(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 563 954**

(51) Int. CI.:

A61K 31/502 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.06.2005 E 05761151 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.12.2015 EP 1771175**

(54) Título: **Derivados de ftalazina como inhibidores de PARP**

(30) Prioridad:

30.06.2004 EP 04076886

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.03.2016

(73) Titular/es:

JANSSEN PHARMACEUTICA NV (100.0%)
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse, BE

(72) Inventor/es:

MEVELLEC, LAURENCE ANNE;
KENNIS, LUDO EDMOND JOSEPHINE;
MERTENS, JOSEPHUS CAROLUS;
VAN DUN, JACOBUS ALPHONSUS JOSEPHUS;
SOMERS, MARIA VICTORINA FRANCISCA y
WOUTERS, WALTER BOUDEWIJN LEOPOLD

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

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 ftalazina como inhibidores de PARP

Campo de la invención

La presente invención se refiere a inhibidores de PARP y proporciona compuestos y composiciones que contienen los compuestos descritos. Además, la presente invención proporciona métodos para usar los inhibidores de PARP descritos por ejemplo como una medicina.

Antecedentes de la invención

La enzima nuclear poli(ADP-ribosa)polimerasa-1 (PARP-1) es un miembro de la familia de enzimas PARP. Esta familia creciente de enzimas constan de PARP tales como, por ejemplo: PARP-1, PARP-2, PARP-3 y Vault-PARP; y Tanquirasas (TANK), tales como, por ejemplo: TANK-1, TANK-2 y TANK-3. PARP también se denomina como poli(adenosina 5'-difosfo-ribosa)polimerasa o PARS (poli(ADP-ribosa)sintetasa).

La PARP-1 es una proteína nuclear principal de 116 kDa que consiste en tres dominios: el dominio de unión a ADN N-terminal que contiene dos dedos de zinc, el dominio de automodificación y el dominio catalítico C-terminal. Está presente en casi todos los eucariotas. La enzima sintetiza poli(ADP-ribosa), un polímero ramificado que puede consistir en más de 200 unidades de ADP-ribosa. Los aceptores de proteínas de poli(ADP-ribosa) están directa o indirectamente involucrados en el mantenimiento de la integridad del ADN. Incluyen histonas, topoisomerasas, ADN y ARN polimerasas, ADN ligasas, y endonucleasas dependientes de Ca^{2+} y Mg^{2+}. La proteína de PARP es expresada a un nivel elevado en muchos tejidos, muy notablemente en el sistema inmune y células del corazón, cerebro y células de líneas germinales. Bajo condiciones fisiológicas normales, hay una actividad mínima de PARP. Sin embargo, el daño del ADN provoca una activación inmediata de PARP en hasta 500 veces.

Las tankirasas (TANKs) fueron identificadas como componentes del complejo telomérico humano. Se ha propuesto también que tienen un papel en el tráfico de vesículas y pueden servir como armazones para proteínas involucradas en otros diversos procesos celulares. Los telómeros, que son esenciales para el mantenimiento y la estabilidad de los cromosomas, son mantenidos por la telomerasa, una transcriptasa inversa especializada. Las TANKs son (ADP-ribosa)transferasas con algunas características de las proteínas señalizadoras y citoesqueléticas. Contienen el dominio de PARP, que cataliza la poli-ADP-ribosilación de proteínas sustrato, el motivo alfa estéril, que es compartido con ciertas moléculas señalizadoras, y el dominio ANK, que contiene 24 repeticiones de anquirina homólogas a la anquirina de las proteínas citoesqueléticas. El dominio ANK interacciona con una proteína telomérica, factor 1 de unión a repeticiones teloméricas (TRF-1). Por lo tanto, estas proteínas fueron denominadas ADP-ribosa polimerasa relacionada con anquirina que interacciona con TRF1 (TANKs).

Una de las funciones más específicas de la TANK es la ADP-ribosilación de TRF-1. La función de los telómeros humanos necesita dos proteínas de unión a ADN específicas de telómeros, TRF-1 y TRF-2. La TRF-2 protege los extremos de cromosomas, y la TRF-1 regula la longitud del telómero. La ADP-ribosilación inhibe la capacidad de la TRF-1 para unirse a ADN telomérico. Esta poli-ADP-ribosilación de TRF-1 libera TRF-1 de los telómeros, abriendo el complejo telomérico y permite el acceso a telomerasa. Por lo tanto, la TANK funciona como un regulador positivo de la longitud del telómero, permitiendo el alargamiento de los telómeros por la telomerasa.

Entre las muchas funciones atribuidas a la PARP, y especialmente a la PARP-1, está su papel principal para facilitar la reparación de ADN mediante ADP-ribosilación y, por tanto, coordinar un cierto número de proteínas para reparar ADN. Como consecuencia de la activación de PARP, disminuyen significativamente los niveles de NAD^+. La activación exhaustiva de PARP conduce a un agotamiento grave de NAD^+ en células que sufren un daño masivo de ADN. La semi-vida corta de la poli(ADP-ribosa) da lugar a una elevada velocidad de recambio. Una vez que se forma la poli(ADP-ribosa), es rápidamente degradada por la poli(ADP-ribosa)glicohidrolasa (PARG) constitutivamente activa, junto con la fosfodiesterasa y (ADP-ribosa) proteína liasa. La PARP y la PARG forman un ciclo que convierte una gran cantidad de NAD^+ en ADP-ribosa. En menos de una hora, la sobre-estimulación de PARP puede provocar una caída de NAD^+ y ATP hasta menos de 20% del nivel normal. Esta situación es especialmente perjudicial durante una isquemia, cuando la ausencia de oxígeno ya ha comprometido considerablemente la producción de energía celular. La posterior producción de radicales libres durante la reperfusión se supone que es una causa principal de daño de tejidos. Parte de la caída de ATP, que es típica de muchos órganos durante la isquemia y reperfusión, podría estas asociada al agotamiento de NAD^+ debido al recambio de poli(ADP-ribosa). De este modo, se espera que la inhibición de PARP o PARG mantenga el nivel de energía celular, potenciando así la supervivencia de tejidos isquémicos después del ataque.

La síntesis de poli(ADP-ribosa) está involucrada también en la expresión inducida de un cierto número de genes esenciales para una respuesta inflamatoria. Los inhibidores de PARP suprimen la producción de óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) en macrófagos, selectina de tipo P y molécula 1 de adhesión intercelular (ICAM-1) en células endoteliales. Esta actividad sirve de apoyo a los fuertes efectos de anti-inflamación mostrados por los inhibidores de PARP. La inhibición de PARP es capaz de reducir la necrosis evitando la translocación e infiltración de neutrófilos a los tejidos lesionados.

La PARP es activada por fragmentos de ADN dañados y, una vez activada, cataliza la unión de hasta 100 unidades de ADP-ribosa a una diversidad de proteínas nucleares, que incluyen histonas y la propia PARP. Durante los esfuerzos celulares principales, la activación extensiva de PARP puede conducir rápidamente a un daño o muerte celular a través del agotamiento de las reservas de energía. Como se consumen cuatro moléculas de ATP por cada molécula de NAD^+ regenerada, la NAD^+ es agotada por la activación masiva de PARP; en los esfuerzos para volver a sintetizar NAD^+, la ATP puede resultar también agotada.

Se ha descrito que la activación de PARP desempeña un papel clave en la neurotoxicidad inducida tanto por NMDA y como por NO. Esto se ha demostrado en cultivos corticales y en corte hipocampales en los que la prevención de la toxicidad está directamente correlacionada con la potencia de inhibición de PARP. El papel potencial de los inhibidores de PARP para tratar enfermedades neurodegenerativas y traumas craneales se ha reconocido de este modo incluso aunque el mecanismo de acción exacto todavía no se ha elucidado.

Análogamente, se ha demostrado que las inyecciones individuales de inhibidores de PARP han reducido el tamaño del infarto provocado por la isquemia y la reperfusión del músculo cardíaco o esquelético en conejos. En estos estudios, una sola inyección de 3-amino-benzamida (10 mg/kg), un minuto antes de la oclusión o un minuto antes de la reperfusión, provocó reducciones similares en el tamaño del infarto en el corazón (32-42%) mientras que la 1,5-dihidroxiisoquinolina (1 mg/kg), otro inhibidor de PARP, redujo el tamaño del infarto en un grado comparable (38-48%). Estos resultados hacen que sea razonable suponer que los inhibidores de PARP podrían salvar un corazón previamente isquémico o una lesión por reperfusión de tejido del músculo esquelético.

La activación de PARP puede ser usada también como una medida del daño tras agresiones neurotóxicas que resultan de una exposición a cualquiera de los siguientes inductores como glutamato (a través de estimulación de receptores de NMDA), intermedios de oxígeno reactivos, β-proteína amiloide, N-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) o su metabolito activo N-metil-4-fenilpiridina (MPP^+), que participan en estados patológicos como apoplejía, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson. Otros estudios han continuado explorando el papel de la activación de PARP en células de gránulos cerebelosos in vitro y en la neurotoxicidad de MPTP. La exposición neuronal excesiva al glutamato, que sirve como neurotransmisor predominante del sistema nervioso central y actúa sobre los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) y otros receptores de subtipos, se produce lo más frecuentemente como consecuencia de una apoplejía u otros procesos neurodegenerativos. Las neuronas desprovistas de oxígeno liberan glutamato en grandes cantidades durante un ataque cerebral isquémico, tal como durante una apoplejía o ataque cardíaco. Esta liberación en exceso de glutamato provoca a su vez una sobre-estimulación (exitotoxicidad) de receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA), AMPA, kainato y MGR, que abre los canales de iones y permite un flujo iónico incontrolado (por ejemplo, Ca^{2+} y Na^+ en las células y K^+ fuera de las células), conduciendo a la sobre-estimulación de las neuronas. Las neuronas sobre-estimuladas segregan más glutamato, creando un bucle de retroalimentación o efecto dominó que da lugar finalmente a un daño o muerte celular a través de la producción de proteasas, lipasas y radicales libres. La activación excesiva de receptores de glutamato ha estado implicada en diversas enfermedades y estados neurológicos que incluyen epilepsia, apoplejía, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedad Huntington, esquizofrenia, dolor crónico, isquemia y pérdida neuronal tras hipoxia, hipoglicemia, isquemia, trauma y ataque nervioso. La exposición al glutamato y la estimulación han estado implicadas también en la base de trastornos compulsivos, particularmente la dependencia de drogas. Las pruebas incluyen hallazgos en muchas especies de animales, así como en cultivos corticales cerebrales tratados con glutamato o NMDA, que los antagonistas de receptores de glutamato (es decir, compuestos que bloquean la unión del glutamato a o la activación de su receptor) bloquean el daño neuronal tras una apoplejía vascular. Los intentos de evitar la excitotoxicidad bloqueando receptores de NMDA, AMPA, kainato y MGR han demostrado ser difíciles porque cada receptor tiene múltiples sitios a los que se puede unir el glutamato, y por tanto el descubrimiento de una mezcla eficaz de antagonistas o un antagonista universal para evitar la unión del glutamato a todos los receptores y permitir el ensayo de esta teoría ha sido difícil. Además de ello, muchas de las composiciones que son eficaces bloqueando los receptores pueden ser también tóxicas para animales. Como tal, no hay actualmente ningún tratamiento eficaz conocido para las anomalías del glutamato.

La estimulación de receptores de NMDA por glutamato, por ejemplo, activa la enzima óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS), conduciendo a la formación de óxido nítrico (NO), que media también en la neurotoxicidad. La neurotoxicidad de NMDA puede ser evitada mediante tratamiento con inhibidores de óxido nítrico sintasa (NOS) o a través de la interrupción genética dirigida de nNOS in vitro.

Otro uso para inhibidores de PARP es el tratamiento de lesiones de nervios periféricos y el síndrome de dolor patológico resultante conocido como dolor neuropático, como el inducido por una lesión de constricción crónica (CCI) del nervio ciático común y en la que se produce una alteración trans-sináptica del asta posterior de la médula espinal caracterizada por una hipercromatosis de citoplasma y nucleoplasma (denominadas neuronas "oscuras").

Existen también pruebas de que los inhibidores de PARP son útiles para tratar trastornos inflamatorios intestinales, como la colitis. Específicamente, se indujo colitis en ratas mediante una administración intraluminal del hapteno ácido trinitrobenceno sulfónico en etanol al 50%. Las ratas tratadas recibieron 3-aminobenzamida, un inhibidor específico de la actividad de PARP. La inhibición de la actividad de PARP redujo la respuesta inflamatoria y restauró la morfología y el estado energético del colon distal.

Otras pruebas sugieren que los inhibidores de PARP son útiles para tratar la artritis. Además, parece que los inhibidores de PARP son útiles para tratar la diabetes. Se ha mostrado que los inhibidores de PARP son útiles para tratar el choque endotóxico o choque séptico.

Los inhibidores de PARP se han usado también para extender el período de vida y la capacidad proliferativa de células que incluyen el tratamiento de enfermedades como envejecimiento de la piel, enfermedad de Alzheimer, aterosclerosis, osteoartritis, osteoporosis, distrofia muscular, enfermedades degenerativas del músculo esquelético que implican senescencia replicativa de generación muscular relacionada con la edad, senescencia inmune, SIDA y otra enfermedad de senescencia inmune; y para alterar la expresión génica de células senescentes.

También se sabe que los inhibidores de PARP, tal como 3-amino-benzamida, afectan a la reparación global del ADN en respuesta, por ejemplo, a peróxido de hidrógeno o radiación ionizante.

El papel crucial de la PARP en la reparación de roturas de cadenas de ADN está bien demostrado, especialmente cuando están directamente provocadas por radiación ionizante, o indirectamente después de una reparación enzimática de lesiones de ADN inducidas por agentes metilantes, inhibidores de topoisomerasas I y otros agentes quimioterapéuticos como cisplatino y bleomicina. Una diversidad de estudios usando ratones "genosuprimidos", modelos de inhibición trans-dominante (sobre-expresión del dominio de unión de ADN), inhibidores antisentido y de peso molecular pequeño, han demostrado el papel de PARP en la reparación y supervivencia de células después de la inducción del daño al ADN. La inhibición de la actividad enzimática de PARP debe conducir a una sensibilidad mejorada de las células tumorales hacia los tratamientos que dañan el ADN.

Se ha dado a conocer que los inhibidores de PARP son eficaces a la hora de radio-sensibilizar células tumorales (hipóxicas), y son eficaces evitando que las células tumorales se recuperen del daño potencialmente letal y subletal del ADN después de una terapia de radiación, supuestamente por su capacidad para evitar que se vuelvan a unir las cadenas rotas de ADN y por afectar a varias rutas de señalización del daño al ADN.

Los inhibidores de PARP han sido usados para tratar el cáncer. Además, la patente U.S. n° 5.177.075 expone diversas isoquinolinas usadas para aumentar los efectos letales de la radiación ionizante o agentes quimioterapéuticos sobre células tumorales. Weltin et al., "Effect of 6(5-Phenanthrinone), an Inhibitor of Poly(ADP-ribose) Polymerase, on Cultured Tumor Cells", Oncol. Res., 6:9, 399-403 (1994), exponen la inhibición de la actividad de PARP, la proliferación reducida de células tumorales, y un efecto sinérgico considerable cuando las células tumorales son conjuntamente tratadas con un fármaco alquilante.

Han sido publicados estudios del estado de la técnica por Li y Zhang en IDrugs 2001, 4(7): 804-812, por Ame et al en Bioassays 2004,26: 882-883 y por Nguewa et al., en Progress in Biophysic & Molecular Biology 2005,88: 143-172.

Continúa habiendo una necesidad de inhibidores de PARP eficaces y potentes, y más particularmente inhibidores de PARP-1 que produzcan efectos secundarios mínimos. La presente invención proporciona compuestos, composiciones y métodos para inhibir la actividad de PARP, para tratar el cáncer y/o prevenir el daño celular, de tejidos y/u órganos que resulta de un daño o muerte celular debidos, por ejemplo, a necrosis o apoptosis. Los compuestos y composiciones de la presente invención son especialmente útiles para mejorar la eficacia de la quimioterapia y radioterapia en los que un efecto primario del tratamiento es que provoca un daño del ADN en las células seleccionadas como diana.

Antecedente de la técnica anterior

La síntesis de derivados de aminoftalazinonas es descrita por Komendy et al, en Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae 1981, 106(2): 155-66 y en Acta Chimica Hungarica 1983, 112(1): 65-82.

El documento EP 156433, publicado el 2 de octubre de 1985, describe piridazinaminas. Los compuestos descritos tienen propiedades antivirales. Más en particular, se describen los compuestos nº 77, nº 78, nº 79, nº 80, nº 81, nº 82, nº 83 y nº 84 de la presente solicitud.

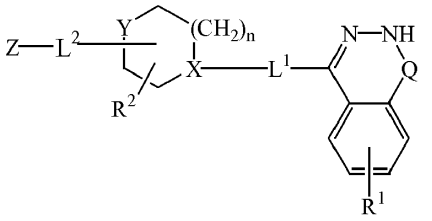
El documento JP 2002284699 proporciona un agente para el tratamiento de la degeneración retiniana relacionada con degeneración de células visuales, o para el tratamiento de lesión celular inducida por quimioterapia, que contiene un inhibidor de PARP.

El documento JP10007572 describe un agente para inhibir la producción de factor de necrosis tumoral.

El documento US 3753988 describe ftalazinas sustituidas que son farmacológicamente activas. El documento WO03/015785 se refiere a 2H-ftalazin-1-onas y a métodos para uso de las mismas.

