

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 816**

51 Int. Cl.:

**C07D 471/14** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.02.2008 E 08709082 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2015 EP 2120933**

54 Título: **Isoquinolinpirrolopiridinonas activas como inhibidores de cinasa**

30 Prioridad:

**27.02.2007 EP 07103170**

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

**28.09.2015**

73 Titular/es:

**NERVIANO MEDICAL SCIENCES S.R.L. (100.0%)  
VIALE PASTEUR, 10  
20014 NERVIANO (MI), IT**

72 Inventor/es:

**VANOTTI, ERMES;  
MENICHINCHERI, MARIA y  
SCOLARO, ALESSANDRA**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**Observaciones :**

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

**ES 2 546 816 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

Isoquinolinpirrolopiridinonas activas como inhibidores de cinasa

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a isoquinolinpirrolopiridinonas, a composiciones farmacéuticas que las comprenden y a su uso como agentes terapéuticos, particularmente en el tratamiento del cáncer y los trastornos de proliferación celular.

10

**Antecedentes de la invención**

La disfunción de las proteína cinasas (PKs, del inglés protein kinases) es el rasgo distintivo de numerosas enfermedades. Una gran parte de los oncogenes y proto-oncogenes implicados en los cánceres humanos codifican para PKs. Las actividades mejoradas de las PKs también están involucradas en muchas enfermedades no malignas, como la hiperplasia benigna de próstata, la adenomatosis familiar, la poliposis, la neurofibromatosis, la psoriasis, la proliferación de células lisas vasculares asociada con aterosclerosis, la fibrosis pulmonar, la artritis glomerulonefritis y la estenosis y reestenosis post-quirúrgicas. Las PKs también están implicadas en estados inflamatorios y en la multiplicación de virus y parásitos. Las PKs pueden jugar también un papel importante en la patogénesis y el desarrollo de trastornos neurodegenerativos. El mal funcionamiento o falta de regulación de las PKs se discuten con más detalle en Current Opinion in Chemical Biology 1999, 3, 459 – 465.

20

Entre las muchas proteína cinasas conocidas en la técnica por estar implicadas en el crecimiento de células cancerosas se encuentra Cdc7, una serina-treonina cinasa conservada evolutiva que juega un papel fundamental en la unión de la regulación del ciclo celular a la duplicación genómica, siendo esencial para disparar los orígenes de la replicación del ADN (véase Montagnoli A. y col., EMBO Journal, Vol. 21, nº 12, pág. 3171-3181, 2002; Montagnoli A. y col., Cancer Research Vol. 64, octubre 1, pág. 7110-7116, 2004).

25

Blanche y col. en Heterocycles (2000), 53 (4), 905-916, describe una síntesis regioselectiva de indolonas polifundidas, en particular se da a conocer un compuesto denominado 7H-pirido[4,3-a]carbazol-7-ona, 8, 9, 10, 11-tetrahidro-11-(fenilmetil).

30

Varios compuestos heterocíclicos son conocidos en la técnica como inhibidores de proteína cinasa. Entre ellos se encuentran, por ejemplo, los piridinilpirroles dados a conocer en el documento WO 2005/13986, los pirimidinilpirroles dados a conocer en el documento WO 2005/14572, los pirrolopirazoles dados a conocer en el documento WO 02/12242; los tetrahidroindazoles dados a conocer en el documento WO 00/69846; las pirrolopiridinas dadas a conocer en el documento WO 01/98299; las aminoftalazinonas dadas a conocer en el documento WO 03/014090 y los aminoindazoles dados a conocer en el documento WO 03/028720.

35

Las beta-carbolinas y análogos para el uso como inhibidores de proteína cinasa-2 activados por cinasa, activados por mitógeno, como 7H-pirido[3',4':4,5]pirrolo[2,3-f]isoquinolin-7-ona, 8, 9, 10, 11-tetrahidro, se describen y reivindican en el documento WO 2005/009370.

40

Además, se dan a conocer derivados de pirrolopiridinona para el tratamiento de la obesidad en la patente WO03/027114 para Bayer Pharmaceuticals Corporation. En particular, se presenta una piridilpirrolopiridinona, denominada 5-ciclohexil-1-(2,4-dicloro-fenil)-3-metil-2-piridin-3-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona.

45

Los derivados de pirrolopiridinona, dotados de actividad inhibidora de proteína cinasa-2 activada por cinasa, activada por mitógeno, se dan a conocer en la solicitud de patente WO2004/058762 A1 para Pharmacia Corp.

50

**Resumen de la invención**

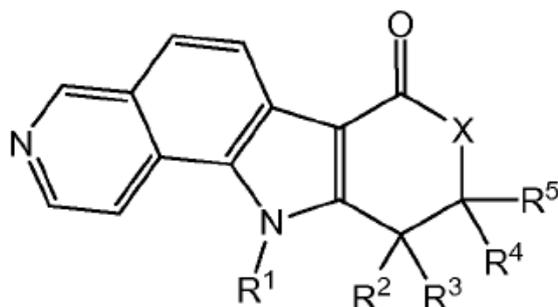
La invención se refiere a compuestos novedosos que son útiles en terapia como agentes contra una serie de enfermedades causadas por y/o asociadas con una actividad proteína cinasa mal regulada, más en particular, la actividad Cdk2 y Cdc7.

55

La invención también se refiere a compuestos que tienen actividad inhibidora de la proteína cinasa y, más en particular, actividad inhibidora de Cdk2 y Cdc7.

Un aspecto de la invención se refiere a derivados de heteroarilpiridinonas que se representan mediante la fórmula (I)

60



(I)  
donde

5 R<sup>1</sup> se selecciona del grupo consistente en hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alqueno (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), alquino (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), haloalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alquilo polifluorado (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heteociclilo, arilo, heteroarilo, cicloalquil(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heterocicliil-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), aril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heteroaril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), ariloxi-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), heteroariloxi-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), aminoalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), alquilamino (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), dialquilamino (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), carbamoil-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>) y alcocarbonilo, donde cada una de las mencionadas fracciones arilo, heteroarilo, heterociclilo, ariloxi o heteroariloxi puede no estar sustituida o estar sustituida por uno o varios sustituyentes, seleccionándose cada sustituyente independientemente del grupo  
10 consistente en alquilo, arilo, -OCF<sub>3</sub>, -OC(O)alquilo, -OC(O)arilo, -CF<sub>3</sub>, heteroarilo, aralquilo, alquilarilo, heteroaralquilo, alquilheteroarilo, hidroxil, hidroxialquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, acilo, arilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, nitro, ciano, carboxi, alcocarbonilo, ariloxicarbonilo, aralcoxicarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, ariltio, heteroariltio, aralquiltio, heteroaralquiltio, cicloalquilo, heterociclilo, heterociclenilo, -NH(alquilo), -NH(cicloalquilo), y -N(alquilo)<sub>2</sub>;

20 R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en átomo de hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), heteociclilo, arilo, cicloalquil-alquilo, heterocicliil-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), aril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), halo-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alquilo polifluorado (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), ariloxi-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), heteroariloxi-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), aminoalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), alquilamino (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>) y dialquilamino (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>),

25 o R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup>, tomados juntos, forman un grupo cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>);

X es NH o CH<sub>2</sub>,

con la condición que,

30 si X es NH y R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, al menos uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> no es un átomo de hidrógeno y se excluye 7H-pirido[4,3-a]carbazol-7-ona, 8, 9, 10, 11-tetrahidro-11-(fenilmetil);

35 donde

con el término arilo la presente invención contempla cualquier hidrocarburo carbocíclico o heterocíclico con fracciones de 1 a 2 anillos, bien fundidos o unidos entre sí mediante enlaces sencillos, donde al menos uno de los anillos es aromático. Si está presente, cualquier hidrocarburo heterocíclico aromático también denominado grupo heteroarilo, comprende un anillo de 5 a 6 miembros con 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre N, O o S;

40 con el término "heterociclilo" la presente invención contempla heterociclos saturados o parcialmente insaturados con un anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros que comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre N, O o S; o una sal farmacéuticamente aceptable para solvato de los mismos.

45 Otro aspecto de la invención da a conocer un método de tratamiento de trastornos o afecciones proliferativas celulares, que pueden ser causadas por y/o asociadas con una actividad proteínica cinasa alterada, mediante la administración a un mamífero necesitado de dicho tratamiento de una cantidad de un compuesto de fórmula (I).

50 Otro aspecto de la invención da a conocer un método de actividad antagonizante respecto a Cdk2 o Cdc7, que comprende la administración a dicho Cdk2 o Cdc7 de una cantidad de un compuesto de fórmula (I) que es eficaz en la actividad antagonizante respecto a Cdk2 o Cdc7.

55 Otro aspecto de la invención da a conocer un método de tratamiento de un trastorno o afección en un mamífero, en el que la actividad antagonista respecto Cdk2 o Cdc7 es necesaria para dicho mamífero, comprendiendo la administración a dicho mamífero de una cantidad de un compuesto de fórmula (I) que es eficaz en la actividad

antagonizante respecto a Cdk2 o Cdc7.

Otro aspecto de la invención da a conocer un método de tratamiento de un trastorno o afección en un mamífero cuya actividad antagonista respecto Cdk2 o Cdc7 es necesaria en dicho mamífero, comprendiendo la administración a dicho mamífero de una cantidad de un compuesto de fórmula (I) que es eficaz en el tratamiento de dicho trastorno o afección.

Otro aspecto de la invención da a conocer un método de tratamiento de un trastorno o afección seleccionada del grupo consistente en cáncer de vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, esófago, vesícula, ovario, páncreas, estómago, cerviz, tiroides, próstata, y piel, incluyendo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoyéticos de linaje linfático, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas y linfoma de Burkitt, tumores hematopoyéticos de linaje mielóide, incluyendo las leucemias mielogénicas aguda y crónica, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; otros tumores, que incluyen melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratocarcinoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi, en un mamífero, comprendiendo la administración a dicho mamífero necesitado de dicho tratamiento de una cantidad de un compuesto de fórmula (I) que es eficaz en el tratamiento de dicha afección o trastorno.

Otro aspecto de la invención da a conocer un método de tratamiento de un trastorno o afección seleccionada del grupo consistente en trastornos proliferativos como, por ejemplo, hiperplasia benigna de próstata, la adenomatosis familiar, la poliposis, la neurofibromatosis, la psoriasis, la proliferación de células lisas vasculares asociada con aterosclerosis, la fibrosis pulmonar, la artritis glomerulonefritis y la estenosis y reestenosis post-quirúrgicas, en un mamífero, comprendiendo la administración a dicho mamífero necesitado de dicho tratamiento de una cantidad de un compuesto de fórmula (I) que es eficaz en el tratamiento de dicha afección o trastorno.

