentración de Ca en suero. Cada extracción de sangre se llevó a cabo desde la vena yugular bajo anestesia por inhalación de isoflurano.

45 Medición de Ca en suero: El suero obtenido por centrifugación a partir de la sangre recogida se midió usando un analizador automático TBA-120FR (Toshiba Medical Systems Corporation).

50 Para el análisis estadístico de los estudios en animales, los datos se muestran como media \pm error estándar (SE). El análisis estadístico se realizó por prueba no apareada del paquete SAS preclínico (Ver.5.00.010720, SAS Institute Japan, Tokio, Japón). El valor Ap de <0.05 se consideró estadísticamente significativo. El significado estadístico de cada grupo de artículos de prueba en comparación con el grupo de vehículos TPTX, el grupo del Ejemplo Comparativo 1 y el grupo del Ejemplo Comparativo 2 se mostró como #, * y J respectivamente.

El valor previo para la concentración de Ca en suero fue de 9.9 mg/dL para el grupo Simulación, y de 5.3-6.2 mg/dL para cada uno de los grupos TPTX. Las concentraciones séricas de Ca para cada compuesto hasta 24 horas después de la administración se muestran en la Figura 1 como la cantidad promedio de cambio del valor previo. Además, para todos los compuestos, la concentración de Ca sérico alcanzó su punto máximo a las seis horas después de la administración o diez horas después de la administración de cada compuesto.

Los compuestos 6, 7 y 8 que tienen alta estabilidad metabólica de hepatocitos de rata mostraron grandes cambios positivos desde el prevalor, y su administración oral mostró fuertes efectos sobre la acción calcémica. Por otro lado, el Compuesto 1 y los Ejemplos Comparativos 1 y 2 que tienen baja estabilidad metabólica de hepatocitos mostraron cambios positivos más pequeños del Prevalor en comparación con los Compuestos 6, 7 y 8. En particular, los Compuestos 7 y 8 fueron estadísticamente significativos en comparación con los ejemplos comparativos 1 y 2.

Además, los Compuestos 6, 7 y 8 que tienen alta estabilidad metabólica de hepatocitos mostraron valores máximos individuales de 7.8 a 8.5 mg/dL a las seis o diez horas después de la administración, y alcanzaron el rango objetivo terapéutico de concentración de Ca en suero de 7.6 a 8.8 mg/dL en pacientes con hipoparatiroidismo. Por otro lado, este intervalo objetivo terapéutico no podría alcanzarse en ninguno de los tiempos de medición para el Compuesto 1, y los Ejemplos Comparativos 1 y 2 que tienen baja estabilidad metabólica de hepatocitos de rata.

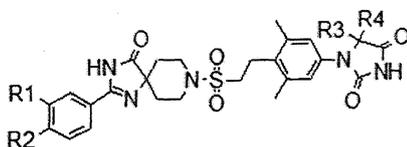
A partir de los resultados de prueba mencionados anteriormente, los Compuestos 6, 7 y 8, que tienen fuertes actividades de señalización de cAMP en células forzadas a expresar PTH1R de rata y alta estabilidad frente a la degradación metabólica en hepatocitos de rata, mostraron fuertes efectos sobre la acción calcémica en ratas cuando se administra por vía oral. Estos compuestos también tienen actividad de señalización de cAMP en células forzadas a expresar PTH1R humana y alta estabilidad metabólica contra microsomas de hígado humano en comparación con los compuestos comparativos; y se espera que tengan altos efectos terapéuticos cuando se administran por vía oral a pacientes con hipoparatiroidismo. Además, también se espera que los compuestos representados por la Fórmula (1), que tienen actividad de señalización de cAMP en células forzadas a expresar PTH1R humana y muestran estabilidad metabólica contra microsomas hepáticos humanos en el mismo grado que los Compuestos 6, 7 y 8, tengan alto efecto terapéutico en pacientes con hipoparatiroidismo.

Aplicabilidad industrial

La presente invención proporciona compuestos que tienen un fuerte efecto similar a la PTH y una alta estabilidad metabólica. La presente invención también proporciona un medicamento para la prevención y/o tratamiento de osteoporosis, fracturas, enfermedad ósea adinámica, acondroplasia, hipocondroplasia, osteomalacia, osteoartritis, artritis, trombocitopenia, hipoparatiroidismo, hiperfosfatemia, calcinosis tumoral o similares, o movilización de células madre.