Descripción de la invención

Esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I)



(I)

una forma de *N*-óxido, una sal de adición farmacéuticamente aceptable o una forma estereoquímicamente isomérica del mismo, en la que

n es 0, 1, 2 o 3, y cuando n es 0, entonces está previsto un enlace directo;

Q es -C(=O)-;

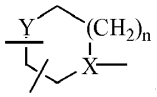
X es -CH< e Y es -N< o -NH-; o X es -N< e Y es -CH< o $-CH_2-$;

L^1 es un enlace directo o -NH-;

L^2 es un enlace directo o un radical bivalente seleccionado de -alcanodiílo de C_{1-6}-, -alquenodiílo de C_{2-6}-, carbonilo o -alcanodiílo de C_{1-6}- sustituido con un sustituyente seleccionado de hidroxi o arilo;

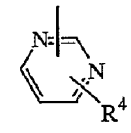
R^1 es hidrógeno, nitro, halo o amino;

R^2 es hidrógeno, alquilo de C_{1-6} o aril-alquilo de C_{1-6}; el resto central

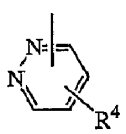


también puede estar en puente (es decir, formando un resto bicíclico) con un puente de etileno;

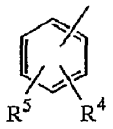
Z es hidrógeno, hidroxi, alquilo de C_{1-6}, alquil C_{1-6}-oxi, ariloxi, amino, ciano, aril-alquil C_{1-6}-amino o benzotiazolil(alquil C_{1-6})amino o un sistema anular seleccionado de



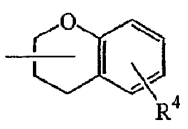
(a-1)



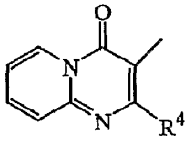
(a-2)



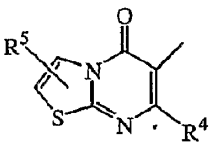
(a-3)



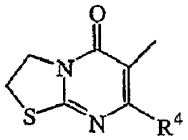
(a-4)



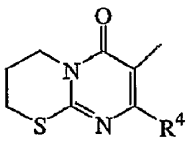
(a-5)



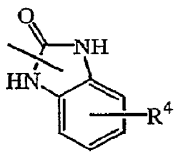
(a-6)



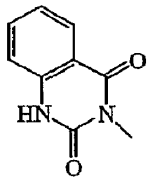
(a-7)



(a-8)



(a-9)



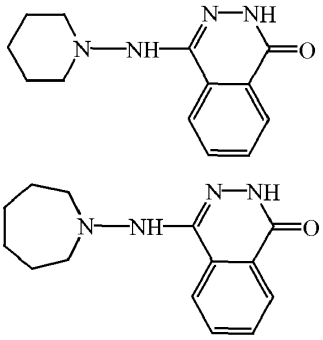
(a-10)

en los que R^4 y R^5 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, halo, alquilo de C_{1-6}, alquil C_{1-6}-oxi o trihalometilo;

arilo es fenilo, o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, alquilo de C_{1-6} o alquil C_{1-6}-oxi;

con la condición de que cuando Q sea -C(=O)- y X sea -N< e Y sea -CH< o $-CH_2-$ y L^1 sea un enlace directo y L^2 sea un enlace directo, o el radical bivalente -alcanodiílo de C_{1-6}- o –alcanodiílico de C_{1-6}- sustituido con hidroxi, y

R^1 sea hidrógeno, y R^2 sea hidrógeno o alquilo de C_{1-6}, entonces Z es distinto de hidrógeno, hidroxi o alquilo de C_{1-6}; y con la condición de que se excluyan los siguientes compuestos



Los compuestos de fórmula (I) también pueden existir en sus formas tautoméricas. Aunque tales formas no se indican explícitamente en la fórmula anterior se pretende que se incluyan dentro del alcance de la presente invención.

A continuación se explican diversos términos usados en las definiciones anteriores y en lo sucesivo en el presente documento. Estos términos se usan en ocasiones como tales o en términos compuestos.

Como se usa en las definiciones anteriores y en lo sucesivo en el presente documento, halo es genérico para fluoro, cloro, bromo y yodo; trihalometilo define metilo que contiene tres sustituyentes halo idénticos o diferentes, por ejemplo trifluorometilo; alquilo de C_{1-6} define radicales hidrocarbonados saturados de cadena lineal y ramificada que tienen de 1 a 6 átomos de carbono tales como, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, 1-metiletilo, 2-metilpropilo, 2-metilbutilo, 2-metilpentilo y similares; -alcanodiílo de C_{1-6}- define radicales hidrocarbonados saturados de cadena lineal y ramificada bivalentes que tienen de 1 a 6 átomos de carbono tales como, por ejemplo, metileno, 1,2-etanodiílo, 1,3-propanodiílo 1,4-butanodiílo, 1,5-pentanodiílo, 1,6-hexanodiílo y los isómeros ramificados de los mismos tales como 2-metilpentanodiílo, 3-metilpentanodiílo, 2,2-dimetilbutanodiílo, 2,3-dimetilbutanodiílo y similares; -alquenodiílo de C_{2-6}- define radicales hidrocarbonados de cadena lineal y ramificada bivalentes que contienen un doble enlace y que tienen de 2 a 6 átomos de carbono tales como, por ejemplo, etenodiílo, 2-propenodiílo, 3-butenodiílo, 2-pentenodiílo, 3-pentenodiílo, 3-metil-2-butenodiílo y similares.

La expresión “sales farmacéuticamente aceptables” significa sales de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptables que se han mencionado anteriormente pretenden comprender las formas de sal de adición de ácido no tóxico y base no tóxica terapéuticamente activas que son capaces de formar los compuestos de fórmula (I). Los compuestos de fórmula (I) que tienen propiedades básicas se pueden convertir en sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables por tratamiento de dicha forma de base con un ácido apropiado. Los ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos, tales como ácidos halohídricos, por ejemplo ácido clorhídrico o bromhídrico; sulfúrico; nítrico; fosfórico y ácidos similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, los ácidos acético, propanoico, hidroxiacético, láctico, pirúvico, oxálico, malónico, succínico (es decir ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, *p*-aminosalicílico, pamoico y ácidos similares.

Los compuestos de fórmula (I) que tienen propiedades ácidas se pueden convertir en sus sales de adición de base farmacéuticamente aceptables por tratamiento de dicha forma de ácido con una base orgánica o inorgánica adecuada. Las formas de sal de base apropiadas comprenden, por ejemplo, las sales de amonio, las sales de metal alcalino y alcalino-térreo, por ejemplo, las sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, sales con bases orgánicas, por ejemplo las sales de benzatina, *N*-metil-D-glucamina, hidrabamina, y sales con aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina y similares.

Las expresiones sal de adición de ácido o base también comprenden los hidratos y las formas de adición de disolvente que los compuestos de fórmula (I) son capaces de formar. Algunos ejemplos de tales formas son, por ejemplo, hidratos, alcoholatos y similares.

La expresión formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de fórmula (I), como se ha usado anteriormente en el presente documento, define todos los posibles compuestos que están compuestos por los mismos átomos enlazados mediante la misma secuencia de enlaces pero que tienen diferentes estructuras tridimensionales que no son intercambiables, que puedan poseer los compuestos de fórmula (I). A menos que se mencione o indique de otro modo, la designación química de un compuesto incluye la mezcla de todas las posibles formas estereoquímicamente isoméricas que dicho compuesto pueda poseer. Dicha mezcla puede contener todos los diastereómeros y/o enantiómeros de la estructura molecular básica de dicho compuesto. Se pretende que todas las formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de fórmula (I) tanto en forma pura como en una mezcla entre sí estén incluidas dentro del alcance de la presente invención.

Se pretende que las formas de *N*-óxido de los compuestos de fórmula (I) comprendan aquellos compuestos de fórmula (I) en los que uno o varios átomos de nitrógeno están oxidados al denominado *N*-óxido, particularmente aquellos *N*-óxidos en los que uno o más de los nitrógenos de piperidina, piperazina o piridazinilo están *N*-oxidados.

Siempre que se use en lo sucesivo en el presente documento, la expresión "compuestos de fórmula (I)" pretende incluir también las formas de N-óxido, las sales de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptables y todas las formas estereoisoméricas.

En Komendy et al., se describe solamente la síntesis de derivados de aminoftalazinonas. Los compuestos descritos en el documento EP 156433 tienen propiedades antivirales. Más en particular, se han descrito los compuestos nº 77, nº 78, nº 79, nº 80, nº 81, nº 82, nº 83 y nº 84 de la presente solicitud. Inesperadamente, se ha encontrado que los compuestos de la presente invención muestran actividad inhibidora de PARP.

Un primer grupo de compuestos interesantes consiste en aquellos compuestos de fórmula (I) en los que se aplica una o más de las siguientes restricciones:

a) n es 0, 1 o 2;

b) R^2 es hidrógeno o aril-alquilo de C_{1-6};

c) Z es hidrógeno, alquilo de C_{1-6}, alquil C_{1-6}-oxi, ariloxi, amino, ciano, aril-alquil C_{1-6}-amino o benzotiazolil(alquil C_{1-6})amino o un sistema anular seleccionado de (a-1), (a-2), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10).

Un segundo grupo de compuestos interesantes consiste en aquellos compuestos de fórmula (I) en los que se aplica una o más de las siguientes restricciones:

b) cada X es -CH<;

c) cada Y es independientemente -N< o -NH-;

e) L^2 es un radical bivalente seleccionado de –alquenodiílo de C_{2-6}-, carbonilo o –alcanodiílico de C_{1-6}- sustituido con arilo;

f) R^1 es nitro, halo o amino;

g) R^2 es aril-alquilo de C_{1-6};

h) Z es alquil C_{1-6}-oxi, ariloxi, amino, ciano, aril-alquil C_{1-6}-amino o benzotiazolil(alquil C_{1-6})amino o un sistema anular seleccionado de (a-1), (a-2), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10).

Un tercer grupo de compuestos interesantes consiste en aquellos compuestos de fórmula (I) en los que se aplica una o más de las siguientes restricciones:

a) n es 0, 2 o 3;

c) cada X es -CH<;

d) cada Y es independientemente -CH< o -CH_2-;

f) L^2 es un radical bivalente seleccionado de –alcanodiílo de C_{1-6}-, -alquenodiílo de C_{2-6}-, carbonilo o –alcanodiílo de C_{1-6}- sustituido con un sustituyente seleccionado de hidroxi o arilo;

g) R^1 es nitro, halo o amino;

h) R^2 es alquilo de C_{1-6} o aril-alquilo de C_{1-6};

i) Z es hidrógeno, hidroxi, alquilo de C_{1-6}, alqui C_{1-6}-oxi, ariloxi, amino, ciano, aril-alquil C_{1-6}-amino o benzotiazolil(alquil C_{1-6})amino o un sistema anular seleccionado de (a-1), (a-2), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10).

Un grupo preferido de compuesto consiste en aquellos compuestos de fórmula (I) en los que se aplica una o más de las siguientes restricciones:

a) n es 1 o 2;

b) Q es -C(=O)-;

c) Y es -N<, -NH- o -CH<;

c) L^1 es un enlace directo o el radical bivalente -NH-;

d) L^2 es un enlace directo o un radical bivalente seleccionado de carbonilo, -alcanodiílo de C_{1-6}- o –alcanodiílo de C_{1-6}- sustituido con hidroxi;

e) R^1 es hidrógeno;

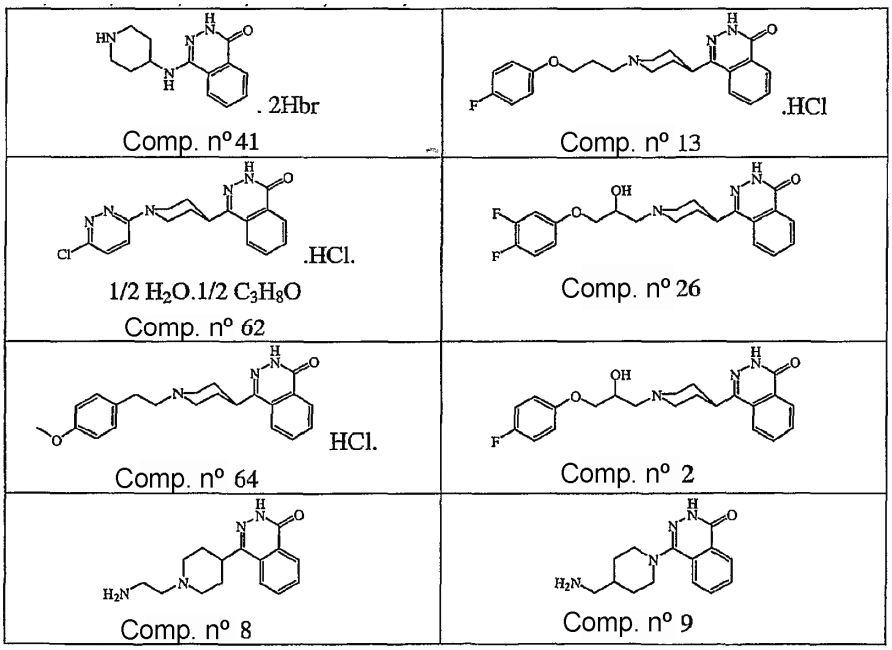
f) R^2 es hidrógeno, aril-alquilo de C_{1-6};

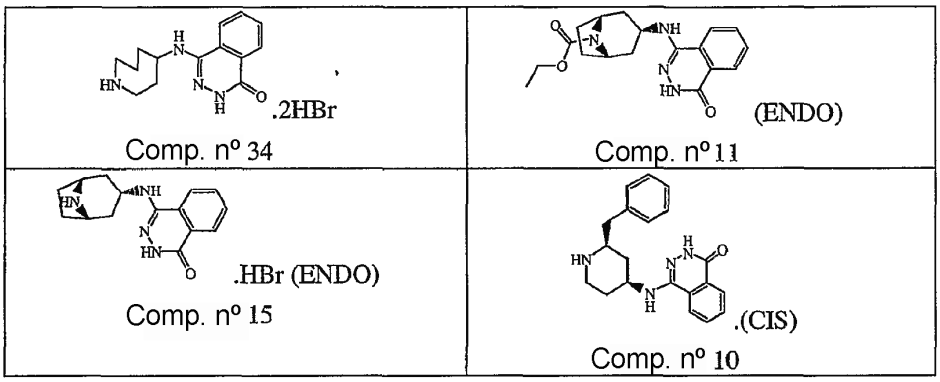
g) Z es hidrógeno, alquil C_{1-6}-oxi, ariloxi, amino, o un sistema anular seleccionado de (a-2) o (a-3);

h) R^4 y R^5 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno o halo.

Un grupo muy preferido de compuestos consiste en aquellos compuestos de fórmula (I) en los que n es 1 o 2; Q es -C(=O)-; Y es -N<, -NH- o -CH<; L^1 es un enlace directo o el radical bivalente -NH-; L^2 es un enlace directo o un radical bivalente seleccionado de carbonilo, -alcanodiílo de C_{1-6}- o –alcanodiílo de C_{1-6}- sustituido con hidroxi; R^1 es hidrógeno; R^2 es hidrógeno, aril-alquilo de C_{1-6}; Z es hidrógeno, alquil C_{1-6}-oxi, ariloxi, amino, o un sistema anular seleccionado de (a-2) o (a-3); y R^4 y R^5 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno o halo.

Los compuestos más preferidos son los compuestos nº 41, nº 13, nº 62, nº 26, nº 64, nº 2, nº 8, nº 9, nº 34, nº 11, nº 15 y nº 10.

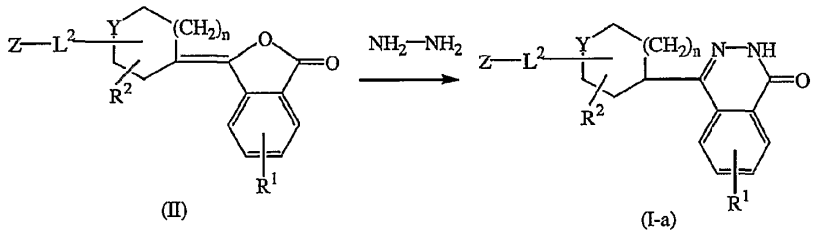




Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar según los métodos generales descritos en el documento EP156433. Los materiales de partida y algunos de los intermedios son compuestos conocidos y están comercialmente disponibles o se pueden preparar según procedimientos de reacción convencionales conocidos generalmente en la técnica.

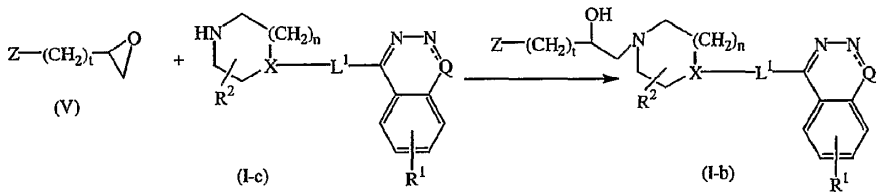
Algunos métodos de preparación se describirán en lo sucesivo en el presente documento con más detalle. Otros métodos para obtener compuestos finales de fórmula (I) se describen en los ejemplos.

Los compuestos de fórmula (I), en la que L^1 es un enlace, X es -CH- y Q es -C(=O)-, denominados en el presente documento como compuestos de fórmula (I-a), se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (II) con hidrazina. La reacción se puede llevar a cabo en un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo metanol, etanol, propanol y similar.