Otro aspecto de la invención da a conocer un método de tratamiento de un trastorno o afección seleccionada del grupo consistente en cáncer de vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, esófago, vesícula, ovario, páncreas, estómago, cerviz, tiroides, próstata, y piel, incluyendo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoyéticos de linaje linfático, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas y linfoma de Burkitt, tumores hematopoyéticos de linaje mielóide, incluyendo las leucemias mielogénicas aguda y crónica, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; otros tumores, que incluyen melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratocarcinoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi, en un mamífero, comprendiendo la administración a dicho mamífero necesitado de dicho tratamiento de una cantidad de un compuesto de fórmula (I) que es eficaz en la actividad antagonizante respecto a Cdk2 o Cdc7.

Otro aspecto de la invención da a conocer un método de tratamiento de un trastorno o afección seleccionada del grupo consistente en hiperplasia benigna de próstata, adenomatosis familiar, poliposis, neurofibromatosis, psoriasis, proliferación de células lisas vasculares asociada con aterosclerosis, fibrosis pulmonar, artritis glomerulonefritis y estenosis y reestenosis post-quirúrgicas, en un mamífero, comprendiendo la administración a dicho mamífero necesitado de dicho tratamiento de una cantidad de un compuesto de fórmula (I) que es eficaz en la actividad antagonizante respecto a Cdk2 o Cdc7.

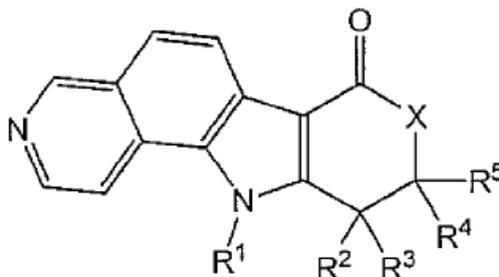
Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad del compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un soporte farmacéuticamente aceptable.

Preferentemente, los tipos específicos de cáncer que se pueden tratar de los listados anteriormente incluyen carcinoma, carcinoma de células escamosas, tumores hematopoyéticos de linaje linfóide o mielóide, tumores de origen mesenquimal, tumores del sistema nervioso central y periférico, melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratocarcinoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi.

Una apreciación más completa de la invención, y muchas de las consiguientes ventajas de la misma, se entenderán fácilmente al entenderse mejor la misma por referencia a la siguiente descripción detallada.

#### **Descripción detallada de la invención**

Un aspecto de la invención se refiere a derivados de heteroarilpiridinonas que se representan mediante la fórmula (I)



(I)  
donde

5 R<sup>1</sup> se selecciona del grupo consistente en hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alqueno (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), alquino (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), haloalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alquilo polifluorado (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heteociclilo, arilo, heteroarilo, cicloalquil(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heterocicliil-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), aril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heteroaril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), ariloxi-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heteroariloxi-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), aminoalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), dialquilamino (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), carbamoil-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y alcocarbonilo, donde cada una de las mencionadas fracciones arilo, heteroarilo, heterocicliilo, ariloxi o heteroariloxi puede no estar sustituida o estar sustituida por uno o varios sustituyentes, seleccionándose cada sustituyente independientemente del grupo consistente en alquilo, arilo, -OCF<sub>3</sub>, -OC(O)alquilo, -OC(O)arilo, -CF<sub>3</sub>, heteroarilo, aralquilo, alquilarilo, heteroaralquilo, alquilheteroarilo, hidroxil, hidroxialquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, acilo, arilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, nitro, ciano, carboxi, alcocarbonilo, ariloxicarbonilo, aralcoxicarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfinilo, arilsulfinilo, heteroarilsulfinilo, alquiltio, ariltio, heteroariltio, aralquiltio, heteroaralquiltio, cicloalquilo, heterocicliilo, heterociclenilo, -NH(alquilo), -NH(cicloalquilo), y -N(alquilo)<sub>2</sub>;

20 R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo consistente en átomo de hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), heteociclilo, arilo, cicloalquil-alquilo, heterocicliil-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), aril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), halo-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alquilo polifluorado (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), ariloxi-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heteroariloxi-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), aminoalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y dialquilamino (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>);

25 o R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup>, tomados juntos, forman un grupo cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>);

X es NH o CH<sub>2</sub>,

30 con la condición que, si X es NH y R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, al menos uno de R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> no es un átomo de hidrógeno;

donde

35 con el término arilo la presente invención contempla cualquier hidrocarburo carbocíclico o heterocíclico con fracciones de 1 a 2 anillos, bien fundidos o unidos entre sí mediante enlaces sencillos, donde al menos uno de los anillos es aromático. Si está presente, cualquier hidrocarburo heterocíclico aromático también denominado grupo heteroarilo, comprende un anillo de 5 a 6 miembros con 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre N, O o S;

40 con el término "heterocicliilo" la presente invención contempla heterociclos saturados o parcialmente insaturados con un anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros que comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre N, O o S; o una sal farmacéuticamente aceptable para el solvato de los mismos.

45 Los compuestos de fórmula (I) de la invención pueden tener átomos de carbono asimétricos y por consiguiente pueden existir como isómeros ópticos individuales, como mezclas racémicas o como cualquier otra mezcla incluyendo una mayoría de uno de los dos isómeros ópticos, todos los cuales se pretende que estén comprendidos dentro del alcance de la presente invención.

50 Asimismo, el uso como un agente antitumoral de todos los posibles isómeros y sus mezclas y tanto de los metabolitos como de los bio-precusores farmacéuticamente aceptables (denominados de otro modo pro-fármacos) de los compuestos de fórmula (I) se encuentra también dentro del alcance de la presente invención. Los pro-fármacos son compuestos unidos covalentemente que liberan el fármaco precursor activo, de acuerdo con la fórmula (I), in vivo.

55 En los casos en que los compuestos pueden existir en formas tautoméricas, por ejemplo tautómeros ceto-enol, cada forma tautomérica se contempla como incluida dentro de esta invención, aunque exista en equilibrio o predominantemente en una forma.

Excepto cuando se indique lo contrario, las definiciones siguientes se aplican a lo largo de la presente



ejemplo, fenilo, bifenilo,  $\alpha$ - o  $\beta$ -naftilo, dihidronaftilo, tienilo, benzotienilo, furilo, benzofuranilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolilo, isoindolilo, purinilo, quinolilo, isoquinolilo, dihidroquinolinilo, quinoxalinilo, benzodioxolilo, indanilo, indenilo, triazolilo.

5 “Cicloalquilo” representa un sistema de anillos no aromático mono- o multicíclico. Cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) representa un grupo cicloalquilo con una longitud de 3-6 átomos de carbono. El cicloalquilo puede estar sustituido opcionalmente en el anillo sustituyendo un hidrógeno disponible en el anillo por uno o varios sustituyentes, seleccionándose cada sustituyente independientemente del grupo consistente en alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, alquilarilo, aralquenilo, heteroaralquilo, alquilheteroarilo, heteroaralquenilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, acilo, halo, nitro, ciano, carboxi, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, aralcoxycarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, ariltio, heteroariltio, aralquiltio, heteroaralquiltio, cicloalquilo, cicloalquenilo, heterociclilo, heterociclenilo, -NH(alquilo), -NH(cicloalquilo), y -N(alquilo)<sub>2</sub>. Ejemplos no limitantes de cicloalquilos monocíclicos apropiados incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

10 “Heterociclilo” representan cualquier anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros que comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre N, O o S. Si dicho grupo heterociclo o heterociclilo es un heterociclo aromático, también denominado heteroarilo, está englobado en la definición anterior dada a los grupos arilo.

20 Como tal, además de los heterociclos aromáticos anteriores, el término heterociclilo también engloba heterociclos saturados o parcialmente insaturados como, por ejemplo, pirrolina, pirrolidina, imidazolina, imidazolidina, pirazolina, pirazolidina, piperidina, piperazina, morfolina.

25 A este respecto, como ejemplo, cualquier grupo que se identifique como un arilalquilo se debe considerar un grupo alquilo que está sustituido también por arilo, donde tanto arilo como alquilo son como se define arriba. Claramente, cuando R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup>, tomados juntos, forman un grupo cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), el compuesto se denomina derivado espiro.

30 Si el grupo arilo o heteroarilo está sustituido opcionalmente, los sustituyentes se seleccionan de alquilo, haloalquilo, polifluoroalquilo, hidroxialquilo, aminoalquilo, amino, alquilamino, dialquilamino, ciano, hidroxilo, alcoxi, halógeno, como se definen aquí.

35 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen las sales de adición de ácido con ácidos inorgánicos u orgánicos como, por ejemplo, ácido nítrico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, perclórico, fosfórico, acético, trifluoroacético, propiónico, glicólico, láctico, oxálico, malónico, málico, maleico, tartárico, cítrico, benzoico, cinámico, mandélico, metanosulfónico, isetiónico y salicílico.

40 Los profármacos y solvatos de los compuestos de la invención también se incluyen aquí. El término “pro-fármaco”, como se emplea aquí, designa un compuesto que es un fármaco precursor, el cual, al administrarse a un sujeto, sufre conversión química por procesos metabólicos o químicos para rendir un compuesto de fórmula (I) o una sal y/o solvato del mismo. Se proporciona una discusión sobre los pro-fármacos en T. Higuchi y V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems (1987) Volumen 14 de A.C.S. Symposium Series, y en Bioreversible Carriers in Drug Design, (1987) Edward B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, ambos incorporados aquí por referencia a los mismos.

45 “Solvato” significa una asociación física de un compuesto de esta invención con una o varias moléculas de disolvente. Esta asociación física implica diferentes grados de enlace iónico y covalente, incluyendo enlace de hidrógeno. En ciertos casos el solvato podrá ser aislado, por ejemplo cuando una o varias moléculas de disolvente se incorporan en el entramado de cristal del sólido cristalino. “Solvato” engloba tanto solvatos en fase solución como aislables. Ejemplos no limitantes de solvatos apropiados incluyen etanolatos, metanolatos. “Hidrato” es un solvato en el que la molécula de disolvente es H<sub>2</sub>O.

50 Cuando cualquier variable (p. ej., arilo, alquilo, etc.) aparece más de una vez en cualquier constituyente o en la fórmula (I), su definición en cada aparición es independiente de su definición en cualquier otra aparición. Además, las combinaciones de sustituyentes y/o variables están permitidas sólo si tales combinaciones dan como resultado compuestos estables.

60 Excepto si se indica lo contrario, las definiciones siguientes se aplican a lo largo de la presente especificación y reivindicaciones. Estas definiciones se aplican independientemente de si un término se usa por sí mismo o en combinación con otros términos. Por consiguiente, la definición de “alquilo” se aplica tanto a “alquilo” como a las fracciones “alquilo” de “alquilamino”, “dialquilamino” etc.

