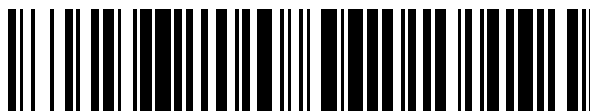


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 587 939**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/53 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.04.2013 PCT/EP2013/001026**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.11.2013 WO13164061**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.04.2013 E 13714859 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.05.2016 EP 2844659**

54 Título: **Derivados de pirrolotriazinona**

30 Prioridad:

04.05.2012 EP 12003445

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

27.10.2016

73 Titular/es:

**MERCK PATENT GMBH (100.0%)
Frankfurter Strasse 250
64293 Darmstadt, DE**

72 Inventor/es:

**DORSCH, DIETER y
BUCHSTALLER, HANS-PETER**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 587 939 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de pirrolotriazinona

Antecedentes de la invención

5 La invención tenía por objeto hallar novedosos compuestos provistos de propiedades valiosas, en particular aquellos que pueden utilizarse para la preparación de medicamentos.

10 La presente invención se refiere a derivados bicíclicos de pirrolotriazinona que inhiben la actividad de las Tanquirasas (TANK) y poli(ADP-ribosa)polimerasa PARP-1. Los compuestos de esta invención son por lo tanto útiles para el tratamiento de enfermedades tales como cáncer, esclerosis múltiple, enfermedades cardiovasculares, lesión del sistema nervioso central y diferentes formas de inflamación. La presente invención también proporciona métodos para preparar estos compuestos, composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y compuestos para uso en el tratamiento de enfermedades usando composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos.

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

20 Parece que se requiere de TANK-1 para la polimerización de poli(ADP-ribosa) mitótica asociada al husillo. La actividad de poli(ADP-ribosil)ación de TANK-1 puede ser crucial para la formación precisa y el mantenimiento de la bipolaridad del husillo. Por otra parte, se ha demostrado que se requiere la actividad PARP de TANK-1 para una separación normal del telómero antes de la anafase. La interferencia con la actividad PARP de la tanquirasa da como resultado una mitosis aberrante, que engendra una detención transitoria del ciclo celular, probablemente debido a la activación del punto de control del husillo, seguido de muerte celular. Se espera por lo tanto que la inhibición de las tanquirasas tenga un efecto citotóxico en células tumorales en proliferación (documento WO 20081107478).

25 Los inhibidores de PARP son descritos por M. Rouleau y colaboradores en Nature Reviews, Volumen 10, 293-301 en estudios clínicos de cáncer (Tabla 2, página 298).

30 De acuerdo con una revisión de Horvath y Szabo (Drug News Perspect 20(3), abril de 2007, 171-181), los estudios más recientes demostraron que los inhibidores de PARP mejoran la muerte de células cancerosas principalmente debido a que interfieren con la reparación del ADN en diversos niveles. Los estudios más recientes también han demostrado que los inhibidores de PARP inhiben la angiogénesis, ya sea mediante la inhibición de la expresión del factor de crecimiento o inhibiendo las respuestas proliferativas celulares inducidas por el factor de crecimiento. Estos hallazgos también pueden tener implicancias en la forma de los efectos in vivo contra el cáncer de los inhibidores de PARP.

35 También, un estudio de Tentori y colaboradores (Eur. J. Cancer, 2007, 43 (14) 2124-2133) muestra que los inhibidores de PARP anulan VEGF o la migración inducida por el factor de crecimiento placentario y evitan la formación de redes de tipo tubular en sistemas a base de células y perjudican la angiogénesis in vivo. El estudio también demuestra que la angiogénesis inducida por el factor de crecimiento es deficiente en ratones modificados para inactivar los genes que codifican para PARP-1. Los resultados del estudio proporcionan evidencia para direccionar la PARP para la antiangiogénesis, añadiendo novedosas implicaciones terapéuticas para el uso de
40 inhibidores de PARP en el tratamiento contra el cáncer.

45 Se sabe bien que los defectos en las rutas de señalización conservadas desempeñan papeles clave en los orígenes y el comportamiento esencialmente de todos los cánceres (E. A. Fearon, Cancer Cell, Vol. 16, Publicación 5, 2009, 366-368). La ruta Wnt es un objetivo para la terapia contra el cáncer. Una característica clave para la ruta Wnt es la proteólisis (degradación) regulada de β -catenina por el complejo de destrucción de β -catenina. Proteínas como WTX, APC o Axina están implicadas en el proceso de degradación. Una degradación apropiada de β -catenina es importante para evitar una activación inapropiada de la ruta Wnt que ha sido observada en muchos cánceres. Las Tanquirasas inhiben la actividad de la axina y, por lo tanto, inhiben la degradación de la β -catenina.

50 En consecuencia, los inhibidores de tanquirasa aumentan la degradación de la β -catenina. Un artículo reciente en la revista *Nature* no sólo ofrece nuevas ideas importantes de proteínas sobre la señalización con Wnt que regula proteínas sino que también apoya adicionalmente el enfoque para antagonizar los niveles de β -catenina y la localización a través de moléculas pequeñas (Huang y colaboradores, 2009; Nature, Vol 461, 614-620). El compuesto XAV939 inhibe el crecimiento de células cancerosas DLD-1. Ellos encontraron que XAV939 bloqueaba la acumulación estimulada por Wnt de β -catenina al aumentar los niveles de las proteínas AXIN1 y AXIN2. Un

trabajo posterior de los autores estableció que XAV939 regula los niveles de AXIN mediante la inhibición de las tanquirasas 1 y 2 (TNKS1 y TNKS2), ambas miembros de la familia de proteínas poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP) (S. J. Hsiao y colaboradores, Biochimie 90, 2008, 83-92).

5 Se ha encontrado que los compuestos de acuerdo con la invención y sus sales tienen propiedades farmacológicas muy valiosas y son bien tolerados.

La presente invención se refiere específicamente a compuestos de la fórmula I que inhiben la Tanquirasa 1 y 2, a composiciones que comprenden estos compuestos, y a compuestos para uso en el tratamiento de enfermedades y trastornos inducidos por TANK.

10 Además, los compuestos de la fórmula I pueden utilizarse para el aislamiento e investigación de la actividad o expresión de TANK. Además, son particularmente adecuados para uso en métodos de diagnóstico de enfermedades relacionadas con la actividad no regulada o perturbada de TANK.

15 El huésped o paciente puede pertenecer a cualquier especie de mamífero, por ejemplo, una especie de primate, particularmente humanos; roedores, incluyendo ratones, ratas y hámsteres; conejos, caballos, vacas, perros, gatos, etc. Los modelos animales son de interés para las investigaciones experimentales, que proporcionan un modelo para el tratamiento de enfermedades en humanos.

20 La susceptibilidad de una célula particular al tratamiento con los compuestos de acuerdo con la invención puede ser determinada por medio de ensayos in vitro. Normalmente, se combina un cultivo de la células con un compuesto de acuerdo con la invención en distintas concentraciones durante un período de tiempo que sea suficiente para permitir que los agentes activos tales como anti IgM induzcan una respuesta celular tal como la expresión de un marcador de superficie, usualmente entre aproximadamente una hora y una semana. Los ensayos in vitro se pueden llevar a cabo usando células cultivadas de una muestra de sangre o de una biopsia. La cantidad de marcador de superficie expresada se evalúa por citometría de flujo usando anticuerpos específicos que reconocen el marcador.

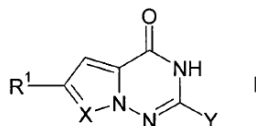
25 La dosis varía dependiendo del compuesto específico utilizado, la enfermedad específica, el estado del paciente, etc. Una dosis terapéutica es típicamente suficiente para reducir considerablemente la población de células indeseadas en el tejido objetivo, mientras se mantiene la viabilidad del paciente. Por lo general, se continúa con el tratamiento hasta que se ha producido una reducción considerable, por ejemplo, una reducción de aproximadamente 50% en la carga de células, y se puede continuar hasta que esencialmente no se detecten en el cuerpo más células no deseadas.

Estado del arte

30 Se describen otros derivados de pirrolotriazina como compuestos intermedios en los documentos WO 2004/087056 y WO 2008/092861.

Resumen de la invención

La invención se refiere a compuestos de la fórmula I



35 en donde

X denota N o CR¹,

R¹ denota H, F, Cl, CH₃, CH₂OH, CH₂Cl, CH₂Br, CF₃, CHF₂ o CH₂F,

R² denota H o A,

Y denota Ar¹, Het¹ o Cyc,

40 Ar¹ denota fenilo o naftilo, que está no sustituido o mono, di o trisustituido por Hal, A, [C(R²)₂]_pOR², [C(R²)₂]_pN(R²)₂, [C(R²)₂]_pHet², NO₂, CN, [C(R²)₂]_pCOOR², [C(R²)₂]_pCON(R²)₂, NR²COA, NR²SO₂A,

$[C(R^2)_2]_pSO_2N(R^2)_2$, $S(O)_nA$, $COHet^3$, $O[C(R^2)_2]_mN(R^2)_2$, $O[C(R^2)_2]_pAr^2$, $O[C(R^2)_2]_pHet^2$, $NHCOOA$, $NHCON(R^2)_2$, CHO y/o COA ,

5 Ar^2 denota fenilo, que está no sustituido o que está mono o disustituido por Hal, A, $[C(R^2)_2]_pOR^2$, $[C(R^2)_2]_pN(R^2)_2$, $[C(R^2)_2]_pHet^3$, NO_2 , CN , $[C(R^2)_2]_pCOOR$, $[C(R^2)_2]_pN(R^2)_2$, $N(R^2)_2COA$, NR^2SO_2A , $[C(R^2)_2]_pSO_2N(R^2)_2$, $S(O)_nA$, $COHet^3$, $O[C(R^2)_2]_mN(R^2)_2$, $O[C(R^2)_2]_pHet^3$, $NHCOOA$, $NHCON(R^2)_2$, CHO y/o COA ,

10 Het^1 denota pirrolidinilo, azetidino, tetrahidroimidazolilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirazolilo, tetrahidropiranilo, piperidinilo, morfolinilo, hexahidropiridazinilo, hexahidropirimidinilo, [1,3]dioxolanilo, piperazinilo, furilo, tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, indolilo, isoindolilo, bencimidazolilo, indazolilo, quinolilo, 1,3-benzodioxolilo, benzotiofenilo, benzofuranilo, imidazopiridilo o furo[3,2-b]piridilo, cada uno de los cuales está no sustituido o mono o disustituido por Hal, A, $[C(R^2)_2]_pOR^2$, $[C(R^2)_2]_pN(R^2)_2$, $[C(R^2)_2]_pHet^2$, $[C(R^2)_2]_pAr^2$, NO_2 , CN , $[C(R^2)_2]_pCOOR^2$, $[C(R^2)_2]_pCON(R^2)_2$, NR^2COA , NR^2SO_2A , $[C(R^2)_2]_pSO_2N(R^2)_2$, $S(O)_nA$, $COHet^3$, $O[C(R^2)_2]_mN(R^2)_2$, $O[C(R^2)_2]_pAr^2$, $O[C(R^2)_2]_pHet^2$, $NHCOOA$, $NHCON(R^2)_2$, CHO , COA , $=S$, $=NR$ y/o $=O$,

15 Cyc denota alquilo cíclico con 3, 4, 5, 6 o 7 átomos de C, que puede estar no sustituido o monosustituido por A, Hal, CN o Ar^2 o Het^2 ,

20 Het^2 denota pirrolidinilo, azetidino, tetrahidroimidazolilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirazolilo, tetrahidropiranilo, piperidinilo, morfolinilo, hexahidropiridazinilo, hexahidropirimidinilo, [1,3]dioxolanilo, piperazinilo, furilo, tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, indolilo, isoindolilo, bencimidazolilo, indazolilo, quinolilo, 1,3-benzodioxolilo, benzotiofenilo, benzofuranilo, imidazopiridilo o furo[3,2-b]piridilo, cada uno de los cuales está no sustituido o mono o disustituido por Hal, A, $[C(R^2)_2]_pOR^2$, $[C(R^2)_2]_pN(R^2)_2$, $[C(R^2)_2]_pHet^3$, $[C(R^2)_2]_pOHet^3$, $[C(R^2)_2]_pAr^2$, NO_2 , CN , $[C(R^2)_2]_pCOOR^2$, $[C(R^2)_2]_pCON(R^2)_2$, NR^2COA , NR^2SO_2A , $[C(R^2)_2]_pSO_2N(R^2)_2$, $S(O)_nA$, $COHet^3$, $O[C(R^2)_2]_mN(R^2)_2$, $O[C(R^2)_2]_pAr^2$, $O[C(R^2)_2]_pHet^3$, $NHCOOA$, $NHCON(R^2)_2$, CHO , COA , $=S$, $=NR$ y/o $=O$,

25 Het^3 denota dihidropirrolilo, pirrolidinilo, azetidino, oxetanilo, tetrahidroimidazolilo, dihidropirazolilo, tetrahidropirazolilo, tetrahidrofuranilo, dihidropiridilo, tetrahidropiridilo, piperidinilo, morfolinilo, hexahidropiridazinilo, hexahidropirimidinilo, [1,3]dioxolanilo, tetrahidropiranilo o piperazinilo, cada uno de los cuales está no sustituido o mono o disustituido por Hal, CN, OR^2 , $COOR^2$, $CON(R^2)_2$, $S(O)_nA$, $S(O)_nAr$, COA , A y/o $=O$,

30 A denota alquilo no ramificado o ramificado con 1-10 átomos de C, en donde uno o dos grupos CH y/o CH_2 no adyacentes pueden ser reemplazados por átomos de N, O y/o S y en donde 1-7 átomos de H pueden estar reemplazados por F o Cl,

Hal denota F, Cl, Br o I,

n denota 0, 1 o 2,

m denota 1, 2 o 3,

p denota 0, 1, 2, 3 o 4,

35 con la condición de que, si R^1 está ausente, entonces Y no es 4-fluorofenilo, 3-bromofenilo o 5-cloro-2-fluorofenilo,

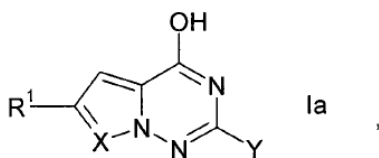
y excluyendo

2-(4-oxo-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-2-il)pirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo y 2-(4-oxo-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-2-il)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo,

40 y sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones.

La invención también se refiere a las formas ópticamente activas (estereoisómeros), los enantiómeros, los racematos, los diastereómeros y los hidratos y solvatos de estos compuestos.

La invención se refiere a compuestos de fórmula I y sus tautómeros de fórmula Ia



en donde X, R¹ e Y tienen los significados indicados para los compuestos de fórmula I.

Además, la invención se refiere a derivados farmacéuticamente aceptables de compuestos de fórmula I.

5 El término solvatos de los compuestos se entiende que significa aducciones de moléculas inertes de disolvente sobre los compuestos que se forman debido a su fuerza de atracción mutua. Los solvatos son, por ejemplo, mono o dihidratos o alcóxidos.

Se entiende que la invención también se refiere a los solvatos de las sales.

Se entiende que el término derivados farmacéuticamente aceptables significa, por ejemplo, las sales de los compuestos de acuerdo con la invención.

10 Como se usa aquí y a menos que se indique otra cosa, el término "profármaco" significa un derivado de un compuesto de la fórmula I que puede hidrolizar, oxidar o bien reaccionar bajo condiciones biológicas (in vitro o in vivo) para proporcionar un compuesto activo, particularmente un compuesto de fórmula I. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, derivados y metabolitos de un compuesto de fórmula I que incluye fracciones biohidrolizables tales como amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbamatos biohidrolizables, carbonatos biohidrolizables, ureidos biohidrolizables y análogos de fosfato biohidrolizables. En ciertas formas de realización, los profármacos de los compuestos con grupos funcionales carboxilo son los ésteres de alquilo inferiores del ácido carboxílico. Los ésteres de carboxilato se forman convenientemente esterificando cualquiera de las fracciones de ácido carboxílico presentes en la molécula. Los profármacos se pueden preparar típicamente usando métodos bien conocidos, tales como aquellos descritos por Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery sexta edición (Donald J. Abraham ed., 2001, Wiley) y Design and Application of Prodrugs (H. Bundgaard ed., 1985, Harwood Academic Publishers Gmhf).

La expresión "cantidad efectiva" denota la cantidad de un medicamento o un ingrediente farmacéutico activo que causa en un tejido, sistema, animal o humano, una respuesta biológica o médica que es buscada o deseada, por ejemplo, por un investigador o un médico.

25 Además, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" denota una cantidad que, en comparación con un sujeto correspondiente que no ha recibido esta cantidad, tiene la siguiente consecuencia:

Tratamiento mejorado, curación, prevención o eliminación de una enfermedad, síndrome, condición, dolencia, trastorno o efectos secundarios o también la reducción, del avance de una enfermedad, de una dolencia o de un trastorno.

30 La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" también abarca las cantidades que son efectivas para aumentar la función fisiológica normal.

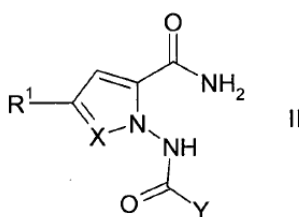
La invención también se refiere al uso de mezclas de los compuestos de fórmula I, por ejemplo, mezclas de dos diastereómeros, por ejemplo en la proporción 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10, 1:100 o 1:1000.

Estas son mezclas particularmente preferibles de compuestos estereoisómeros.

35 "Tautómeros" se refiere a formas isómeras de un compuesto que están en equilibrio entre sí. Las concentraciones de las formas isómeras dependerán del ambiente en el que se encuentra el compuesto y pueden ser diferentes, dependiendo de, por ejemplo, de si el compuesto es un sólido o está en una solución orgánica o acuosa.