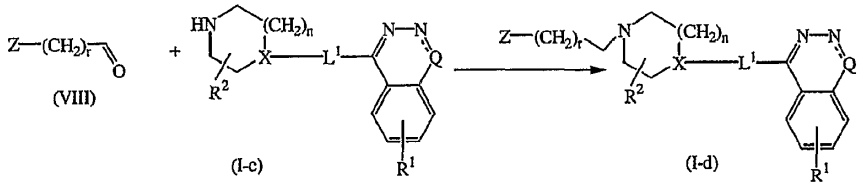
(II) (I-a)

Los compuestos de fórmula (I), en la que Y es -N< y L^2 es el radical bivalente –alcanodiílo de C_{1-6}- sustituido con hidroxi, denominados en el presente documento como compuestos de fórmula (I-b), se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (V), en la que t es un número entero con valor 0, 1, 2, 3 o 4, con un compuesto de fórmula (I), en la que L^2 es un enlace directo y Z es hidrógeno, denominado en el presente documento como compuestos de fórmula (I-c). La reacción se puede llevar a cabo en un disolvente inerte para la reacción tal como, por ejemplo, N,N-dimetilformamida y similar, o un alcohol, por ejemplo propanol y similar. Se puede utilizar la adición de una base apropiada tal como, por ejemplo, un carbonato o hidrogenocarbonato de metal alcalino o alcalino-térreo, por ejemplo trietilamina o carbonato de sodio.



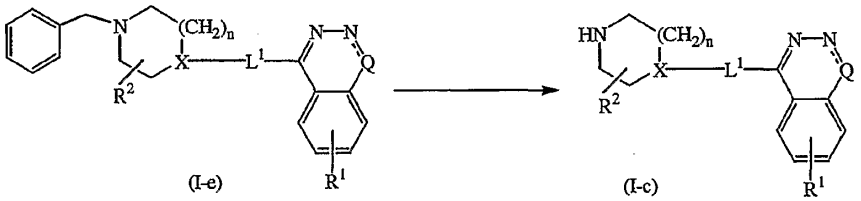
(V) (I-c) (I-b)

Los compuestos de fórmula (I), en la que Y es -N< y L^2 es un radical bivalente opcionalmente sustituido –alcanodiílo de C_{1-6}-, denominados en el presente documento como compuestos de fórmula (I-d), se pueden preparar N-alquilando de forma reductora los compuestos de fórmula (I-c), en la que r es un número entero con valor 0, 1, 2, 3, 4 o 5, con un intermedio carbonílico apropiado de fórmula (VIII). Dicha reacción de N-alquilación reductora se puede llevar a cabo convenientemente hidrogenando catalíticamente una mezcla agitada y calentada de los agentes reaccionantes en un disolvente orgánico adecuado inerte para la reacción según procedimientos de hidrogenación catalítica conocidos en la técnica. Los disolventes adecuados son, por ejemplo, alcoholes, por ejemplo metanol, etanol, 2-propanol y similares; éteres cíclicos, por ejemplo 1,4-dioxano y similares; hidrocarburos halogenados, por ejemplo triclorometano y similares; N,N-dimetilformamida; dimetilsulfóxido y similares; o una mezcla de 2 o más de tales disolventes. La expresión “procedimientos de hidrogenación catalítica conocidos en la técnica” significa que la reacción se lleva a cabo en atmósfera de hidrógeno y en presencia de un catalizador apropiado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón, platino sobre carbón, y similar. A fin de evitar la hidrogenación adicional indeseada de ciertos grupos funcionales en los agentes reaccionantes y en los productos de reacción, puede ser ventajoso añadir un veneno catalítico apropiado a la mezcla de la reacción, por ejemplo tiofeno y similar.

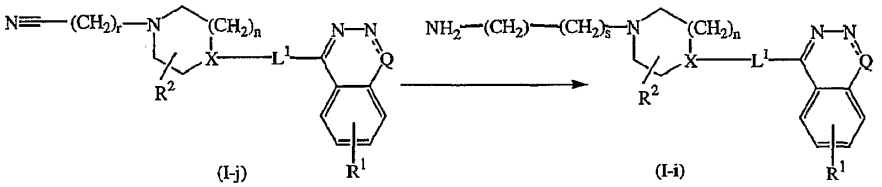


(VIII) (I-c) (I-d)

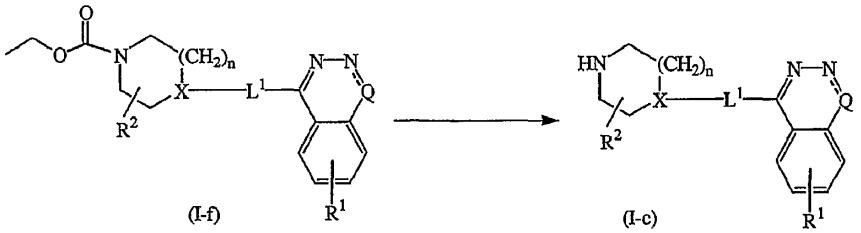
Los procedimientos de hidrogenación catalítica conocidos en la técnica como se describen anteriormente también se pueden utilizar para la preparación de compuestos de fórmula (I-c) (por ejemplo), o de compuestos de fórmula I, en la que L^2 es un enlace directo o el radical bivalente –alcanodiílo de C_{1-6}- y Z es amino, partiendo de compuestos de fórmula (I) en la que Z-L^2- es aril-alquilo de C_{1-6} (por ejemplo) o aril-alquil C_{1-6}-amino, denominados en el presente documento como compuestos de fórmula (I-e).



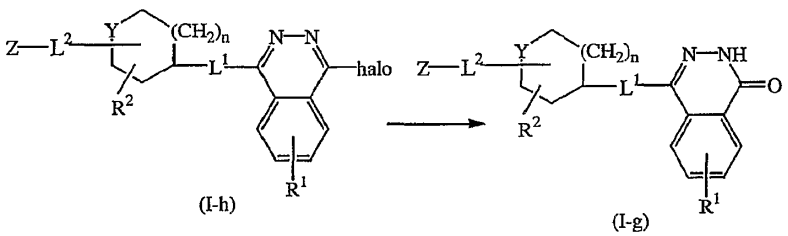
Los procedimientos de hidrogenación catalítica también se pueden utilizar para la preparación de compuestos de fórmula (I) en la que Z-L^2- es amino-alquilo de C_{1-6}, denominados en el presente documento como compuestos de fórmula (I-i), convirtiendo compuestos de fórmula (I) en la que Z-L^2- es ciano-$(CH_2)_r$-, en el que s es un número entero con el valor 1, 2, 3, 4 o 5, denominados en el presente documento como compuestos de fórmula (I-j). La reacción se lleva a cabo en atmósfera de hidrógeno y en presencia de níquel Raney en una mezcla de metanol y amoníaco.



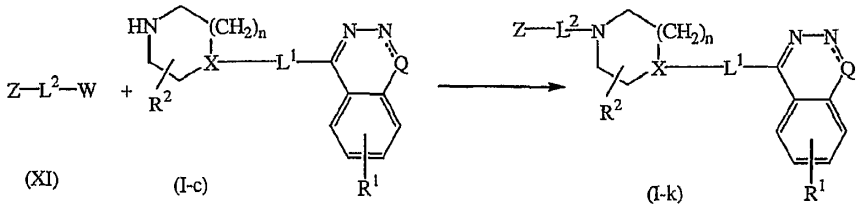
Los compuestos de fórmula (I-c) también se pueden preparar desacilando los compuestos de fórmula (I) en la que Z-L^2- es –alquil C_{1-6}-oxicarbonilo, denominados en el presente documento como compuestos de fórmula (I-f), haciendo reaccionar el material de partida con una disolución ácida o básica apropiada, tal como ácido clorhídrico o bromuro de hidrógeno, en un disolvente adecuado, por ejemplo un alcohol, tal como propanol.



Los compuestos de fórmula (I), en la que Q es -C(=O)-, denominados en el presente documento como compuestos de fórmula (I-g), se pueden preparar convirtiendo los compuestos de fórmula (I), en la que Q es -CR^3-, R^3 es halo, y la línea discontinua representa un enlace, denominados en el presente documento como compuestos de fórmula (I-h), mediante tratamiento de una mezcla de los compuestos de fórmula (I-h), acetato de sodio y ácido acético con una disolución ácida apropiada tal como ácido clorhídrico.

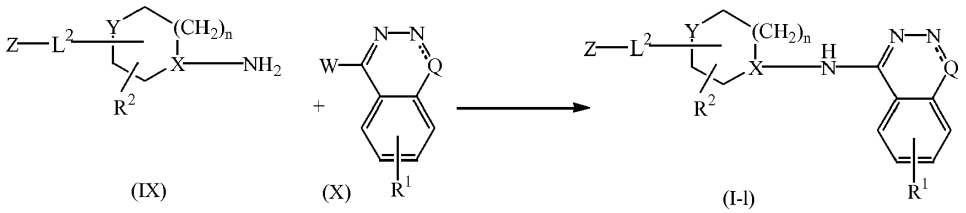


Los compuestos de fórmula (I), en la que Y es -N<, denominados en el presente documento como compuestos de fórmula (I-k), se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (I-c) con un intermedio de fórmula (XI), en la que W es un grupo saliente apropiado tal como, por ejemplo, halo, por ejemplo fluoro, cloro, bromo o yodo, o un radical sulfoniloxi, tal como metilsulfoniloxi, 4-metilfenilsulfoniloxi y similar. La reacción se puede llevar a cabo en un disolvente inerte para la reacción, tal como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo metanol, etanol, 2-metoxi-etanol, propanol, butanol y similar; un éter, por ejemplo 4,4-dioxano, 1,1'-oxibispropano y similar; una cetona, por ejemplo 4-metil-2-pentanona; N,N-dimetilformamida; o nitrobenceno y similar. La adición de una base apropiada, tal como, por ejemplo, un carbonato o hidrogenocarbonato de metal alcalino o alcalino-térreo, por ejemplo trietilamina o carbonato de sodio, se puede utilizar para recoger el ácido que se libera durante el transcurso de la reacción. Para promover la reacción, se puede añadir una pequeña cantidad de un yoduro metálico apropiado, por ejemplo yoduro de sodio o de potasio. La agitación puede potenciar la velocidad de la reacción. La reacción se puede llevar a cabo convenientemente a una temperatura que oscila entre la temperatura ambiente y la temperatura de reflujo de la mezcla de reacción, y, si se desea, la reacción se puede llevar a cabo a una mayor temperatura.



(XI) (I-c) (I-k)

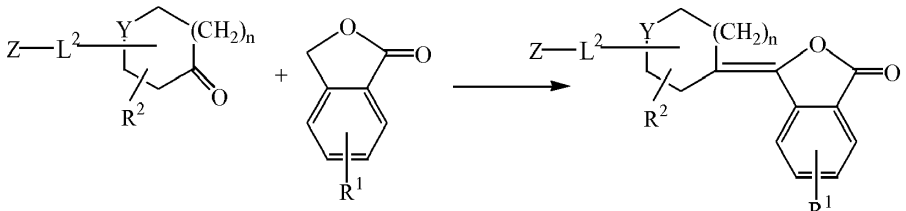
De forma análoga, los compuestos de fórmula (I), en la que X es >N- o L^1 es –alcanodiílo de C_{1-6}-NH-, -NH- (por ejemplo) o -NH-alcanodiílo de C_{1-6}-NH-, denominados en el presente documento como compuestos de fórmula (I-l), se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (IX) con un intermedio de fórmula (X), en la que W es como se describe anteriormente.



(IX) (X) (I-l)

Los compuestos de fórmula (I) también se pueden convertir entre sí vía reacciones conocidas en la técnica o transformaciones de grupos funcionales. Algunas de tales transformaciones ya se describen anteriormente en el presente documento. Otros ejemplos son hidrólisis de ésteres carboxílicos al ácido carboxílico o alcohol correspondiente; hidrólisis de amidas a los ácidos carboxílicos o aminas correspondientes; hidrólisis de nitrilos a las amidas correspondientes; los grupos amino en imidazol o fenilo se pueden sustituir mediante un hidrógeno por reacciones de diazotación conocidas en la técnica y desplazamiento subsiguiente del grupo diazo por hidrógeno; los alcoholes se pueden convertir en ésteres y éteres; las aminas primarias se pueden convertir en aminas secundarias o terciarias; los dobles enlaces se pueden hidrogenar al enlace sencillo correspondiente; un radical yodo en un grupo fenilo se puede convertir en un grupo éster mediante inserción de monóxido de carbono en presencia de un catalizador de paladio adecuado.

Los intermedios de fórmula (II) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermedio de fórmula (III) con una 1(3*H*)-isobenzofuranona adecuada de fórmula (IV) en una mezcla de sodio y un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, un alcohol, por ejemplo etanol y similar.



(III) (IV) (II)

La presente invención se refiere también a compuestos para uso como una medicina, en el que dichos compuestos son compuestos de fórmula (I) como se definen anteriormente.

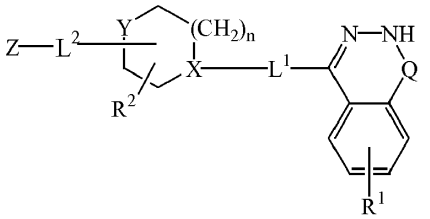
Los compuestos de la presente invención tienen propiedades inhibidoras de PARP, como se puede observar a partir de la parte experimental con posterioridad.

El término “PARP” es usado en el presente documento para indicar una proteína que tiene actividad de poli-ADP-ribosilación. Dentro del significado de este término, PARP abarca todas las proteínas codificadas por un gen parp, sus mutantes y sus proteínas de ayuste alternativas. Adicionalmente, como se usa en el presente documento, el término “PARP” incluye análogos de PARP, homólogos y análogos de otros animales.

El término “PARP” incluye, pero no se limita a, PARP-1. Dentro del significado de este término pueden estar abarcadas PARP-2, PARP-3, Vault-PARP (PARP-4), PARP-7 (TiPARP), PARP-8, PARP-9 (Bal), PARP-10, PARP-11, PARP-12, PARP-13, PARP-14, PARP-15, PARP-16, TANK-1, TANK-2, y TANK-3.

Los compuestos que inhiben tanto PARP-1 como tanquirasa 2 pueden tener propiedades ventajosas en cuanto que tienen actividades aumentadas de inhibición del crecimiento en células cancerosas.

La presente invención contempla también el uso de compuestos en la preparación de un medicamento para el tratamiento de cualquiera de las enfermedades y trastornos en un animal descritos en el presente documento, en el que dichos compuestos son compuestos de fórmula (I)



(I)

las formas de *N*-óxido, las sales de adición farmacéuticamente aceptables o las formas estereoquímicamente isoméricas del mismo, en la que

n es 0, 1, 2 o 3, y cuando n es 0, entonces está previsto un enlace directo;

Q es -C(=O)-;

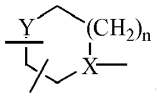
X es -CH< e Y es -N< o -NH-; o X es -N< e Y es -CH< o $-CH_2-$;

L^1 es un enlace directo o -NH-;

L^2 es un enlace directo o un radical bivalente seleccionado de -alcanodiílo de C_{1-6}-, -alquenodiílo de C_{2-6}-, carbonilo o -alcanodiílo de C_{1-6}- sustituido con un sustituyente seleccionado de hidroxi o arilo;

R^1 es hidrógeno, nitro, halo o amino;

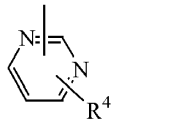
R^2 es hidrógeno, alquilo de C_{1-6} o aril-alquilo de C_{1-6}; el resto central



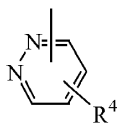
también puede estar en puente (es decir, formando un resto bicíclico) con un puente de etileno;

Z es hidrógeno, hidroxi, alquilo de C_{1-6}, alquil C_{1-6}-oxi, ariloxi, amino, ciano, aril-alquil C_{1-6}-amino o benzotiazolil(alquil C_{1-6})amino o

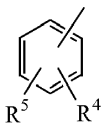
un sistema anular seleccionado de



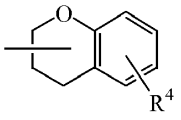
(a-1)



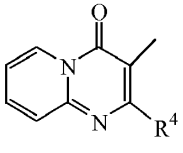
(a-2)



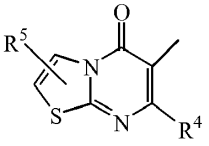
(a-3)



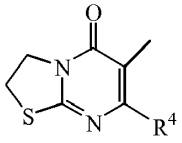
(a-4)



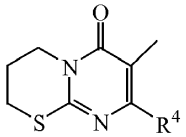
(a-5)



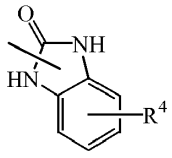
(a-6)



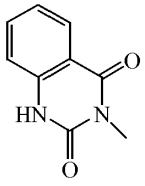
(a-7)



(a-8)



(a-9)



(a-10)

en los que R^4 y R^5 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, halo, alquilo de C_{1-6}, alquil C_{1-6}-oxi o trihalometilo; y

arilo es fenilo, o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, alquilo de C_{1-6} o alquil C_{1-6}-oxi.

En vista de sus propiedades de unión a PARP, los compuestos de la presente invención pueden ser usados como compuestos de referencia o compuestos trazadores, en cuyo caso uno de los átomos de la molécula puede ser sustituido, por ejemplo, con un isótopo radioactivo.

Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, una cantidad eficaz de un compuesto particular, en forma sal de adición de base o de ácido, como el ingrediente activo, se combina en mezcla íntima con un vehículo farmacéuticamente aceptable, vehículo que puede tomar una gran variedad de formas, dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas están deseablemente en una forma de dosificación unitaria adecuada, preferentemente para una administración por vía oral, rectal, percutánea o mediante inyección parenteral. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, se puede usar cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y disoluciones; o vehículos sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso, se emplean obviamente vehículos farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales, el vehículo comprenderá habitualmente agua esterilizada, al menos en gran parte, aunque se pueden incluir otros ingredientes, por ejemplo para ayudar a la solubilidad. Se pueden preparar, por ejemplo, disoluciones inyectables en las que el vehículo comprende disolución salina, disolución de glucosa o una mezcla de disolución salina y de glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear vehículos líquidos apropiados, agentes de suspensión y similares. En las composiciones adecuadas para administración percutánea, el vehículo comprende opcionalmente un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, combinado opcionalmente con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones minoritarias, aditivos que no producen un efecto perjudicial significativo a la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de diversas formas, por ejemplo, en forma de un parche transdérmico, en forma de unción dorsal puntual, o en forma de una pomada. Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en una forma de dosificación unitaria para facilidad de administración y uniformidad de la dosificación. Forma de dosificación unitaria, como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones en el presente documento, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada del ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado junto con el vehículo farmacéutico requerido. Algunos ejemplos de tales formas de dosificación unitaria son comprimidos (incluyendo comprimidos ranurados o revestidos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvos, obleas, disoluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y múltiplos segregados de las mismas.

Los compuestos de la presente invención pueden tratar o prevenir el daño tisular resultante del daño o la muerte celular debidos a necrosis o apoptosis; pueden mejorar el daño tisular neuronal o cardiovascular, incluyendo el que sigue a isquemia focal, infarto del miocardio, y lesión por reperfusión; pueden tratar diversas enfermedades y afecciones causadas o exacerbadas por la actividad de PARP; pueden prolongar o aumentar la longevidad o la capacidad proliferativa de las células; pueden alterar la expresión génica de células senescentes; pueden radiosensibilizar y/o quimiosensibilizar células. Generalmente, la inhibición de la actividad de PARP evita la pérdida de energía de las células, previniendo, en el caso de las células neuronales, la despolarización irreversible de las neuronas y, de ese modo, proporciona neuroprotección.

Por las razones anteriores, la presente invención también se refiere a un método para la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos identificados anteriormente en una cantidad suficiente para inhibir la actividad de PARP, para tratar o prevenir el daño tisular resultante del daño o la muerte celular debidos a necrosis o apoptosis, para efectuar una actividad neuronal no mediada mediante toxicidad por NMDA, para efectuar una actividad neuronal mediada mediante toxicidad por NMDA, para tratar daño tisular neuronal resultante de isquemia y lesión por reperfusión, trastornos neurológicos y enfermedades neurodegenerativas; para prevenir o tratar apoplejía vascular; para tratar o prevenir trastornos cardiovasculares; para tratar otras afecciones y/o trastornos tales como degeneración muscular relacionada con la edad, SIDA u otras enfermedades de senescencia inmune, inflamación, gota, artritis, aterosclerosis, caquexia, cáncer, enfermedades degenerativas del músculo esquelético que implican senescencia replicativa, diabetes, traumatismos de la cabeza, trastornos inflamatorios intestinales (tales como colitis y enfermedad de Crohn), distrofia muscular, osteoartritis, osteoporosis, dolor crónico y/o agudo (tal como dolor neuropático), insuficiencia renal, isquemia retiniana, choque séptico (tal como choque endotóxico), y envejecimiento de la piel, para prolongar la longevidad y la capacidad proliferativa de las células; para alterar la expresión génica de células senescentes; radiosensibilizar y/o quimiosensibilizar células tumorales (hipóxicas). La presente descripción también se refiere al tratamiento de enfermedades y afecciones en un animal, que comprende administrar a dicho animal una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos identificados anteriormente.

En particular, la presente descripción se refiere a un método para el tratamiento, prevención o inhibición de un trastorno neurológico en un animal, que comprende administrar a dicho animal una cantidad terapéuticamente eficaz

de los compuestos identificados anteriormente. El trastorno neurológico se selecciona del grupo que consiste en neuropatía periférica causada por lesión física o patología, lesión cerebral traumática, daño físico en la espina dorsal, apoplejía asociada con daño cerebral, isquemia focal, isquemia global, lesión por reperfusión, enfermedad desmielinizante y trastorno neurológico relacionado con neurodegeneración.

La presente invención también contempla los compuestos de fórmula (I) para uso en inhibir la actividad de PARP, para tratar, prevenir o inhibir el daño tisular resultante del daño o la muerte celular debidos a necrosis o apoptosis, para tratar, prevenir o inhibir un trastorno neurológico en un animal.

La expresión “prevenir la neurodegeneración” incluye la capacidad de prevenir la neurodegeneración en pacientes a los que se ha diagnosticado recientemente que tienen una enfermedad neurodegenerativa, o en riesgo de desarrollar una nueva enfermedad degenerativa, y para prevenir además la neurodegeneración en pacientes que ya padecen, o tienen síntomas, de una enfermedad neurodegenerativa.

El término “tratamiento”, como se usa en el presente documento, cubre cualquier tratamiento de una enfermedad y/o afección en un animal, particularmente un ser humano, e incluye: (i) prevenir que se produzca una enfermedad y/o afección en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad y/o afección pero al que aún no se ha diagnosticado que la tiene; (ii) inhibir la enfermedad y/o afección, es decir, detener su desarrollo; (iii) aliviar la enfermedad y/o afección, es decir, causar la regresión de la enfermedad y/o afección.

El término “radiosensibilizador”, como se usa en el presente documento, se define como una molécula, preferiblemente una molécula de bajo peso molecular, administrada a animales en cantidades terapéuticamente eficaces para aumentar la sensibilidad de las células a la radiación ionizante y/o para promover el tratamiento de enfermedades que son tratables con radiación ionizante. Las enfermedades que son tratables con radiación ionizante incluyen enfermedades neoplásicas, tumores benignos y malignos, y células cancerosas. La presente invención también contempla el tratamiento mediante radiación ionizante de otras enfermedades no enumeradas en el presente documento.

El término “quimiosensibilizador”, como se usa en el presente documento, se define como una molécula, preferiblemente una molécula de bajo peso molecular, administrada a animales en cantidades terapéuticamente eficaces para aumentar la sensibilidad de las células a la quimioterapia y/o promover el tratamiento de enfermedades que son tratables con compuestos quimioterapéuticos. Las enfermedades que son tratables con quimioterapia incluyen enfermedades neoplásicas, tumores benignos y malignos y células cancerosas. La presente invención también contempla el tratamiento mediante quimioterapia de otras enfermedades no enumeradas en el presente documento.

Los compuestos, las composiciones y los métodos son particularmente útiles para tratar o prevenir el daño tisular que resulta del daño o la muerte celular debidos a necrosis o apoptosis.

Los compuestos de la presente invención pueden ser “agentes contra el cáncer”, expresión la cual también engloba “agentes anticrecimiento de células tumorales” y “agentes antineoplásicos”. Por ejemplo, los métodos de la invención son útiles para tratar cánceres y quimiosensibilizar y/o radiosensibilizar células tumorales en cánceres tales como tumores productores de ACTH, leucemia linfocítica aguda, leucemia aguda no linfocítica, cáncer de la corteza suprarrenal, cáncer de vejiga, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer del cuello uterino, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielocítica crónica, cáncer colorrectal, linfoma cutáneo de linfocitos T, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, sarcoma de Ewing, cáncer de vesícula, tricoleucemia, cáncer de la cabeza y el cuello, linfoma de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón (microcítico y/o no microcítico), efusión peritoneal maligna, efusión pleural maligna, melanoma, mesotelioma, mieloma múltiple, neuroblastoma, linfoma no de Hodgkin, osteosarcoma, cáncer de ovario, cáncer de ovario (células germinales), cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer de pene, retinoblastoma, cáncer de piel, sarcoma de tejidos blandos, carcinomas de células escamosas, cáncer de estómago, cáncer de testículo, cáncer de tiroides, neoplasias trofoblásticas, cáncer de útero, cáncer de vagina, cáncer de la vulva y tumor de Wilm.

Por lo tanto, los compuestos de la presente invención se pueden usar como “radiosensibilizadores” y/o “quimiosensibilizadores”.

Se sabe que los radiosensibilizadores aumentan la sensibilidad de las células cancerosas a los efectos tóxicos de la radiación ionizante. En la bibliografía se han sugerido varios mecanismos para el modo de acción de los radiosensibilizadores, incluyendo: los radiosensibilizadores de células hipóxicas (por ejemplo, compuestos de 2-nitroimidazol, y compuestos de dióxido de benzotriazina) que imitan el oxígeno o alternativamente se comportan como agentes biorreductores en condiciones de hipoxia; los radiosensibilizadores de células no hipóxicas (por ejemplo, pirimidinas halogenadas) pueden ser análogos de bases de ADN y se incorporan preferentemente al ADN de las células cancerosas y promueven de ese modo la ruptura inducida por la radiación de las moléculas de ADN y/o evitan los mecanismos de reparación normales del ADN; y se han formulado hipótesis de otros mecanismos de acción potenciales diversos para los radiosensibilizadores en el tratamiento de enfermedades.

En la actualidad, numerosos protocolos de tratamiento de cáncer emplean radiosensibilizadores junto con radiación de rayos X. Algunos ejemplos de radiosensibilizadores activados por rayos X incluyen, pero no se limitan a, los

siguientes: metronidazol, misonidazol, desmetilmisonidazol, pimonidazol, etanidazol, nimorazol, mitomicina C, RSU 1069, SR 4233, EO9, RB 6145, nicotinamida, 5-bromodesoxiuridina (BUdR), 5-yododesoxiuridina (IUdR), bromodesoxicitidina, fluorodesoxiuridina (FudR), hidroxiurea, cisplatino, y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos.

La terapia fotodinámica (PDT) de cánceres emplea luz visible como activador de radiación del agente sensibilizador. Algunos ejemplos de radiosensibilizadores fotodinámicos incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: derivados de hematoporfirina, fotofrina, derivados de benzoporfirina, etioporfirina de estaño, feoborbida-a, bacterioclorofila-a, naftalocianinas, ftalocianinas, ftalocianina de cinc, y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos.

Los radiosensibilizadores se pueden administrar junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos distintos, que incluyen, pero no se limitan a: compuestos que promueven la incorporación de los radiosensibilizadores a las células diana; compuestos que controlan el flujo de compuestos terapéuticos, nutrientes, y/u oxígeno a las células diana; agentes quimioterapéuticos que actúan en el tumor con o sin radiación adicional; u otros compuestos terapéuticamente eficaces para tratar cáncer u otra enfermedad. Algunos ejemplos de agentes terapéuticos adicionales que se pueden usar junto con los radiosensibilizadores incluyen, pero no se limitan a: 5-fluorouracilo, leucovorina, 5'-amino-5'desoxitimidina, oxígeno, carbógeno, transfusiones de glóbulos rojos, perfluorocarbonos (por ejemplo, Fluosol 10 DA), 2,3-DPG, BW12C, bloqueantes de los canales de calcio, pentoxifilina, compuestos antiangiogénicos, hidralazina, y LBSO. Algunos ejemplos de agentes quimioterapéuticos que se pueden usar junto con radiosensibilizadores incluyen, pero no se limitan a: adriamicina, camptotecina, carboplatino, cisplatino, daunorrubicina, docetaxel, doxorrubicina, interferón (alfa, beta, gamma), interleucina 2, irinotecán, paclitaxel, topotecán, y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos.

Los quimiosensibilizadores se pueden administrar junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de otros compuestos, que incluyen, pero no se limitan a: compuestos que promueven la incorporación de los quimiosensibilizadores a las células diana; compuestos que controlan el flujo de compuestos terapéuticos, nutrientes, y/u oxígeno a las células diana; agentes quimioterapéuticos que actúan en el tumor u otros compuestos terapéuticamente eficaces para tratar cáncer u otra enfermedad. Algunos ejemplos de agentes terapéuticos adicionales que se pueden usar junto con los quimiosensibilizadores incluyen, pero no se limitan a: agentes de metilación, inhibidores de la topoisomerasa I y otros agentes quimioterapéuticos tales como cisplatino y bleomicina.

Los compuestos de fórmula (I) también se pueden usar para detectar o identificar la PARP, y más en particular el receptor de PARP-1. Para este fin, los compuestos de fórmula (I) se pueden marcar. Dicho marcador se puede seleccionar del grupo que consiste en un radioisótopo, marcador de espín, marcador antigénico, marcador enzimático, grupo fluorescente o un grupo quimioluminiscente.

Los expertos en la técnica podrían determinar fácilmente la cantidad eficaz a partir de los resultados de los ensayos que se presentan posteriormente en el presente documento. En general, se contempla que una cantidad eficaz podría ser de 0,001 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal, y en particular de 0,005 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Puede ser apropiado administrar la dosis requerida en forma de dos, tres, cuatro o más subdosis en intervalos apropiados a lo largo del día. Dichas subdosis se pueden formular como formas de dosificación unitaria que contienen, por ejemplo, 0,05 a 500 mg, y en particular 0,1 mg a 200 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

Los siguientes ejemplos ilustran la presente invención.

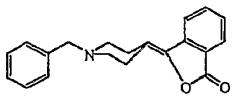
Parte experimental

En lo sucesivo en el presente documento, “DCM” se define como diclorometano, “DIPE” se define como éter diisopropílico, “DMF” se define como *N,N*-dimetilformamida, “EtOH” se define como etanol, “EtOAc” se define como acetato de etilo, “MeOH” se define como metanol y “TEA” se define como trietilamina, “THF” se define como tetrahidrofurano.

A. Preparación de los compuestos intermedios

Ejemplo A1

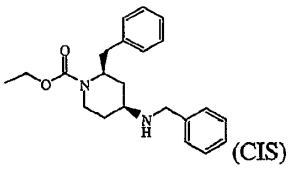
Preparación del intermedio 1



Se añadieron 1-(fenilmetil)-4-piperidinona (0,2 moles) y 1(3*H*)-isobenzofuranona (0,2 moles) a una mezcla disuelta de sodio (0,2 moles) en EtOH absoluto (400 ml). La mezcla se calentó hasta reflujo y se puso a reflujo toda la noche. La mezcla se evaporó, se añadió agua y se extrajo con tolueno. La capa acuosa se neutralizó con ácido acético y se extrajo con DCM. La capa orgánica se secó, se separó por filtración y se evaporó, produciendo 30,3 g (51,7%) de intermedio 1.

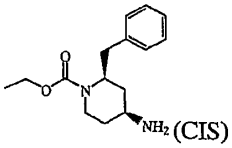
Ejemplo A2

a) Preparación del intermedio 2



Se añadió tetraquis(isopropanolato)titanio (50 ml) a temperatura ambiente a una mezcla de éster etílico del ácido 4-oxo-2-(fenilmetil)-1-piperidincarboxílico (0,14 moles) y bencilamina (0,14 moles) en EtOH (300 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. Se añadió una disolución de hidroborato de sodio (5,3 g) en EtOH (150 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se hidrolizó con agua, se filtró a través de celita y se evaporó. El residuo se recogió en DCM y se lavó con agua. La capa orgánica se separó, se secó ($MgSO_4$), se filtró, y el disolvente se evaporó. El residuo (38,5 g) se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (20-45 μm) (eluyente: ciclohexano/EtOAc 60/40). Las fracciones puras se recogieron, y el disolvente se evaporó, produciendo 10 g (27%) de intermedio 2.

b) Preparación del intermedio 3

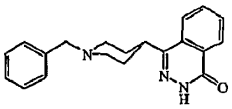


El intermedio 2 (0,0571 moles) en EtOH (300 ml) se hidrogenó a 50ºC con Pd/C (10 g) como catalizador durante una noche bajo una presión de 3 bares en un aparato Parr. Tras la captación de H_2 (1 eq.), el catalizador se filtró a través de celita, se lavó con EtOH, y el filtrado se evaporó, produciendo 13,4 g (93%) de intermedio 3.

B. Preparación de los compuestos finales

Ejemplo B1

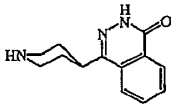
Preparación del compuesto 1



Una mezcla de intermedio 1 (0,098 moles) y monohidrato de hidrazina, (0,22 moles) en EtOH (350 ml) se agitó y se puso a reflujo toda la noche. La mezcla se evaporó, se añadió agua y se extrajo con DCM. La capa orgánica se secó, se separó por filtración y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: $CHCl_3$/MeOH 98,5/1,5). Las fracciones puras se recogieron y se evaporaron. Una parte (2,5 g) del residuo (10,5 g, 33,5%) se cristalizó en 2-propanol, produciendo 1,5 g (20,1%) de compuesto 1, punto de fusión 222ºC.

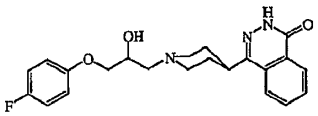
Ejemplo B2

a) Preparación del compuesto 23



Una mezcla de compuesto 1 (0,028 moles) en MeOH (150 ml) se hidrogenó con Pd/C al 10% (2 g) como catalizador a 50ºC. Tras la captación de H_2 (1 eq.), el catalizador se filtró sobre Hyflo, y el filtrado se evaporó, produciendo 6,8 g (100%) de compuesto 23.

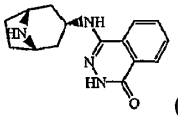
b) Preparación del compuesto 2



Una mezcla de [(4-fluorofenoxi)metil]-oxirano (0,011 moles) y compuesto 23 (0,01 moles) en 2-propanol (150 ml) se agitó y se puso a reflujo toda la noche. La mezcla se enfrió con agitación y se cristalizó. El precipitado se separó por filtración y se secó, produciendo 2,4 g (60,3%) de compuesto 2, punto de fusión 226,9ºC.