65 Un tipo preferido de compuestos de la invención se representa mediante los derivados de la fórmula (I) donde X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son como se define arriba y tanto R<sup>4</sup> como R<sup>5</sup> son átomos de hidrógeno.

Otro tipo preferido de compuestos de la invención se representa mediante los derivados de la fórmula (I) donde X, R<sup>1</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son como se define arriba y tanto R<sup>2</sup> como R<sup>3</sup> son átomos de hidrógeno.

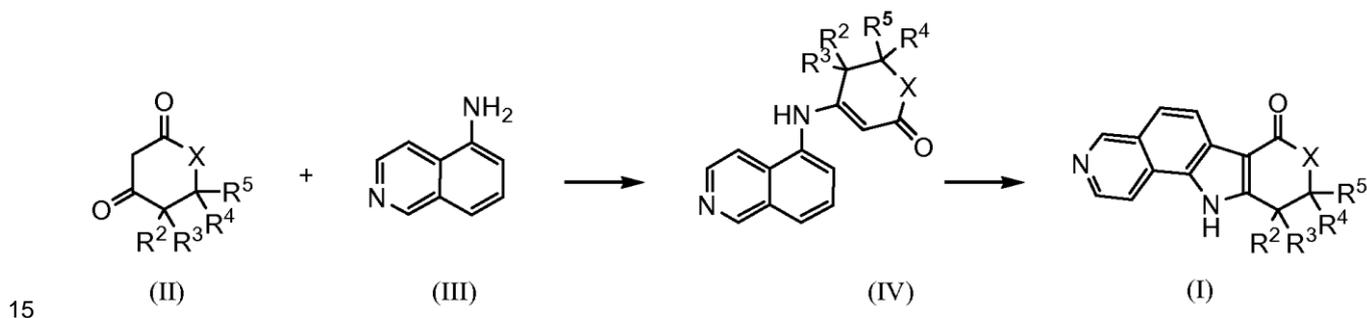
Otro tipo preferido de compuestos de la invención se representa mediante los derivados de la fórmula (I) donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son átomos de hidrógeno.

5 Otro tipo preferido de compuestos de la invención se representa mediante los derivados de la fórmula (I) donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son átomos de hidrógeno.

La clase más preferida de los compuestos de a invención se representa mediante los derivados de la fórmula (I) donde X es NH, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son átomos de hidrógeno.

10 Los compuestos de fórmula (I) se pueden obtener a partir de los esquemas siguientes, los cuales se describen en detalle a continuación:

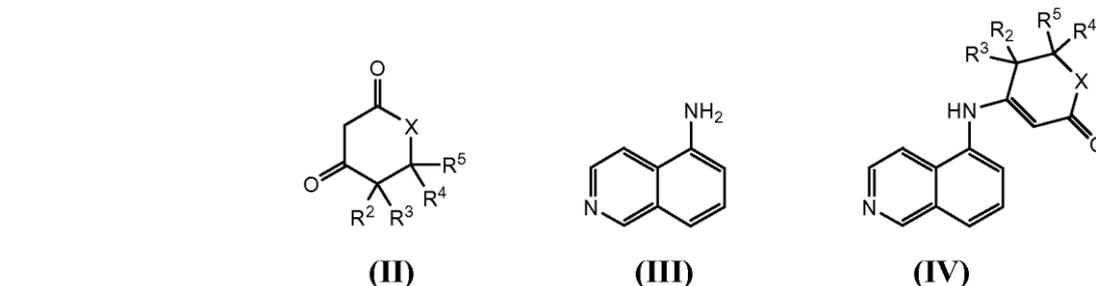
ESQUEMA 1 (compuestos I)



Para referirse a cualquier compuesto específico de la invención de fórmula (I), opcionalmente en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, véase la sección experimental y las reivindicaciones.

20 Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden obtener mediante un proceso de acuerdo con el ESQUEMA 1 comprendiendo:

a) la reacción de derivados de fórmula (II) con isoquinolin-5-ilamina (III) para obtener un compuesto de fórmula (IV)

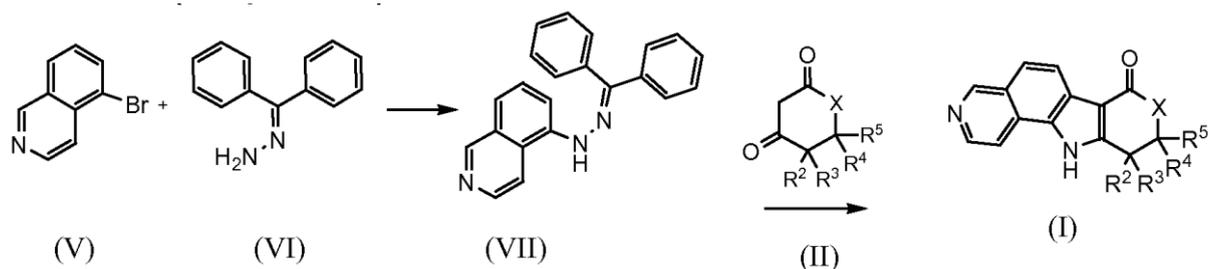


donde X, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son tal y como se define anteriormente;

30 b) la ciclación del compuesto (IV) vía formación de enlace carbono-carbono para obtener el compuesto deseado de fórmula (I), donde R<sub>1</sub> es un átomo de hidrógeno, y opcionalmente, la conversión en otro compuesto de fórmula (I) y/o en una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 Esta reacción se puede obtener de acuerdo con procedimientos ampliamente conocidos descritos en la bibliografía, por ejemplo, llevando a cabo la reacción mediante calefacción del compuesto (IV) en un disolvente adecuado, como N,N-dimetilformamida (DMF), en la presencia de diacetato de paladio y diacetato de cobre, a una temperatura entre 80 y alrededor de 150 °C por un periodo de tiempo que puede oscilar entre una o varias horas.

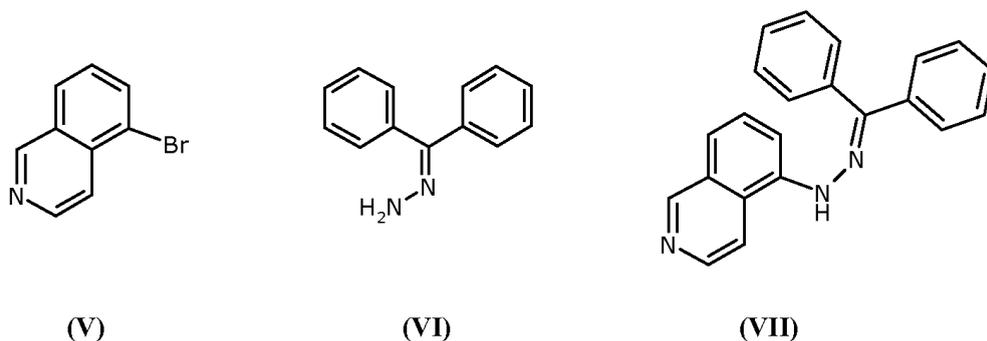
ESQUEMA 2 (compuestos I)



Alternativamente, los compuestos de fórmula (I) se pueden sintetizar mediante una ruta de acuerdo con el ESQUEMA 2 comprendiendo:

5

a) la reacción de 5-bromoisoquinolina (V) y benzhidriliden-hidrazina (VI) para dar N-benzhidriliden-N'-isoquinolin-5-il-hidrazina (VII).



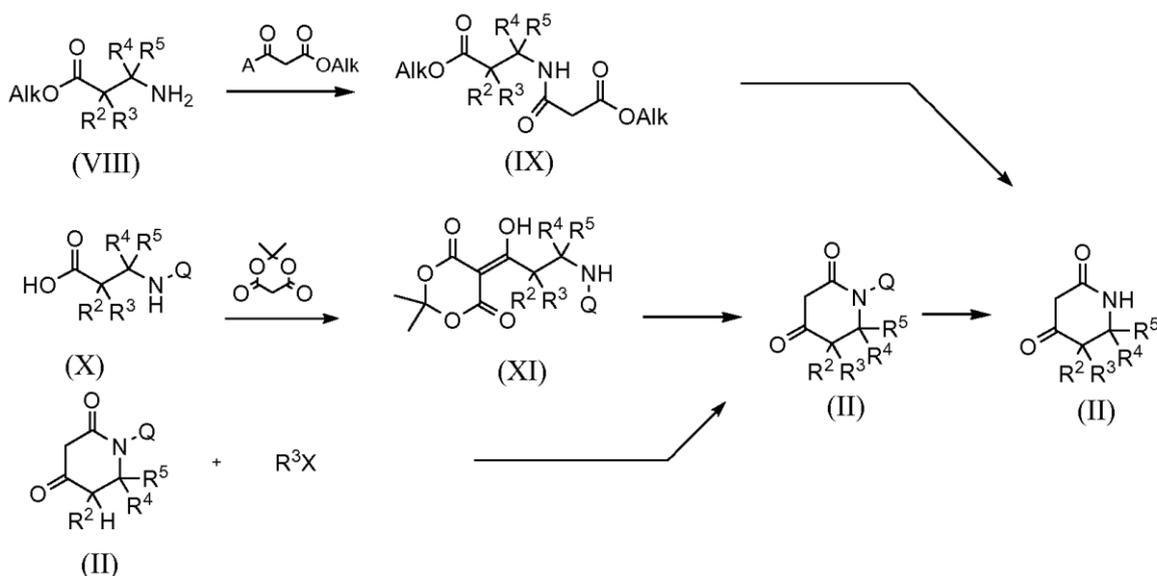
10

b) la reacción del compuesto (VII) con compuestos de fórmula (II) para obtener los compuestos de fórmula (I), donde R<sub>1</sub> es un átomo de hidrógeno. Si se emplea en esta reacción compuestos enolizables no simétricos de fórmula (II), se puede llegar a observar la formación de cantidades variables de regioisómeros.

15

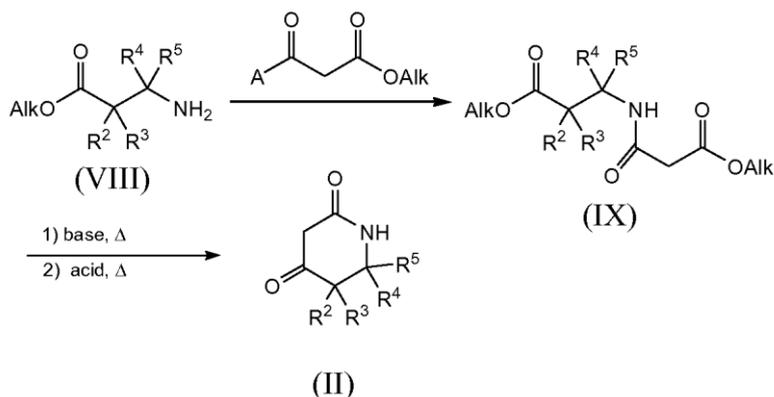
Los compuestos de fórmula (II), (III), (V), (VI) en los ESQUEMAS 1 y 2, así como cualquier otro reactivo de los procesos, son conocidos y si no están disponibles comercialmente per se, se pueden preparar fácilmente de acuerdo con métodos conocidos.