40 La invención se refiere a los compuestos de la fórmula I y sus sales y a un proceso para la preparación de compuestos de la fórmula I y sus sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente utilizables, caracterizados porque

a) un compuesto de la fórmula II



en donde R¹ e Y tienen los significados indicados en la reivindicación 1,
se hace reaccionar con NH₃, una base inorgánica o un alcoholato alcalino,
o

5 b) se convierte un radical en otro radical Y mediante

i) la conversión de un átomo de halógeno en un grupo éster,

ii) la conversión de un grupo éster en un grupo alcohol,

iii) la conversión en un acoplamiento de Suzuki de un anillo fenilo halogenado en un anillo

fenilo arilado,

10 y/o

se convierte una base o un ácido de la fórmula I en una de sus sales.

Anteriormente y más adelante, los radicales R¹ e Y tienen los significados indicados dados para la fórmula I, a menos que expresamente se indique otra cosa.

15 A denota alquilo, este está no ramificado (lineal) o ramificado y tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de C. A denota preferiblemente metilo, además etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo o terc-butilo, además también pentilo, 1-, 2- o 3-metilbutilo, 1,1-, 1,2- o 2,2-dimetilpropilo, 1-etilpropilo, hexilo, 1-, 2-, 3- o 4-metilpentilo, 1,1-, 1,2-, 1,3-, 2,2-, 2,3- o 3,3-dimetilbutilo, 1- o 2-etilbutilo, 1-etil-1-metilpropilo, 1-etil-2-metilpropilo, 1,1,2- o 1,2,2-trimetilpropilo, además preferiblemente, por ejemplo, trifluorometilo.

20 A denota muy particularmente preferiblemente alquilo que tiene 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de C, preferiblemente metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, hexilo, trifluorometilo, pentafluoroetilo o 1,1,1-trifluoroetilo.

Además, A denota preferiblemente, CH₂OCH₃, CH₂CH₂OH o CH₂CH₂OCH₃. Alquilo cíclico tiene 3-7 átomos de C, preferiblemente denota, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo.

X denota preferiblemente N, CH, CCF₃ o CCH₃.

25 R¹ denota, particularmente preferiblemente, H, F, Cl o CH₃.

R² denota preferiblemente particular, H o CH₃.

30 Ar¹ denota, preferiblemente, o-, m- o p-tolilo, o-, m- o p-etilfenilo, o-, m- o p-propilfenilo, o-, m- o p-isopropilfenilo, o-, m- o p-terc-butilfenilo, o-, m- o p-hidroxifenilo, o-, m- o p-nitrofenilo, o-, m- o p-aminofenilo, o-, m- o p-(N-metilamino)fenilo, o-, m- o p-(N-metilaminocarbonil)fenilo, o-, m- o p-metoxifenilo, o-, m- o p-etoxifenilo, o-, m- o p-etoxicarbonilfenilo, o-, m- o p-(N,N-dimetilamino)fenilo, o-, m- o p-(N,N-dimetilaminocarbonil)fenilo, o-, m- o p-(N-etilamino)fenilo, o-, m- o p-(N,N-dietilamino)fenilo, o-, m- o p-fluorofenilo, o-, m- o p-bromofenilo, o-, m- o p-clorofenilo, o-, m- o p-(metilsulfonamido)fenilo, o-, m- o p-(metilsulfonil)fenilo, o-, m- o p-cianofenilo, o-, m- o p-carboxifenilo, o-, m- o p-metoxicarbonilfenilo, o-, m- o p-formilfenilo, o-, m- o p-acetilfenilo, o-, m- o p-aminosulfonilfenilo, o-, m- o p-[2-(morfolin-4-il)etoxilfenilo, o-, m- o p-[3-(N,N-dietilamino)propoxilfenilo, además preferiblemente 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-difluorofenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-diclorofenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-dibromofenilo, 2,4- o 2,5-dinitrofenilo, 2,5- o 3,4-dimetoxifenilo, 3-nitro-4-clorofenilo, 3-amino-4-cloro-, 2-amino-3-cloro-, 2-amino-4-cloro-, 2-amino-5-cloro- o 2-amino-6-clorofenilo, 2-nitro-4-N,N-dimetilamino- o 3-nitro-4-N,N-dimetilaminofenilo, 2,3-diaminofenilo, 2,3,4-, 2,3,5-, 2,3,6-, 2,4,6- o 3,4,5-triclorofenilo, 2,4,6-

trimetoxifenilo, 2-hidroxi-3,5-diclorofenilo, p-yodofenilo, 3,6-dicloro-4-aminofenilo, 4-fluoro-3-clorofenilo, 2-fluoro-4-bromofenilo, 2,5-difluoro-4-bromofenilo, 3-bromo-6-metoxifenilo, 3-cloro-6-metoxifenilo, 3-cloro-4-acetamidofenilo, 3-fluoro-4-metoxifenilo, 3-amino-6-metilfenilo, 3-cloro-4-acetamidofenilo o 2,5-dimetil-4-clorofenilo.

Ar¹ denota preferiblemente además fenilo, que está monosustituido por Hal, A, [C(R²)₂]_pHet² o [C(R²)₂]_pCOOR².

- 5 Ar² denota preferiblemente o-, m- o p-tolilo, o-, m- o p-etilfenilo, o-, m- o p-propilfenilo, o-, m- o p-isopropilfenilo, o-, m- o p-ter-butilfenilo, o-, m- o p-hidroxi-fenilo, o-, m- o p-nitrofenilo, o-, m- o p-aminofenilo, o-, m- o p-(N-metilamino)fenilo, o-, m- o p-(N-metilaminocarbonil)fenilo, o-, m- o p-metoxifenilo, o-, m- o p-etoxi-fenilo, o-, m- o p-etoxicarbonilfenilo, o-, m- o p-(N,N-dimetilamino)fenilo, o-, m- o p-(N,N-dimetilaminocarbonil)fenilo, o-, m- o p-(N-etilamino)fenilo, o-, m- o p-(N,N-dietilamino)fenilo, o-, m- o p-fluorofenilo, o-, m- o p-bromofenilo, o-, m- o p-clorofenilo, o-, m- o p-(metilsulfonamido)fenilo, o-, m- o p-(metilsulfonyl)fenilo, o-, m- o p-cianofenilo, o-, m- o p-carboxifenilo, o-, m- o p-metoxicarbonilfenilo, o-, m- o p-formilfenilo, o-, m- o p-acetilfenilo, o-, m- o p-aminosulfonilfenilo, o-, m- o p-[2-(morfolin-4-il)etoxi]fenilo, o-, m- o p-[3-(N,N-dietilamino)propoxi]fenilo, también, preferiblemente, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-difluorofenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-diclorofenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- o 3,5-dibromofenilo, 2,4- o 2,5-dinitro-
- 10 fenilo, 2,5- o 3,4-dimetoxifenilo, 3-nitro-4-clorofenilo, 3-amino-4-cloro-, 2-amino-3-cloro-, 2-amino-4-cloro-, 2-amino-5-cloro- o 2-amino-6-clorofenilo, 2-nitro-4-N,N-dimetilamino- o 3-nitro-4-N,N-dimetilaminofenilo, 2,3-diaminofenilo, 2,3,4-, 2,3,5-, 2,3,6-, 2,4,6- o 3,4,5-triclorofenilo, 2,4,6-trimetoxifenilo, 2-hidroxi-3,5-diclorofenilo, p-yodofenilo, 3,6-dicloro-4-aminofenilo, 4-fluoro-3-clorofenilo, 2-fluoro-4-bromofenilo, 2,5-difluoro-4-bromofenilo, 3-bromo-6-metoxifenilo, 3-cloro-6-metoxifenilo, 3-cloro-4-acetamidofenilo, 3-fluoro-4-metoxifenilo, 3-amino-6-metilfenilo, 3-cloro-4-acetamidofenilo o 2,5-dimetil-4-clorofenilo.
- 15
- 20

Ar² denota preferiblemente además fenilo, que está no sustituido o monosustituido por [C(R²)₂]_pOR².

- 25 Het¹ denota preferiblemente pirrolidinilo, azetidino, tetrahidroimidazolilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirazolilo, tetrahidropirranilo, piperidinilo, morfolinilo, hexahidropiridazinilo, hexahidropirimidinilo, [1,3]dioxolanilo, piperazinilo, furilo, tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, indolilo, isoindolilo, bencimidazolilo, indazolilo, quinolilo, 1,3-benzodioxolilo, benzotiofenilo, benzofuranilo, imidazopiridilo o furo[3,2-b]piridilo, cada uno de los cuales está no sustituido o mono o disustituido por A, [C(R²)₂]_pOR², [C(R²)₂]_pHet² y/o [C(R²)₂]_pAr².

Het¹ denota preferiblemente particularmente, pirrolidinilo, piperidinilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido por A.

- 30 Het² denota preferiblemente, pirrolidinilo, azetidino, tetrahidroimidazolilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirazolilo, tetrahidropirranilo, piperidinilo, morfolinilo, hexahidropiridazinilo, hexahidropirimidinilo, [1,3]dioxolanilo, piperazinilo, furilo, tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, indolilo, isoindolilo, bencimidazolilo, indazolilo, quinolilo, 1,3-benzodioxolilo, benzotiofenilo, benzofuranilo, imidazopiridilo o furo[3,2-b]piridilo, cada uno de los cuales no está sustituido o está mono o disustituido con A, [C(R²)₂]_pOR², [C(R²)₂]_pHet² y/o [C(R²)₂]_pOHet³.
- 35

Het² denota preferiblemente particularmente, pirrolidinilo, piperidinilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está monosustituido por A.

- 40 Het³ denota preferiblemente dihidropirrolilo, pirrolidinilo, azetidino, oxetanilo, tetrahidroimidazolilo, dihidropirazolilo, tetrahidropirazolilo, tetrahidrofuranilo, dihidropiridilo, tetrahidropiridilo, piperidinilo, morfolinilo, hexahidropiridazinilo, hexahidropirimidinilo, [1,3]dioxolanilo, tetrahidropirranilo o piperazinilo.

Het³ denota preferiblemente pirrolidinilo, piperidinilo, morfolinilo o tetrahidropirranilo.

Hal denota preferiblemente F, Cl o Br, pero también I, particularmente preferiblemente F o Cl.

A todo lo largo de la invención, todos los radicales que aparecen más de una vez pueden ser idénticos o diferentes, es decir, son independientes entre sí.

- 45 Los compuestos de la fórmula I pueden tener uno o más centros quirales y pueden por lo tanto presentarse en diversas formas estereoisoméricas. La fórmula I comprende todas estas formas.

Por lo tanto, la invención se refiere, en particular, a los compuestos de la fórmula I, en los cuales al menos uno de dichos radicales tiene uno de los significados preferidos indicados anteriormente. Algunos grupos de compuestos preferidos pueden ser expresados por medio de las siguientes subfórmulas la a ld, que corresponden a la fórmula I y

en donde los radicales no mencionados con mayor detalle tienen el significado indicado para la fórmula I, pero en donde

en la Ar¹ denota fenilo que está monosustituido por Hal, A, [C(R²)₂]pHet² o [C(R²)₂]pCOOR²;

5 en lb Het¹ denota pirrolidinilo, piperidinilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está no sustituido o monosustituido

con A;

en lc Het² denota pirrolidinilo, piperidinilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está monosustituido con A;

en ld R¹ denota H, F, Cl o CH₃,

R² denota H,

10 X denota N, CH, CCF₃ o CCH₃,

Y denota Ar¹, Het¹ o Cyc,

Ar¹ denota fenilo, que está monosustituido por Hal, A, [C(R²)₂]pHet² o [C(R²)₂]pCOOR²,

Het¹ denota pirrolidinilo, piperidinilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está o no sustituido o monosustituido por A,

15 Cyc denota alquilo cíclico con 3, 4, 5, 6 o 7 átomos de C que puede estar no sustituido o monosustituido por A, Hal, CN o Ar² o Het²,

Het² denota pirrolidinilo, piperidinilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está monosustituido con A,

20 A denota alquilo no ramificado o ramificado con 1-10 átomos de C, en donde uno o dos grupos no adyacentes CH y/o CH₂ pueden estar reemplazados por átomos de O y en donde 1-7 átomos de H pueden estar reemplazados por F o Cl,

Hal denota F, Cl, Br o I,

p denota 0 o 1,

con la condición de que, si R¹ está ausente, entonces Y no es 4-fluorofenilo, 3-bromofenilo o 5-cloro-2-fluorofenilo,

y excluyendo

25 2-(4-oxo-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-2-il)pirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo y 2-(4-oxo-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-2-il)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo,

y sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones.

30 Los compuestos de la fórmula I y también los materiales de partida para su preparación se preparan, adicionalmente, mediante métodos ya conocidos, tal como se describe en la literatura (por ejemplo, en libros de consulta regular tales como Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie [Métodos de Química Orgánica], Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart), para ser precisos, en condiciones de reacción que son conocidas y adecuadas para dichas reacciones. También se pueden usar aquí las variantes ya conocidas, pero que no se mencionan en la presente memoria con mayor detalle.

35 Los compuestos de partida de la fórmula II son conocidos en general. Sin embargo, si son nuevos, se pueden preparar por medio de métodos ya conocidos.

Los compuestos de la fórmula I se pueden obtener preferiblemente haciendo reaccionar un compuesto de la fórmula II con NH₃, una base inorgánica o un alcoholato alcalino.

Una base inorgánica denota preferiblemente un hidróxido, carbonato o bicarbonato de metal alcalino u otra sal de un ácido débil de los metales alcalinos, preferiblemente, de potasio, sodio, calcio o cesio.

Un alcoholato alcalino denota preferiblemente una sal de un alcohol, preferiblemente, metanol o etanol, de los metales alcalinos, preferiblemente, de potasio, sodio, calcio o cesio.

- 5 Dependiendo de las condiciones usadas, el tiempo de reacción está entre unos pocos minutos y 14 días, la temperatura de reacción está entre aproximadamente -10° y 140°, normalmente entre 30° y 130°, en particular entre aproximadamente 60° y aproximadamente 120°. La reacción se lleva a cabo en un disolvente inerte.

10 Ejemplos de disolventes inertes apropiados son hidrocarburos, tales como hexano, éter de petróleo, benceno, tolueno o xileno; hidrocarburos clorados, tales como tricloroetileno, 1,2-dicloroetano, tetracloruro de carbono, cloroformo o diclorometano; alcoholes, tales como metanol, etanol, isopropanol, n-propanol, n-butanol o terc-butanol; éteres tales como éter dietílico, éter diisopropílico, tetrahidrofurano (THF) o dioxano; glicol éteres tales como etilenglicol monometiléter o monoetiléter, etilenglicol dimetil éter (diglima); cetonas tales como acetona o butanona; amidas, tales como acetamida, dimetilacetamida o dimetilformamida (DMF); nitritos, tales como acetonitrilo; sulfóxidos tales como dimetilsulfóxido (DMSO); disulfuro de carbono; ácidos carboxílicos, tales como ácido fórmico o ácido acético; compuestos nitro tales como nitrometano o nitrobenceno; ésteres tales como acetato de etilo, o mezclas de dichos disolventes.

Se da particular preferencia al metanol.

Los compuestos de la fórmula I se pueden obtener además por conversión de un radical Y en otro radical Y mediante

- 20 i) la conversión de un átomo de halógeno en un grupo éster,
 ii) la conversión de un grupo éster en un grupo alcohol,
 iii) la conversión en un acoplamiento de Suzuki de un anillo fenilo halogenado en un anillo fenilo arilado.

Etapa i):

- 25 La conversión de un átomo de halógeno en un grupo éster se lleva a cabo preferiblemente con monóxido de carbono, preferiblemente, en un disolvente orgánico; preferiblemente, en metanol y/o tolueno en condiciones estándar.

Preferiblemente, la reacción se lleva a cabo bajo presión, preferiblemente 2 - 4 bar.

Preferiblemente, se añaden un complejo de paladio y/o de hierro, los complejos preferidos son (1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno)dicloropaladio (II) o 1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno.

- 30 Dependiendo de las condiciones usadas, el tiempo de reacción está entre algunos minutos y 14 días, la temperatura de reacción está entre aproximadamente 40° y 140°, normalmente entre 60° y 130°, en particular entre aproximadamente 90° y aproximadamente 110°.

Etapa ii):

- 35 La conversión de un grupo éster en un grupo alcohol, preferiblemente se lleva a cabo en presencia de cloruro de cerio (III) con un cloruro de alquilmagnesio en THF en condiciones estándar, o con hidruro de litio y aluminio en THF.

Etapa iii):

La conversión de un anillo fenilo halogenado en un anillo fenilo arilado, se lleva a cabo en condiciones estándar para un acoplamiento de Suzuki.

Etapa iv):

- 40 La conversión de un grupo alquilo halogenado en un grupo alquilo, preferiblemente se lleva a cabo con LiAlH₄ en THF o con zinc en ácido acético bajo condiciones estándar.

Los ésteres se pueden saponificar, por ejemplo, usando ácido acético o usando NaOH o KOH en agua, agua/THF o agua/dioxano, a temperaturas de entre 0 y 100°.

Sales farmacéuticas y otras formas

5 Dichos compuestos de acuerdo con la invención pueden ser usados en su forma final no salina. Por otra parte, la presente invención comprende también el uso de estos compuestos en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables que pueden derivarse de diversos ácidos y bases orgánicos e inorgánicos por procedimientos conocidos en la técnica. Las formas salinas farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula I se preparan en su gran mayoría por métodos convencionales. Si el compuesto de la fórmula I contiene un grupo carboxilo, una de sus sales adecuadas puede formarse haciendo reaccionar el compuesto con una base adecuada para producir la correspondiente sal de adición de base. Tales bases son, por ejemplo, hidróxidos de metal alcalino, incluyendo hidróxido de potasio, hidróxido de sodio e hidróxido de litio; hidróxidos de metal alcalinotérreo, tales como hidróxido de bario e hidróxido de calcio; alcóxidos de metal alcalino, por ejemplo etóxido de potasio y propóxido de sodio; y diversas bases orgánicas tales como piperidina, dietanolamina y N-metil-glutamina. Las sales de aluminio de los compuestos de la fórmula I también se incluyen aquí. En el caso de ciertos compuestos de la fórmula I, se pueden formar sales de adición de ácido por tratamiento de estos compuestos con ácidos orgánicos e inorgánicos farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, haluros de hidrógeno, tales como cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno o yoduro de hidrógeno, otros ácidos minerales y sus correspondientes sales, tales como sulfato, nitrato o fosfato y similares, y alquil y monoarilsulfonatos tales como etanosulfonato, toluenosulfonato y bencenosulfonato, y otros ácidos orgánicos y sus correspondientes sales tales como acetato, trifluoroacetato, tartrato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato, ascorbato y similares. Por lo tanto, entre las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula I se incluyen las siguientes: acetato, adipato, alginato, arginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato (besilato), bisulfato, bisulfito, bromuro, butirato, camforato, camforsulfonato, caprilato, cloruro, clorobenzoato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dihidrogenofosfato, dinitrobenzoato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, galacterato (a partir de ácido múxico), galacturonato, glucoheptanoato, gluconato, glutamato, glicerofosfato, hemisuccinato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hipurato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, yoduro, isetionato, isobutirato, lactato, lactobionato, malato, maleato, malonato, mandelato, metafosfato, metanosulfonato, benzoato de metilo, monohidrogenofosfato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, oleato, palmoato, pectinato, persulfato, acetato de fenilo, 3-fenilpropionato, fosfato, fosfonato, ftalato, pero esto no representa una restricción.