Ejemplo B3

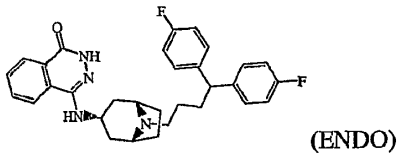
a) Preparación del compuesto 15



(ENDO) .HBr (1:1)

Una mezcla de compuesto 11 (0,08 moles) en ácido bromhídrico acuoso al 48 % (400 ml) se agitó y se puso a reflujo durante 30 min. El disolvente se evaporó. El residuo se agitó en 2-propanol (300 ml), se separó por filtración y se secó. Una parte (2 g) del residuo (28 g) se recristalizó en MeOH. El precipitado se separó por filtración y se secó, produciendo 0,8 g (40%) de compuesto 15, aislado como una sal de ácido bromhídrico, punto de fusión >299ºC.

b) Preparación del compuesto 3



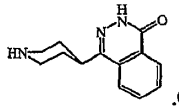
(ENDO)

$.C_4H_4O_4.\ H_2O$

Una mezcla de 4-fluoro-γ-(4-fluorofenil)-bencenobutanal (0,045 moles), compuesto 15 (0,045 moles) y acetato de potasio (6 g) en MeOH (250 ml) se hidrogenó, toda la noche a 50ºC, con Pd/C al 10% (3 g) como catalizador en presencia de una disolución al 4% de tiofeno (1 ml). Tras la captación de H_2 (1 equiv.), el catalizador se separó por filtración, y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en DCM. La disolución orgánica se lavó con amoníaco acuoso, se secó ($MgSO_4$), se filtró, y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: DCM/MeOH 96/4). Las fracciones deseadas se recogieron, y el disolvente se evaporó. Una parte (3 g) del residuo (18 g, 78%) se disolvió en 2-propanol y se convirtió en la sal del ácido (E)-2-butenodioico (1:1). El precipitado se separó por filtración y se secó, produciendo 2,9 g (60%) de compuesto 3, punto de fusión 164,4ºC.

Ejemplo B4

Preparación del compuesto 4

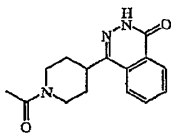


$.C_4H_4O_4$ (2:1) $.H_2O$ (2:1)

Una mezcla de compuesto 1 (0,028 moles) en MeOH (150 ml) se hidrogenó con Pd/C al 10% (2 g) como catalizador a 50ºC. Tras la captación de H_2 (1 eq.), el catalizador se separó por filtración, y el filtrado se evaporó. Una parte (1,5 g) del residuo (6,8 g, 100%) se disolvió en 2-propanol y se convirtió en la sal del ácido (E)-2-butenodioico (2:1) en 2-propanol, produciendo 0,7 g (37,2%) de compuesto 4, punto de fusión 264,9ºC.

Ejemplo B5

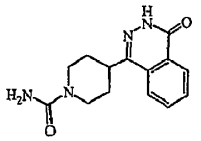
Preparación del compuesto 5



Se añadió anhídrido de ácido acético (0,00523 moles) gota a gota a temperatura ambiente a una mezcla de compuesto 4 (0,00436 moles) y TEA (0,00872 moles) en DCM (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se vertió en agua con hielo. Se añadió DCM. La mezcla se acidificó con HCl 1N y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se basificó con carbonato de potasio al 10%, se secó ($MgSO_4$), se filtró, y el disolvente se evaporó. El residuo (1 g, 85%) se cristalizó en acetonitrilo. El precipitado se separó por filtración y se secó a vacío, produciendo 0,88 g (75%) de compuesto 5, punto de fusión 222ºC.

Ejemplo B6

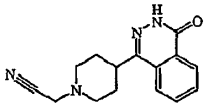
Preparación del compuesto 6



Se añadió isocianatotrimetil-silano (0,00523 moles) gota a gota a temperatura ambiente a una mezcla de compuesto 4 (0,00436 moles) en DCM (20 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El disolvente se evaporó hasta sequedad. El residuo se recogió en MeOH caliente. El precipitado se separó por filtración y se secó a vacío. El residuo (0,8 g, 67%) se recogió en MeOH y DCM. La mezcla se agitó. El precipitado se separó por filtración y se secó a vacío, produciendo 0,55 g (46%) de compuesto 6, punto de fusión >300ºC.

Ejemplo B7

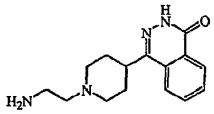
Preparación del compuesto 7



Una mezcla de compuesto 4 (0,013 moles), cloro-acetonitrilo (0,014 moles) y carbonato de sodio (0,065 moles) en DMF (150 ml) se agitó a 70ºC durante 3 horas, se enfrió, se vertió en agua con hielo y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó ($MgSO_4$), se filtró, y el disolvente se evaporó hasta sequedad. El residuo (6,1 g) se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH_4OH 98/2/0,1). Las fracciones puras se recogieron, y el disolvente se evaporó. El residuo se recogió en MeOH. El precipitado se separó por filtración y se secó, produciendo 0,33 g (10%) de compuesto 7, punto de fusión 259ºC.

Ejemplo B8

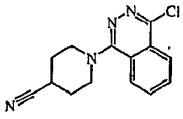
Preparación del compuesto 8



Una mezcla de compuesto 7 (0,0027 moles) en MeOH/NH_3 7N (30 ml) se hidrogenó bajo una presión de 3 bares durante 24 horas con níquel Raney (0,73 g) como catalizador. Tras la captación de H_2 (2 equiv.), el catalizador se filtró a través de celita, y el filtrado se evaporó. El residuo (0,48 g) se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH_4OH 85/14/1 hasta 83/15/2). Las fracciones puras se recogieron, y el disolvente se evaporó. El residuo se cristalizó en éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó, produciendo 0,3 g (40,5%) de compuesto 8, punto de fusión 202ºC.

Ejemplo B9

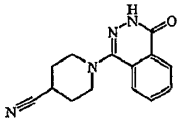
a) Preparación del compuesto 17



(Referencia)

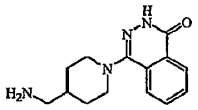
Una mezcla de 1,4-dicloroftalazina (0,05 moles), monohidrocloruro de 4-piperidincarbonitrilo (0,045 moles) y carbonato de sodio (0,301 moles) en DMF (100 ml) se agitó a 130ºC durante 5 horas, se vertió en agua con hielo y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó ($MgSO_4$), se filtró, y el disolvente se evaporó hasta sequedad. El residuo (16 g) se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (20-45 μm) (eluyente: DCM/MeOH 98/2). Las fracciones puras se recogieron, y el disolvente se evaporó, produciendo 7,5 g (61,1%) de compuesto 17.

b) Preparación del compuesto 18



Una mezcla de compuesto 17 (0,024 moles) y acetato de sodio (0,036 moles) en ácido acético (77 ml) se agitó y se puso a reflujo durante 2 horas. El disolvente se evaporó hasta sequedad. El residuo se recogió en agua. La mezcla se basificó con carbonato de potasio sólido. Se añadió DCM. Se separó un sólido por filtración y se secó, produciendo 4,67 g (76%) de compuesto 18, punto de fusión 253ºC.

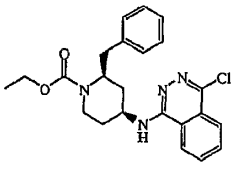
Preparación del compuesto 9



Una mezcla de compuesto 18 (0,016 moles) en MeOH/NH_3 7N (150 ml) se hidrogenó a temperatura ambiente bajo una presión de 3 bares durante 18 horas con níquel Raney (4,2 g) como catalizador. Tras la captación de H_2 (2 equiv.), el catalizador se filtró a través de celita, y el filtrado se evaporó hasta sequedad. El residuo (5,3 g) se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH_4OH 88/12/1). Las fracciones puras se recogieron, y el disolvente se evaporó. El residuo se cristalizó en DIPE. El precipitado se separó por filtración y se secó, produciendo: 2,8 g (67,7%) de compuesto 9, punto de fusión 182ºC.

Ejemplo B10

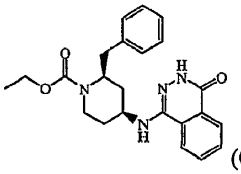
a) Preparación del compuesto 19



(CIS) (Referencia)

Una mezcla de 1,4-dicloroftalazina (0,00502 moles), intermedio 3 (0,00452 moles) y carbonato de sodio (0,01004 moles) en DMF (15 ml) se agitó a 130ºC durante 5 horas, se llevó hasta la temperatura ambiente, se vertió en agua con hielo y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó ($MgSO_4$), se filtró, y el disolvente se evaporó. El residuo (1,2 g) se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH_4OH 99/1/0,1 hasta 85/15/0,1). Las fracciones puras se recogieron, y el disolvente se evaporó. El residuo (0,7 g, 33%) se cristalizó en acetonitrilo y éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó a vacío, produciendo 0,32 g (15%) de compuesto 19, punto de fusión 161ºC.

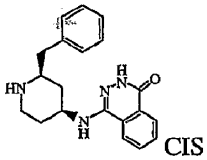
b) Preparación del compuesto 16



(CIS)

Una mezcla de compuesto 19 (0,0087 moles) y acetato de sodio (0,01306 moles) en ácido acético (40 ml) se agitó y se puso a reflujo durante 4 horas. El disolvente se evaporó hasta sequedad. Se añadió ácido clorhídrico al 10% (40 ml). La mezcla se agitó y se puso a reflujo durante 1 hora y después se llevó hasta la temperatura ambiente. Se añadió DCM. La mezcla se basificó con disolución diluida de NH_4OH y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó ($MgSO_4$), se filtró, y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 μm) (eluyente: DCM/MeOH 97,5/2,5). Las fracciones deseadas se recogieron, y el disolvente se evaporó. El residuo (1,4 g, 40%) se cristalizó en éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó a vacío, produciendo 0,95 g (27%) de compuesto 16, punto de fusión 140ºC.

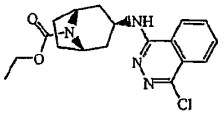
c) Preparación del compuesto 10


CIS

Una mezcla de compuesto 16 (0,00492 moles) en HCl 12N (50 ml) se agitó y se puso a reflujo toda la noche y después se llevó hasta la temperatura ambiente. El disolvente se evaporó hasta sequedad. El residuo se recogió en EtOAc. La mezcla se basificó con carbonato de potasio al 10% y se extrajo con EtOAc y una pequeña cantidad de EtOH. La capa orgánica se separó, se secó ($MgSO_4$), se filtró, y el disolvente se evaporó. El residuo se recogió en acetonitrilo. El precipitado se separó por filtración y se secó a vacío, produciendo 1,29 g (79%) de compuesto 10, punto de fusión 238ºC.

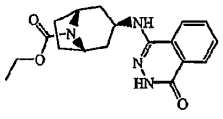
Ejemplo B11

a) Preparación del compuesto 24


(ENDO) (Referencia)

Una mezcla de éster etílico del ácido 3-amino-8-azabiciclo[3,2,1]octano-8-carboxílico (0,25 moles), 1,4-dicloroftalazina (0,25 moles) y carbonato de sodio (0,25 moles) en DMF (600 ml) se agitó durante 4 horas a 130ºC. La mezcla de reacción se enfrió y se vertió en agua. El precipitado se separó por filtración, se lavó con agua, y después se disolvió en DCM. La disolución orgánica se secó ($MgSO_4$), se filtró, y el disolvente se evaporó. El residuo se cristalizó en 2-propanol/DIPE. El precipitado se separó por filtración y se secó, produciendo 65 g (72%) de compuesto 24.

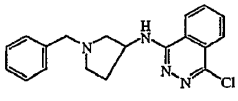
b) Preparación del compuesto 11


(ENDO)

Una mezcla de compuesto 24 (0,16 moles) y acetato de sodio (0,16 moles) en ácido acético (800 ml) se agitó y se puso a reflujo durante 5 horas. El disolvente se evaporó. Se añadió ácido clorhídrico al 10% (800 ml) al residuo, y la mezcla de reacción se agitó y se puso a reflujo durante 1 hora, después se enfrió a temperatura ambiente y el precipitado resultante se separó por filtración, se lavó con agua, y después se secó. Una parte (4 g) del residuo (30 g) se cristalizó en 2-propanol. El precipitado se separó por filtración y se secó, produciendo 2,5 g (34%) de compuesto 11, punto de fusión 218,6ºC.

Ejemplo B12

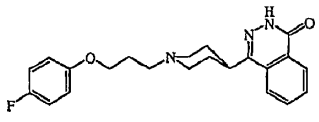
Preparación del compuesto 12


. HCl (1:2) .H2O (1:1) (Referencia)

Una mezcla de 1,4-dicloroftalazina (0,13 moles), 1-(fenilmetil)-3-pirrolidinamina (0,12 moles) y carbonato de sodio (0,26 moles) en DMF (150 ml) se agitó en N_2 a 130ºC durante 4 horas. La mezcla se enfrió, se vertió en hielo y se extrajo con DCM. La capa orgánica se lavó con una disolución saturada de NaCl, se secó ($MgSO_4$), se separó por filtración y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: DCM/MeOH 100/0 hasta 97/3). Las fracciones puras se recogieron y se evaporaron. Una parte del residuo (38 g, 93,5%) se disolvió en 2-propanol y se convirtió en la sal del ácido clorhídrico (1:2) en 2-propanol, produciendo 2,43 g de compuesto 12, punto de fusión 171,8ºC.

Ejemplo B13

Preparación del compuesto 13

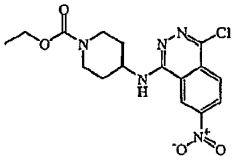


.HCl (1:1)

Una mezcla de 1-(3-cloropropoxi)-4-fluoro-benceno (0,025 moles), compuesto 23 (0,02 moles) y carbonato de sodio (0,06 moles) en DMF (150 ml) se agitó a 60ºC durante 12 h. La mezcla se enfrió, se vertió en agua con hielo, se acidificó con HCl y se neutralizó con NH_3. El precipitado se separó por filtración y se cristalizó en MeOH. El precipitado se separó por filtración y se secó a 60ºC. El residuo (2,1 g) se convirtió en la sal del ácido clorhídrico (1:1) en 2-propanol. El precipitado se separó por filtración y se lavó con 2-propanol y DIPE. El residuo se secó a temperatura ambiente, produciendo 1,2 g (14,4%) de compuesto 13, punto de fusión 227,6ºC.

Ejemplo B14

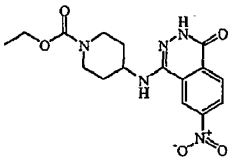
a) Preparación del compuesto 20



(Referencia)

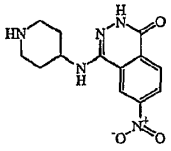
Una mezcla de 1,4-dicloro-6-nitro-ftalazina (0,0557 moles), éster etílico del ácido 4-amino-1-piperidincarboxílico (0,0501 moles) y carbonato de sodio (0,0836 moles) en DMF (150 ml) se agitó a 130ºC toda la noche y después se llevó hasta la temperatura ambiente. El disolvente se evaporó hasta sequedad. El residuo se recogió en DCM. La mezcla se vertió en agua con hielo y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó ($MgSO_4$), se filtró, y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (20-45 μm) (eluyente: DCM/MeOH/NH_4OH 98/2/0,4). Las fracciones puras se recogieron, y el disolvente se evaporó. El residuo (6,5 g) se cristalizó en éter dietílico. El precipitado se separó por filtración y se secó a vacío, produciendo 6,2 g (29%) de compuesto 20, punto de fusión 199ºC.

b) Preparación del compuesto 21



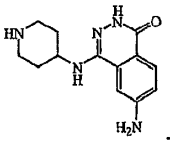
Una mezcla de compuesto 20 (0,0155 moles) y acetato de sodio (0,0233 moles) en ácido acético (50 ml) se agitó y se puso a reflujo durante 3 horas. El disolvente se evaporó hasta sequedad. Se añadió ácido clorhídrico al 10% (50 ml). La mezcla se agitó y se puso a reflujo durante 1 hora, se llevó hasta la temperatura ambiente, se vertió en agua con hielo, se basificó con una disolución concentrada de NH_4OH y se agitó. El precipitado se separó por filtración, se lavó con agua, se lavó con 2-propanona y con éter dietílico y se secó a vacío, produciendo 5,3 g (95%) de compuesto 21, punto de fusión 286ºC.

c) Preparación del compuesto 22



Una mezcla de compuesto 21 (0,11 moles) en ácido clorhídrico 10N (100 ml) se agitó y se puso a reflujo toda la noche y se llevó hasta la temperatura ambiente. El disolvente se evaporó hasta sequedad. El residuo se recogió en MeOH y EtOH. La mezcla se agitó. El precipitado se separó por filtración y se secó a vacío, produciendo 3,5 g (98%) de compuesto 22, punto de fusión 300ºC.