ESQUEMA 3A (Compuestos II)



20

En el ESQUEMA 3A, derivados de piperidina-diona (II) son compuestos conocidos o, alternativamente, se pueden preparar mediante métodos conocidos, por ejemplo, donde X es NH, de acuerdo con la ruta sintética a continuación, donde Alk es un grupo alquilo corto adecuado, p.ej. etilo, y A representa cloro o OAlk:

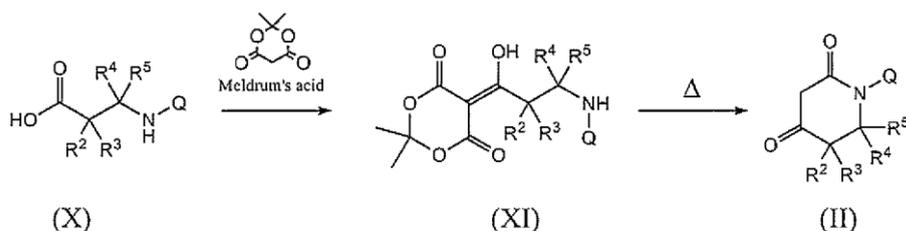


A este respecto, un derivado adecuado de  $\beta$ -amino-carboxiester (VIII), donde  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  y  $R^5$  tienen los significados antes mencionados, se hace reaccionar con dialquilmalonato o, alternativamente, con el éster alquílico del ácido 3-cloro-3-oxopropanoico, por ejemplo, dimetilmalonato o 3-cloro-3-oxopropanoato de etilo, respectivamente. Cuando A es cloro, la reacción se lleva a cabo en condiciones básicas, por ejemplo en la presencia de trietilamina, y en un disolvente adecuado como es el diclorometano, a una temperatura que puede ir desde la temperatura ambiente hasta temperatura de reflujo. Cuando A es OAlk, la reacción se lleva a cabo con o sin condiciones básicas y más convenientemente en ausencia de disolventes a la temperatura de reflujo del dialquilmalonato.

Si no están disponibles comercialmente, los derivados de  $\beta$ -amino-carboxiester (VIII) anteriormente mencionados se pueden obtener de acuerdo con procedimientos ampliamente conocidos descritos en la bibliografía.

El derivado intermedio (IX) obtenido de este modo se convierte entonces en el compuesto de fórmula (II), primero por reacción en condiciones básicas, p.ej. en presencia de metilato de sodio y un disolvente adecuado, preferentemente tolueno, a temperatura de reflujo y durante un tiempo que puede oscilar entre alrededor de 2 horas y alrededor de 24 horas. Posteriormente, el producto del paso anterior se hace reaccionar como tal, sin aislarlo, con una mezcla de acetonitrilo/agua/ácido acético en condiciones de reflujo y durante un tiempo que puede variar entre alrededor de 6 horas hasta alrededor de 24 horas.

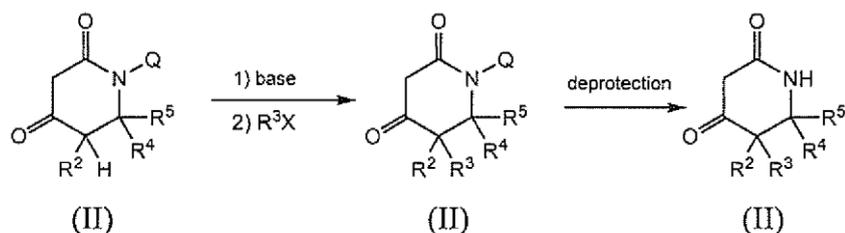
Alternativamente, el derivado de piperidina-diona (II) se puede preparar, por ejemplo, de acuerdo con la siguiente ruta sintética:



En el procedimiento, el ácido de Meldrum se hace reaccionar con un derivado de aminoácido de fórmula (X) adecuado para obtener un compuesto de fórmula (XI) donde Q es un grupo protector de nitrógeno adecuado, como por ejemplo, en particular, terc-butoxicarbonilo, u otros grupos, por ejemplo, p-metoxifenilo, donde  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  y  $R^5$  son tal y como se define anteriormente. El compuesto de fórmula (XI) se cicla entonces disolviéndolo en un disolvente adecuado, por ejemplo acetato de etilo, y se calienta a reflujo durante un periodo de tiempo que oscila entre alrededor de 1 hora y alrededor de 24 horas.

El derivado de aminoácido (X) es un compuesto conocido o, alternativamente, puede ser preparado mediante métodos conocidos, de acuerdo con procedimientos ampliamente descritos en la bibliografía.

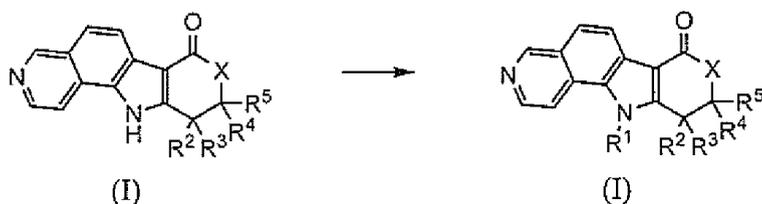
Alternativamente, el derivado de piperidina-diona (II) puede ser modificado de acuerdo con la siguiente ruta sintética, donde Q es tal y como se define anteriormente, X es haluro, triflato, mesilato, tosilato, y  $R^3$  es tal y como se define anteriormente:



A este respecto, un derivado adecuado de piperidina-diona (II), donde R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> tienen los significados anteriormente especificados, pero son preferentemente átomos de hidrógeno, se hace reaccionar con una base, por ejemplo bis(trimetilsilil)amida de litio (LiHMDS). La reacción se lleva a cabo en un disolvente adecuado como tetrahidrofurano, a una temperatura comprendida entre -78 °C y temperatura ambiente.

La mezcla de reacción se trata con un R<sup>3</sup>X adecuado, donde X es un grupo como haluro, triflato, mesilato, tosilato, para así obtener otro compuesto de fórmula (II). El compuesto así obtenido se puede convertir en otro compuesto de fórmula (II) tratándolo, por ejemplo, si Q es un grupo terc-butoxicarbonilo, en condiciones ácidas, p.ej. en presencia de ácido trifluoroacético y de un disolvente adecuado, preferentemente diclorometano. La reacción se puede llevar a cabo a temperatura ambiente y durante un tiempo que puede oscilar desde alrededor de 1 hora hasta alrededor de 6 horas.

### 15 ESQUEMA 3B (Compuestos I)



En el ESQUEMA 3B, los compuestos de fórmula (I), donde R<sup>1</sup> es diferente de hidrógeno, se pueden obtener mediante diferentes procedimientos generales, por ejemplo, mediante derivatización del átomo de nitrógeno del pirrol, haciéndolos reaccionar con electrófilos de fórmula R<sup>1</sup>-X, donde X es haluro, triflato, mesilato, tosilato, de modo que se obtiene un compuesto de fórmula (I), que posee un grupo R<sup>1</sup> tal y como se ha definido.

Tal y como se ha discutido anteriormente, los compuestos de fórmula (I), donde R<sup>1</sup> es como se ha definido, se pueden preparar mediante la reacción de isoquinolinopirrolpiridinona de fórmula (I), donde R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, con un electrófilo adecuado, como un haluro conveniente o un triflato, en un disolvente adecuado, como N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano, dioxano, en presencia de una base adecuada, como hidruro de sodio. La reacción se puede llevar a cabo a una temperatura que puede oscilar entre alrededor de -30 °C hasta temperatura ambiente, preferentemente a 0°C durante un periodo de tiempo que puede oscilar entre alrededor de 1 hora hasta 24 horas.

Alternativamente, se puede utilizar una base diferente, por ejemplo carbonato de potasio o de cesio, opcionalmente en presencia de un éter corona, por ejemplo 18-crona-6, en un disolvente adecuado, como el DMF. La reacción se puede llevar a cabo a temperaturas que oscilan entre la temperatura ambiente hasta alrededor de 100 °C, opcionalmente en una cavidad de microondas.

De la misma forma, la conversión de un compuesto de fórmula (I) en una sal farmacéuticamente aceptable se lleva a cabo fácilmente de acuerdo con métodos conocidos, p.ej. poniendo en contacto de cualquier base libre de fórmula (I) con cualquier ácido apropiado farmacéuticamente aceptable.

De todo lo anterior, resulta claro para el experto en la materia que durante la preparación de los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con los procedimientos mencionados anteriormente, incluyendo cualquier variante de los mismos, los grupos funcionales opcionales en los productos de partida o en los intermedios de los mismos y los cuáles podrían dar lugar a reacciones secundarias indeseadas, necesitan ser protegidos adecuadamente de acuerdo con técnicas convencionales. De la misma forma, la conversión de estos últimos en los compuestos desprotegidos se puede llevar a cabo mediante procedimientos conocidos.

Análogamente, cualquier compuesto de fórmula (I) que sea susceptible de ser salificado, puede convertirse fácilmente en su correspondiente sal de adición de ácido, trabajando en presencia de cualquier ácido farmacéuticamente aceptable, seleccionado, por ejemplo, entre los que se han indicado previamente.

Tal y como será apreciado rápidamente, si los compuestos de fórmula (I) preparados de acuerdo con los procedimientos descritos anteriormente se obtienen como una mezcla de isómeros, su separación en los isómeros individuales de fórmula (I), de acuerdo con técnicas convencionales, está dentro del alcance de la presente invención.

5

Las técnicas convencionales para la resolución de racematos incluyen, por ejemplo, la cristalización fraccionada de derivados de sales diastereoisoméricas o HPLC preparativa quiral.

### Farmacología

10

Los compuestos de fórmula (I) son activos como inhibidores de proteína cinasa y por tanto son útiles, por ejemplo, en la restricción de la proliferación desregulada de células tumorales. En terapia, pueden ser utilizados en el tratamiento de varios tumores, como los indicados previamente, así como en el tratamiento de trastornos de proliferación celular como la psoriasis, la proliferación de células lisas vasculares asociada con la aterosclerosis y la estenosis y reestenosis post-quirúrgicas y en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. La actividad inhibidora de los inhibidores putativos Cdc7 y la potencia de los compuestos seleccionados se determina mediante un método de ensayo basado en el uso de una tecnología de captura de resina Dowex.