30 Además, las sales básicas de los compuestos de acuerdo con la invención incluyen sales de aluminio, amonio, calcio, cobre, hierro (III), hierro (II), litio, magnesio, manganeso (III), manganeso (II), potasio, sodio y cinc, pero no se pretende que representen una restricción. De las sales anteriormente mencionadas se da preferencia a la de amonio; las sales de los metales alcalinos sodio y potasio, así como las sales de los metales alcalinotérreos calcio y magnesio. Las sales de los compuestos de la fórmula I que se derivan de bases no tóxicas orgánicas farmacéuticamente aceptables, incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, incluyendo también aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, y resinas de intercambio iónico básicas, por ejemplo, arginina, betaína, cafeína, clorprocaína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina (benzatina), dicitclohexilamina, dietanolamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lidocaína, lisina, meglumina, N-metil-D-glucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purina, teobromina, trietanolamina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, y tris-(hidroximetil)-metilamina (trometamina), pero no se pretende que representen una restricción.

45 Pueden cuaternizarse compuestos de la presente invención que contienen grupos que contienen nitrógeno básico usando agentes tales como haluros de alquilo (C₁-C₄), por ejemplo cloruro, bromuro y yoduro de metilo, etilo, isopropilo y terc-butilo; sulfatos de dialquilo (C₁-C₄), por ejemplo sulfato de dimetilo, dietilo y diamilo; haluros de alquilo (C₁₀-C₁₈), por ejemplo cloruro, bromuro y yoduro de decilo, dodecilo, laurilo, miristilo y estearilo; y haluros de arilalquilo (C₁-C₄), por ejemplo cloruro de bencilo y bromuro de fenetilo. Se pueden preparar tanto compuestos solubles en agua como en aceite de acuerdo con la invención usando sales.

50 Las sales farmacéuticas preferidas mencionadas anteriormente, incluyen acetato, trifluoroacetato, besilato, citrato, fumarato, gluconato, hemisuccinato, hipurato, clorhidrato, bromhidrato, isetionato, mandelato, meglumina, nitrato, oleato, fosfonato, pivalato, fosfato de sodio, estearato, sulfato, sulfosalicilato, tartrato, tiomalato, tosilato y trometamina, pero no se pretende que representen una restricción.

Se da particular preferencia al clorhidrato, diclorhidrato, bromhidrato, maleato, mesilato, fosfato, sulfato y succinato.

55 Las sales de adición de ácido de compuestos básicos de la fórmula I se preparan poniendo en contacto la forma básica libre con una cantidad suficiente del ácido deseado, lo que provoca la formación de la sal en una forma convencional. La base libre se puede regenerar poniendo en contacto la forma salina con una base y aislando la base libre en una forma convencional. Las formas básicas libres se diferencian en cierto sentido de sus correspondientes formas salinas con respecto a ciertas propiedades físicas, tales como solubilidad en disolventes

polares; sin embargo, para los propósitos de la invención, las sales por el contrario corresponden a sus respectivas formas básicas libres.

5 Tal como se mencionó, las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula I se forman con metales o aminas, tales como metales alcalinos y alcalinotérreos o aminas orgánicas. Los metales preferidos son sodio, potasio, magnesio y calcio. Las aminas orgánicas preferidas son N,N'-dibenciletildiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, N-metil-D-glucamina y procaína.

10 Las sales de adición de base de los compuestos ácidos de acuerdo con la invención se preparan poniendo en contacto la forma ácida libre con una cantidad suficiente de la base deseada, causando la formación de la sal de una forma convencional. El ácido libre se puede regenerar poniendo en contacto la forma salina con un ácido y aislando el ácido libre en una forma convencional. Las formas ácidas libres se diferencian en cierto sentido de sus formas salinas correspondientes con respecto a ciertas propiedades físicas tales como solubilidad en disolventes polares; sin embargo, en el marco de la invención, las sales por el contrario corresponden a sus formas ácidas libres respectivas.

15 Si un compuesto de acuerdo con la invención contiene más de un grupo que puede formar sales farmacéuticamente aceptables de este tipo, la invención abarca también sales múltiples. Las formas salinas múltiples típicas incluyen, por ejemplo, bitartrato, diacetato, difumarato, dimeglumina, difosfato, disodio y triclorhidrato, pero no se pretende que representen una restricción.

20 Con respecto a lo anteriormente mencionado, puede observarse que la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" en el presente contexto se pretende que signifique un ingrediente activo que comprende un compuesto de la fórmula I en la forma de una de sus sales, en particular si esta forma salina le confiere al ingrediente activo propiedades farmacocinéticas mejoradas, en comparación con la forma libre del ingrediente activo o cualquier otra forma salina del ingrediente activo usado anteriormente. La forma salina farmacéuticamente aceptable del ingrediente activo también puede otorgarle a este ingrediente activo por primera vez una propiedad farmacocinética deseada que no tenía anteriormente y puede incluso tener una influencia positiva sobre la farmacodinamia de este ingrediente activo con respecto de su eficacia terapéutica en el organismo.

Isótopos

30 Se pretende además que un compuesto de la fórmula I incluya formas isotópicamente marcadas del mismo. Una forma isotópicamente marcada de un compuesto de la fórmula I es idéntica a este compuesto aparte del hecho de que uno o varios átomos del compuesto hayan sido reemplazados por un átomo o átomos que tienen una masa atómica o número de masa del átomo que se diferencia de la masa atómica o el número de masa del átomo que usualmente se presenta en la naturaleza. Entre los ejemplos de isótopos que se pueden obtener fácilmente en el mercado y se pueden incorporar en un compuesto de la fórmula I de acuerdo con métodos bien conocidos, se incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, por ejemplo, ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente. Un compuesto de la fórmula I, uno de sus profármacos o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, que contiene uno o más de los isótopos mencionados anteriormente y/u otros isótopos de otros átomos, se pretende que hagan parte de la presente invención. Un compuesto de la fórmula I marcado isotópicamente se puede usar de muchas formas útiles. Por ejemplo, un compuesto de la fórmula I marcado isotópicamente en el que, por ejemplo, se ha incorporado un radioisótopo, tal como ^3H o ^{14}C , es adecuado para ensayos de distribución en el tejido de un medicamento y/o sustrato. Estos radioisótopos, es decir, tritio (^3H) y carbono 14 (^{14}C), se prefieren particularmente debido a su preparación simple y su excelente capacidad de detección. La incorporación de isótopos más pesados, por ejemplo, deuterio (^2H), en un compuesto de la fórmula I presenta ventajas terapéuticas debido a la mayor estabilidad metabólica de este compuesto isotópicamente marcado. Una mayor estabilidad metabólica se traduce directamente un mayor tiempo de vida media in vivo o menores dosificaciones, lo cual, en la mayoría de las circunstancias, representaría una realización preferida de la presente invención. Un compuesto de la fórmula I marcado con un isótopo se puede preparar usualmente llevando a cabo los procedimientos divulgados en los esquemas de síntesis y la descripción relacionada, en la sección de ejemplos y en la sección de preparación en el presente texto, mediante el reemplazo de un reactivo no marcado isotópicamente por un reactivo marcado isotópicamente fácilmente asequible.

50 También se puede incorporar deuterio (^2H) en un compuesto de la fórmula I con el fin de manipular el metabolismo oxidativo del compuesto a través del efecto isotópico cinético primario. El efecto isotópico cinético primario es un cambio de la velocidad de una reacción química debido al intercambio de núcleos isotópicos, lo cual, a su vez, es causado por la modificación de las energías en estado basal necesarias para la formación de enlaces covalentes después de este intercambio isotópico. El intercambio de un isótopo más pesado usualmente resulta en una reducción de la energía en estado basal para un enlace químico, causando así una reducción de la velocidad en el rompimiento del enlace limitante de la velocidad. Si el rompimiento del enlace se produce en o cerca de la región del punto de equilibrio a lo largo de la coordenada de una reacción de múltiples productos, se pueden alterar sustancialmente las proporciones en la distribución de productos. A modo de explicación: si el deuterio se une a un átomo de carbono en una posición no intercambiable, son típicas diferencias de velocidad de $k_M/k_D = 2-7$. Si se

aplica exitosamente esta diferencia en la velocidad a un compuesto de fórmula I que sea susceptible a la oxidación, se puede modificar drásticamente el perfil de este compuesto in vivo y dar como resultado propiedades farmacocinéticas mejoradas.

5 Cuando se descubren y desarrollan agentes terapéuticos, el experto en la técnica busca optimizar los parámetros farmacocinéticos manteniendo al mismo tiempo las propiedades in vitro deseables. Es razonable suponer que muchos compuestos con perfiles farmacocinéticos pobres son susceptibles al metabolismo oxidativo. Los ensayos microsomales in vitro del hígado disponibles en la actualidad proporcionan información valiosa acerca del transcurso de un metabolismo oxidativo de este tipo, lo que a su vez permite el diseño racional de compuestos deuterados de fórmula I con una mayor estabilidad debido a la resistencia a dicho metabolismo oxidativo. Se obtienen por lo tanto mejoras significativas en los perfiles farmacocinéticos de los compuestos de la fórmula I y se pueden expresar cuantitativamente en términos de incrementos en la vida media in vivo ($t/2$), de la concentración con un efecto terapéutico máximo ($C_{máx.}$), del área bajo la curva de respuesta a la dosis (AUC), y F; y en términos de una eliminación reducida, de la dosis y costes de materiales.

10 Lo que se expone a continuación pretende ilustrar lo anterior: se prepara un compuesto de fórmula I que posee múltiples sitios potenciales de ataque para el metabolismo oxidativo, por ejemplo, átomos de hidrógeno bencílico y átomos de hidrógeno enlazados a un átomo de nitrógeno, como una serie de análogos en los cuales se reemplazan diversas combinaciones de átomos de hidrógeno por átomos de deuterio, de manera que algunos, la mayoría o todos estos átomos de hidrógeno han sido reemplazados por átomos de deuterio. Las determinaciones de vida media permiten una determinación favorable y precisa de la medida del grado hasta el cual ha aumentado la mejoría en resistencia al metabolismo oxidativo. De esta forma, se determina que es posible extender la vida media del compuesto de partida hasta un 100% como resultado del intercambio de este tipo de hidrógeno por deuterio.

15 El intercambio de hidrógeno por deuterio en un compuesto de fórmula I también se puede usar para lograr una modificación favorable del espectro del metabolito del compuesto de partida con el fin de disminuir o eliminar los metabólicos tóxicos no deseados. Por ejemplo, si surge un metabólico tóxico a través de la escisión oxidativa de un enlace carbono-hidrógeno (C-H), se puede asumir razonablemente que el análogo deuterado disminuya o elimine grandemente la producción del metabolito no deseado, incluso si la oxidación particular no es una etapa determinante de la velocidad. Se puede consultar información adicional sobre el estado del arte con respecto al intercambio de hidrógeno por deuterio, por ejemplo, en Hanzlik y colaboradores, J. Org. Chem. 55, 3992-3997, 1990; Reider y colaboradores, J. Org. Chem. 52, 3326-3334, 1987; Foster, Adv. Drug Res. 14, 1-40, 1985; Gillette y colaboradores, Biochemistry 33(10) 2927-2937, 1994, y Jarman y colaboradores. Carcinogenesis 16(4), 683-688, 1993.

20 La invención también se refiere a medicamentos que comprenden al menos un compuesto de la fórmula I y/o sus sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones, y opcionalmente excipientes y/o adyuvantes.

25 Las formulaciones farmacéuticas se pueden administrar en forma de unidades de dosificación que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por unidad de dosificación. Tal unidad puede contener, por ejemplo, 0,5 mg a 1 g, preferiblemente 1 mg a 700 mg, particularmente preferiblemente 5 mg a 100 mg, de un compuesto de acuerdo con la invención, dependiendo de la condición tratada, el método de administración y la edad, el peso y la condición del paciente, o bien se pueden administrar las formulaciones farmacéuticas en forma de unidades de dosificación que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por unidad de dosificación. Las formulaciones preferidas de unidad de dosificación son aquellas que contienen una dosis diaria o varias dosis, tal como se indicó anteriormente, o una fracción correspondiente de la misma de un ingrediente activo. Por otra parte, las formulaciones farmacéuticas de este tipo pueden prepararse usando un procedimiento que es generalmente conocido en la técnica farmacéutica.

30 Las formulaciones farmacéuticas se pueden adaptar para ser administradas por cualquier método adecuado deseado, por ejemplo, métodos por vía oral (incluyendo vía bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo vía bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo por vía subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Tales formulaciones se pueden preparar usando todos los procedimientos conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo, combinando el ingrediente activo con el(los) excipiente(s) o adyuvante(s).

35 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración oral pueden ser administradas como unidades separadas, tales como, por ejemplo, cápsulas o comprimidos; polvos o granulados; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas comestibles o mousses; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

40 Por lo tanto, por ejemplo, en el caso de administración oral en la forma de un comprimido o cápsula, el componente del ingrediente activo se puede combinar con un excipiente inerte oral, no tóxico y farmacéuticamente aceptable, tal como, por ejemplo, etanol, glicerol, agua, y similares. Se preparan los polvos triturando el compuesto hasta un

tamaño fino apropiado y se mezcla con un excipiente farmacéutico triturado de igual manera, tal como, por ejemplo, un carbohidrato comestible, tal como, por ejemplo, almidón o manitol. Asimismo puede estar presente un saborizante, un conservante, un dispersante y un colorante.

5 Las cápsulas se obtienen mediante la preparación de una mezcla en polvo como se describió anteriormente y llenando cápsulas de gelatina moldeadas con la mezcla. Los deslizantes y lubricantes, tales como, por ejemplo, ácido silícico altamente disperso, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol en forma sólida, se pueden adicionar a la mezcla en polvo antes de la operación de llenado. Asimismo, se puede agregar un desintegrante o un solubilizante, tal como, por ejemplo, agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio, a fin de mejorar la disponibilidad del medicamento después de la ingesta de la cápsula.

10 Además, si se desea o es necesario, se pueden incorporar igualmente en la mezcla aglutinantes, lubricantes y desintegrantes apropiados, así como colorantes. Los aglutinantes apropiados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, tales como, por ejemplo, glucosa o beta-lactosa, endulzantes de maíz, goma natural y sintética, tales como, por ejemplo, acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras, y similares. Los lubricantes utilizados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, talco, y similares. Los desintegrantes incluyen, sin limitarse a los mismos, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantano, y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo, granulándola o comprimiéndola en seco, agregando un lubricante y un desintegrante y comprimiendo toda la mezcla en tabletas. Se prepara una mezcla en polvo mezclando el compuesto triturado de una manera apropiada con un diluyente o una base, tal como se describió anteriormente, y opcionalmente con un aglutinante, tal como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardante de la disolución, tal como, por ejemplo, parafina, un acelerador de la absorción, tal como, por ejemplo, una sal cuaternaria, y/o un absorbente, tal como, por ejemplo, bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo puede granularse humectándola con un aglutinante, tal como, por ejemplo, jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos, y presionándola a través de un tamiz. Como alternativa para la granulación se hace pasar la mezcla en polvo a través de una máquina tableteadora, donde se forman grumos de formas no uniformes, que se rompen para formar gránulos. Los granulados pueden lubricarse por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral, a fin de evitar que se peguen a los moldes fundidos para el tableteo. La mezcla lubricada se comprime luego para formar tabletas. Los compuestos de acuerdo con la invención se pueden combinar también con un excipiente inerte que fluye en forma libre y luego se prensan directamente en tabletas sin realizar etapas de granulación o compresión en seco. También pueden estar presentes una capa de protección transparente u opaca que consiste de una capa sellante de goma laca, una capa de azúcar o material polimérico y una capa brillante de cera. Se pueden agregar colorantes a estos revestimientos para poder diferenciar entre diferentes unidades de dosificación.

35 Los líquidos orales, tales como, por ejemplo, soluciones, jarabes y elixires, pueden prepararse en forma de unidades de dosificación, de modo que una cantidad dada contiene una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una solución acuosa con un sabor apropiado, mientras que los elixires se preparan usando un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden formularse por dispersión del compuesto en un vehículo no tóxico. Igualmente pueden agregarse solubilizantes y emulsionantes, tales como, por ejemplo, alcoholes de isoestearilo etoxilados y éteres de polioxietileno sorbitol, conservantes, aditivos saborizantes, tales como, por ejemplo, aceite de hierbabuena o endulzantes naturales o sacarina, u otros endulzantes artificiales, etc.

45 Las formulaciones unitarias de dosificación para administración oral pueden, si se desea, ser encapsuladas en microcápsulas. La formulación se puede preparar también de modo que se libere en forma extendida o retardada en el tiempo, tal como, por ejemplo, por revestimiento o inclusión de material en forma de partículas en polímeros, ceras, y similares.