d) Preparación del compuesto 14

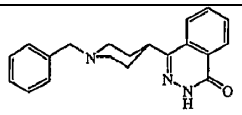
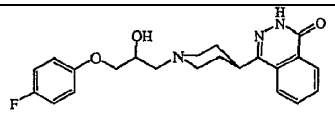
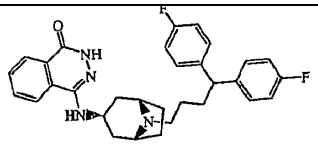
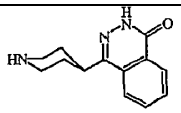
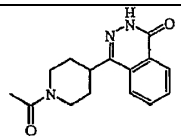
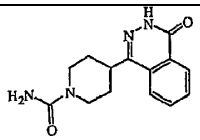
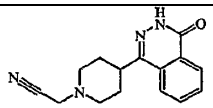
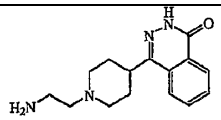
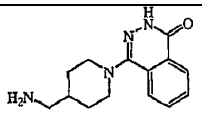
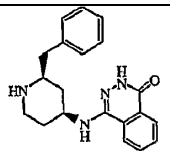
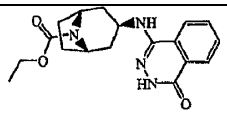
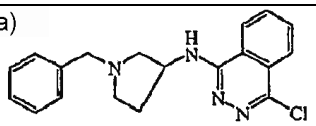
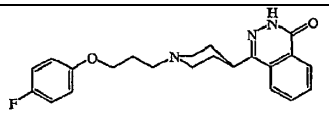
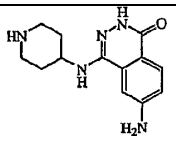


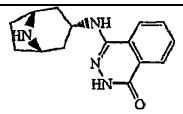
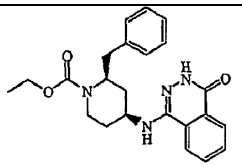
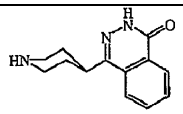
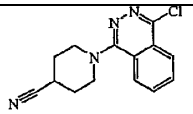
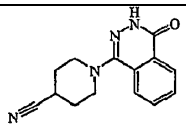
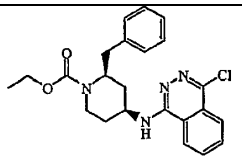
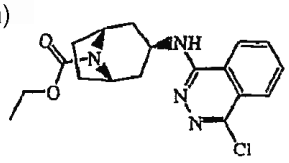
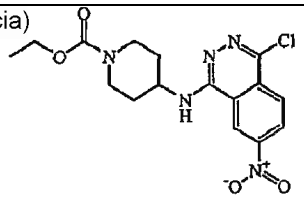
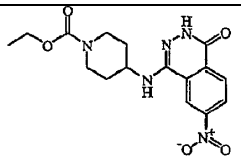
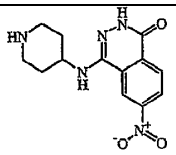
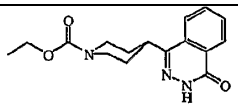
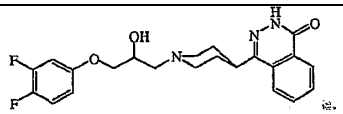
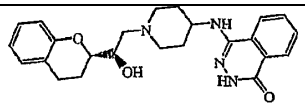
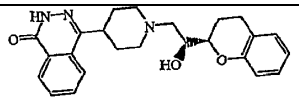
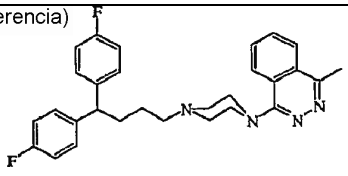
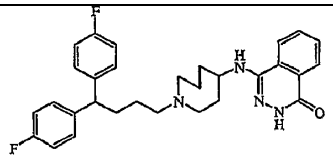
.HCl (1:1) .H_2O (1:1)

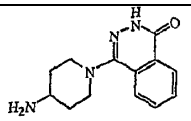
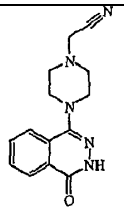
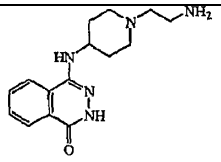
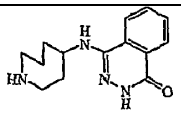
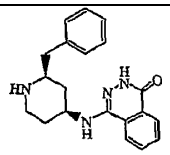
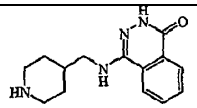
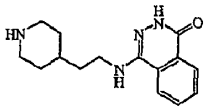
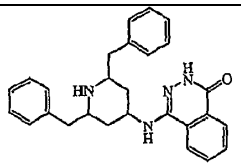
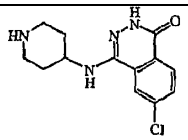
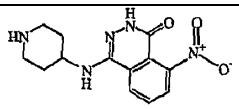
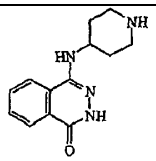
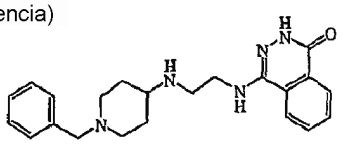
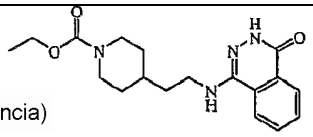
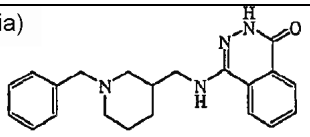
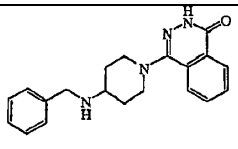
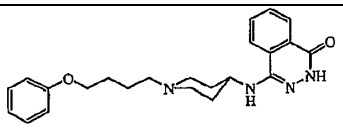
Se burbujeó N_2 a través de una mezcla de compuesto 22 (0,00614 moles) en MeOH (30 ml) y THF (30 ml). Se añadió níquel Raney (2 g) en porciones. Se burbujeó N_2 a través de la mezcla. La mezcla se hidrogenó a temperatura ambiente bajo una presión de 3 bares durante 2 horas. Tras la captación de H_2 (3 equiv.), el catalizador se filtró a través de celita, se lavó con DCM y con MeOH, y el filtrado se evaporó hasta sequedad. El residuo se recogió en MeOH y EtOH. El precipitado se separó por filtración y se secó a vacío. El residuo se recogió en MeOH caliente. El precipitado se separó por filtración y se secó a vacío, produciendo 0,47 g (24%) de compuesto 14, punto de fusión >300ºC.

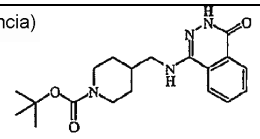
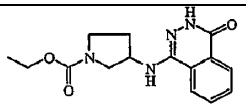
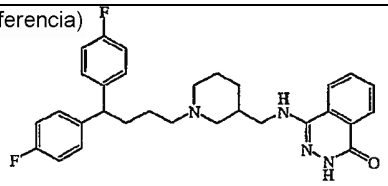
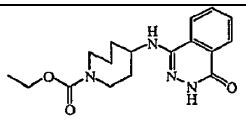
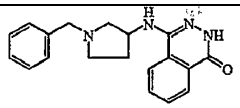
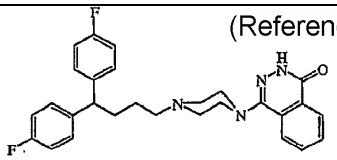
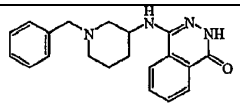
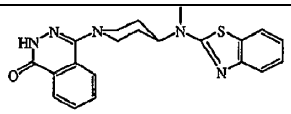
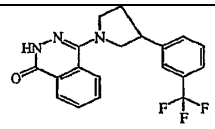
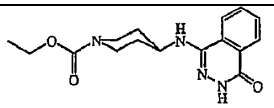
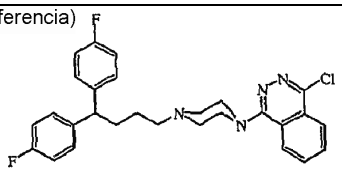
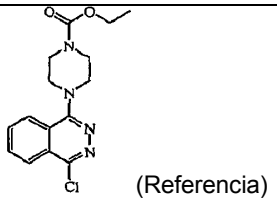
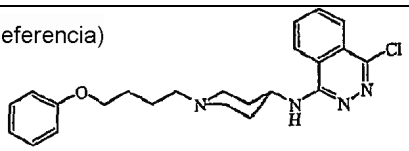
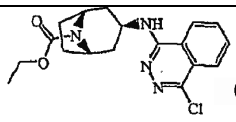
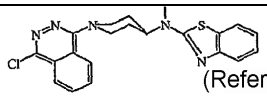
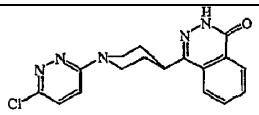
La Tabla F-1 enumera los compuestos que se prepararon según uno de los Ejemplos anteriores.

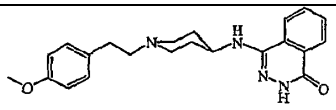
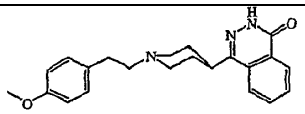
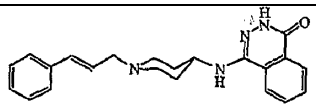
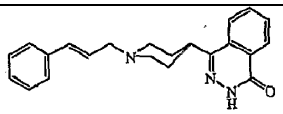
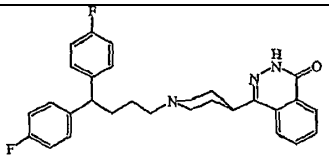
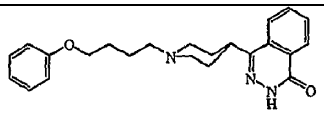
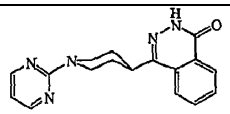
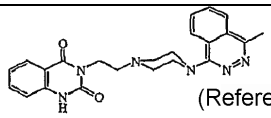
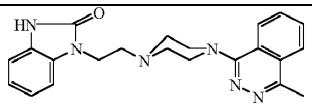
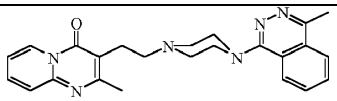
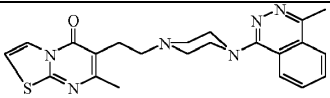
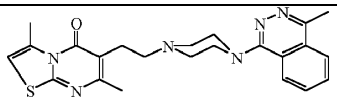
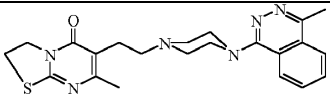
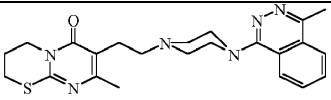
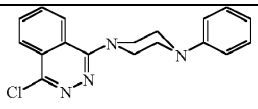
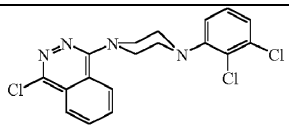
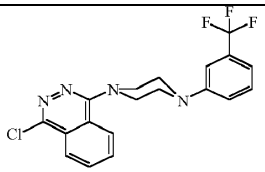
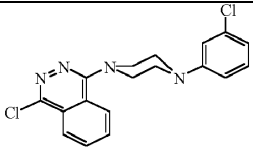
Tabla F-1

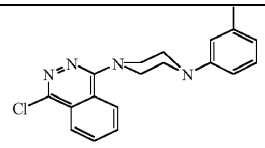
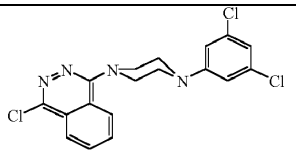
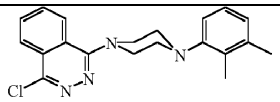
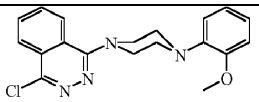
	
Comp. nº 1; Ej. [B1]; p.f. 222ºC	Comp. nº 2; Ej. [B2]; p.f. 226,9ºC
	
.$C_4H_4O_4$ .H_2O; (ENDO); Comp. nº 3; Ej. [B3]; p.f. 164,4ºC	.1/2 $C_4H_4O_4$ .1/2 H_2O; Comp. nº 4; Ej. [B4]; p.f. 264,9ºC
	
Comp. nº 5; Ej. [B5]; p.f. 222ºC	Comp. nº 6; Ej. [B6]; p.f. >300ºC
	
Comp. nº 7; Ej. [B7]; p.f. 259ºC	Comp. nº 8; Ej. [B8]; p.f. 202ºC
	
Comp. nº 9; Ej. [B9]; p.f. 182ºC	(CIS); Comp. nº 10; Ej. [B10]; p.f. 238ºC
	(Referencia) 
(ENDO); Comp. nº 11; Ej. [B11]; p.f. 218,6ºC	.2 HCl .H_2O; Comp. nº 12; Ej. [B12]; p.f. 171,8ºC
	
.HCl; Comp. nº 13; Ej. [B13]; p.f. 227,6ºC	.HCl .H_2O; Comp. nº 14; Ej. [B14]; p.f. >300ºC

	
.HBr; (ENDO); Comp. nº 15; Ej. [B3]; p.f. >299ºC	(CIS); Comp. nº 16; Ej. [B10]; p.f. 140ºC
	(Referencia) 
Comp. nº 23; Ej. [B2]	Comp. nº 17; Ej. [B9]
	
Comp. nº 18; Ej. [B9]; p.f. 253ºC	CIS; Comp. nº 19; Ej. [B10]; p.f. 161ºC
(Referencia) 	(Referencia) 
Comp. nº 24; Ej. [B11]	Comp. nº 20; Ej. [B14]; p.f. 199ºC
	
Comp. nº 21; Ej. [B 14]; p.f. 286ºC	Comp. nº 22; Ej. [B14]; p.f. 300ºC
	
Comp. nº 25; Ej. [B1] p.f. 228,4ºC	Comp. nº 26; Ej. [B2]; p.f. 214,6ºC
	
[S-(R*,S*)]; Comp. nº 27 ; Ej. [B2]; p.f. 232,7ºC	.HCl; [S-(R*,S*)]; Comp. nº 28; Ej. [B2]
(Referencia) 	
.2 HCl; Comp. nº 29; Ej. [B3]	Comp. nº 30; Ej. [B3]; p.f. 163,7ºC

	 (Referencia)
Comp. nº 31; Ej. [B4]; p.f. 177ºC	Comp. nº 32; Ej. [B7]; p.f. 230ºC
	
Comp. nº 33; Ej. [B8]; p.f. 250ºC	.2 HBr; Comp. nº 34; Ej. [B10]
	(Referencia) 
(TRANS); Comp. nº 35; Ej. [B10]; p.f. 110ºC	.2 HCl; Comp. nº 36; Ej. [B10]; p.f. 248ºC
(Referencia) 	
.2HCl .H_2O; Comp. nº 37; Ej. [B10]; p.f. 240ºC	Comp. nº 38; Ej. [B10]; p.f. 218ºC
	
.2HCl .H_2O; Comp. nº 39; Ej. [B10]; p.f. >260ºC	.2HCl; Comp. nº 40; Ej. [B10]; p.f. 260ºC
	(Referencia) 
.2 HBr; Comp. nº 41; Ej. [B10]	Comp. nº 42; Ej. [B11]; p.f. 194ºC
 (Referencia)	(Referencia) 
Comp. nº 43; Ej. [B11]; p.f. 227ºC	.$C_4H_4O_4$; Comp. nº 44; Ej. [B11]; p.f. 207,8ºC
	
Comp. nº 45; Ej. [B11]; p.f. 205ºC	.HCl .H_2O; Comp. nº 46; Ej. [B11]; p.f. 253,1ºC

(Referencia) 	
Comp. nº 47; Ej. [B11]; p.f. 182ºC	Comp. nº 48; Ej. [B11]
(Referencia) 	
.2 $C_2H_2O_4$; Comp. nº 49; Ej. [B11]; p.f. 131,5ºC	Comp. nº 50; Ej. [B11]; p.f. 177,9ºC
	(Referencia) 
Comp. nº 51; Ej. [B11]; p.f. 221,1ºC	.HCl; Comp. nº 52; Ej. [B11]; p.f. 150,6ºC
	
.HCl. H_2O; Comp. nº 53; Ej. [B11]; p.f. 208,4ºC	Comp. nº 54; Ej. [B11]; p.f. 270,8ºC
	
Comp. nº 55; Ej. [B11]; p.f. 170,9ºC	Comp. nº 56; Ej. [B11]; p.f. 224,5ºC
(Referencia) 	 (Referencia)
.$C_4H_4O_4$; Comp. nº 57; Ej. [B12]; p.f. 190,2ºC	Comp. nº 58; Ej. [B12]; p.f. 168ºC
(Referencia) 	 (Referencia)
.2 HCl.2 H_2O; Comp. nº 59; Ej. [B12]; p.f. 234,4ºC	.$C_2H_2O_4$; (ENDO); Comp. nº 60; Ej. [B12]; p.f. 178,5ºC
 (Referencia)	
Comp. nº 61; Ej. [B12]; p.f. 183,5ºC	.HCl .1/2 H_2O .1/2 C_3H_8O; Comp. nº 62; Ej. [B13]; p.f. 277,7ºC

	
.2 HCl .H_2O; Comp. nº 63; Ej. [B13]; p.f. 289,2ºC	.HCl; Comp. nº 64; Ej. [B13]; p.f. 288,5ºC
	
2 HCl.1/2 H_2O; (E); Comp. nº 65; Ej. [B13]; p.f. 225,7ºC	(E); Comp. nº 66; Ej. [B13]; p.f. 203,1ºC
	
.HCl.1/2 H_2O; Comp. nº 67; Ej. [B13]; p.f. 218,3ºC	Comp. nº 68; Ej. [B13]; p.f. 161,9ºC
	 (Referencia)
Comp. nº 69; Ej. [B13]; p.f. 251,8ºC	Comp. nº 70; Ej. [B13]; p.f. >300ºC
	
Comp. nº 71; Ej. [B13]; p.f. 274,1ºC (Referencia)	Comp. nº 72; Ej. [B13]; p.f. 186,5ºC (Referencia)
	
Comp. nº 73; Ej. [B13]; p.f. 203ºC (Referencia)	Comp. nº 74; Ej. [B13]; p.f. 184,6ºC (Referencia)
	
Comp. nº 75; Ej. [B13]; p.f. 202,6ºC (Referencia)	Comp. nº 76; Ej. [B13]; p.f. 198,8ºC (Referencia)
	
Comp. nº 77; EP156433 (Referencia)	Comp. nº 78; EP156433 (Referencia)
	
Comp. nº 79; EP156433 (Referencia)	Comp. nº 80; EP156433 (Referencia)

	
Comp. nº 81; EP156433 (Referencia)	Comp. nº 82; EP156433 (Referencia)
	
Comp. nº 83; EP156433 (Referencia)	Comp. nº 84; EP156433 (Referencia)

Ejemplo farmacológico

Ensayo de proximidad por centelleo *in vitro* (SPA) para la actividad inhibidora de PARP-1

Los compuestos de la presente invención se sometieron a ensayo en un ensayo *in vitro* basado en tecnología de SPA (patentada por Amersham Pharmacia Biotech). En principio, el ensayo se basa en la tecnología de SPA bien probada para la detección de poli(ADP-ribosil)ación de proteínas diana biotiniladas, es decir, histonas. Esta ribosilación se induce usando enzima PARP-1 activada por ADN con muesca y [^{3}H]-nicotinamida adenina dinucleótido ([^{3}H]-NAD$^+$) como dador de ADP-ribosilo.