15

20

El ensayo consiste en la transferencia de la fracción fosfato marcada radioactivamente mediante la cinasa a un sustrato aceptor. El producto resultante marcado- $^{33}\text{P}$  se separa del trazador sin reaccionar, transfiriéndolo a un cocktail de escintilación y la luz emitida se mide en un contador de escintilación.

Ensayo de inhibición de la actividad de Cdc7

25

La actividad inhibidora de los inhibidores putativos Cdc7 y la potencia de los compuestos seleccionados se determina mediante un método de ensayo basado en el uso de una tecnología de captura de resina Dowex.

30

El ensayo consiste en la transferencia de la fracción fosfato marcada radioactivamente mediante la cinasa a un sustrato aceptor. El producto resultante marcado- $^{33}\text{P}$  se separa del trazador sin reaccionar, transfiriéndolo a un cocktail de escintilación y la luz emitida se mide en un contador de escintilación.

El ensayo de inhibición de actividad de Cdc7/Dbf4 se lleva a cabo de acuerdo con el siguiente protocolo.

35

El sustrato MCM2 se trans-fosforila mediante el complejo Cdc7/Dbf4 en presencia de ATP marcado con  $\gamma^{33}\text{-ATP}$ . La reacción se detiene mediante la adición de resina Dowex en presencia de ácido fórmico. Las partículas de resina Dowex capturan  $\gamma^{33}\text{-ATP}$  y lo arrastran al fondo del pocillo mientras que el sustrato MCM2 fosforilado  $^{33}\text{P}$  se mantiene en solución. Se recoge el sobrenadante, se transfiere a placas Optiplat y se evalúa la extensión de la fosforilación del sustrato mediante conteo  $\beta$ .

40

El ensayo de inhibición de actividad de Cdc7/Dbf4 se llevó a cabo en placas de 96 pocillos de acuerdo con el siguiente protocolo.

A cada uno de los pocillos de la placa se añadió:

45

- 10  $\mu\text{L}$  del compuesto a ensayar (10 incrementos de concentración en el intervalo de nM a  $\mu\text{M}$  para generar una curva de respuesta frente a la dosis). El disolvente para los compuestos de ensayo contenía DMSO al 3%. (Concentración final del 1%)

50

- 10  $\mu\text{L}$  del sustrato MCM2 (concentración final 6 mM), una mezcla de ATP frío (concentración final 2 mM) y ATP radioactivo (relación molar 1/5000 respecto al ATP frío).

- 10  $\mu\text{L}$  de enzima (Cdc7/Dbf4, concentración final 2 nM) que inició la reacción. El tampón de reacción consistió en HEPES 50 mM pH 7,9 conteniendo  $\text{MgCl}_2$  15 mM, DTT 2 mM,  $\text{NaVO}_3$  3  $\mu\text{M}$ , glicerofosfato 2 mM y BSA 0,2 mg/mL.

55

- Después de la incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente, la reacción se detuvo añadiendo a cada pocillo 150  $\mu\text{L}$  de resina Dowex en presencia de ácido fórmico 150 mM. Después de otros 60 min de incubación, se extrajeron 50  $\mu\text{L}$  de suspensión y se transfirieron a OPTIPLATES de 96 pocillos conteniendo 150  $\mu\text{L}$  de MicroScint 40 (Packard); después de 5-10 minutos agitando las placas se leyeron durante 1 min en un lector de radioactividad Packard TOP-Count. Determinación de  $\text{IC}_{50}$ : se probaron los inhibidores a diferentes concentraciones desde 0,0005 a 10  $\mu\text{M}$ . Los datos experimentales se analizaron mediante el programa informático Assay Explorer utilizando la ecuación logística de cuatro parámetros:

60

$$y = \text{fondo} + (\text{cima} - \text{fondo}) / (1 + 10^{-(\log \text{IC}_{50} - x) * \text{pendiente}})$$

65

donde x es el logaritmo de la concentración de inhibidor, y es la respuesta; y comienza en el fondo y va hasta la cima con una forma sigmoidal.

## ES 2 546 816 T3

Adicionalmente, los compuestos seleccionados fueron caracterizados para la especificidad contra Cdk2A, en un panel de cinasas ser/treo estrictamente relacionadas con el ciclo celular (Cdk2/ciclina E, Cdk1/ciclina B1, Cdk1/ciclina D1, Cdk5/p25), en IGF1-R, Aurora-2, AKT1.

### 5 Ensayo de inhibición de la actividad de Cdk2/Ciclina A

Reacción cinasa: sustrato histona H1 1,5  $\mu\text{M}$ , ATP 25  $\mu\text{M}$  (0,2  $\mu\text{Ci}$  P33  $\gamma$ -ATP), 30 ng de baculovirus co-expresado Cdk2/Ciclina A, 10  $\mu\text{M}$  de inhibidor en un volumen final de tampón de 100  $\mu\text{L}$  (TRIS HCl 10 mM pH 7,5,  $\text{MgCl}_2$  10 mM, 7,5 mM DTT) se añadieron a cada pocillo en una placa de 96 pocillos con fondo en U. Después de 10 min de incubación a 37  $^\circ\text{C}$  se detuvo la reacción mediante 20  $\mu\text{L}$  de EDTA 120 mM.

Captura: se transfirieron 100  $\mu\text{L}$  de cada pocillo a una placa MultiScreen, para permitir la unión del sustrato al filtro de fosfoceulosa. Las placas se lavaron 3 veces con 150  $\mu\text{L}$ /pocillo de PBS libre de  $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$  y se filtró con un sistema de filtración MultiScreen.

Detección: se dejaron secar los filtros a 37  $^\circ\text{C}$  y se añadieron 100  $\mu\text{L}$ /pocillo de escintilante y la histona H1 marcada con 33P se detectó por conteo de radioactividad en el instrumento Top-Count.

Resultados: los datos fueron analizados y expresados como % de inhibición referido al total de actividad de la enzima (=100%).

Todos los compuestos mostrando inhibición  $\geq 50\%$  se continuaron analizando para estudiar y definir su potencia ( $\text{IC}_{50}$ ) así como su perfil cinético de inhibidor mediante el cálculo de  $K_i$ .

25 Determinación de  $\text{IC}_{50}$ : el protocolo utilizado fue el mismo descrito anteriormente, donde los inhibidores fueron probados a diferentes concentraciones desde 0,0045 a 10  $\mu\text{M}$ . Los datos experimentales fueron analizados por el programa informático GraphPad Prizm utilizando la ecuación logística de cuatro parámetros:

$$30 \quad y = \text{fondo} + (\text{cima} - \text{fondo}) / (1 + 10^{((\log \text{IC}_{50} - x) * \text{pendiente})})$$

donde x es el logaritmo de la concentración de inhibidor, y es la respuesta; y comienza en el fondo y va hasta la cima con una forma sigmoideal.

35 Cálculo de  $K_i$ : se variaron tanto la concentración de ATP como la de sustrato histona H1: 4, 8, 12, 24, 48  $\mu\text{M}$  para ATP (conteniendo  $\text{P}^{33}\gamma$ -ATP diluido proporcionalmente) y 0,4, 0,8, 1,2, 2,4, 4,8  $\mu\text{M}$  de histona se utilizaron en ausencia y presencia de dos concentraciones diferentes de inhibidor escogidas apropiadamente.

Los datos experimentales se analizaron mediante el programa informático "SigmaPlot" para determinación de  $K_i$ , utilizando un sistema de ecuaciones de bi-reactivo aleatorio.

40

$$v = \frac{V_{\max} \frac{(A)(B)}{aKAKB}}{1 + \frac{(A)}{K_A} + \frac{(B)}{K_B} + \frac{(A)(B)}{aKAKB}}$$

donde A=ATP y B=histona H1.

45 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar como agentes aislados o, alternativamente, en combinación con tratamientos anticancerígenos conocidos tales como un régimen de radioterapia o quimioterapia en combinación con agentes citoestáticos o citotóxicos, agentes tipo antibiótico, agentes alquilantes, agentes antimetabolito, agentes hormonales, agentes inmunológicos, agentes tipo interferón, inhibidores de ciclooxigenasa (p.ej. inhibidores de COX-2), inhibidores de metaloproteasa de matriz, inhibidores de telomerasa, inhibidores de tirosina cinasa, agentes receptores del factor anti-crecimiento, agentes anti-HER, agentes anti-EGFR, agentes anti-angiogénesis (p.ej. inhibidores de la angiogénesis), inhibidores de la farnesil transferasa, inhibidores de la ruta de la señal de transducción ras-raf, inhibidores del ciclo celular, otros inhibidores de cdk, agentes de unión de tubulina, inhibidores de topoisomerasa I, inhibidores de topoisomerasa II.

55 Si se formula como una dosis fija, tal combinación de productos emplea los compuestos de esta invención dentro del intervalo de dosificación descrito más adelante y otros agentes farmacéuticamente activos dentro de los intervalos aprobados de dosificación.

60 Los compuestos de fórmula (I) se pueden utilizar secuencialmente con agentes anticancerígenos conocidos cuando una formulación combinada resulta inapropiada.

Los compuestos de fórmula (I) de la presente invención, apropiados para la administración a mamíferos, p.ej. a humanos, se pueden administrar mediante las rutas usuales y el nivel de dosificación depende de la edad, peso, condiciones del paciente y vía de administración.

5 Por ejemplo, una dosificación apropiada adoptada para la administración oral de un compuesto de fórmula (I) puede variar desde alrededor de 10 a alrededor de 500 mg por dosis, desde 1 a 5 veces diarias. Los compuestos de la invención se pueden administrar en una variedad de formas de dosificación, p. ej. oralmente, en forma de comprimidos, cápsulas, grageas o comprimidos recubiertos con película, soluciones líquidas o suspensiones; 10 rectalmente en forma de supositorios; parenteralmente, p.ej., intramuscularmente, o mediante inyecciones o infusiones intravenosas y/o intratecales y/o intraespinales.

La presente invención también incluye composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en asociación con un excipiente farmacéuticamente aceptable, el cual puede ser un portador o un diluyente. 15

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de la invención se preparan usualmente siguiendo métodos convencionales y se administran en una forma farmacéuticamente adecuada.