50 Los compuestos de la fórmula I, y sus sales y solvatos se pueden administrar en forma de sistemas de suministro de liposomas, tales como, por ejemplo, vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilaminares. Los liposomas se pueden formar a partir de diversos fosfolípidos, tales como, por ejemplo, colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

55 Los compuestos de la fórmula I, así como sus sales, solvatos se pueden suministrar también usando anticuerpos monoclonales como portadores individuales, a los que se acoplan las moléculas de compuesto. Los compuestos también se pueden acoplar con polímeros solubles como portadores medicamentosos dirigidos. Tales polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamidofenol, polihidroxietilaspirtamidofenol o polilisina de óxido de polietileno, sustituidos por radicales palmitoilo. Los compuestos pueden estar acoplados además a una clase de polímeros biodegradables que son apropiados para lograr una liberación controlada de un medicamento, por ejemplo, ácido poliláctico, poli-épsilon-caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidroxi-piranos, policianoacrilatos y copolímeros en bloque reticulados o anfipáticos de hidrogeles.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración transdérmica se pueden administrar como parches independientes para un contacto estrecho prolongado con la epidermis del receptor. De esta manera, por ejemplo, se puede suministrar el ingrediente activo desde el parche, por medio de iontoforesis, tal como se describe en términos general en *Pharmaceutical Research*, 3(6), 318 (1986).

- 5 Los compuestos farmacéuticos adaptados para administración tópica pueden ser formulados en forma de ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, atomizadores, aerosoles o aceites.

10 Para el tratamiento ocular o de otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las formulaciones se aplican preferiblemente como ungüento o crema tópicos. En el caso de una formulación para administración como un ungüento, el ingrediente activo puede emplearse ya sea con una base parafínica o una crema miscible con agua. De modo alternativo, el ingrediente activo se puede formular para producir una crema con una base cremosa de aceite en agua o una base de agua en aceite.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para aplicación tópica en los ojos, incluyen gotas oftálmicas, en las que el ingrediente activo está disuelto o suspendido en un portador apropiado, en particular un disolvente acuoso.

- 15 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para aplicación tópica en la boca comprenden comprimidos de disolución oral, pastillas y enjuagues bucales.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas a la aplicación rectal pueden administrarse en forma de supositorios o enemas.

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración nasal, en las cuales la sustancia portadora es un sólido, comprenden un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 20-500 micras, que se administra de la manera en que se aspira rapé, es decir por inhalación rápida a través de los pasajes nasales desde un recipiente que contiene el polvo que se sostiene cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas para administrar como atomización nasal o gotas nasales con un líquido como sustancia portadora abarcan soluciones de ingrediente activo en agua o aceite.

25 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración por inhalación abarcan polvos de partícula fina o neblinas que pueden ser generadas por medio de distintos tipos de dispensadores a presión con aerosoles, nebulizadores o insufladores.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración vaginal pueden ser administradas como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en atomizadores.

30 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen las soluciones inyectables estériles acuosas y no acuosas, que contienen antioxidantes, reguladores, bacteriostáticos y solutos, a través de los cuales la formulación se vuelve isotónica con la sangre del paciente a ser tratado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden contener agentes de suspensión y espesantes. Las formulaciones se pueden administrar en recipientes de dosis únicas o múltiples, por ejemplo, ampollas selladas y viales, y almacenadas previamente secadas por congelación (liofilizadas), de modo que solamente se requiere la adición del líquido portador estéril, por ejemplo, agua para propósitos de inyección, inmediatamente antes de usar. Las soluciones para inyección y suspensiones preparadas de acuerdo con la receta se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y tabletas.

40 No hace falta decir que, además de los constituyentes mencionados particularmente anteriormente, las formulaciones pueden comprender también otros agentes usuales en la técnica con respecto al tipo particular de formulación; de esta forma, por ejemplo, las formulaciones apropiadas para administración oral pueden contener saborizantes.

45 Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I depende de una serie de factores, incluyendo, por ejemplo, la edad y el peso del animal, la condición precisa que requiere de tratamiento, así como su gravedad, la naturaleza de la formulación y el método administración, y en última instancia es determinada por el médico o veterinario tratante. Sin embargo, una cantidad efectiva de un compuesto de acuerdo con la invención varía en general en el intervalo de 0,1 a 100 mg/kg de peso corporal del receptor (mamífero) por día y particularmente, típicamente, en el intervalo de 1 a 10 mg/kg de peso corporal por día. Por lo tanto, la cantidad real por día para un mamífero adulto de 70 kg está usualmente entre 70 y 700 mg, en donde esta cantidad se puede administrar como dosis única por día o usualmente en una serie de dosis parciales (tal como, por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco o seis) por día, de modo que la dosis diaria total es la misma. Una cantidad eficaz de una sal o solvato o de la misma se puede determinar como la fracción de la cantidad eficaz del compuesto de acuerdo con la invención misma. Se puede suponer que son apropiadas dosis similares para el tratamiento de los otros estados patológicos mencionados con anterioridad.

50

Un tratamiento combinado de este tipo se puede lograr dispensando en forma simultánea, consecutiva o separadamente los componentes individuales del tratamiento. Los productos combinados de este tipo emplean los compuestos de acuerdo con la invención.

5 La invención también se refiere a medicamentos que comprenden al menos un compuesto de la fórmula I y/o sus sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones y al menos otro ingrediente activo medicamentoso.

La invención también se refiere a un conjunto (kit) que consiste en envases separados de

(a) una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I y/o sus sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones, y

10 (b) una cantidad efectiva de otro ingrediente activo medicamentoso.

El conjunto comprende recipientes apropiados, tales como cajas, botellas individuales, bolsas o ampollitas. El conjunto puede comprender, por ejemplo, ampollitas separadas que contienen una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I y/o sus sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones, y una cantidad efectiva de otro ingrediente activo medicamentoso en forma disuelta o liofilizada.

15 “Tratamiento” tal como se usa en la presente memoria, implica un alivio, total o parcial, de los síntomas asociados con un trastorno o enfermedad, o una desaceleración, o interrupción del avance adicional o empeoramiento de esos síntomas, o prevención o profilaxis de la enfermedad o el trastorno en un sujeto en riesgo de desarrollar la enfermedad o el trastorno.

20 La expresión “cantidad efectiva” en conexión con un compuesto de la fórmula (I) puede significar una cantidad capaz de aliviar, por completo o en parte, los síntomas asociados con un trastorno o enfermedad o desaceleración o interrupción posterior del avance o empeoramiento de esos síntomas, o la prevención o profilaxis de la enfermedad o el trastorno en un sujeto que tiene o que está en riesgo de desarrollar una enfermedad divulgada en la presente memoria, tales como condiciones inflamatorias, condiciones inmunológicas, cáncer o condiciones metabólicas.

25 En una forma de realización, una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula (I) es una cantidad que inhibe una tanquirasa en una célula, tal como, por ejemplo, in vitro o in vivo. En algunas formas de realización, la cantidad efectiva del compuesto de la fórmula (I) inhibe la tanquirasa en una célula en un 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 99%, en comparación con la actividad de la tanquirasa en una célula no tratada. La cantidad efectiva del compuesto de la fórmula (I), por ejemplo en una composición farmacéutica, puede estar en un nivel que ejercerá el efecto deseado; por ejemplo, aproximadamente 0,005 mg/kg del peso corporal de un sujeto a

30 aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal de un sujeto en una dosificación unitaria tanto para administración oral como parenteral.

Uso

35 Los presentes compuestos son adecuados como ingredientes farmacéuticos activos para mamíferos, especialmente para seres humanos, en el tratamiento de cáncer, esclerosis múltiple, enfermedades cardiovasculares, lesiones del sistema nervioso central y diferentes formas de inflamación.

La presente invención abarca los compuestos para uso de la fórmula I y/o sus sales y solvatos fisiológicamente aceptables para el tratamiento o la prevención de cáncer, esclerosis múltiple, enfermedades cardiovasculares, lesión del sistema nervioso central y diferentes formas de inflamación.

40 Los ejemplos de enfermedades inflamatorias incluyen artritis reumatoide, psoriasis, dermatitis de contacto, reacción retrasada de hipersensibilidad, y similares.

45 La presente invención se refiere específicamente a compuestos de la fórmula I y sus sales, solvatos, tautómeros, y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo mezclas de los mismos en todas las proporciones, para uso en el tratamiento de cáncer, esclerosis múltiple, enfermedades cardiovasculares, lesiones del sistema nervioso central y diferentes formas de inflamación.

Los cánceres representativos para los cuales son útiles los compuestos de la fórmula I para tratamiento o prevención incluyen, pero no se limitan a, cáncer de cabeza, cuello, ojos, boca, garganta, esófago, bronquios, laringe, faringe, pecho, huesos, pulmones, colon, recto, estómago, próstata, vejiga urinaria, útero, cuello de la matriz, mama, ovarios,

testículos u otros órganos reproductores, piel, tiroides, sangre, nódulos linfáticos, riñones, hígado, páncreas, cerebro, sistema nervioso central, tumores sólidos y tumores transmitidos por la sangre.

5 Las enfermedades cardiovasculares representativas para las cuales son útiles los compuestos de la fórmula I para tratamiento o prevención incluyen, pero no se limitan a, restenosis, aterosclerosis y sus consecuencias tales como accidente cardiovascular, infarto de miocardio, daño isquémico del corazón, pulmón, intestinos, riñones, hígado, páncreas, bazo o cerebro.

Los compuestos divulgados de la fórmula I pueden administrarse junto con otros agentes terapéuticos conocidos, incluyendo anticancerígenos. Tal como se utiliza aquí, el término "agente anticancerígeno" se refiere a cualquier agente que se administra a un paciente con cáncer para propósitos de tratamiento del cáncer.

10 El tratamiento anticancerígeno aquí definido puede aplicarse como una terapia única o puede comprender adicionalmente al compuesto de la invención, una cirugía o radioterapia o quimioterapia convencionales. Tal quimioterapia puede incluir una o más de las siguientes categorías de agentes antitumorales:

15 (i) agentes antiproliferativos / antineoplásicos / agentes que dañan el ADN y sus combinaciones, como se usa en oncología médica, tal como agentes de alquilación (por ejemplo cisplatino, carboplatino, ciclofosfamida, mostaza nitrogenada, melfalan, clorambucilo, busulfán y nitrosoureas); antimetabolitos (por ejemplo, antifolatos, tal como fluoropirimidinas, tales como 5-fluorouracilo y tegafur, raltitrexed, metotrexato, citosina arabinósida, hidroxiurea y gemcitabina); antibióticos antitumorales (por ejemplo, antraciclinas, como adriamicina, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarrubicina, mitomicina C, dactinomicina y mitramicina); agentes antimetabólicos (por ejemplo, alcaloides de la vinca, como vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina, y taxoides, como taxol y taxotere); inhibidores de la topoisomerasa (por ejemplo, epipodofilotoxinas, como etopósido y tenipósido, amsacrina, topotecano, irinotecano y camptotecina) y agentes para la diferenciación celular (por ejemplo, ácido totalmente trans-retinoico, ácido 13-cis-retinoico y fenretinida);

25 (ii) agentes citostáticos, tales como antiestrógenos (por ejemplo, tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno y yodoxifeno), subreguladores del receptor de estrógeno (por ejemplo, fulvestrant), antiandrógenos (por ejemplo, bicalutamida, flutamida, nilutamida y acetato de ciproterona), antagonistas de LHRH o agonistas de LHRH (por ejemplo, goserelina, leuprorelina y buserelina), progesteronas (por ejemplo, acetato de megestrol), inhibidores de aromatasa (por ejemplo como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano) e inhibidores de la 5 α -reductasa, como finasteride;

30 (iii) agentes que inhiben la invasión de células cancerosas (por ejemplo, inhibidores de la metaloproteinasas, como marimastato e inhibidores de la función del receptor activador del plasminógeno uroquinasa;

35 (iv) inhibidores de la función del factor de crecimiento, por ejemplo, tales inhibidores incluyen anticuerpos del factor de crecimiento, anticuerpos del receptor del factor de crecimiento (por ejemplo, el anticuerpo anti-erbB2 trastuzumab [Herceptin^{MR}] y el anticuerpo anti-erbB1 cetuximab [C225]), inhibidores de la farnesil transferasa, inhibidores de la tirosina quinasa e inhibidores de la serina / treonina quinasa, por ejemplo inhibidores de la familia de factores de crecimiento epidérmicos (por ejemplo, inhibidores de las tirosina quinasa de la familia EGFR, tales como N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (Gefitinib, AZD1839), N-(3-etinilfenil)-6,7-bis-(2-metoxietoxi)quinazolin-4-amina (Erlotinib, OSI-774) y 6-acrilamido-N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (CI 1033)), por ejemplo, inhibidores de la familia de factores de crecimiento derivados de las plaquetas y por ejemplo, inhibidores de la familia de factores de crecimiento de hepatocitos;

40 (v) agentes antiangiogénicos, tal como aquellos que inhiben los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular (por ejemplo, el anticuerpo contra el factor de crecimiento de células endoteliales vasculares bevacizumab [Avastin^{MR}], compuestos tales como aquellos divulgados en las solicitudes internacionales de patente publicadas WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 y WO 98/113354) y compuestos que actúan a través de otros mecanismos (por ejemplo, linomida, inhibidores de la función de la integrina $\alpha v \beta 3$ y angiostatina);

45 (vi) agentes que dañan los vasos, tales como combretastatina A4 y los compuestos divulgados en las solicitudes internacionales de patente WO 99/02166, WO 00/140529, WO 00/41669, WO 01/92224, WO 02/04434 y WO 02/08213;

(vii) terapias antisentido, por ejemplo, aquellas que están dirigidas contra los objetivos enumerados anteriormente, tales como ISIS 2503, un anti-Ras antisentido;

50 (viii) enfoques de terapia genética, incluyendo, por ejemplo, enfoques para el reemplazo de genes aberrantes, tales como p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrantes, enfoques de GDEPT (terapia con profármacos enzimáticos dirigidos a genes), tales como aquellos que utilizan la citosina desaminasa, timidina quinasa o una enzima de

nitrorreductasa bacteriana, y enfoques para elevar la tolerancia del paciente a la quimioterapia o a la radioterapia, tal como la terapia génica de resistencia a múltiples fármacos; y

5 (ix) enfoques de inmunoterapia, incluyendo, por ejemplo, enfoques ex vivo e in vivo para elevar la inmunogenicidad de las células tumorales del paciente, tales como transfección con citoquinas, tal como interleuquina 2, interleuquina 4 o factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, enfoques para reducir la anergia de las células T, enfoques que utilizan células inmunes transfectadas, tales como células dendríticas transfectadas con citoquina, enfoques que usan líneas celulares tumorales transfectadas con citoquina y enfoques que usan anticuerpos antiidiotípicos.

10 Los medicamentos de Tabla 1 a continuación, preferiblemente, pero no exclusivamente, se combinan con los compuestos de la fórmula I.

Tabla 1		
Agentes de alquilación	Ciclofosfamida	Lomustina
	Busulfano	Procarbazina
	Ifosfamida	Altretamina
	Melfalano	Fosfato de estramustina
	Hexametilmelamina	Mecloretamina
	Tiotepa	Estreptozocina
	Clorambucilo	Temozolomida
	Dacarbazina	Semustina
	Carmustina	
Agentes de platino	Cisplatino	Carboplatino
	Oxaliplatino	ZD-0473 (AnorMED)
	Espiropatino	Lobaplatino (Aetema)
	Carboxifalatoplatino	Satraplatino (Johnson
	Tetraplatino	Matthey)
	Ormiplatino	BBR-3464
	Iproplatino	(Hoffmann-La Roche)
		SM-11355 (Sumitomo)
	AP-5280 (Access)	
Antimetabolitos	Azacitidina	Tomudex
	Gemcitabina	Trimetrexato
	Capecitabina	Desoxicofomicina

	5-fluorouracilo	Fludarabina
	Floxuridina	Pentostatina
	2-clorodesoxiadenocina	Raltitrexed
	6-mercaptopurina	Hidroxiurea
	6-tioguanina	Decitabina (SuperGen)
	Citarabina	Clofarabina (Bioenvision)
	2-fluorodesoxicidina	Irofulveno (MGI Pharma)
	Metotrexato	DMDC (Hoffmann-La Roche)
	Idatrexato	Etinilcicidina (Taiho)
Inhibidores de topoisomerasa	Amsacrina	Rubitecano (SuperGen)
	Epirubicina	Mesilato de exatecano (Daiichi)
	Etopósido	Quinamed (ChemGenex)
	Tenipósido o mitoxantrona	Gimatecano (Sigma-Tau)
	Irinotecano (CPT-11)	Diflomotecano (Beaufour-Ipsen)
	7-etil-10-hidroxicamptotecina	TAS-103 (Taiho)
	topotecano	Elsamitrucina (Spectrum)
	Dexrazoxanet (TopoTarget)	J-107088 (Merck & Co)
	Pixantrona (Novuspharma)	BNP-1350 (BioNumerik)
	Análogo de Rebecamicina (Exelixis)	CKD-602 (Chong Kun Dang)
	BBR-3576 (Nouspharma)	KW-2170 (Kyowa Hakko)
Antibióticos antitumorales	Dactinomicina (Actinomicina D)	Amonafida
	Doxorrubicina (Adriamicina)	Azonafida
	Desoxirubicina	Atrapirazol
	Valubicina	Oxantrazol
	Daunorrubicina (Daunomicina)	Losoxantrona
	Epirubicina	Sulfato de bleomicina (Blenoxano)
	Terarrubicina	Ácido bleomicínico
	Idarrubicina	Bleomicina A