Como inductor de la actividad de la enzima PARP-1, se preparó ADN con muesca. Para esto, se disolvieron 25 mg de ADN (proveedor: Sigma) en 25 ml de tampón de ADNasa (Tris-HCl 10 mM, pH 7,4; 0,5 mg/ml de albúmina de suero bovino (BSA); $MgCl_2.6H_2O$ 5 mM y KCl 1 mM) a lo que se añadieron 50 µl de disolución de ADNasa (1 mg/ml en NaCl 0,15 M). Después de una incubación de 90 min. a 37ºC, la reacción se terminó por adición de 1,45 g de NaCl, seguido de una incubación adicional a 58ºC durante 15 min. La mezcla de reacción se enfrió en hielo y se dializó a 4ºC durante respectivamente 1,5 y 2 horas frente a 1,5 l de KCl 0,2 M, y dos veces frente a 1,5 l de KCl 0,01 M durante 1,5 y 2 h respectivamente. La mezcla se dividió en alícuotas y se almacenó a -20ºC. Se biotinilaron histonas (1 mg/ml, tipo II-A, proveedor: Sigma) usando el kit de biotinilación de Amersham, y se almacenaron en alícuotas a -20ºC. Se preparó una disolución madre de 100 mg/ml de perlas de SPA poli(vinil tolueno) (PVT) (proveedor: Amersham) en PBS. Se preparó una disolución madre de [^{3}H]-NAD$^+$ por adición de 120 µl de [^{3}H]-NAD$^+$ (0,1 mCi/ml, proveedor: NEN) a 6 ml de tampón de incubación (Tris/HCl 50 mM, pH 8; DTT 0,2 mM; $MgCl_2$ 4 mM). Se preparó una disolución de NAD$^+$ 4 mM (proveedor: Roche) en tampón de incubación (a partir de una disolución madre 100 mM en agua almacenada a -20ºC). La enzima PARP-1 se produjo usando técnicas conocidas en la técnica, es decir, clonación y expresión de la proteína partiendo de ADNc de hígado humano. La información concerniente a la secuencia proteica usada de la enzima PARP-1, incluyendo referencias bibliográficas, se puede encontrar en la base de datos Swiss-Prot con el número de acceso principal P09874. Las histonas biotiniladas y las perlas de PVT-SPA se mezclaron y preincubaron durante 30 min. a temperatura ambiente. La enzima PARP-1 (la concentración dependió del lote) se mezcló con el ADN con muesca, y la mezcla se preincubó durante 30 min. a 4ºC. Se mezclaron partes iguales de esta disolución de histonas/perlas de PVT-SPA y disolución de enzima PARP-1/ADN, y se añadieron 75 µl de esta mezcla junto con 1 µl del compuesto en DMSO y 25 µl de [^{3}H]-NAD$^+$ por pocillo en una placa de microtitulación de 96 pocillos. Las concentraciones finales en la mezcla de incubación fueron 2 µg/ml para las histonas biotiniladas, 2 mg/ml para las perlas de PVT-SPA, 2 µg/ml para el ADN con muesca y entre 5-10 µg/ml para la enzima PARP-1. Después de incubar la mezcla durante 15 min. a temperatura ambiente, la reacción se terminó por adición de 100 µl de NAD$^+$ 4 mM en tampón de incubación (concentración final 2 mM), y las placas se mezclaron.

Se permitió que las perlas sedimentaran durante al menos 15 min., y las placas se transfirieron a un TopCountNXT™ (Packard) para el recuento por centelleo, y los valores se expresaron como recuentos por minuto (cpm). Para cada experimento, se procesaron en paralelo controles (que contenían enzima PARP-1 y DMSO sin compuesto), una incubación en blanco (que contenía DMSO pero no enzima PARP-1 o compuesto) y muestras (que contenían enzima PARP-1 y compuesto disuelto en DMSO). Todos los compuestos sometidos a ensayo se disolvieron y se diluyeron además finalmente en DMSO. Al principio, los compuestos se sometieron a ensayo a una concentración de 10^{-5} M. Cuando los compuestos mostraron actividad a 10^{-5} M, se preparó una curva de dosis-respuesta en la que los compuestos se sometieron a ensayo a concentraciones entre 10^{-5} M y 10^{-8} M. En cada ensayo, el valor del blanco se restó tanto de los valores de control como de las muestras. La muestra de control representó la actividad máxima de la enzima PARP-1. Para cada muestra, la cantidad de cpm se expresó como un porcentaje del valor medio de cpm de los controles. Cuando fue apropiado, se calcularon los valores de IC_{50} (concentración del fármaco necesaria para reducir la actividad de la enzima PARP-1 a un 50% del control) usando interpolación lineal entre los puntos experimentales justo por encima y por debajo del nivel del 50%. En el presente documento, los efectos de los compuestos de ensayo se expresan como pIC_{50} (valor del logaritmo negativo del valor de IC_{50}). Se incluyó 4-amino-

1,8-naftalimida como compuesto de referencia para validar el ensayo de SPA. Los compuestos sometidos a ensayo mostraron actividad inhibidora a la concentración de ensayo inicial de 10^{-5} M (véase la Tabla 2).

Ensayo de filtración *in vitro* para la actividad inhibidora de PARP-1

Los compuestos de la presente invención se sometieron a ensayo en un ensayo de filtración *in vitro* que evalúa la actividad de PARP-1 (desencadenada por la presencia de ADN con muesca) por medio de su actividad de poli(ADP-ribosil)ación de histonas usando [^{32}P]-NAD como dador de ADP-ribosilo. Las histonas ribosiladas radiactivas se precipitaron mediante ácido trifluoroacético (TCA) en placas de filtro de 96 pocillos, y se midió el [^{32}P] incorporado usando un contador de centelleo.

Se preparó una mezcla de histonas (disolución madre: 5 mg/ml en H_2O), NAD^+ (disolución madre: 100 mM en H_2O), y [^{32}P]-NAD^+ en tampón de incubación (Tris/HCl 50 mM, pH 8; DTT 0,2 mM; $MgCl_2$ 4 mM). También se preparó una mezcla de la enzima PARP-1 (5-10 μg/ml) y ADN con muesca. El ADN con muesca se preparó como se ha descrito en el ensayo de SPA *in vitro* para la actividad inhibidora de PARP-1. Se añadieron setenta y cinco μl de la mezcla de enzima PARP-1/ADN junto con 1 μl del compuesto en DMSO y 25 μl de mezcla de histonas-NAD^+/[^{32}P]-NAD^+ por pocillo a una placa de filtro de 96 pocillos (0,45 μm, proveedor: Millipore). Las concentraciones finales en la mezcla de incubación fueron 2 μg/ml para las histonas, 0,1 mM para el NAD^+, 200 μM (0,5 μC) para el [^{32}P]-NAD^+ y 2 μg/ml para el ADN con muesca. Las placas se incubaron durante 15 min. a temperatura ambiente, y la reacción se termino mediante la adición de 10 μl de TCA al 100% enfriado en hielo seguido de la adición de 10 μl de disolución de BSA enfriada en hielo (1% en H_2O). La fracción de proteína se dejó precipitar durante 10 min. a 4ºC, y las placas se filtraron a vacío. Las placas se lavaron posteriormente, para cada pocillo, con 1 ml de TCA al 10% enfriado en hielo, 1 ml de TCA al 5% enfriado en hielo y 1 ml de TCA al 5% a temperatura ambiente. Finalmente, se añadieron 100 μl de disolución de centelleo (Microscint 40, Packard) a cada pocillo, y las placas se transfirieron a un TopCountNXT™ (proveedor: Packard) al recuento por centelleo, y los valores se expresaron como recuentos por minuto (cpm). Para cada experimento, se procesaron en paralelo controles (que contenían enzima PARP-1 y DMSO sin compuesto), una incubación en blanco (que contenía DMSO pero no enzima PARP-1 o compuesto) y muestras (que contenían enzima PARP-1 y compuesto disuelto en DMSO). Todos los compuestos sometidos a ensayo se disolvieron y se diluyeron además finalmente en DMSO. Al principio, los compuestos se sometieron a ensayo a una concentración de 10^{-5} M. Cuando los compuestos mostraron actividad a 10^{-5} M, se preparó una curva de dosis-respuesta en la que los compuestos se sometieron a ensayo a concentraciones entre 10^{-5} M y 10^{-8} M. En cada ensayo, el valor del blanco se restó tanto de los valores de control como de las muestras. La muestra de control representó la actividad máxima de la enzima PARP-1. Para cada muestra, la cantidad de cpm se expresó como un porcentaje del valor medio de cpm de los controles. Cuando fue apropiado, se calcularon los valores de IC_{50} (concentración del fármaco necesaria para reducir la actividad de la enzima PARP-1 a un 50% del control) usando interpolación lineal entre los puntos experimentales justo por encima y por debajo del nivel del 50%. En el presente documento, los efectos de los compuestos de ensayo se expresan como pIC_{50} (valor del logaritmo negativo del valor de IC_{50}). Se incluyó 4-amino-1,8-naftalimida como compuesto de referencia para validar el ensayo de filtración. Los compuestos sometidos a ensayo mostraron actividad inhibidora a la concentración de ensayo inicial de 10^{-5} M (véase la Tabla 2).

Ensayo de proximidad por centelleo (SPA) *in vitro* para la actividad inhibidora de TANK-2

Los compuestos de la presente invención se sometieron a ensayo en un ensayo *in vitro* basado en la tecnología de SPA con placas de Ni Flash (96 o 384 pocillos).

En principio, el ensayo se basa en la tecnología de SPA para la detección de la auto-poli(ADP-ribosil)ación de proteína TANK-2, usando [^{3}H]-nicotinamida adenina dinucleótido ([^{3}H]-NAD^+) como dador de ADP-ribosilo.

Se preparó una disolución madre de [^{3}H]-NAD^+/NAD añadiendo 64,6 μl de [^{3}H]-NAD^+ (0,1 mCi/ml, proveedor: Perkin Elmer) y 46,7 μl de disolución madre de NAD (10,7 mM, almacenada a -20ºC, proveedor: Roche) a 1888,7 μl de tampón del ensayo (Tris/HCl 60 mM, pH 7,4; DTT 0,9 mM; $MgCl_2$ 6 mM). La enzima TANK-2 se produjo como se describe en el documento EP 1238063. Se añadieron 60 μl de tampón de ensayo, junto con 1 μl de compuesto en DMSO, 20 μl de [^{3}H]-NAD^+/NAD y 20 μl de enzima TANK-2 (concentración final 6 μg/ml) por pocillo en una placa Flash revestida con Ni de 96 pocillos (Perkin Elmer). Después de incubar la mezcla durante 120 minutos a temperatura ambiente, la reacción se terminó añadiendo 60 μl de disolución de parada (42,6 mg de NAD en 6 ml de H_2O). Las placas se cubrieron con un sellador de placas y se colocaron en un TopCountNXT™ (Packard) para un recuento por centelleo. Los valores se expresaron como recuentos por minuto (cpm). Para cada experimento, se realizaron en paralelo controles (que contenían enzima TANK-2 y DMSO sin compuesto), una incubación en blanco (que contenía DMSO pero no enzima TANK-2 ni compuesto) y muestras (que contenían enzima TANK-2 y compuesto disuelto en DMSO). Todos los compuestos ensayados se disolvieron y finalmente se diluyeron adicionalmente en DMSO. En primer lugar, los compuestos se ensayaron a una concentración de 10^{-5} M. Cuando los compuestos mostraron actividad a 10^{-5} M, se obtuvo una curva de dosis-respuesta en la que los compuestos se ensayaron a concentraciones entre 10^{-5} M y 10^{-8} M. En cada ensayo, el valor del blanco se restó tanto de los valores de control como de las muestras. La muestra de control representó la actividad máxima de la enzima TANK-2. Para cada muestra, la cantidad de cpm se expresó como un porcentaje del valor medio de cpm de los controles. Cuando fue apropiado, se calcularon los valores de IC_{50} (concentración del fármaco necesaria para reducir la actividad de la

enzima TANK-2 a un 50% del control) usando interpolación lineal entre los puntos experimentales justo por encima y por debajo del nivel del 50%. En el presente documento, los efectos de los compuestos de ensayo se expresan como pIC_{50} (valor del logaritmo negativo del valor de IC_{50}). Se incluyeron 3-aminobenzamida y 4-amino-1,8-naftalimida como compuesto de referencia para validar el ensayo de SPA. En este documento, el ensayo se describió usando placas de 96 pocillos. En el ensayo que usa placas de 384 pocillos, se usaron las mismas concentraciones finales y se adaptaron los volúmenes. Si estaban disponibles los resultados de las placas de 96 pocillos, estos resultados se incorporaron en la Tabla 2; de lo contrario, se mostraron los resultados del ensayo de placas de 384 pocillos.

Tabla 2

Compuesto nº	Ensayo de filtro in vitro PARP-1 pIC50	Ensayo de SPA in vitro PARP-1 pIC50	Ensayo de SPA in vitro TANK-2 pIC50
1	7,26	6,547	5,074
2	7,764		
3	6,69	6,367	5,297
4	7,15	6,601	<5
5	6,569		<5
6	6,71		<5
7	7,051		5,017
8	7,537		<5
9	7,809		<5
10	7,615		<5
11	7,523	7,062	5,671
12	6,726	5,942	5,033
13	7,719	7,122	<5
14	6,116		<5
15	7,45	6,858	<5
16	6,423		<5
19			<5
20			<5
24	6,411	6,012	5,36
25	6,62	5,525	<5
26	7,761		<5
27	6,668	6,067	<5
28	7,343		
29	6,52	5,749	<5
30	6,638	6,355	5,398
31	6,926		<5
32	6,963		5,034
33	6,813		<5

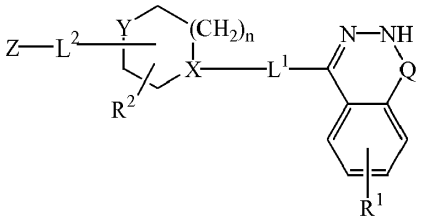
34	7,306	6,922	<5
35	6,751		<5
36	7,077		5,504
37	7,209		<5
38	6,83		<5
39	6,672		<5
40	6,664		<5
41	7,424		<5
42	6,748		<5
43	7,246		<5
44	6,656	5,949	<5
45	6,961		5,265
46	6,874	6,074	<5
47	6,741		5,196
48	6,789	5,513	<5
49	6,287	5,418	5,806
50	6,192	5,601	<5
51	6,523	6,365	<5
52	6,448	6,362	5,184
53	6,664	5,972	<5
54	7,037		
55	6,677	5,782	5,825
56	6,111	5,249	<5
57	6,326	5,705	5,294
58	6,501	5	5,045
59	6,09	5,482	<5
61	6,528	5,888	<5
62	7,413		
63	6,837	6,165	<5
64	7,535		
65	7,04	6,07	<5
66	7,016	6,115	5,364
67	6,633	6,519	<5
68	7,301	6,563	<5
69	6,902	5,667	5,258

70	6,572	5,464	5,428

Los compuestos pueden ser evaluados adicionalmente en un ensayo celular de quimio- y/o radiosensibilización, un ensayo que mida la inhibición de la actividad de PARP-1 endógena en estirpes celulares de cáncer, y finalmente en un ensayo de radiosensibilización *in vivo*.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I),



(I)

una forma de *N*-óxido, una sal de adición farmacéuticamente aceptable o una forma estereoquímicamente isomérica del mismo, en la que

n es 0, 1, 2 o 3, y cuando n es 0, entonces está previsto un enlace directo;

Q es -C(=O)-;

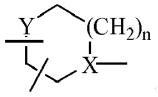
X es -CH< e Y es -N< o -NH-; o X es -N< e Y es -CH< o $-CH_2-$;

L^1 es un enlace directo o -NH-;

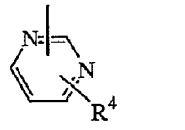
L^2 es un enlace directo o un radical bivalente seleccionado de -alcanodiílo de C_{1-6}-, -alquenodiílo de C_{2-6}-, carbonilo o -alcanodiílo de C_{1-6}- sustituido con un sustituyente seleccionado de hidroxi o arilo;

R^1 es hidrógeno, nitro, halo o amino;