20 Por ejemplo, las formas orales sólidas pueden contener, junto con el compuesto activo, diluyentes, p.ej., lactosa, sacarosa dextrosa, sucrosa, celulosa, almidón de maíz o de patata; lubricantes, p.ej., sílice, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o de calcio, y/o polietilenglicoles; agentes aglutinantes, p.ej., almidones, goma arábiga, gelatina de metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinil pirrolidona; agentes desintegrantes, p.ej., almidón, ácido algínico, alginatos o glicolato sódico de almidón; mezclas efervescentes; colorantes; edulcorantes; agentes humectantes como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos; y, en general, sustancias no-tóxicas y farmacológicamente 25 inactivas utilizadas en formulaciones farmacéuticas. Estas preparaciones farmacéuticas se pueden preparar de forma conocida, por ejemplo, mediante procesos de mezcla, granulación, compresión, grageado, o recubrimiento con película.

Los dispersiones de líquidos para la administración oral pueden ser, p.ej., jarabes, emulsiones y suspensiones. 30

Como ejemplo, los jarabes pueden contener, como portador, sacarosa o sacarosa con glicerina y/o manitol y sorbitol.

Las suspensiones y las emulsiones pueden contener, como ejemplo de portadores, goma natural, agar, alginato sódico, pectina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, o alcohol polivinílico. 35

La suspensión o las soluciones para inyecciones intramusculares pueden contener, junto con el compuesto activo, un portador farmacéuticamente aceptable, p.ej. agua estéril, aceite de oliva, oleato de etilo, glicoles, p.ej., propilenglicol y, si se desea, una cantidad adecuada de clorhidrato de lidocaína. 40

Las soluciones para inyecciones intravenosas o infusiones pueden contener, como portador, agua estéril o preferentemente pueden estar en la forma de soluciones salinas estériles, acuosas, isotónicas o pueden contener propilenglicol como portador.

45 Los supositorios pueden contener, junto con el compuesto activo, un portador farmacéuticamente aceptable, p.ej., manteca de cacao, polietilenglicol, un surfactante de éster de ácido graso de polioxietileno sorbitán o lecitina.

Con el objetivo de ilustrar mejor la presente invención, sin establecer ninguna limitación a la misma, ahora se presentan los siguientes ejemplos. 50

#### Métodos generales

55 La cromatografía flash se llevó a cabo en gel de sílice (Merck grado 9395, 60A). HPLC se realizó en una columna Waters X Terra RP 18 (4,6 x 50 mm, 3,5 µm) utilizando un sistema HPLC Waters 2790 equipado con un detector PDA Waters 996 y espectrómetro de masas de cuadrupolo simple Micromass mod. ZQ, equipado con una fuente de iones de electrospray (ESI). La fase móvil A fue tampón acetato amónico 5 mM (pH 5,5 con ácido acético/acetónitrilo 95:5) y la fase móvil B fue H<sub>2</sub>O/acetónitrilo (5:95). Gradiente de 10 a 90% de B en 8 minutos, manteniendo el 90% de B durante 2 minutos. Detección por UV a 220 nm y 254 nm. Flujo de 1 mL/min. Volumen de inyección 10 µL. Barrido completo, rango de masas entre 100 y 800 amu. El voltaje capilar fue 2,5 KV; la fuente de temperatura estuvo a 120 °C; el cono de 10 V. Los tiempos de retención (HPLC r.t.) se dan en minutos a 220 60 nm o a 254 nm. Las masas se dan como relación m/z.

65 En caso necesario, los compuestos se han purificado mediante HPLC preparativa en una columna Waters Symmetry C18 (19 x 50 mm, 5 µm) utilizando un HPLC preparativo Waters 600 equipado con un detector PDA Waters 996 y espectrómetro de masas de cuadrupolo simple Micromass mod. ZQ, ionización por spray de electrones, modo positivo. La fase móvil A fue agua 0,01% TFA, y la fase móvil B fue acetónitrilo. El gradiente de 10 a 90% de B en 8 minutos, manteniendo un 90% de B durante 2 minutos. Flujo de 20 mL/min.

## ES 2 546 816 T3

La espectrometría  $^1\text{H}$ -RMN se llevó a cabo en un Mercury VX 400 operando a 400,45 MHz equipado con una sonda de doble resonancia de 5 mm [ $^1\text{H}$  ( $^{15}\text{N}$ -31P)ID\_PFG Varian].

5 Los compuestos de fórmula (I), con un átomo de carbono asimétrico y obtenidos como mezcla racémica, se resolvieron mediante separación por HPLC en columnas quirales. En particular, por ejemplo, se pueden utilizar columnas preparativas CHIRALPACK<sup>®</sup> AD.

### Ejemplo 1

#### 10 Ácido 2,4-Dioxo-piperidina-1-carboxílico terc-butyl ester

Boc- $\beta$ -alanina (25 g, 132 mmol), ácido de Meldrum (20,9 g, 145 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP, 24,2 g, 198 mmol) se disolvieron en 700 mL de diclorometano seco (DCM) a 0°C bajo atmósfera de nitrógeno. A esta solución se añadió clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDCI, 30,4 g, 158 mmol). La solución  
15 resultante se dejó alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante toda una noche. La mezcla de reacción se lavó (0,5 L x 4) con una solución acuosa de  $\text{KHSO}_4$  al 5%. La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se evaporó en vacío, rindiendo el crudo de éster terc-butílico del ácido [3-(2,2-dimetil-4,6-dioxo-[1,3]dioxan-5-il)-3-oxo-propil]-carbámico que se disolvió en 600 mL de acetato de etilo y se mantuvo a reflujo durante 4 horas. Se redujo el disolvente a 150 mL en vacío y se dejó cristalizar la solución resultante a 4 °C durante la noche. Se filtró  
20 el sólido y se lavó con acetato de etilo frío rindiendo 18,4 g (65% de rendimiento) del compuesto del título.

$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,44 (s, 9H) 2,44 (m, 2H) 3,71 (m, 2H) 4,95 (s, 1H) 11,2 (bs, 1H).

25 El compuesto así obtenido se puede convertir en piperidina-2,4-diona con rendimiento cuantitativo mediante disolución en diclorometano y tratándolo con ácido trifluoroacético a temperatura ambiente durante 3 horas.

### Ejemplo 2

#### 30 Piperidina-2,4-diona

Una solución de clorhidrato de  $\beta$ -alanina etilester (13,8 g, 90 mmol) en diclorometano (90 mL) y trietilamina (TEA, 13,8 mL, 99 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió más TEA (13,8 mL, 99 mmol), se enfrió la solución a 0°C con agitación y se añadió por goteo cloruro de etilmalonilo (12,6 mL, 99 mmol). Después de  
35 1 hora a 0°C, la mezcla de reacción se agitó 1 hora a temperatura ambiente. Se añadió una solución acuosa de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  al 15% (90 mL) y se separaron las fases. La fase orgánica se lavó con HCl 10% (90 mL), se seco con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró a presión reducida. El material crudo se cromatografió en gel de sílice (450 g, eluyente: acetato de etilo/n-hexano 2:1) para dar éster etílico del ácido N-(2-etoxicarbonil-etil)-malonámico como un aceite amarillo (15 g, 64,9 mmol, 72 % de rendimiento). Se disolvió sodio metal (610 mg, 26,6 mmol) en MeOH seco (25 mL) a temperatura ambiente con agitación bajo atmósfera inerte. Después de disolverse completamente,  
40 la mezcla se agitó durante otros 10' y entonces se añadió por goteo éster etílico del ácido N-(2-etoxicarbonil-etil)-malonámico (6,15 g, 26,6 mmol) en tolueno seco (150 mL). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a 90°C durante 6 horas, se enfrió a temperatura ambiente, se añadió agua (30 mL) y se separaron las fases. La fase orgánica se lavó con agua (2x10 mL), la combinación de fases acuosas se aciduló con HCl 37% y se extrajo exhaustivamente con una mezcla de DCM/MeOH (5:1). Después de secar con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y concentrar, se obtuvo 3-  
45 metoxicarbonilpiperidin-2,4-diona como un sólido rosa (4 g, 88% de rendimiento). Se disolvió 3-metoxicarbonilpiperidin-2,4-diona (4 g, 23,4 mmol) en acetonitrilo conteniendo un 1% de agua (250 mL) y se mantuvo a reflujo durante 4 horas. La mezcla de reacción se concentró para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (2,4 g, 90% de rendimiento).

50  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 2,43-2,49 (m, 2H) 3,24 (s, 2H) 3,28-3,45 (m, 2H) 8,07 (s, 1H).

### Ejemplo 3

#### 55 DL-6-Bencilpiperidina-2,4-diona

Una mezcla de beta-homofenilalanina (9,1 g, 50,9 mmol), di-terc-butildicarbonato (12,2 g, 56 mmol), dioxano (180 mL), agua (18 mL) y TEA (8,5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después de concentración y múltiples lixiviados con tolueno, se obtuvo ácido 3-[(terc-butoxicarbonil)amino]-4-fenilbutanoico como un aceite y se utilizó directamente en el siguiente paso. Se disolvió en diclorometano seco (370 mL) y se añadieron ácido de  
60 Meldrum (8,1 g, 56,1 mmol) y DMAP (9,7 g, 79 mmol), la mezcla se enfrió a -5°C y se añadió dicitclohexilcarbodiimida (12,6 g, 61 mmol). Después de la adición se mantuvo la mezcla de reacción en refrigerador durante una noche. El precipitado se filtró y se lavó con diclorometano. El filtrado se diluyó con acetato de etilo, se lavó secuencialmente con  $\text{KHSO}_4$  acuoso al 10%, agua, salmuera, después se concentró para rendir el crudo de 1-bencil-3-(2,2-dimetil-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-il)-3-oxopropilcarbomato de terc-butiloque se disolvió en acetato de  
65 etilo (250 mL) y se dejó a reflujo durante 2 horas. Después de concentrar y tratar con éter diisopropílico, el compuesto cristalizado se filtró y se lavó con el mismo disolvente para dar 2-bencil-4,6-dioxopiperidina-1-

## ES 2 546 816 T3

carboxilato de terc-butilol como un polvo blanco con un 75% de rendimiento global. El compuesto del título se obtuvo con rendimiento cuantitativo después de tratamiento ácido (HCl 4M en dioxano) a temperatura ambiente.

5  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO-d6)  $\delta$  ppm 2,32 (dd, J=15,73, 8,17 Hz, 1H) 2,42 (dd, J=16,34, 4,76 Hz, 1H) 2,66 – 2,74 (m, 1H) 2,87 – 3,02 (m, 2H) 3,25 – 3,40 (m, 1H) 3,84 – 3,93 (m, 1H) 7,20 – 7,36 (m, 5H) 8,14 (s, 1H).

$[\text{M}+\text{H}]^+ = 204$

Trabajando de forma análoga al Ejemplo 3, se obtuvo el siguiente compuesto en el Ejemplo 4:

10

### Ejemplo 4

#### 5,5-dimetilpiperidina-2,4-diona

15  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO-d6)  $\delta$  ppm 1,0 (s, 6H) 3,15 (s, 2H) 3,25 (s, 2H) 8,0 (s, 1H).