ES 2 587 939 T3

	Rubidazona	Bleomicina B
	Plicamicina	Mitomicina C
	Porfiromicina	MEN-10755 (Menarini)
	Cianomorfolinodoxorrubicina	GPX-100 (Gem Pharmaceuticals)
	Mitoxantrona (Novantron)	
Agentes antimitóticos		
	Paclitaxel	SB 408075 (GlaxoSmithKline)
	Docetaxel	E7010 (Abbott)
	Colchicina	PG-TXL (Cell Therapeutics)
	Vinblastina	IDN 5109 (Bayer)
	Vincristina	A 105972 (Abbott)
	Vinorelbina	A 204197 (Abbott)
	Vindesina	LU 223651 (BASF)
	Dolastatina 10 (NCI)	D 24851 (ASTA Medica)
	Rizoxina (Fujisawa)	ER-86526 (Eisai)
	Mivobulina (Warner-Lambert)	Combrestatina A4 (BMS)
	Cemadotina (BASF)	Isohomohalicondrina-B (PharmaMar)
	RPR 109881A (Aventis)	ZD 6126 (AstraZeneca)
	TXD 258 (Aventis)	PEG-Paclitaxel (Enzon)
	Epotilona B (Novartis)	AZ10992 (Asahi)
	T 900607 (Tularik)	IDN-5109 (Indena)
	T 138067 (Tularik)	AVLB (Prescient NeuroPharma)
	Criptoficina 52 (Eli Lilly)	Azaepotilona B (BMS)
	Vinflunina (Fabre)	BNP-7787 (BioNumerik)
	Auristatina PE (Teikoku Hormone)	Profármaco CA-4 (OXiGENE)
	BMS 247550 (BMS)	Dolastatina 10 (NrH)
	BMS 184476 (BMS)	CA-4 (OXiGENE)
	BMS 188797 (BMS)	
	Taxoprexina (Protarga)	

ES 2 587 939 T3

Inhibidores de aromatasa	Aminoglutetimida	Exemestano
	Letrozol	Atamestano (BioMedicines)
	Anastrozol	YM-511 (Yamanouchi)
	Formestano	
Inhibidores de la timidilato sintasa	Pemetrexed (Eli Lilly)	Nolatrexed (Eximias)
	ZD-9331 (BTG)	CoFactor ^{MR} (BioKeys)
Antagonistas de ADN	Trabectedina (PharmaMar)	Mafosfamida (Baxter International)
	Glufosfamida (Baxter International)	Apaziquona (Spectrum Pharmaceuticals)
	Albúmina + 32P (Isotope Solutions)	O6-bencilguanina (Paligent)
	Tymectacina (NewBiotics)	
	Edotreotida (Novartis)	
Inhibidores de la farnesil transferasa	Arglabina (NuOncology Labs)	Tipifarniba (Jhonson & Johnson)
	Ionofarbina (Schering-Plough)	Alcohol perililo (DOR BioPharma)
	BAY-43-9006 (Bayer)	
Inhibidores de la bomba	CBT-1 (CBA Pharma)	Triclorhidrato de zosuquidar (Eli Lilly)
	Tariquidar (Xenova)	Dicitrato de biricodar (Vertex)
	MS-275 (Schering AG)	
Inhibidores de la histona acetil transferasa	Tacedinalina (Pfizer)	Butirato de pavaloiloximetilo (Titan)
	SAHA (Anton Pharma)	Depsipéptido (Fujisawa)
	MS-275 (Schering AG)	
Inhibidores de la metaloproteínasa Inhibidores de la ribonucleótido reductasa	Neovastat (Aeterna Laboratories)	CMT-3 (CollaGenex)
	Marimastat (British Biotech)	BMS-275291 (Celltech)
	Maltolato de galio (Titan)	Tezacitabina (Aventis)
	Triapina (Vion)	Didox (Molecules for Health)

ES 2 587 939 T3

Agonistas/antagonistas de TNF-alfa	Virulizina (Lorus Therapeutics) CDC-394 (Celgene)	Revimida (Celgene)
Antagonistas del receptor de Endotelina A	Atrasentano (Abbott) ZD-4054 (AstraZeneca)	YM-598 (Yamanouchi)
Agonistas del receptor de ácido retinoico	Fenretinidina (Johnson & Johnson) LGD-1550 (Ligand)	Alitretinoína (Ligand)
Inmunomoduladores	Interferón Oncófago (Antigenics) GMK (Progenics) Vacuna para el Adenocarcinoma (Biomira) CTP-37 (AVI BioPharma) JRX-2 (Immuno-Rx) PEP-005 (Peplin Biotech) Vacunas Synchrovax (CTL Immuno) Vacuna para Melanoma (CTL Immuno) Vacuna p21-RAS (GemVax)	Terapia de Dexosoma (Anosys) Pentrix (Australian Cancer Technology) JSK-154 (Tragen) Vacuna contra cáncer (Intercell) Norelina (Biostar) BLP-25 (Biomira) MGV (Progenics) β-Aletina (Dovetail) CLL-Thera (Vasogen)
Agentes Hormonales y antihormonales	Estrógenos Estrógenos conjugados Etinilestradiol Clorotrianiseno Idenestrol Caproato de hidroxiprogesterona Medroxiprogesterona Testosterona	Prednisona Metilprednisolona Prednisolona Aminoglutetimida Leuprolida Goserelina Leuporelina Bicalutamida

ES 2 587 939 T3

	<p>Propionato de testosterona</p> <p>Fluoximesterona</p> <p>Metiltestosterona</p> <p>Dietilestilbestrol</p> <p>Megestrol</p> <p>Tamoxifeno</p> <p>Toremofina</p> <p>Dexametasona</p>	<p>Flutamida</p> <p>Octreotida</p> <p>Nilutamida</p> <p>Mitotano</p> <p>P-04 (Novogen)</p> <p>2-Metoxiestradiol (EntreMed)</p> <p>Arzoxifeno (Eli Lilly)</p>
Agentes fotodinámicos	<p>Talaporfina (Light Sciences)</p> <p>Teralux (Theratechnologies)</p> <p>Motexafina-Gadolinio (Pharmacyclics)</p>	<p>Bacteriofeoforbicida de Pd (Yeda)</p> <p>Texafirina de Lutecio (Pharmacyclics)</p> <p>Hipericina</p>
Inhibidores de tirosina quinasa	<p>Imatinib (Novartis)</p> <p>Leflunomida (Sugen/Pharmacia)</p> <p>ZDI839 (AstraZeneca)</p> <p>Erlotinib (Oncogene Science)</p> <p>Canertjnib (Pfizer)</p> <p>Escualamina (Genaera)</p> <p>SU5416 (Pharmacia)</p> <p>SU6668 (Pharmacia)</p> <p>ZD4190 (AstraZeneca)</p> <p>ZD6474 (AstraZeneca)</p> <p>Vatalanib (Novartis)</p> <p>PKI166 (Novartis)</p> <p>GW2016 (GlaxoSmithKline)</p> <p>EKB-509 (Wyeth)</p> <p>EKB-569 (Wyeth)</p>	<p>Kahalida K (PharaMar)</p> <p>CEP-701 (Cephalon)</p> <p>CEP-751 (Cephalon)</p> <p>MLN518 (Millenium)</p> <p>PKC412 (Novartis)</p> <p>Fenoxodiol O</p> <p>Trastuzumab (Genentech)</p> <p>C225 (ImClone)</p> <p>rhu-Mab (Genentech)</p> <p>MDX-H210 (Medarex)</p> <p>2C4 (Genentech)</p> <p>MDX-447 (Medarex)</p> <p>ABX-EGF (Abgenix)</p> <p>IMC-1C11 (ImClone)</p>
Agentes varios	SR-27897 (inhibidor de CCK-A,	BCX-1777 (inhibidor de PNP, BioCryst)

Sanofi-Synthelabo)	Ranpirnasa (estimulante de ribonucleasa, Alfacell)
Tocladesina (agonista de AMP cíclico, Ribapharm)	Galarrubicina (inhibidor de la síntesis de ARN, Dong-A)
Alvocidib (inhibidor de CDK, Aventis)	Tirapazamina (agente reductor, SRI International)
CV-247 (inhibidor de COX-2, Phytopharm)	N-acetilcisteína (agente reductor, Zambon)
CapCell ^{MR} (estimulante de CYP450, Bavarian Nordic)	R-Flurbiprofeno (inhibidor de NF-kappaB, Encore)
GCS-IOO (antagonista de gal3, GlycoGenesys)	3CPA (inhibidor de NF-kappaB, Active Biotech)
Inmunógeno de G17DT (inhibidor de gastrina, Apton)	Seocalcitol (agonista del receptor de la vitamina D, Leo)
Efaproxiral (oxigenador, Allos Therapeutics)	131-I-TM-601 (antagonista de ADN, TransMolecular)
PI-88 (inhibidor de heparanasa, Progen)	Eflornitina (inhibidor de ODC, ILEX Oncology)
Tesmilifen (antagonista de histamina, YM BioSciences)	Ácido minodróico (inhibidor de osteoclastos, Yamanouchi)
Histamina (receptor agonista de histamina H2, Maxim)	Indusulam (estimulante de p-53, Eisai)
Tiazofurina (inhibidor de IMPDH, Ribapharm)	Aplidina (inhibidor de PPT, PharmaMar)
Cilengitida (antagonista de integrina, Merck KGaA)	Rituximab (anticuerpo CD20, Genentech)
SR-31747 (antagonista de IL-1, Sanofi-Synthelabo)	Gemtuzumab (anticuerpo CD33, Wyeth Ayerst)
CCI-779 (inhibidor de quinasa mTOR, Wyeth)	PG2 (promotor de hematopoyesis, Pharmagenesis)
Exisulind (inhibidor de PDE-V, Cell Pathways)	ImmunoI ^{MR} (enjuague bucal de triclosán, Endo)
AG-2037 (inhibidor de GART, Pfizer)	Triacetiluridina (profámaco de uridina, Wellstat)
WX-UK1 (inhibidor del activador de plasminógeno, Willex)	SN-4071 (agente de sarcoma, Signature BioScience)
PBI-1402 (estimulante de PMN, ProMetic LifeSciences)	TransMID-107 ^{MR} (inmunotoxina, KS Biomedix)
Bortezomib (inhibidor de proteasoma, Millenium)	PCK-3145 (promotor de apoptosis, Procyon)
SRL-172 (estimulante de células T, SR Pharma)	Doranidazol (promotor de apoptosis, Pola)

	TLK-286 (inhibidor de la glutatión S-transferasa, Telik)	CHS-828 (agente citotóxico, Leo)
	PT-100 (agonista del factor de crecimiento, Point Therapeutics)	Ácido trans-retinoico (diferenciador, NIH)
	Midostaurina (inhibidor de PKC, Novartis)	MX6 (promotor de apoptosis, MAXIA)
	Briostatina-1 (estimulante de PKC, GPC Biotech)	Apomina (promotor de apoptosis, ILEX Oncology)
	CDA-II (promotor de apoptosis, Everlife)	Urocidina (promotor de apoptosis, Bioniche)
	SDX-101 (promotor de apoptosis, Salmedix)	Ro-31-7453 (promotor de apoptosis. La Roche)
	Ceflatonina (promotor de apoptosis, ChemGenex)	Brostalicina (promotor de apoptosis, Pharmacia)

Las siguientes abreviaturas se refieren respectivamente a las siguientes definiciones:

- 5 ac (acuoso), h (hora), g (gramo), L (litro), mg (miligramo), MHz (Megahertz), min. (minuto), mm (milímetro), mmol (milimol), mM (milimolar), p.f. (punto de fusión), eq (equivalente), mL (mililitro), μ L (microlitro), ACN (acetonitrilo), AcOH (ácido acético), $CDCl_3$ (cloroformo deuterado), CD_3OD (metanol deuterado), CH_3CN (acetonitrilo), c-hex (ciclohexano), DCC (diciclohexilcarbodiimida), DCM (diclorometano), DIC (diisopropilcarbodiimida), DIEA (diisopropiletilamina), DMF (dimetilformamida), DMSO (dimetilsulfóxido), DMSO-d6 (dimetilsulfóxido deuterado), EDC (1-(3-dimetil-amino-propil)-3-etilcarbodiimida), ESI (ionización por electroaspersión), EtOAc (acetato de etilo), Et_2O (éter dietílico), EtOH (etanol), HATU (hexafluorofosfato de dimetilamino-([1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-iloxi)-metilen]-dimetil-amonio), HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento), i-PrOH (2-propanol). K_2CO_3 (carbonato de potasio), LC (cromatografía líquida), MeOH (metanol), $MgSO_4$ (sulfato de magnesio), MS (espectrometría de masa), MTBE (metil terc-butil éter), $NaHCO_3$ (bicarbonato de sodio), $NaBH_4$ (borohidruro de sodio), NMM (N-metilmorfolina), RMN (resonancia magnética nuclear), PyBOP (hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-trispirrolidin-fosfonio), TA (temperatura ambiente), Rt (tiempo de retención), SPE (extracción en fase sólida), TBTU (tetrafluoroborato de 2-(1-H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio), TEA (triethylamina), TFA (ácido trifluoroacético), THF (tetrahidrofurano), TLC (cromatografía de capa fina), UV (ultravioleta)

Descripción de los ensayos in vitro

Abreviaturas:

GST = Glutatión S-transferasa

20 FRET = transferencia de energía por resonancia de fluorescencia

HTRF® = (fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo)

HEPES = regulador de ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanosulfónico

DTT = Ditiotreitól

BSA = albúmina de suero bovino

25 CHAPS = detergente;

CHAPS = 3-[(3-colamidopropil)dimetilamonio]-1-propansulfonato

Streptavidin-XLent® es un conjugado de alto grado de estreptavidina-XL665 para el que se optimizaron las condiciones de acoplamiento para producir un conjugado con mejores rendimientos para algunos ensayos, en particular aquellos que requieren alta sensibilidad.

Ensayo de actividad bioquímica de Tanquirasa 1 y 2: ensayo de autoparsilación

5 El ensayo de autoparsilación se corre en dos etapas: la reacción enzimática en la cual la Tanquirasa-1 marcada con GST, respecto de Tanquirasa-2 transfiere ADP-ribosa biotinilada a si misma desde NAD biotinilado como cosustrato y la reacción de detección en donde se analiza la FRET resuelta en el tiempo entre anti-GST marcado con criptato enlazado a la etiqueta de GST de la enzima y estreptavidina marcada con XLent® enlazada al residuo de parsilación de biotina. La actividad de autoparsilación puede ser detectada directamente a través del aumento de la señal de HTRF.

10 El ensayo de autoparsilación se lleva a cabo como un formato de ensayo HTRF® en placas de microtitulación de 384 pozos Greiner de bajo volumen (Cisbio, Codolet, Francia) y se usa para un cribado de alto rendimiento. Se incuban 250 nM de Tanquirasa-1 etiquetada con GST (1023-1327 aa), respectivamente aproximadamente 250 nM de Tanquirasa-2 etiquetada con GST (873-1166 aa) y 5 µM de bio-NAD (Biolog, Life Science Inst., Bremen, Alemania) como cosustrato en un volumen total de 5 µL (HEPES 50 mM, cloruro de Magnesio 4 mM, Pluronic F-68 0,05%, DTT 1,4 mM, DMSO 0,5%, pH 7,7) en ausencia o presencia del compuesto de ensayo (concentraciones diluidas 10 veces) durante 90 min a 30°C. Se detiene la reacción mediante la adición de 1 µl de solución de EDTA 50 mM. Se añaden 2 µl de la solución de detección (SA-XLent® 1,6 µM (Cisbio, Codolet, Francia), Anti-GST-K® 7,4 nM (anti-GST marcado con Eu, Cisbio, Codolet, Francia) en HEPES 50 mM, KF 800 mM BSA, 0,1%, EDTA 20 mM, CHAPS 0,1%, pH 7,0). Después de 1 h de incubación a temperatura ambiente, se mide la HTRF con un lector multimodal Envision (Perkin Elmer LAS Alemania GmbH) a una longitud de onda de excitación de 340 nm (modo láser) y longitudes de onda de emisión de 615 nm y 665 nm. Se determina la relación de las señales de emisión. El valor total usado es la reacción libre de inhibidor. El valor cero farmacológico utilizado es XAV-939 (Tocris) en una concentración final de 5 µM. Los valores de inhibición (IC₅₀) se determinan usando ya sea el programa Symyx Assay Explorer® o Condosseo® de GeneData.

Medición de la inhibición celular de la tanquirasa

Ya que se ha descrito que las Tanquirasas modulan el nivel celular de Axin2 (Huang y colaboradores, 2009; Nature), se usa el incremento en el nivel de Axin2 como lectura para determinar la inhibición celular de las tanquirasas en un ensayo basado en Luminex.

30 Las células de la línea celular de carcinoma de colon DLD1 se siembran en placas de 96 pozos con 1,5x10⁴ células por pozo. Al siguiente día, se tratan las células con una dilución serial del compuesto de ensayo en siete etapas con triplicados con una concentración final de DMSO del 0,3%. Después de 24 horas, se lisan las células en regulador de lisis (Tris/HCl 20 mM, pH 8,0, NaCl 150 mM, NP40 1%, Glicerol 10%) y se separan los lisados por centrifugación a través de una placa filtrante de 96 pozos (0,65 µm). Se aísla la proteína Axin2 de los lisados celulares por incubación con un anticuerpo monoclonal anti-Axin2 (R&D Systems #MAB6078) que esta enlazado a perlas fluorescentes de carboxilo. A continuación, se detecta específicamente Axin2 enlazado con un anticuerpo policlonal anti-Axin2 (Cell Signaling #2151) y un anticuerpo secundario fluorescente de PE apropiado. La cantidad de proteína Axin2 aislada se determina en una máquina Luminex²⁰⁰ (Luminex Corporation) de acuerdo con la instrucción del fabricante, mediante el recuento de 100 eventos por pozo. La inhibición de la Tanquirasa por los compuestos de ensayo da como resultado niveles más altos de Axin2 que se correlaciona directamente con un aumento de la fluorescencia detectable.

40 Como controles, se tratan las células solo con disolvente (control neutro) y con un inhibidor de referencia de Tanquirasa IWR-2 (3E-06 M) que se referencia como control para un incremento máximo de Axin2. Para el análisis, se normalizan los datos obtenidos contra el control de disolvente no tratado y se ajustan para determinación de los valores de EC₅₀ usando el software Assay Explorer (Accelrys).