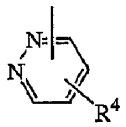
R^2 es hidrógeno, alquilo de C_{1-6} o aril-alquilo de C_{1-6};

el resto central  también puede estar en puente (es decir, formando un resto bicíclico) con un puente de etileno;

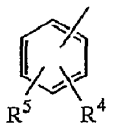
Z es hidrógeno, hidroxi, alquilo de C_{1-6}, alquil C_{1-6}-oxi, ariloxi, amino, ciano, aril-alquil C_{1-6}-amino o benzotiazolil(alquil C_{1-6})amino o un sistema anular seleccionado de



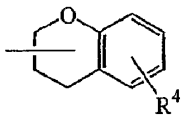
(a-1)



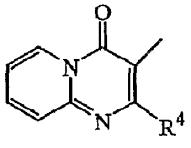
(a-2)



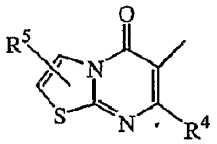
(a-3)



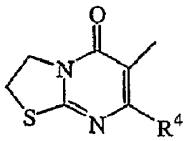
(a-4)



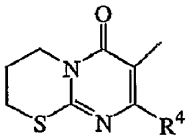
(a-5)



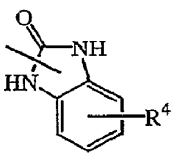
(a-6)



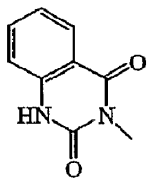
(a-7)



(a-8)



(a-9)

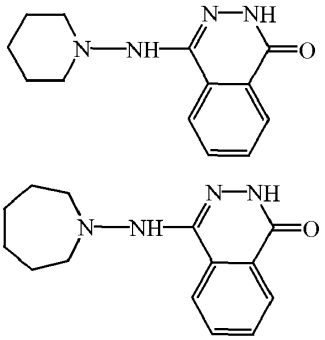


(a-10)

en los que R^4 y R^5 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, halo, alquilo de C_{1-6}, alquil C_{1-6}-oxi o trihalometilo;

arilo es fenilo, o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, alquilo de C_{1-6} o alquil C_{1-6}-oxi;

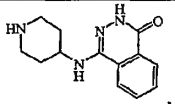
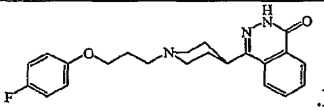
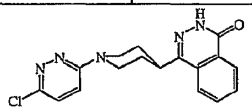
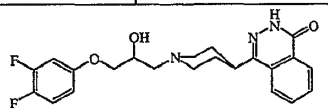
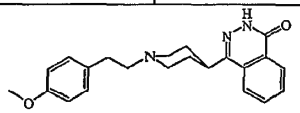
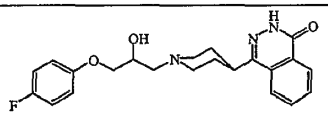
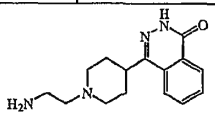
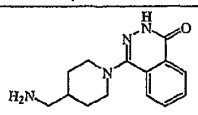
con la condición de que cuando Q sea -C(=O)- y X sea -N< e Y sea -CH< o -CH_2- y L^1 sea un enlace directo y L^2 sea un enlace directo, o el radical bivalente -alcanodiílo de C_{1-6}- o –alcanodiílico de C_{1-6}- sustituido con hidroxi, y R^1 sea hidrógeno, y R^2 sea hidrógeno o alquilo de C_{1-6}, entonces Z es distinto de hidrógeno, hidroxi o alquilo de C_{1-6}; y con la condición de que se excluyan los siguientes compuestos

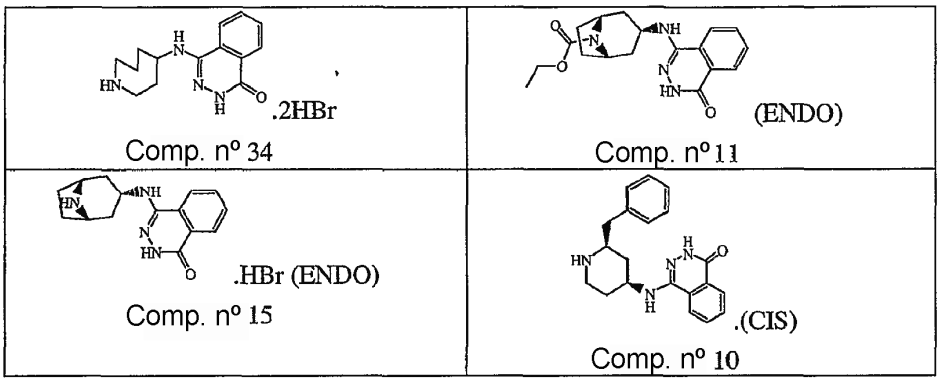


2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que

n es 1 o 2; Q es -C(=O)-; X es -CH< e Y es -N< o -NH-; o X es -N< e Y es -CH<; L^1 es un enlace directo o el radical bivalente -NH-; L^2 es un enlace directo o un radical bivalente seleccionado de carbonilo, -alcanodiílo de C_{1-6}- o –alcanodiílico de C_{1-6}- sustituido con hidroxi; R^1 es hidrógeno; R^2 es hidrógeno, aril-alquilo de C_{1-6}; Z es hidrógeno, alquil C_{1-6}-oxi, ariloxi, amino, o un sistema anular seleccionado de (a-2) o (a-3); y R^4 y R^5 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno o halo.

3. Un compuesto según la reivindicación 1 y 2, en el que el compuesto es el compuesto nº 41, nº 13, nº 62, nº 26, nº 64, nº 2, nº 8, nº 9, nº 34, nº 11, nº 15 y nº 10.

 . 2Hbr Comp. nº 41	 .HCl Comp. nº 13
 .HCl. 1/2 H_2O.1/2 C_3H_8O Comp. nº 62	 Comp. nº 26
 HCl. Comp. nº 64	 Comp. nº 2
 Comp. nº 8	 Comp. nº 9



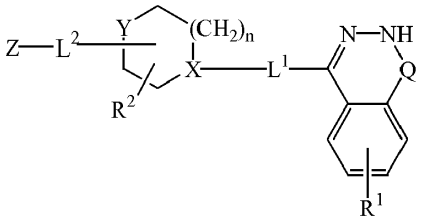
4. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que X es -CH< e Y es -N< o -NH-.

5. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para uso como una medicina.

6. Una composición farmacéutica que comprende vehículos farmacéuticamente aceptables y, como ingrediente activo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

7. Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica como se reivindica en la reivindicación 6, en el que se mezclan íntimamente los vehículos farmacéuticamente aceptables y un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

8. Uso de un compuesto para la fabricación de un medicamento para quimiosensibilización o radiosensibilización, en el que dicho compuesto es un compuesto de fórmula (I)


(I)

una forma de *N*-óxido, una sal de adición farmacéuticamente aceptable o una forma estereoquímicamente isomérica del mismo, en la que

n es 0, 1, 2 o 3, y cuando n es 0, entonces está previsto un enlace directo;

Q es -C(=O)-;

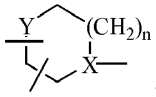
X es -CH< e Y es -N< o -NH-; o X es -N< e Y es -CH< o $-CH_2-$;

L^1 es un enlace directo o -NH-;

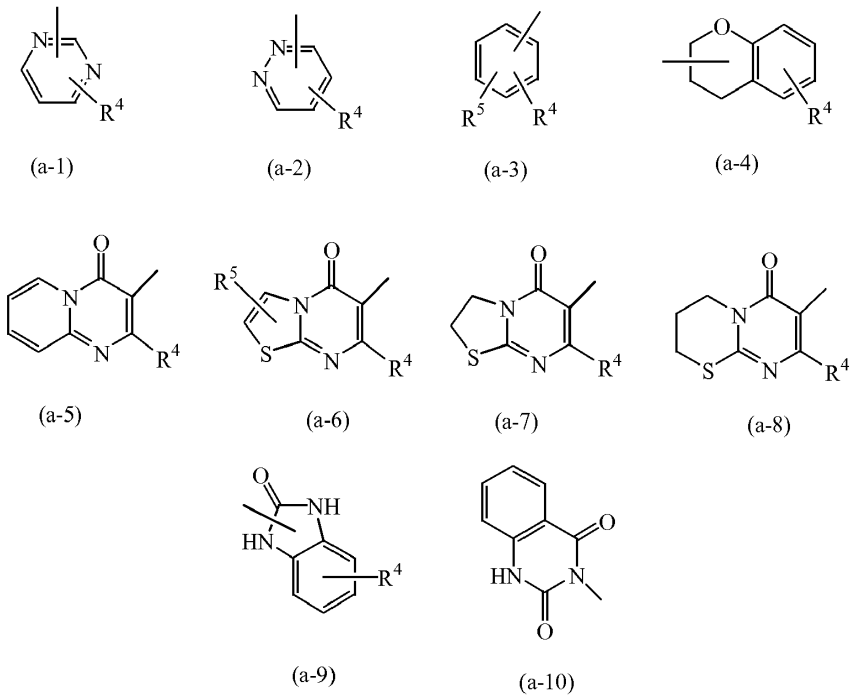
L^2 es un enlace directo o un radical bivalente seleccionado de -alcanodiílo de C_{1-6}-, -alquenodiílo de C_{2-6}-, carbonilo o -alcanodiílo de C_{1-6}- sustituido con un sustituyente seleccionado de hidroxi o arilo;

R^1 es hidrógeno, nitro, halo o amino;

R^2 es hidrógeno, alquilo de C_{1-6} o aril-alquilo de C_{1-6};

el resto central  también puede estar en puente (es decir, formando un resto bicíclico) con un puente de etileno;

Z es hidrógeno, hidroxi, alquilo de C_{1-6}, alquil C_{1-6}-oxi, ariloxi, amino, ciano, aril-alquil C_{1-6}-amino o benzotiazolil(alquil C_{1-6})amino o un sistema anular seleccionado de



en los que R^4 y R^5 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, halo, alquilo de C_{1-6}, alquil C_{1-6}-oxi o trihalometilo; y

arilo es fenilo, o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, alquilo de C_{1-6} o alquil C_{1-6}-oxi.

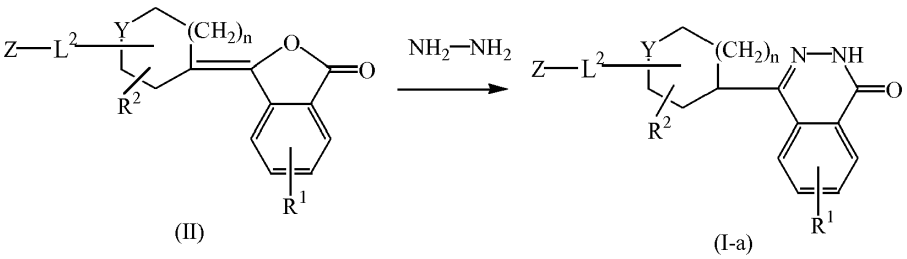
9. Uso según la reivindicación 8, en el que el medicamento es para quimiosensibilización.

10. Uso según la reivindicación 8, en el que el medicamento es para radiosensibilización.

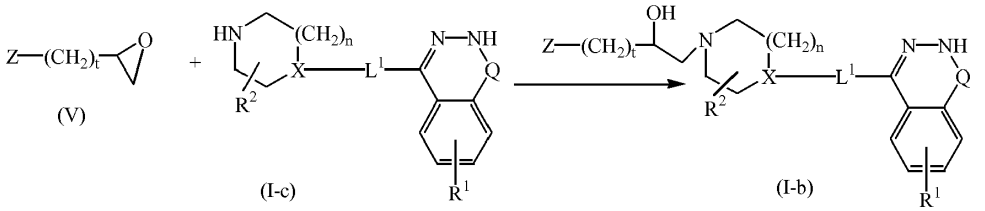
11. Una combinación de un compuesto de fórmula (I) como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 con un agente quimioterapéutico.

12. Un procedimiento para la preparación de un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, caracterizado por

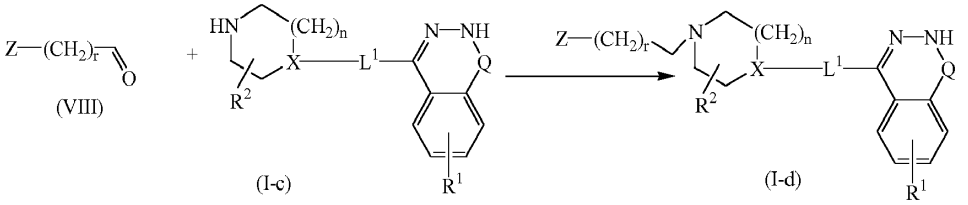
a) hacer reaccionar un intermedio de fórmula (II) con hidrazina, con la formación de un compuesto de fórmula (I-a)



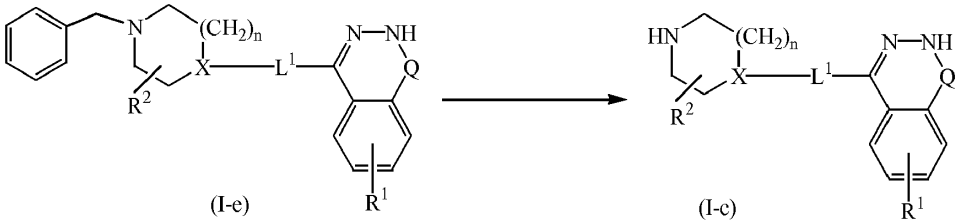
b) hacer reaccionar un intermedio de fórmula (V), en la que t es un número entero con valor 0, 1, 2, 3 o 4, con un compuesto de fórmula (I-c)



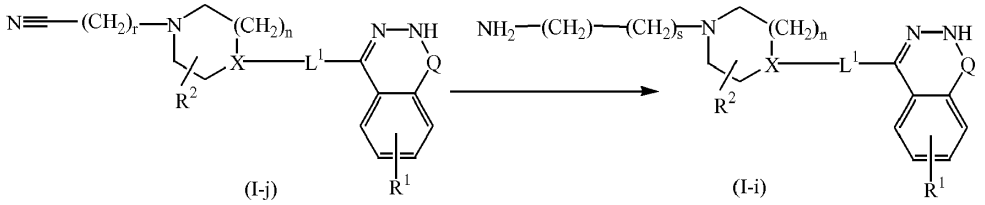
c) N-alquilar de forma reductora el compuesto de fórmula (I-c), en la que r es un número entero con valor 0, 1, 2, 3, 4 o 5, con un intermedio carbonílico apropiado de fórmula (VIII)



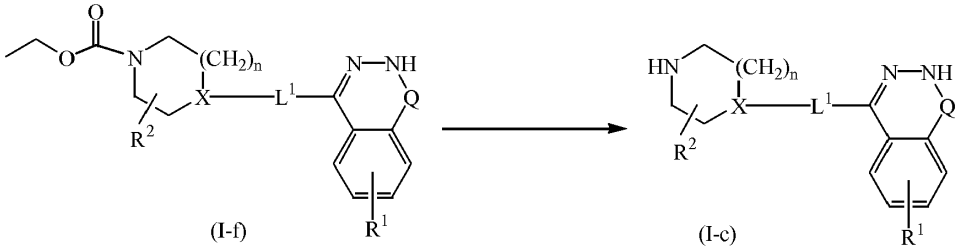
d) preparar los compuestos de fórmula (I-c) (por ejemplo), o compuestos de fórmula I, en la que L^2 es un enlace directo o el radical bivalente –alcanodiílo de C_{1-6}- y Z es amino, partiendo de compuestos de fórmula (I-e), en la que Z-L^2- es aril-alquilo de C_{1-6} (por ejemplo) o aril-alquil C_{1-6}-amino



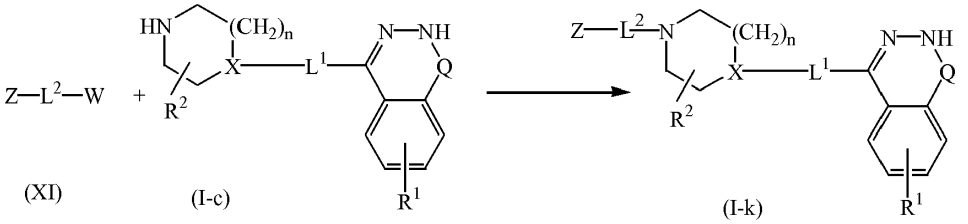
e) convertir compuestos de fórmula (I-j) en los compuestos de fórmula (I-i)



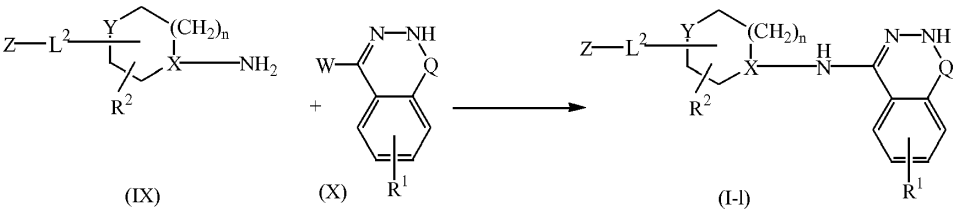
f) desacilar los compuestos de fórmula (I-f) con la formación de compuestos con fórmula (I-c)



h) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (I-c) con un intermedio de fórmula (XI), en la que W es un grupo saliente apropiado, con la formación de compuestos de fórmula (I-k) o



i) hacer reaccionar un intermedio de fórmula (IX) con un intermedio de fórmula (X) con la formación de un compuesto de fórmula (I-l).



(IX) (X) (I-l)