$[\text{M}+\text{H}]^+ = 142$

### Ejemplo 5

20

#### 4-(Isoquinolin-5-ilamino)-5,6-dihidro-1H-piridin-2-ona

25 Isoquinolin-5-ilamina (4 g, 27,9 mmol) y piperidina-2,4-diona (4,1 g, 36,2 mmol) se calentaron a reflujo en etanol absoluto (200 mL) con un colector Dean-Stark durante 3-4 horas. El disolvente se concentró en vacío y la espuma sólida resultante, correspondiente al compuesto del título, se secó en vacío y se utilizó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional (4,45 g, rendimiento 67%).

30  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  ppm 2,76 (t, J=7,95, 2H) 3,48 (t, J=8,01, 2H) 4,58 (s, 1H) 7,73 (m, 2H) 7,89 (d, J=7,89, 1H) 8,03 (m, 1H) 8,48 (d, J=8,04, 1H) 9,28 (s, 1H).

$[\text{M}+\text{H}]^+ = 240$

Trabajando de forma análoga al Ejemplo 5, partiendo de 6-bencilpiperidina-2,4-diona, se obtuvo el siguiente compuesto en el Ejemplo 6:

35

### Ejemplo 6

#### DL-6-Bencil-4-(isoquinolin-5-ilamino)-5,6-dihidro-1H-piridin-2-ona

40  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO-d6)  $\delta$  ppm 2,50 - 2,53 (m, 2H) 2,78 (dd, J=13,05, 8,90 Hz, 1H) 3,00 (dd, J=13,29, 4,88 Hz, 1H) 3,73 - 3,82 (m, 1H) 4,42 (s, 1H) 6,60 (s, 1H) 7,24 - 7,39 (m, 5H) 7,62 - 7,65 (m, 1H) 7,70 (t, J=7,71, 1H) 7,79 - 7,82 (m, 1H) 7,99 (d, J=8,05 Hz, 1H) 8,51 - 8,55 (m, 2H) 9,36 (d, J=0,85 Hz, 1H).

$[\text{M}+\text{H}]^+ = 330$

45

Trabajando de forma análoga al Ejemplo 5, partiendo de ciclohexano-1,3-diona, se obtuvo el siguiente compuesto en el Ejemplo 7:

50

### Ejemplo 7

#### 3-(Isoquinolin-5-ilamino)-ciclohex-2-enona

55  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO-d6)  $\delta$  ppm 1,92 - 2,01 (m, 2H) 2,18 (t, J=6,46 Hz, 2H) 2,69 (t, J=6,16 Hz, 2H) 4,71 (s, 1H) 7,68 (d, J=6,83 Hz, 1H) 7,74 (t, J=7,65 Hz, 1H) 7,79 (d, J=5,85 Hz, 1H) 8,08 (d, J=8,05 Hz, 1H) 8,56 (d, J=5,97 Hz, 1H) 9,05 (s, 1H) 9,40 (s, 1H).

$[\text{M}+\text{H}]^+ = 239$

60

### Ejemplo 8

#### DL-9-Bencil-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona

65 Se disolvió DL-6-Bencil-4-(isoquinolin-5-ilamino)-5,6-dihidro-1H-piridin-2-ona (100 mg, 0,3 mmol) en DMF (2 mL) y se añadió diacetato de paladio (10 mg, 0,044 mmol) y diacetato de cobre (55 mg, 0,3 mmol). La mezcla se calentó a 120 °C durante 120 minutos. Se eliminó el disolvente en vacío y el residuo se trató con agua y amoníaco acuoso al 30%. La suspensión resultante se filtró y el sólido se lavó con agua y éter dietílico. La purificación mediante cromatografía flash, con diclorometano/metanol 95/05 como eluyente, rindió un producto sólido que se disolvió en

## ES 2 546 816 T3

metanol y se trató con HCl 1,25 M en metanol a pH 1. Se eliminó el disolvente en vacío y el residuo se trató con éter dietílico. El sólido resultante se filtró, se lavó con éter dietílico, se secó en vacío rindiendo 14 mg (13%) del compuesto del título como sal de clorhidrato.

5  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 2,88 (dd,  $J=12,23, 8,72$  Hz, 1H) 3,00 (dd,  $J=16,70, 8,53$  Hz, 1H) 3,06 – 3,13 (m, 1H) 3,07 (d,  $J=5,37$  Hz, 1H) 4,05 – 4,15 (m, 1H) 7,23 – 7,40 (m, 5H) 7,48 (s, 1H) 8,13 (d,  $J=8,78$  Hz, 1H) 8,49 (d,  $J=8,66$  Hz, 1H) 8,69 (d,  $J=6,46$  Hz, 1H) 8,73 (d,  $J=6,47$  Hz, 1H) 9,78 (s, 1H) 13,50 (s, 1H).

[M+H] $^+$  = 328

10

Trabajando de forma análoga al Ejemplo 8, partiendo de 3-(isoquinolin-5-ilamino)-ciclohex-2-enona, se obtuvo el siguiente compuesto en el Ejemplo 9:

### Ejemplo 9

15

#### 8,9,10,11-Tetrahidro-pirido[4,3-a]carbazol-7-ona

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 2,20 – 2,29 (m, 2H) 2,59 (t,  $J=6,95$  Hz, 2H) 3,20 (t,  $J=6,22$  Hz, 2H) 8,16 (d,  $J=8,78$  Hz, 1H) 8,54 (d,  $J=8,66$  Hz, 1H) 8,75 (s, 2H) 9,78 (s, 1H) 13,62 (s, 1H).

20

[M+H] $^+$  = 237

### Ejemplo 10

25

#### N-Benzhidriliden-N'-isoquinolin-5-il-hidrazina

A una suspensión de 5-bromoisoquinolina (200 mg, 0,96 mmol) se añadió benzhidriliden-hidrazina (189 mg, 0,96 mmol), diacetato de paladio (2,2 mg, 0,0096 mmol) y 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil (BINAP, 6 mg, 0,0096 mmol) en tolueno seco (1 mL), se añadió terc-butóxido sódico (130 mg, 1,34 mmol) y la mezcla se agitó a una temperatura de 85 °C durante 4 horas. Se enfrió la mezcla a temperatura ambiente, se filtró con celite y el filtro se lavó con éter dietílico. Se evaporó el disolvente en vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía flash con hexano/acetato de etilo 7/3 como eluyente, rindiendo 268 mg del compuesto del título (86% de rendimiento).

30

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 7,35 (d,  $J=6,10$  Hz, 1H) 7,38 – 7,45 (m, 3H) 7,48 – 7,52 (m, 2H) 7,57 – 7,74 (m, 7H) 7,88 (dd,  $J=7,44, 1,10$  Hz, 1H) 8,39 (d,  $J=5,97$  Hz, 1H) 8,76 (s, 1H) 9,24 (s, 1H).

35

[M+H] $^+$  = 324

### Ejemplo 11

40

#### 10,10-Dimetil-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona

Una mezcla de N-benzhidriliden-N'-isoquinolin-5-il-hidrazina (154 mg, 0,48 mmol) y 5,5-dimetilpiperidina-2,4-diona (98 mg, 0,69 mmol), disueltos en ácido acético (2 mL) y agua (8 gotas) se sometió a irradiación de microondas durante 40 minutos a 150 °C. La mezcla se trató con NaOH concentrado a pH 9 y se extrajo tres veces con acetato de etilo. La purificación mediante cromatografía flash del residuo concentrado con diclorometano/metanol/ácido acético 30/2/0,5/0,2  $\rightarrow$  30/4/1/0,5 como eluyente, rindió un producto sólido, el cual se disolvió en metanol y se trató con HCl 1,25 M en metanol a pH 1. Se eliminó el disolvente en vacío y el residuo se trató con éter dietílico, y se secó en vacío, rindiendo 72 mg del compuesto del título como sal de clorhidrato (28%).

45

50

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,49 (s, 6H) 3,30 – 3,39 (m, 2H) 7,52 (s, 1H) 8,11 (d,  $J=8,66$  Hz, 1H) 8,51 (d,  $J=8,66$  Hz, 1H) 8,76 (d,  $J=6,58$  Hz, 1H) 8,99 (d,  $J=5,78$  Hz, 1H) 9,76 (s, 1H) 13,25 (s, 1H).

[M+H] $^+$  = 266

55

Trabajando de forma análoga al Ejemplo 11, partiendo de 5,5-dimetil-ciclohexano-1,3-diona, se obtuvo el siguiente compuesto en el Ejemplo 12:

### Ejemplo 12

60

#### 9,9-Dimetil-8,9,10,11-tetrahidro-pirido[4,3-a]carbazol-7-ona

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,17 (s, 6H) 2,51 (s, 2H) 3,12 (s, 2H) 8,19 (d,  $J=8,68$  Hz, 1H) 8,54 (d,  $J=8,68$  Hz, 1H) 8,78 (d,  $J=6,70$  Hz, 1H) 8,88 (d,  $J=6,70$  Hz, 1H) 9,82 (s, 1H) 13,87 (s, 1H).

65

[M+H] $^+$  = 265

Ejemplo 1311-(2,2,2-Trifluoro-etil)-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona

5 4,45 g (18,6 mmol) de 4-(isoquinolin-5-ilamino)-5,6-dihidro-1H-piridin-2-ona se disolvieron en DMF (10 mL) y se añadieron diacetato de paladio (445 mg, 1,98 mmol) y diacetato de cobre (3,39 g, 18,7 mmol). La mezcla se calentó a 120 °C durante 90 minutos; entonces se añadió más diacetato de paladio (220 mg) y diacetato de cobre (1,7 g) y se continuó calentando 30 minutos más. Se eliminó el disolvente en vacío y el residuo se trató con agua y amoníaco acuoso al 30%. La suspensión resultante se filtró y el sólido se lavó con agua y éter dietílico. La purificación mediante cromatografía flash con diclorometano/metanol/ácido acético/agua 80/20/7/3 como eluyente dio un producto sólido que se disolvió en metanol y se trató con HCl 1,25 M en metanol a pH 1. Se eliminó el disolvente en vacío y el residuo se trató con éter dietílico. El sólido resultante se filtró, se lavó con éter dietílico y se secó en vacío, rindiendo 760 mg (15%) de 8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona clorhidrato.

15 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 3,19 (t, J=6,85 Hz, 2H) 3,54 – 3,59 (m, 2H) 7,43 (s, 1H) 8,10 (d, J=8,68 Hz, 1H) 8,47 (d, J=8,83 Hz, 1H) 8,71 (d, J=6,55 Hz, 1H) 8,79 (d, J=6,55 Hz, 1H) 9,76 (s, 1H) 13,69 (s, 1H).