Descripción del ensayo PARP1

Análisis de la actividad bioquímica de PARP-1: ensayo de autoparsilación

50 El ensayo de autoparsilación se corre en dos etapas: la reacción enzimática en la que Parp-1 etiquetada con His transfiere ADP-ribosa biotinilada/ADP-ribosa a si misma desde NAD biotinilado/NAD como cosustrato y la reacción de detección donde se analiza un FRET resuelto en el tiempo entre anticuerpo anti-His etiquetado con criptato enlazado a la etiqueta His de la enzima y estreptavidina etiquetada con XLent® enlazado al residuo de parsilación de biotina. La actividad de autoparsilación se puede detectar directamente a través del aumento de la señal de HTRF.

El ensayo de autoparsilación se lleva a cabo como formato de ensayo de HTRF® (Cisbio, Codolet, Francia) de 384 pozos en placas de microtitulación de 384 pozos de volumen bajo Greiner. Se incuban Parp-1 etiquetado con His 35 mM (humano, recombinante, Enzo Life Sciences GmbH, Lörrach, Alemania) y una mezcla de bio-NAD 125 nM (Biolog, Life Science Inst., Bremen, Alemania) y NAD 800 nM como cosustrato en un volumen total de 6 µL (Tris/HCl 100 mM, cloruro de Magnesio 4 mM, IGEPAL® al 0,01% CA630, DTT 1 mM, DMSO al 0,5 %, pH 8, ADN 13 ng/µl de ADN activado (BPS Bioscience, San Diego, Estados Unidos)) en ausencia o presencia del compuesto de ensayo (concentraciones diluidas 10 veces) durante 150 min a 23°C. Se detiene la reacción mediante la adición de 4 µL de la solución de detención/detección (SA-Xlent® 70 nM (Cisbio, Codolet, Francia), Anti-His-K® 2,5 nM (anti-His etiquetado con Eu, Cisbio, Codolet, Francia) en HEPES 50 mM, KF 400 mM, BSA al 0,1%, EDTA 20 mM, pH 7,0). Después de incubar durante 1 h a temperatura ambiente, se mide la HTRF con un lector multimodal Envision (Perkin Elmer LAS Alemania GmbH) con una longitud de onda de excitación de 340 nm (modo láser) y longitudes de onda de emisión de 615 nm y 665 nm. Se determina la relación de las señales de emisión. El valor total usado es la reacción libre de inhibidor. El valor cero farmacológico usado es Olaparib (LCIabs, Woburn, Estados Unidos) en una concentración final de 1 µM. Los valores de inhibición (IC₅₀) se determinan usando ya sea el programa Symyx Assay Explorer® o Condosseo® de GeneData.

Descripción de los ensayos de ELISA de TNKS1 y TNKS2

Ensayos de la actividad bioquímica de TNKS 1 y 2: ELISA de actividad (ensayo de autoparsilación)

Para el análisis de la actividad de autoparsilación de TNKS 1 y 2, se realiza un ELISA de actividad: En la primera etapa, se captura TNKS etiquetado con GST en una placa recubierta con Glutión. Luego se realiza el ensayo de actividad con NAD biotinilado en ausencia/presencia de los compuestos. Durante la reacción enzimática, TNKS etiquetado con GST transfiere la ADP-ribosa biotinilada a si misma desde NAD biotinilado como cosustrato. Para la detección, se añade conjugado de estreptavidina-HRP que se enlaza a la TNKS biotinilada y es capturado por lo tanto con las placas. Se detecta la cantidad de TNKS biotinilada respecto de la autoparsilada con un sustrato de luminiscencia para HRP. El nivel de la señal de luminiscencia se correlaciona directamente con la cantidad de TNKS autoparsilada y, por lo tanto, con la actividad de TNKS.

El ELISA de actividad se realiza en placas de microtitulación de 384 pozos recubiertas con Glutión (Placa de captura exprés recubierta con Glutión, Biocat, Heidelberg, Alemania). Se equilibran previamente las placas con PBS. Luego se incuban las placas con 50 µL de Tnks-1 etiquetada con GST a razón de 20 ng/cavidad (1023-1327 aa, preparado en el sitio), respectivamente Tnks-2 etiquetada con GST (873-1166 aa, preparado en el sitio) en regulador de ensayo (HEPES 50 mM, cloruro de Mg 4 mM, Pluronic F-68 al 0,05%, DTT 2 mM, pH 7,7) durante la noche a 4 °C. Se lavan las placas 3 veces con PBS-Tween-20. Se bloquean los pozos por incubación a temperatura ambiente durante 20 minutos con 50 µL de regulador de bloqueo (PBS, Tween-20 al 0,05%, BSA al 0,5%). Después de eso, se lavan las placas 3 veces con PBS-Tween-20. La reacción enzimática se realiza en 50 µL de solución de reacción HEPES (50 mM, cloruro de Mg 4 mM, Pluronic F-68 al 0,05%, DTT 1,4 mM, DMSO al 0,5%, pH 7,7) con bio-NAD 10 µM (Biolog, Life science Inst., Bremen, Alemania) como cosustrato en ausencia o presencia del compuesto de ensayo (concentraciones diluidas 10 veces) durante 1 hora a 30°C. Se detiene la reacción mediante 3 lavados con PBS-Tween-20. Para la detección, se añaden 50 µL de estreptavidina de 20 ng/µL, conjugado de HRP (MoBiTec, Göttingen, Alemania) en PBS/Tween-20 al 0,05%/BSA al 0,01% y se incuban las placas durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de tres lavados con PBS-Tween-20, se añaden 50 µL de solución de sustrato de máxima sensibilidad SuperSignal ELISA Femto (ThermoFisherScientific (Pierce), Bonn, Alemania). Después de 1 minuto de incubación a temperatura ambiente, se miden las señales de luminiscencia con un lector multimodal Envision (Perkin Elmer LAS Alemania GmbH) a 700 nm. El valor total usado es la reacción libre de inhibidor. El valor cero farmacológico usado es XAV-939 (Tocris) en una concentración final de 5 µM. Los valores de inhibición (IC₅₀) se determinan usando ya sea el programa Symyx Assay Explorer® o Condosseo® de GeneData.

Antes y después, todas las temperaturas se indican en °C. En los siguientes ejemplos, "elaboración convencional" significa: se añade agua si es necesario, se ajusta el pH, de ser necesario, hasta valores entre 2 y 10, dependiendo de la constitución del producto final, se extrae la mezcla con acetato de etilo o diclorometano, se separan las fases, se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio y se evapora y se purifica el residuo por cromatografía en gel de sílice y/o por cristalización. Valores de R_f en gel de sílice; eluyente: acetato de etilo/metanol 9:1.

condiciones A de HPLC/MS

columna: Chromolith Performance ROD RP-18e, 50 x 4,6 mm²

gradiente: A:B = 96:4 a 0:100 en 2,8 min

velocidad de flujo: 2,40 mL/min

eluyente A: agua + ácido fórmico al 0,05%

eluyente B: acetonitrilo + ácido fórmico al 0,04%

longitud de onda: 220 nm

espectroscopia de masa: modo positivo

condiciones B de HPLC/MS

5 columna: Chromolith Performance ROD RP-18e, 100 x 3 mm²

gradiente: A:B = 99:1 a 0:100 en 3,5 min

velocidad de flujo: 2,0 mL/min

eluyente A: agua + ácido fórmico al 0,05%

eluyente B: acetonitrilo + ácido fórmico al 0,04%

10 longitud de onda: 220 nm

espectroscopia de masa: modo positivo

condiciones C de HPLC/MS

columna: Chromolith Performance ROD RP-18e, 100 x 3 mm²

gradiente: A:B = 99:1 a 0:100 en 1,8 min

15 velocidad de flujo: 2,0 mL/min

eluyente A: agua + ácido fórmico al 0,05%

eluyente B: acetonitrilo + ácido fórmico al 0,04%

longitud de onda: 220 nm

espectroscopia de masa: modo positivo

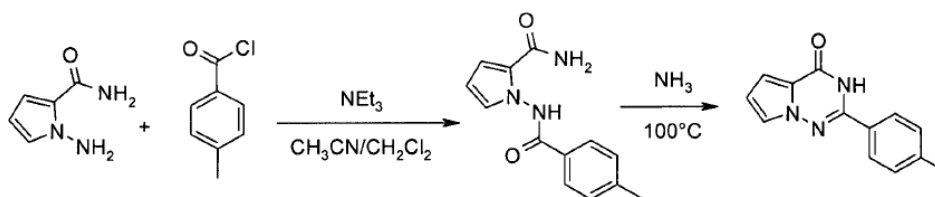
20 La RMN ¹H se registró en un espectrómetro Bruker DPX-300, DRX-400 o AVII-400, usando la señal residual del disolvente deuterado como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en ppm con relación a la señal del disolvente residual (δ = 2,49 ppm para RMN ¹H en DMSO-d₆). Los datos de RMN ¹H se reportan de la siguiente forma: desplazamiento químico (multiplicidad, constantes de acoplamiento y número de hidrógenos). La multiplicidad se abrevia de la siguiente manera: s (simplete), d (doblete), t (triplete), q (cuarteto), m (multiplete), br (ancho).

25

Se realiza la química de microondas en un reactor de microondas en modo unitario Emrys^{MR} Optimiser de Personal Chemistry.

Ejemplo 1

Síntesis de 2-p-tolil-3H-pirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A1")



30

5 Se añade trietilamina (277 μL , 2,00 mmol) a una suspensión de amida del ácido 1-amino-1H-pirrol-2-carboxílico (250 mg, 2,00 mmol) en acetonitrilo (4,0 mL). Bajo enfriamiento externo con hielo, se añade gota a gota una solución de cloruro de 4-metilbenzoilo (264 μL , 2,00 mmol) en diclorometano (0,6 mL). Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 18 horas. Se evaporan los disolventes y se extrae el residuo en diclorometano y solución saturada de NaHCO_3 . Se forma un precipitado, que se filtra, se lava con agua y se seca al vacío para producir amida del ácido 1-(4-metil-benzoilamino)-1H-pirrol-2-carboxílico como cristales de color blanco; HPLC/MS 1,57 min (A), $[\text{M}+\text{H}]$ 244;

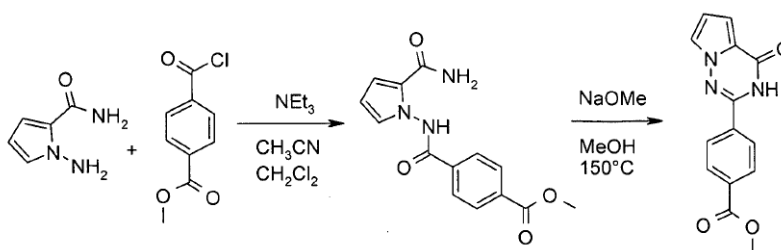
RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] 11,42 (s, 1H), 7,83 (d, $J = 8,1$, 2H), 7,42 (s, 1H), 7,32 (d, $J = 8,0$, 2H), 6,96 (m, 1H), 6,83 (dd, $J = 4,2$, 1,8, 1H), 6,78 (bs, 1H), 6,08 (dd, $J = 4,1$, 2,8, 1H), 2,38 (s, 3H).

10 Se calienta una suspensión de amida del ácido 1-(4-metil-benzoilamino)-1H-pirrol-2-carboxílico (111 mg, 0,457 mmol) en solución amoniacal acuosa al 25% (0,7 mL) a 100°C en un vial de reacción cerrado y se agita a esta temperatura durante 40 horas. La mezcla de reacción se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se purga con nitrógeno. Se añade ácido clorhídrico acuoso 1 N hasta alcanzar un valor de pH de 2. Los sólidos se filtran y se lavan con agua. La cromatografía en una columna de gel de sílice con metanol/diclorometano como eluyente produce 2-p-tolil-3H-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-4-ona como cristales de color blanco; HPLC/MS 2,45 min (8), $[\text{M}+\text{H}]$ 226;

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] 11,89 (s, 1H), 7,88 (d, $J = 8,3$, 2H), 7,65 (dd, $J = 2,6$, 1,7, 1H), 7,34 (d, $J = 8,0$, 2H), 6,93 (dd, $J = 4,3$, 1,6, 1H), 6,58 (dd, $J = 4,3$, 2,7, 1H), 2,38 (s, 3H).

Ejemplo 2

20 Síntesis del éster metílico del ácido 4-(4-oxo-3,4-dihidro-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-2-il)-benzoico ("A2")



25 Se añade trietilamina (554 μL , 4,00 mmol) a una suspensión de amida del ácido 1-amino-1H-pirrol-2-carboxílico (501 mg, 4,00 mmol) en acetonitrilo (8,0 mL). Luego se añade lentamente una suspensión de 4-clorocarbonilbenzoato de metilo (264 μL , 2,00 mmol) en diclorometano (4,0 mL). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 18 horas. Se evaporan los disolventes y el residuo se tritura con agua. El sólido se filtra, se lava con agua y se seca al vacío para producir 4-[(2-carbamoylpirrol-1-il)carbamoyl]benzoato de metilo como cristales de color blanco; HPLC/MS 1,45 min (C), $[\text{M}+\text{H}]$ 288.

30 Se disuelve sodio (65,3 mg, 2,84 mmol) en metanol (5,0 mL). Luego se añade 4-[(2-carbamoylpirrol-1-il)carbamoyl]benzoato (544 mg, 1,90 mmol). Se irradia la mezcla en un reactor de microondas a 150°C durante 1 hora. El disolvente se evapora y el residuo se tritura con agua. El sólido se filtra y se lava con agua. Se somete a cromatografía el residuo en una columna de gel de sílice con metanol/diclorometano como eluyente para producir éster metílico del ácido 4-(4-oxo-3,4-dihidro-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-2-il)-benzoico como un sólido esponjoso blanco; HPLC/MS 1,72 min (C), $[\text{M}+\text{H}]$ 270;

35 RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] 12,10 (s, 1H), 8,13 (d, $J = 8,6$, 2H), 8,09 (d, $J = 8,5$, 2H), 7,70 (m, 1H), 6,96 (dd, $J = 4,2$, 1,5, 1H), 6,62 (dd, $J = 4,2$, 2,7, 1H), 3,90 (s, 3H).

En forma análoga, se obtienen los siguientes compuestos:

2-(4-terc-butil-fenil)-3H-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-4-ona ("A3")

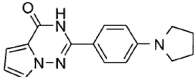
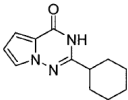
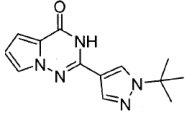
HPLC/MS 2,05 min (C), $[\text{M}+\text{H}]$ 268;

40 RMN ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] 11,87 (s, 1H), 7,92 (d, $J = 8,5$, 2H), 7,66 (dd, $J = 2,5$, 1,7, 1H), 7,55 (d, $J = 8,5$, 2H), 6,93 (dd, $J = 4,3$, 1,6, 1H), 6,58 (dd, $J = 4,2$, 2,7, 1H), 1,32 (s, 9H).

2-(1-acetil-piperidin-4-il)-3H-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-4-ona ("A4")

HPLC/MS 1,41 min (A), [M+H] 261;

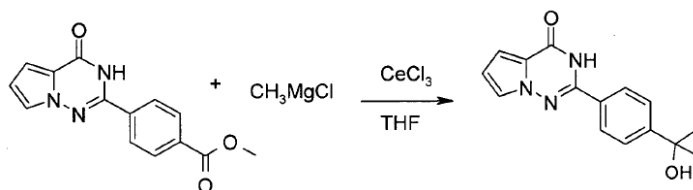
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 11,54 (s, 1H), 7,52 (dd, J = 2,4, 1,8, 1H), 6,84 (dd, J = 4,3, 1,6, 1H), 6,51 (dd, J = 4,3, 2,7, 1H), 4,45 (d, J = 13,0, 1H), 3,91 (d, J = 13,8, 1H), 3,09 (m, 1H), 2,76 (m, 1H), 2,59 (td, J = 12,8, 2,2, 1H), 2,02 (s, 3H), 1,93 (t, J = 13,1, 2H), 1,70 (qd, J = 12,4, 4,7, 1H), 1,54 (qd, J = 12,4, 3,8, 1H).

Compuesto No.	Nombre y/o estructura
"A8"	2-(4-pirrolidin-1-ilfenil)-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona 
"A9"	2-ciclohexil-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona 
"A10"	2-(1-terc-butilpirazol-4-il)-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona 

5

Ejemplo 3

Síntesis de 2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A5")



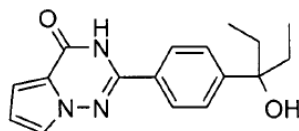
10 A una suspensión del éster metílico del ácido 4-(4-oxo-3,4-dihidro-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-2-il)-benzoico (109 mg, 0,405 mmol) en THF (1,6 mL) se le añade cloruro de cerio (III) (110 mg, 0,445 mmol). Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Luego se añade cloruro de metilmagnesio (solución al 20% en THF, 617 μL, 1,70 mmol) y se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante otra hora. Cuidadosamente, se añade agua a la mezcla de reacción. La mezcla se reparte entre HCl 1N y diclorometano. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio y se evapora. El residuo se somete a cromatografía en una columna de gel de sílice sobre ciclohexano/acetato de etilo como eluyente para producir 2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona como un polvo de color beige; HPLC/MS 1,58 min (C), [M+H] 270;

15

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 11,88 (s, 1H), 7,92 (d, J = 8,5, 2H), 7,66 (m, 1H), 7,61 (d, J = 8,5, 2H), 6,93 (dd, J = 4,2, 1,5, 1H), 6,58 (dd, J = 4,2, 2,7, 1H), 5,13 (s, 1H), 1,46 (s, 6H).