REIVINDICACIONES

5 1. Un compuesto representado por la fórmula general (1) a continuación o una sal farmacológicamente aceptable del mismo:



(1)

10 donde R1 y R2 son independientemente:

1) hidrógeno;

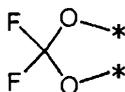
2) átomo de halógeno;

15 3) un grupo alquilo que comprende uno o dos carbonos que pueden estar sustituidos con uno a cinco átomos de flúor; o

20 4) un grupo alcoxi que comprende uno o dos carbonos que pueden estar sustituidos con uno a cinco átomos de flúor,

con la condición de que R1 y R2 no sean ambos hidrógeno; o

R1 y R2 se unen entre sí para formar un grupo representado por la fórmula siguiente:



(donde cada * indica la posición de unión con la porción fenilo); y

30 R3 y R4 son independientemente un grupo metilo que puede estar sustituido con uno a tres átomos de flúor; o

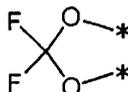
R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo carbocíclico de tres a seis miembros (donde, uno de los átomos de carbono que forman el anillo puede reemplazarse por un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o átomo de nitrógeno sustituido con metilo o no sustituido).

35 2. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de la reivindicación 1, en el que R1 y R2 se seleccionan de las combinaciones siguientes:

40 1) R1 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno, y R2 es un átomo de hidrógeno, un grupo trifluorometilo o un grupo trifluorometoxi (con la condición de que R1 y R2 no sean ambos átomos de hidrógeno);

2) R1 es un grupo trifluorometilo o un grupo trifluorometoxi, y R2 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno;

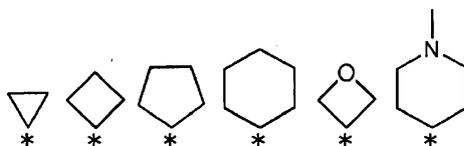
3) R1 y R2 se unen entre sí para formar un grupo representado por la fórmula siguiente:



(donde, cada * indica la posición de unión con la porción fenilo); y

R3 y R4 son grupos metilo; o

50 R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo seleccionado de lo que sigue:



(donde * indica la posición de unión con la porción de imidazolidin-2,4-diona).

5 3. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de la reivindicación 1, en el que R1 y R2 se seleccionan de las combinaciones siguientes:

1) R1 es un grupo trifluorometoxi y R2 es un átomo de flúor;

10 2) R1 es un átomo de bromo y R2 es un átomo de hidrógeno;

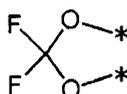
3) R1 es un grupo trifluorometoxi y R2 es un átomo de flúor;

15 4) R1 es un átomo de flúor y R2 es un grupo trifluorometoxi;

5) R1 es un grupo trifluorometilo y R2 es un átomo de hidrógeno;

6) R1 es un átomo de hidrógeno y R2 es un grupo trifluorometoxi;

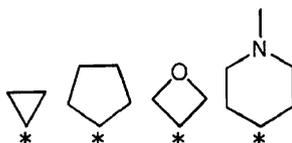
20 7) R1 y R2 se unen entre sí para formar un grupo representado por la fórmula siguiente:



(donde cada * indica la posición de unión con la porción fenilo); y

25 R3 y R4 son grupos metilo; o

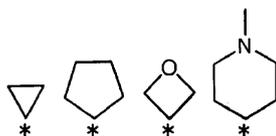
R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo seleccionado de lo que sigue:



30 (donde * indica la posición de unión con la porción de imidazolidin-2,4-diona).

35 4. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de la reivindicación 1, en el que R3 y R4 son grupos metilo.

5. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de la reivindicación 1, en el que R3 y R4, junto con un átomo de carbono unido, forman un anillo seleccionado de lo que sigue:



40 (donde * indica la posición de unión con la porción de imidazolidin-2,4-diona).