20 Una mezcla de 8,9,10,11—tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona (213 mg, 0,9 mmol), éster 2,2,2-trifluoroetílico del ácido trifluorometanosulfónico (317 mg, 1,35 mmol), carbonato potásico (253 mg, 1,8 mmol) y éter 18-corona-6 (481 mg, 1,8 mmol) en DMF anhidro (20 mL) se agitó a 65°C durante 3 horas. Se añadió más éster 2,2,2-trifluoroetílico del ácido trifluorometanosulfónico (200 mg, 0,86 mmol), carbonato potásico (253 mg, 1,8 mmol) y éter 18-corona-6 (240 mg, 0,9 mmol) y se continuó calentando durante 3 horas. Después de enfriar, se evaporó el disolvente en vacío y el crudo del producto se purificó mediante cromatografía flash con DCM/MeOH 95:5 como eluyente, rindiendo un producto sólido. El producto sólido se disolvió entonces en metanol y se trató con HCl 1,25 M en metanol a pH 1. El disolvente se eliminó en vacío y el residuo se trató con éter dietílico. El sólido resultante se filtró, se lavó con éter dietílico, y se secó en vacío, rindiendo 127 mg del compuesto del título como sal de clorhidrato (39% de rendimiento).

30 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 3,26 (t, J=6,83 Hz, 2H) 3,57 – 3,64 (m, 2H) 5,91 (q, J=8,86 Hz, 2H) 7,68 (s, 1H) 8,24 (d, J=8,78 Hz, 1H) 8,66 (d, J=8,66 Hz, 1H) 8,72 (d, J=6,83 Hz, 1H) 8,89 (d, J=6,95 Hz, 1H) 9,81 (s, 1H).

[M+H]<sup>+</sup> = 320

35 Trabajando de forma análoga al Ejemplo 13, partiendo 8,9,10,11—tetrahidro-pirido[4,3-a]carbazol-7-ona, se obtuvo también el siguiente compuesto en el Ejemplo 14:

Ejemplo 1411-(2,2,2-Trifluoro-etil)-8,9,10,11-tetrahidro-pirido[4,3-a]carbazol-7-ona

40 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 2,18 – 2,28 (m, 2H) 2,60 (t, J=6,45 Hz, 2H) 3,21 (t, J=6,04 Hz, 2H) 5,88 (q, J=8,66 Hz, 2H) 8,20 (d, J=8,66 Hz, 1H) 8,64 (d, J=8,66 Hz, 1H) 8,69 (d, J=6,71 Hz, 1H) 8,75 (d, J=6,95 Hz, 1H) 9,69 (s, 1H).

45 [M+H]<sup>+</sup> = 319

Basado en los métodos descritos anteriormente, se sintetizaron también los siguientes compuestos:

50 10-(3,3,3-Trifluoro-propil)-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo [a]fluoren-7-ona;

10-(2-fluoro-etil)-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo [a]fluoren-7-ona;

10-ciclobutil-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo [a]fluoren-7-ona;

55 10-etil-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo [a]fluoren-7-ona;

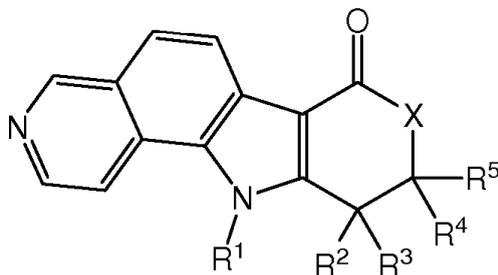
9-ciclopropil-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo [a]fluoren-7-ona; y

60 9-ciclopropil-11-(2,2,2-trifluoro-etil)-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona.

Se entiende que es posible idear muchas variaciones y modificaciones a partir de los principios de la invención. Se pretende que tales modificaciones y variaciones se consideren parte del espíritu y alcance de esta invención, tal y como se define en las reivindicaciones a continuación.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



(I)

5 donde

$R^1$  es hidrógeno, alquilo ( $C_1-C_6$ ), alqueno ( $C_2-C_6$ ), alquino ( $C_2-C_6$ ), cicloalquilo ( $C_3-C_6$ ), haloalquilo ( $C_1-C_6$ ), alquilo polifluorado ( $C_1-C_6$ ), heterociclilo, arilo, heteroarilo, cicloalquil( $C_3-C_6$ )-alquilo ( $C_1-C_6$ ), heterocicliil-alquilo ( $C_1-C_6$ ), aril-alquilo ( $C_1-C_6$ ), heteroaril-alquilo ( $C_1-C_6$ ), hidroxialquilo ( $C_1-C_8$ ), alcoxi ( $C_1-C_8$ )-alquilo ( $C_1-C_8$ ), ariloxi-alquilo ( $C_1-C_8$ ), heteroariloxi-alquilo ( $C_1-C_8$ ), aminoalquilo ( $C_1-C_8$ ), alquilamino ( $C_1-C_8$ )-alquilo ( $C_1-C_8$ ), dialquilamino ( $C_1-C_8$ )-alquilo ( $C_1-C_8$ ), carbamoil-alquilo ( $C_1-C_8$ ) y alcoxycarbonilo, donde cada una de las mencionadas fracciones arilo, heteroarilo, heterociclilo, ariloxi o heteroariloxi puede no estar sustituida o estar sustituida por uno o varios sustituyentes, seleccionándose cada sustituyente independientemente del grupo consistente en alquilo, arilo,  $-OCF_3$ ,  $-OC(O)$ alquilo,  $-OC(O)$ arilo,  $-CF_3$ , heteroarilo, aralquilo, alquilarilo, heteroaralquilo, alquilheteroarilo, hidroxil, hidroxialquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, acilo, arilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, nitro, ciano, carboxi, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, aralcoxycarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, ariltio, heteroariltio, aralquiltio, heteroaralquiltio, cicloalquilo, heterociclilo, heterociclenilo,  $-NH$ (alquilo),  $-NH$ (cicloalquilo), y  $-N$ (alquilo) $_2$ ;

$R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  y  $R^5$  son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, alquilo ( $C_1-C_6$ ), cicloalquilo ( $C_3-C_6$ ), heterociclilo, arilo, cicloalquil-alquilo, heterocicliil-alquilo ( $C_1-C_6$ ), aril-alquilo ( $C_1-C_6$ ), halo-alquilo ( $C_1-C_6$ ), alquilo polifluorado ( $C_1-C_6$ ), hidroxialquilo ( $C_1-C_8$ ), alcoxi ( $C_1-C_8$ )-alquilo ( $C_1-C_8$ ), ariloxi-alquilo ( $C_1-C_8$ ), heteroariloxi-alquilo ( $C_1-C_8$ ), aminoalquilo ( $C_1-C_8$ ), alquilamino ( $C_1-C_8$ )-alquilo ( $C_1-C_8$ ) y dialquilamino ( $C_1-C_8$ )-alquilo ( $C_1-C_8$ ),

o  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  y  $R^5$ , tomados juntos, forman un grupo cicloalquilo ( $C_3-C_6$ );

$X$  es  $NH$  o  $CH_2$ , con la condición que, si  $X$  es  $NH$  y  $R^1$  es un átomo de hidrógeno, al menos uno de  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  y  $R^5$  no es un átomo de hidrógeno y se excluye 7H-pirido[4,3-a]carbazol-7-ona, 8, 9, 10, 11-tetrahidro-11-(fenilmetil);

donde

con el término arilo la presente invención contempla cualquier hidrocarburo carbocíclico o heterocíclico con fracciones de 1 a 2 anillos, bien fundidos o unidos entre sí mediante enlaces sencillos, donde al menos uno de los anillos es aromático. Si está presente, cualquier hidrocarburo heterocíclico aromático también denominado grupo heteroarilo, comprende un anillo de 5 a 6 miembros con 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre N, O o S;

con el término "heterociclilo" la presente invención contempla heterociclos saturados o parcialmente insaturados con un anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros que comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre N, O o S;

o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de los mismos.

2. Los compuestos de acuerdo con la reivindicación 1, donde  $R^4$  y  $R^5$  son átomos de hidrógeno.

3. Los compuestos de acuerdo con la reivindicación 1, donde  $R^2$  y  $R^3$  son átomos de hidrógeno.

4. Los compuestos de acuerdo con la reivindicación 1, donde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  y  $R^4$  son átomos de hidrógeno.

5. Los compuestos de acuerdo con la reivindicación 1, donde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  y  $R^5$  son átomos de hidrógeno.

6. Los compuestos de acuerdo con la reivindicación 1, donde  $X$  es  $NH$ ,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^4$  y  $R^5$  son átomos de hidrógeno.

7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es:

DL-9-bencil-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona;

8,9,10,11-Tetrahidro-pirido[4,3-a]carbazol-7-ona;

10,10-dimetil-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona;

9,9-dimetil-8,9,10,11-tetrahidro-pirido[4,3-a]carbazol-7-ona;  
 11-(2,2,2-trifluoro-etil)-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona;  
 11-(2,2,2-trifluoro-etil)-8,9,10,11-tetrahidro-pirido[4,3-a]carbazol-7-ona;  
 10-(3,3,3-trifluoro-propil)-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona;  
 5 10-(2-fluoro-etil)-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona;  
 10-ciclobutil-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona;  
 10-etil-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona;  
 9-ciclopropil-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona o  
 10 9-ciclopropil-11-(2,2,2-trifluoro-etil)-8,9,10,11-tetrahidro-3,8,11-triaza-benzo[a]fluoren-7-ona.

8. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, ó a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable.

9. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal y como se define en la reivindicación 1, para su uso como medicamento.

10. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso como medicamento para el tratamiento de un trastorno o afección causado por o asociado con una actividad alterada de proteína cinasas tales como la actividad cinasa de Cdc7.

11. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizado por su uso como medicamento para el tratamiento de trastorno o afección seleccionada del grupo consistente en cáncer de vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, esófago, vesícula, ovario, páncreas, estómago, cerviz, tiroides, próstata, y piel, incluyendo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoyéticos de linaje linfático, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas y linfoma de Burkitt, tumores hematopoyéticos de linaje mielóide, incluyendo las leucemias mielogénicas aguda y crónica, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; otros tumores, que incluyen melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratocantoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi.

12. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizado por su uso como medicamento para tratamiento de un trastorno o afección seleccionado del grupo consistente en hiperplasia benigna de próstata, adenomatosis familiar, poliposis, neurofibromatosis, psoriasis, proliferación de células lisas vasculares asociada con aterosclerosis, fibrosis pulmonar, artritis glomerulonefritis, estenosis y reestenosis post-quirúrgicas.