El siguiente compuesto se prepara de forma análoga:

2-[4-(1-etil-1-hidroxi-propil)-fenil]-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A14")

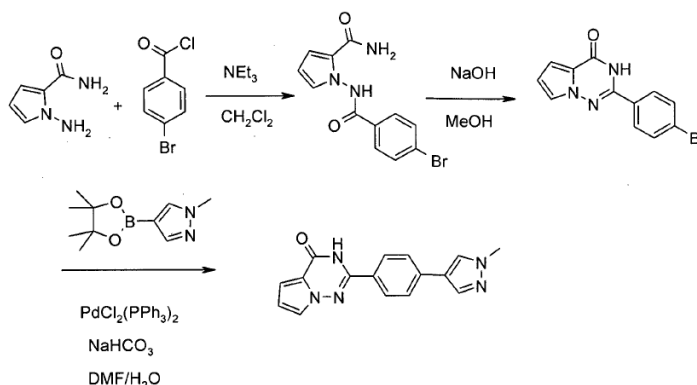


HPLC/MS 1,82 min (C), [M+H] 298;

5 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 11,89 (s, 1H), 7,96 - 7,88 (m, 2H), 7,65 (dd, J = 2,6, 1,7 Hz, 1H), 7,56 - 7,48 (m, 2H), 6,93 (dd, J = 4,3, 1,7 Hz, 1H), 6,58 (dd, J = 4,3, 2,6 Hz, 1H), 4,67 (s, 1H), 1,86 - 1,66 (m, 4H), 0,66 (t, J = 7,3 Hz, 6H).

Ejemplo 4

Síntesis de 2-(4-bromo-fenil)-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A6") y 2-[4-(1-metil-1 H-pirazol-4-il)-fenil]-3H-pirrolo[2, 1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A7")



10

Se añade trietilamina (3,10 mL, 22,4 mmol) a una suspensión de amida del ácido 1-amino-1H-pirrol-2-carboxílico (1,25 g, 10,0 mmol) en diclorometano (13 mL). Luego se añade lentamente cloruro de 4-bromo-benzoilo (2,19 g, 10,0 mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se lava con agua y HCl 1 N. La fase orgánica se evapora para producir amida del ácido 1-(4-bromo-benzoilamino)-1H-pirrol-2-carboxílico como un sólido de color anaranjado claro, que se usa como tal en la siguiente reacción; HPLC/MS 1,56 min (C), [M+H] 308/310.

15

El producto crudo obtenido en la etapa anterior se suspende en metanol (30 mL) y se añade NaOH acuoso 2 N (15 mL, 30 mmol). Se agita la mezcla a 80 °C durante 6 días. Se destila el metanol de la mezcla de reacción al vacío y se acidula la suspensión acuosa resultante con ácido clorhídrico acuoso (25% en peso). Se filtra el sólido resultante, se lava con agua y se seca. Se cristaliza el residuo a partir de 2-propanol para producir 2-(4-bromo-fenil)-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona como un sólido de color blancuzco; HPLC/MS 1,85 min (C), [M+H] 290/292;

20

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 12,04 (s, 1H), 7,92 (d, J = 8,7, 2H), 7,75 (d, J = 8,7, 2H), 7,68 (dd, J = 2,6, 1,7, 1H), 6,95 (dd, J = 4,3, 1,6, 1H), 6,60 (dd, J = 4,3, 2,7, 1H).

25

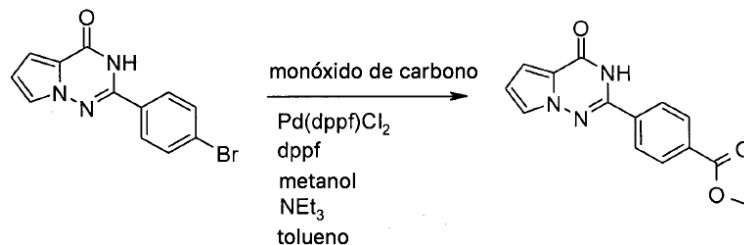
Se enjuaga una suspensión de 2-(4-bromo-fenil)-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona (58,0 mg, 0,200 mmol), 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (45,8 mg, 0,22 mmol) y carbonato ácido de sodio (20,2 mg, 0,24 mmol) en 0,4 mL de DMF y 0,2 ml de agua con nitrógeno y se calienta hasta 40°C. Luego, se añade cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio(II) (2,8 mg, 0,004 mmol). Se calienta la mezcla de reacción hasta 80°C y se agita a esta temperatura durante 18 horas. La mezcla se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se añade agua en exceso. El precipitado resultante se filtra, se lava con agua y se seca al vacío. El residuo se somete a cromatografía en una columna de gel de sílice con metanol/diclorometano como eluyente para producir 2-[4-(1-etil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-3H-pirrolo[2, 1-f][1,2,4]triazin-4-ona como cristales de color blancuzco; HPLC/MS 1,64 min (C), [M+H] 292;

30

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 11,91 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,98 (m, 3H), 7,73 (d, J = 8,5, 2H), 7,66 (dd, J = 2,5, 1,7, 1H), 6,93 (dd, J = 4,3, 1,6, 1H), 6,59 (dd, J = 4,3, 2,7, 1H), 3,88 (s, 3H).

Ejemplo 5

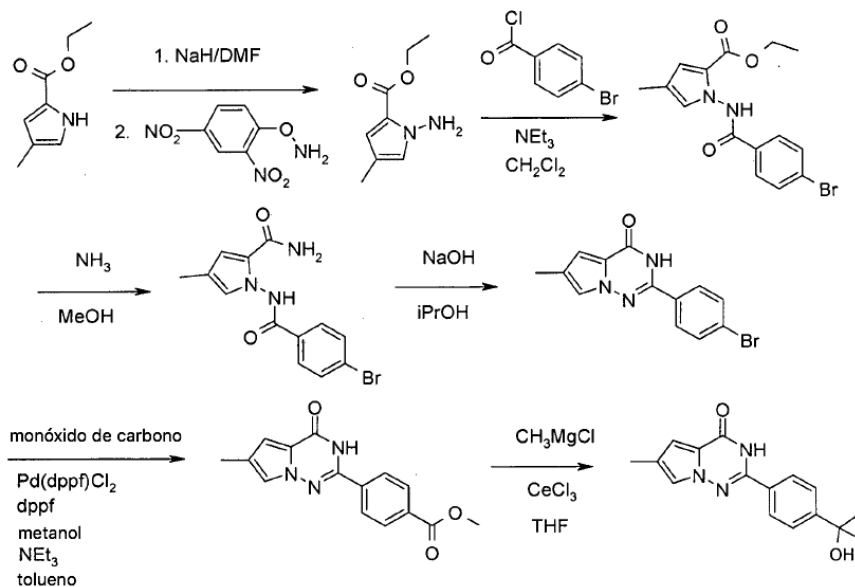
Síntesis alternativa del éster metílico del ácido 4-(4-oxo-3,4-dihidro-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-2-il)-benzoico ("A2")



- 5 En un autoclave, se enjuaga una solución de 2-(4-bromo-fenil)-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona (325 mg, 1,12 mmol) y trietilamina (170 mg, 1,68 mmol) en metanol (10 mL) y tolueno (6 mL) con nitrógeno. Se añaden (1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno)dicloropaladio(II) (28 mg, 0,034 mmol) y 1,1-bis(difenilfosfino)-ferroceno (25 mg, 0,045 mmol). Luego, se llena el autoclave con monóxido de carbono y se calienta a 100°C. Se mantiene el autoclave a esta temperatura durante 16 horas con una presión de monóxido de carbono de 2 - 4 bar. Se lleva el autoclave a presión atmosférica. Se evapora la mezcla de reacción y luego se recrystaliza el residuo a partir de 2-propanol para producir éster metílico del ácido 4-(4-oxo-3,4-dihidro-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-2-il)-benzoico como un polvo de color anaranjado claro; HPLC/MS 1,73 min (C), [M+H] 270.

Ejemplo 6

Síntesis de 2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-6-metil-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A11")



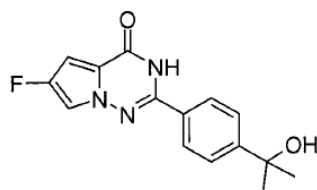
15 "A11"

HPLC/MS 2,29 min (B), [M+H] 284;

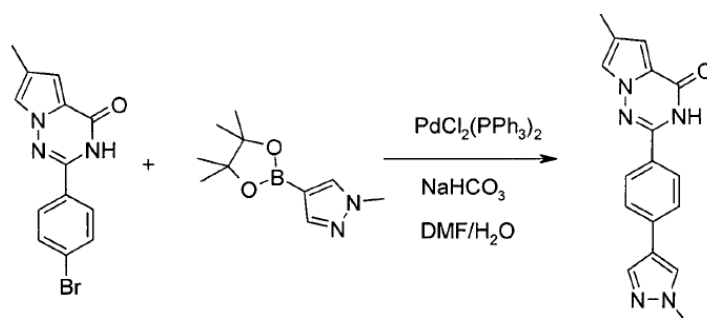
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 11,84 (s, 1H), 7,95 - 7,84 (m, 2H), 7,65 - 7,55 (m, 2H), 7,47 (q, J = 1,1 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 5,15 (s, 1H), 2,19 (s, 3H), 1,45 (s, 6H).

De forma análoga, se obtiene el siguiente compuesto:

20 6-fluoro-2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A12")

**Ejemplo 7**

Síntesis de 6-metil-2-[4-(1-metilpirazol-4-il)fenil]-3H-pirrolo-[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A13")



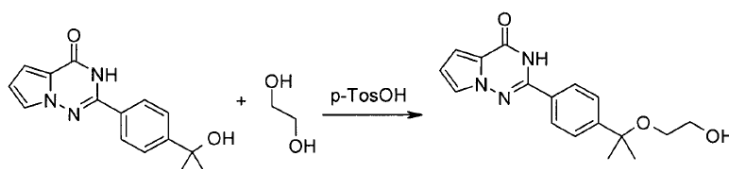
5 "A13":

HPLC/MS 2,40 min (B), [M+H] 306;

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 11,79 (s, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,00 - 7,92 (m, 3H), 7,75 - 7,67 (m, 2H), 7,46 (dd, J = 1,9, 0,9 Hz, 1H), 6,73 (dd, J = 1,8, 0,8 Hz, 1H), 3,88 (s, 3H), 2,20 (s, 3H).

Ejemplo 8

10 Síntesis de 2-(4-[1-(2-hidroxi-etoxi)-1-metil-etil]-fenil)-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A15")

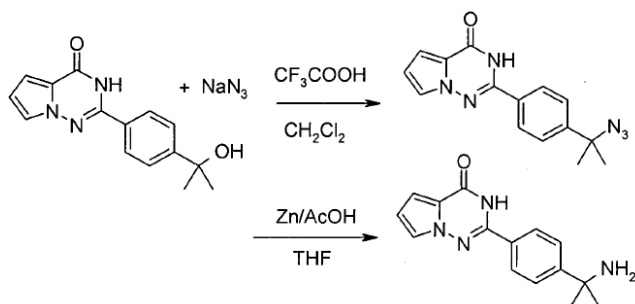


15 A una suspensión de 2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona (53,9 mg, 0,20 mmol) en etano-1,2-diol (0,7 mL) se le añade ácido toluen-4-sulfónico monohidratado (3,8 mg, 20 μmol). Se agita la mezcla de reacción durante 7 días a temperatura ambiente. Se añade agua a la mezcla de reacción. Se filtra el precipitado resultante, se lava con agua y se seca al vacío. Se somete a cromatografía en una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente para producir 2-(4-[1-(2-hidroxi-etoxi)-1-metil-etil]-fenil)-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona como cristales de color blanco; HPLC/MS 2,1 8 min (B), [M+H] 314;

20 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 11,91 (s, 1H), 8,00 - 7,91 (m, 2H), 7,66 (dd, J = 2,6, 1,6 Hz, 1H), 7,63 - 7,55 (m, 2H), 6,94 (dd, J = 4,3, 1,7 Hz, 1H), 6,59 (dd, J = 4,3, 2,6 Hz, M), 4,55 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 3,50 (q, J = 5,6 Hz, 2H), 3,19 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 1,50 (s, 6H).

Ejemplo 9

Síntesis de 2-[4-(1-amino-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A16")



5 A una suspensión de 2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona (135 mg, 0,50 mmol) y azida de sodio (71,5 mg, 1,1 mmol) en diclorometano (1 mL) se le añade una solución de ácido trifluoroacético (316 μ L, 4,1 mmol) en diclorometano (0,6 mL) gota a gota bajo enfriamiento externo con hielo. Se agita la mezcla de reacción durante 3 días a temperatura ambiente. Se añaden agua (5 mL) y amoníaco acuoso al 25% (0,5 mL).

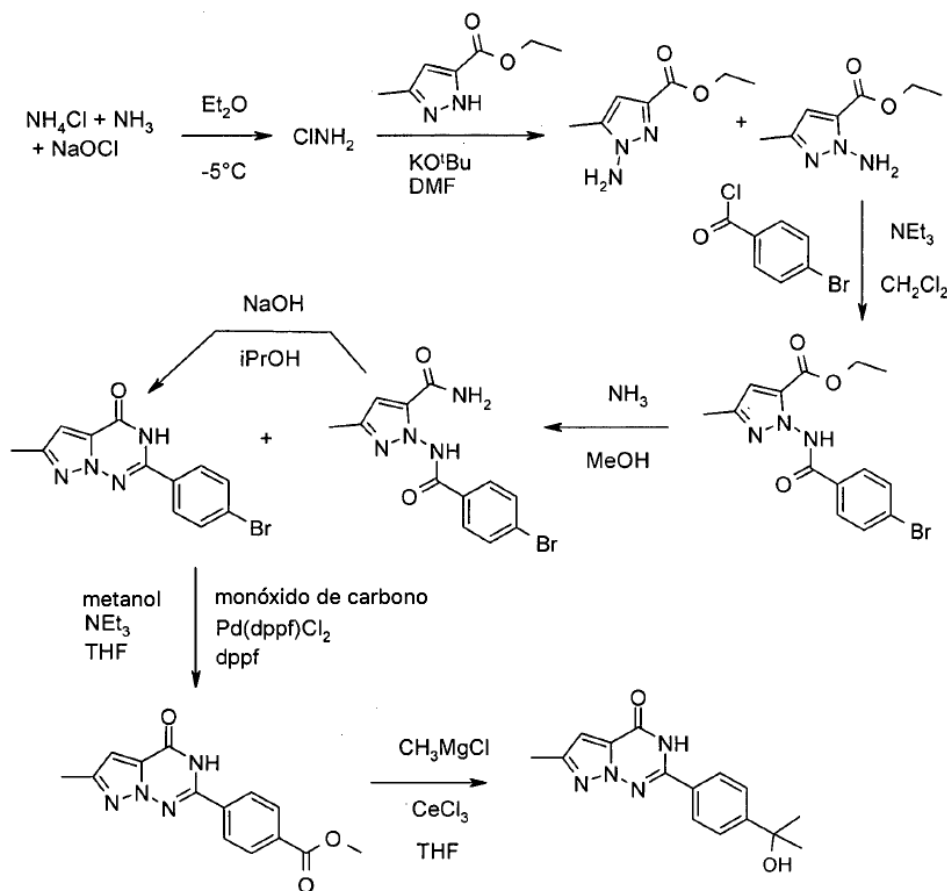
Se separa la fase orgánica y se extrae la fase acuosa con diclorometano. Se secan las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de sodio y se evaporan para producir 2-[4-(1-azido-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona como un sólido de color blanco; HPLC/MS 1,98 min (C), [M+H]⁺ 295.

10 A una solución de 2-[4-(1-azido-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona (115 mg, 0,39 mmol) en 2 mL de THF se le añaden zinc en polvo (128 mg, 1,96 mmol) y ácido acético (225 μ L, 3,93 mmol) y se agita la mezcla durante 18 horas a temperatura ambiente. Se diluye la suspensión con THF y se acidifica con una pequeña cantidad de ácido clorhídrico al 25%. Se filtra la mezcla con succión. Se lava el filtrado con solución saturada de carbonato de sodio y solución saturada de cloruro de sodio. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio y se evapora. El residuo se purifica por HPLC preparativa para producir sal de formiato de 2-[4-(1-amino-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona como un sólido de color blanco; HPLC/MS 1,25 min (C), [M-NH2]⁺ 252;

15 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 8,32 (s, 1H), 8,01 - 7,93 (m, 2H), 7,73 - 7,67 (m, 2H), 7,66 (dd, J = 2,7, 1,7 Hz, 1H), 6,93 (dd, J = 4,3, 1,7 Hz, 1H), 6,59 (dd, J = 4,3, 2,6 Hz, 1H), los protones de NH no visibles.

Ejemplo 10

Síntesis de 6-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2-metil-5H-1,5,7,7a-tetraaza-inden-4-ona ("A17")



5 Se enfría una suspensión de cloruro de amonio (6,69 g, 125 mmol) en éter dietílico (250 mL) hasta -5°C y se añade lentamente amoníaco acuoso al 32% (10,4 mL, 84 mmol). Luego, se añade gota a gota una solución acuosa de hipoclorito de sodio (6-14% de cloro activo, 185 mL) durante 10 minutos. Se agita la mezcla durante 20 minutos a -5°C . Se lava la fase orgánica separada con salmuera, se seca sobre cloruro de calcio a -60°C durante 1 hora y se filtra para producir una solución aproximadamente 0,45 M de cloro amina en éter dietílico (270 mL), que se usa directamente en la siguiente etapa.