45 6. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

1-(4-(2-((2-(4-fluoro-3-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonilo)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

50 1-(4-(2-((2-(3-bromofenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonilo)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;

- 1-(4-(2-((2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonilo)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;
- 5 1-(4-(2-((2-(3-fluoro-4-(trifluorometoxi)fenil)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonilo)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;
- 1-(4-(2-((2-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-4-oxo-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)-3,5-dimetilfenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;
- 10 1-3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona;
- 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonil)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona);
- 15 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonil)etil)fenil)-1,3-diazaespiro[4.4]nonano-2,4-diona;
- 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonil)etil)fenil)-8-metil-1,3,8-triazaespiro[4.5]decano-2,4-diona;
- 20 5-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonil)etil)fenil)-2-oxa-5,7-diazaspiro[3.4]octano-6,8-diona; y
- 25 4-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonil)etil)fenil)-4,6-diazaspiro[2.4]heptano-5,7-diona.
7. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de la reivindicación 1, en donde el compuesto es
- 30 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-il)sulfonil)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona
8. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de la reivindicación 1, en donde el compuesto es
- 35 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonil)etil)fenil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona.
9. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de la reivindicación 1, en donde el compuesto es
- 40 1-(3,5-dimetil-4-(2-((4-oxo-2-(4-(trifluorometoxi)fenil)-1,3,8-triazaespiro[4.5]deca-1-en-8-ilo)sulfonil)etil)fenil)-1,3-diazaspiro[4.4]nonano-2,4-diona.
10. Una composición farmacéutica, que comprende el compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 como ingrediente activo.
- 45 11. La composición farmacéutica de la reivindicación 10, que es para uso en administración oral.
12. Una composición farmacéutica para activar la respuesta de cAMP intracelular, que comprende el compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 como ingrediente activo.
- 50 13. Un agente movilizador de células madre, o un agente para prevenir o tratar osteoporosis, fracturas, enfermedad ósea adinámica, acondroplasia, hipocondroplasia, osteomalacia, osteoartritis, artritis, trombocitopenia, hipoparatiroidismo, hiperfosfatemia o calcinosis tumoral, que comprende el compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 como ingrediente activo.
- 55 14. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para su uso en la prevención o tratamiento de osteoporosis, fracturas, enfermedad ósea adinámica, acondroplasia, hipocondroplasia, osteomalacia, osteoartritis, artritis, trombocitopenia, hipoparatiroidismo, hiperfosfatemia o calcinosis tumoral, o movilización de células madre.
- 60 15. Uso del compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para la producción de un agente movilizador de células madre o un agente para prevenir o tratar osteoporosis, fracturas, enfermedad ósea adinámica, acondroplasia, hipocondroplasia, osteomalacia, osteoartritis, artritis, trombocitopenia, hipoparatiroidismo, hiperfosfatemia o calcinosis tumoral.
- 65

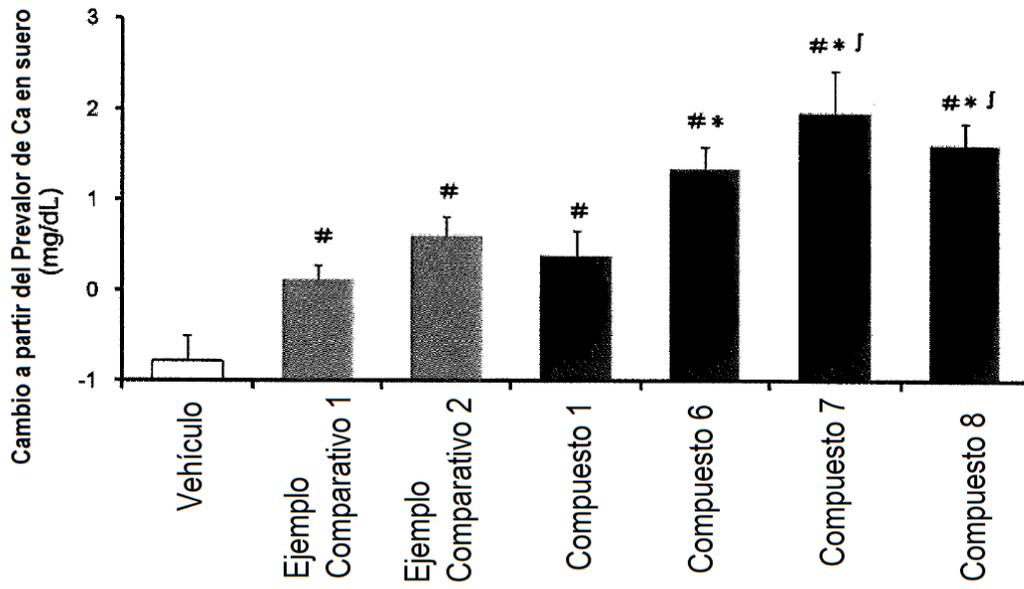


FIG. 1