10 A una solución de éster etílico del ácido 5-metil-2H-pirazol-3-carboxílico (4,63 g, 30,0 mmol) en 60 mL de DMF se le añade terc-butilato de potasio (6,73 g, 60,0 mmol) bajo atmosfera de nitrógeno. Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 minutos, se añade lentamente la solución de cloro amina anterior (270 mL, aproximadamente 120 mmol), después de lo cual se agita la mezcla durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se filtra la mezcla de reacción con succión y se lava el residuo con terc-butilmetil éter. Se divide el filtrado entre la solución saturada de bisulfito de sodio y terc-butilmetil éter. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio y se evapora. El residuo se somete a cromatografía en una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente para obtener dos isómeros:

15 Primer isómero eluido: éster etílico del ácido 2-amino-5-metil-2H-pirazol-3-carboxílico como un aceite de color marrón; HPLC/MS 1,82 min (B), $[\text{M}+\text{H}]$ 170;

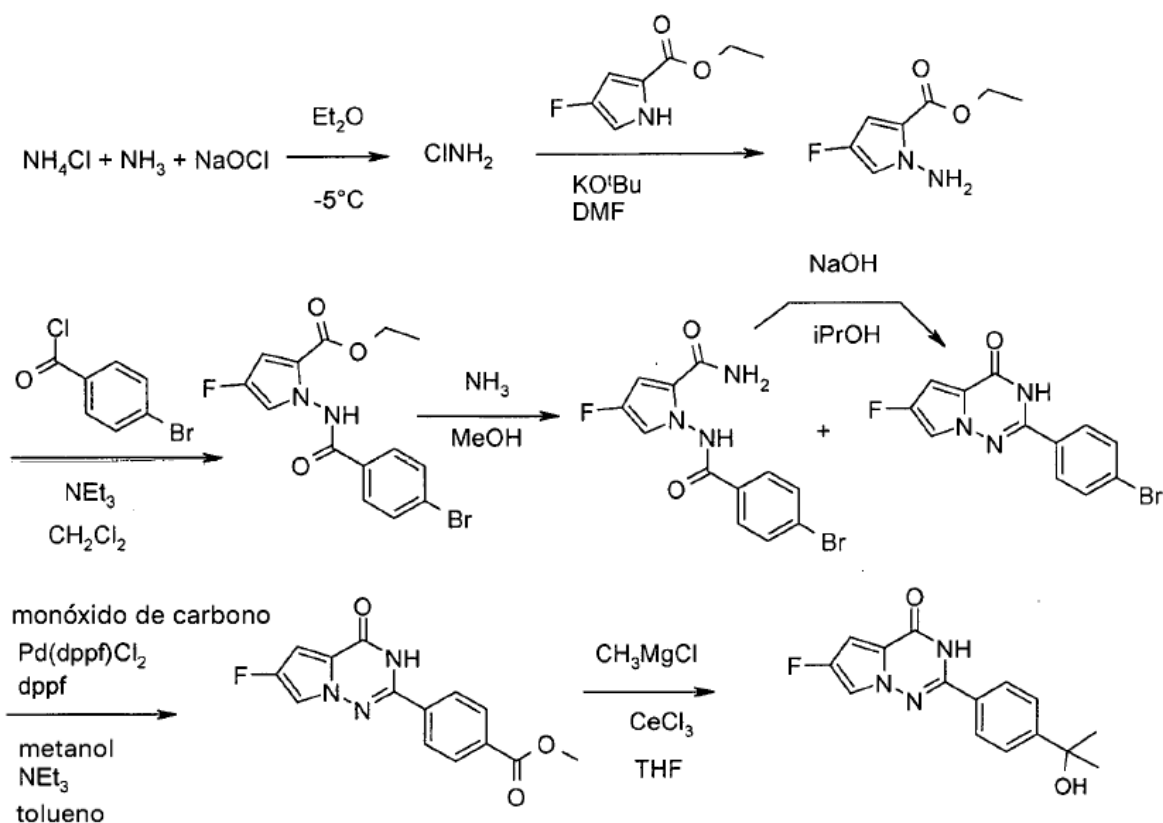
RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] 6,72 (bs, 2H), 6,49 (s, 1H), 4,27 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,13 (s, 3H), 1,29 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

20 Segundo isómero eluido: éster etílico del ácido 1-amino-5-metil-1H-pirazol-3-carboxílico como un sólido de color beige; HPLC/MS 1,70 min (B), $[\text{M}+\text{H}]$ 170;

RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] 6,46 (s, 1H), 6,44 (s, 2H), 4,23 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,23 (s, 3H), 1,27 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

25 A una solución de éster etílico del ácido 2-amino-5-metil-2H-pirazol-3-carboxílico (310 mg, 1,83 mmol) en diclorometano (4 mL) se le añade trietilamina (887 μL , 6,40 mmol). Luego, se añade lentamente una solución de cloruro de 4-bromobenzóilo (803 mg, 3,66 mmol) en diclorometano (2 mL). Se agita la mezcla de reacción durante

- 18 horas a temperatura ambiente. Se divide la mezcla de reacción entre agua y diclorometano. La capa orgánica se lava con HCl 1 N, se seca sobre sulfato de sodio y se evapora. El residuo se somete a cromatografía en una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente para obtener éster etílico del ácido 2-(4-bromo-benzoilamino)-5-metil-2H-pirazol-3-carboxílico como un aceite de color marrón; HPLC/MS 2,10 min (A), [M+H] 352/354.
- 5
- A una solución de éster etílico del ácido 2-(4-bromo-benzoilamino)-5-metil-2H-pirazol-3-carboxílico (444 mg, 1,26 mmol) en metanol (6,5 mL) se le añade amoníaco acuoso al 32% (10 mL, 80,6 mmol) y se calienta la solución amarilla resultante a 60°C y se agita a esta temperatura durante 3 días. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se evapora. Se extrae el residuo en agua, los sólidos se filtran, se lavan con agua y se secan al vacío para obtener una mezcla de amida del ácido 2-(4-bromo-benzoilamino)-5-metil-2H-pirazol-3-carboxílico [HPLC/MS 1,90 min (B), [M+H] 323/325; 2,40 min (C), [M+H] 305/307] y 6-(4-bromo-fenil)-2-metil-5H-1,5,7,7a-tetraaza-inden-4-ona como un sólido de color blanco, que se usa como tal en la siguiente etapa.
- 10
- A una solución del producto crudo anterior (209 mg) en 2-propanol (4,4 mL) se le añade NaOH 2 N (1,61 mL, 3,2 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 18 horas a 80°C. Se enfría mezcla de reacción a temperatura ambiente y se neutraliza con HCl 2 N. Se filtra el precipitado resultante, se lava con agua y se seca. El residuo se somete a cromatografía en una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo para obtener 6-(4-bromo-fenil)-2-metil-5H-1,5,7,7a-tetraaza-inden-4-ona como un sólido de color blanco; HPLC/MS 2,39 min (B), [M+H] 305/307;
- 15
- RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 12,66 (bs, 1H), 7,93 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,77 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,86 (s, 1H), 2,37 (s, 3H).
- 20
- En un autoclave, Se enjuaga con nitrógeno una solución de 6-(4-bromo-fenil)-2-metil-5H-1,5,7,7a-tetraaza-inden-4-ona (55 mg, 0,18 mmol) y trietilamina (38 µL, 0,28 mmol) en metanol (5 mL) y THF (5 mL). Se añaden 1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno-dicloropaldio(II) (4,5 mg, 0,005 mmol) y 1,1-bis-(difenilfosfino)-ferroceno (25 mg, 0,007 mmol). Luego, se llena el autoclave con monóxido de carbono y se calienta a 100°C. Se mantiene el autoclave a esta temperatura durante 16 horas con una presión de monóxido de carbono de 2 - 4 bar. El autoclave se lleva hasta presión atmosférica. La mezcla de reacción se evapora y el residuo se cristaliza a partir de metanol para obtener éster metílico del ácido 4-(2-metil-4-oxo-4,5-dihidro-1,5,7,7a-tetraaza-inden-6-il)-benzoico como un sólido de color gris claro; HPLC/MS 2,19 min (B), [M+H] 285.
- 25
- Se enjuaga una suspensión de éster metílico del ácido 4-(2-metil-4-oxo-4,5-dihidro-1,5,7,7a-tetraaza-inden-6-il)-benzoico (40 mg, 0,14 mmol) en THF (0,6 mL) con nitrógeno y se añade cloruro de cerio (III) (38 mg, 0,15 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. Luego, se añade cloruro de metilmagnesio (solución al 20% en THF, 190 µL, 0,58 mmol) y se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se divide la mezcla de reacción entre THF y solución saturada de cloruro de sodio. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio y se evapora. El residuo se somete cromatografía en una columna de gel de sílice con diclorometano/metanol como eluyente para obtener 6-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2-metil-5H-1,5,7,7a-tetraaza-inden-4-ona como un polvo de color blanco; HPLC/MS 1,70 min (B), [M+H] 285;
- 30
- 35
- RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 12,55 (s, 1H), 7,99 - 7,91 (m, 2H), 7,69 - 7,61 (m, 2H), 6,86 (s, 1H), 5,18 (s, 1H), 2,38 (s, 3H), 1,48 (s, 6H).
- Ejemplo 11**
- 40 Síntesis alternativa de 6-fluoro-2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A12")



5 Se enfría una suspensión de cloruro de amonio (1,34 g, 25 mmol) en éter dietílico (50 ml) a -5°C y se añade amoniaco acuoso al 32% (2,08 mL, 16,8 mmol) lentamente. Luego, se añade gota a gota una solución acuosa de hipoclorito de sodio (6-14% de cloro activo, 37 mL) durante 10 minutos. Se agita la mezcla durante 20 minutos a -5°C . Se lava la fase orgánica separada con salmuera y se seca sobre cloruro de calcio a -60°C durante 2 horas. El cloruro de calcio se filtra y se lava con éter dietílico para obtener como filtrado una solución de aproximadamente 0,45 M de cloro amina en éter dietílico (110 mL), que se usa directamente en la siguiente etapa.

10 A una solución de éster etílico del ácido 4-fluoro-1H-pirrol-2-carboxílico (1,57 g, 10,0 mmol) en 20 mL de DMF se le añade terc-butolato de potasio (2,24 g, 20,0 mmol) bajo atmosfera de nitrógeno. Después de agitar a temperatura ambiente durante 90 minutos, se añade lentamente la solución anterior de cloro amina (110 mL, aproximadamente 25 mmol), después de lo cual se agita la mezcla durante 5 minutos a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se divide entre solución saturada de bisulfito de sodio y terc-butilmetil éter. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio y se evapora. El residuo se somete a cromatografía en una columna de gel de sílice con ciclohexano/diclorometano como eluyente para obtener éster etílico del ácido 1-amino-4-fluoro-1H-pirrol-2-carboxílico como un sólido de color blanco; HPLC/MS 2,21 min (B), $[\text{M}+\text{H}]$ 173;

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] 7,05 (dd, $J = 3,2, 2,5$ Hz, 1H), 6,48 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 6,31 (s, 2H), 4,23 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 1,28 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

Los siguientes compuestos se preparan en forma análoga:

20 éster metílico del ácido 1-amino-4-cloro-1H-pirrol-2-carboxílico; sólido de color blanco; HPLC/MS 2,20 min (B), $[\text{M}+\text{H}]$ 175;

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] 7,18 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 6,69 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 6,34 (s, 2H), 3,76 (s, 3H).

éster etílico del ácido 1-amino-5-metil-1H-pirrol-2-carboxílico; aceite de color amarillo; HPLC/MS 1,77 min (C), $[\text{M}+\text{H}]$ 169.

25 RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] 6,64 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 6,09 (s, 2H), 5,80 (dd, $J = 4,2, 0,8$ Hz, 1H), 4,20 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,19 (s, 3H), 1,26 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

5 A una solución de éster etílico del ácido 1-amino-4-fluoro-1H-pirrol-2-carboxílico (1,18 g, 6,88 mmol) en diclorometano (14 ml) se le añade trietilamina (3,34 mL, 24,1 mmol). Luego, se añade cloruro de 4-bromobenzoilo (3,02 g, 13,8 mmol) en porciones. Se agita la mezcla de reacción durante 18 horas a temperatura ambiente. Se divide la mezcla de reacción entre agua y diclorometano. La capa orgánica se lava con HCl 1 N, se seca sobre sulfato de sodio y se evapora. El residuo se somete a cromatografía en una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente para obtener éster etílico del ácido 1-(4-bromo-benzoilamino)-4-fluoro-1H-pirrol-2-carboxílico como un sólido de color blanco; HPLC/MS 2,78 min (8), [M+H] 355/357.

10 A una solución de éster etílico del ácido 1-(4-bromo-benzoilamino)-4-fluoro-1H-pirrol-2-carboxílico (533 mg, 1,50 mmol) en metanol (8 mL) se le añade amoníaco acuoso al 32% (6,8 mL, 172 mmol) y la solución amarilla resultante se calienta a 80°C y se agita a esta temperatura durante 3 días. La mezcla de reacción se enfría hasta temperatura ambiente y se evapora para obtener una mezcla de amida del ácido 1-(4-bromo-benzoilamino)-4-fluoro-1H-pirrol-2-carboxílico [HPLC/MS 2,22 min (B), [M+H] 326/328; 2,78 min (C), [M+H] 308/310] y 2-(4-bromo-fenil)-6-fluoro-3H-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-4-ona como un sólido de color amarillo claro, que se usa como tal en la siguiente etapa.

15 A una solución de una mezcla de amida del ácido 1-(4-bromo-benzoilamino)-4-fluoro-1 H-pirrol-2-carboxílico y 2-(4-bromo-fenil)-6-fluoro-3H-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-4-ona (317 mg) en 2-propanol (8 mL) se le añade NaOH 2 N (2,82 mL, 5,6 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 3 días a 80°C. La mezcla de reacción se enfría hasta temperatura ambiente y se neutraliza con HCl 2 N. El precipitado resultante se filtra, se lava con agua y se cristaliza a partir de 2-propanol para obtener 2-(4-bromo-fenil)-6-fluoro-3H-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-4-ona como un sólido de color blanco; HPLC/MS 2,77 min (B), [M+H] 308/310.

20 En un autoclave, se enjuaga con nitrógeno una solución de 2-(4-bromo-fenil)-6-fluoro-3H-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-4-ona (462 mg, 1,50 mmol) y trietilamina (320 µL, 2,27 mmol) en metanol (10 mL) y tolueno (10 mL). Se añaden 1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno)dichloropaladio(II) (37 mg, 0,045 mmol) y 1,1-bis(difenilfosfino)-ferroceno (34 mg, 0,06 mmol). Luego, el autoclave se llena con monóxido de carbono y se calienta a 105°C. El autoclave se mantiene a esta temperatura durante 16 horas con una presión de monóxido de carbono de 2 - 4,5 bar. Se lleva el autoclave a presión atmosférica. Se permite que la mezcla de reacción alcance la temperatura ambiente. El precipitado se filtra, se lava con metanol y se seca al vacío para obtener éster metílico del ácido 4-(6-fluoro-4-oxo-3,4-dihidro-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-2-il)-benzoico como un polvo de color blanco; HPLC/MS 2,53 min (B), [M+H] 288.

30 Se enjuaga con nitrógeno una suspensión de éster metílico del ácido 4-(6-fluoro-4-oxo-3,4-dihidropirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-2-il)-benzoico (394 mg, 1,37 mmol) en THF (5,8 mL) y se añade cloruro de cerio (III) (373 mg, 1,51 mmol).

35 Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Luego, se añade cloruro de metilmagnesio (3,0 M en THF, 1,92 mL, 5,75 mmol) y se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se divide la mezcla de reacción entre THF y solución saturada de cloruro de sodio. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio, se evapora y se cristaliza a partir de terc-butilmetil éter para obtener 6-fluoro-2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-4-ona como un polvo de color blanco; HPLC/MS 2,29 min (B), [M+H] 288;

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 12,14 (s, 1H), 7,89 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,77 (dd, J = 3,2, 2,1 Hz, 1H), 7,65 - 7,58 (m, 2H), 6,79 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 5,15 (s, 1H), 1,46 (s, 6H).

Los siguientes compuestos se preparan de forma análoga:

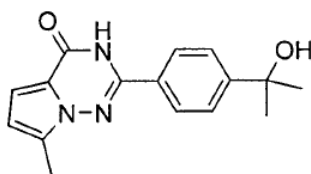
6-cloro-2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-4-ona ("A18")



HPLC/MS 1,79 min (C), [M+H] 304;

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 12,13 (s, 1H), 7,93 - 7,88 (m, 2H), 7,88 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,65 - 7,58 (m, 2H), 6,97 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 5,15 (s, 1H), 1,46 (s, 6H);

2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-7-metil-3H-pirrol-2,1-f[1,2,4]triazin-4-ona ("A19")

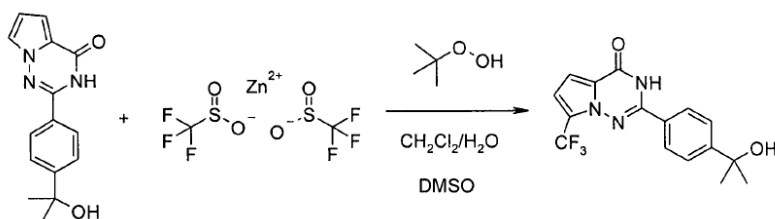


HPLC/MS 2,39 min (B), [M+H] 284;

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 11,78 (s, 1H), 7,98 - 7,90 (m, 2H), 7,65 - 7,57 (m, 2H), 6,86 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 6,40 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 5,13 (s, 1H), 2,46 (s, 3H), 1,46 (s, 6H).

5 Ejemplo 12

Síntesis de 2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-7-trifluorometil-3H-pirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona ("A20")

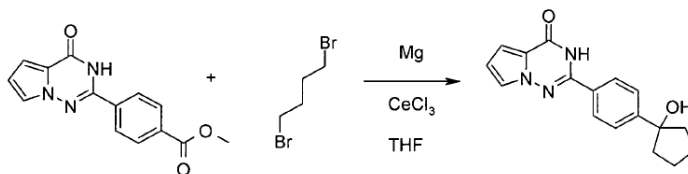


10 A una suspensión de 2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona (135 mg, 0,50 mmol) y bis(trifluorometilsulfinil)zinc (497 mg, 1,50 mmol) en una mezcla bifásica de diclorometano (2,0 mL) y agua (0,8 mL) se le añade hidropéroxido de terc-butilo (solución al 70% en agua, 342 μL, 2,50 mmol) bajo enfriamiento externo con hielo. La mezcla se deja llegar hasta temperatura ambiente. Se añade dimetilsulfóxido (1,0 mL) y se agita durante 18 horas a temperatura ambiente. Se diluye la mezcla de reacción con diclorometano y se añade solución saturada de carbonato ácido de sodio. El sólido se filtra y la fase orgánica del filtrado se separa. La fase acuosa del filtrado se extrae con diclorometano. Las fases orgánicas combinadas se secan sobre sulfato de sodio y se evaporan. El residuo se somete a cromatografía en una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente para obtener 2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-7-trifluorometil-3H-pirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona como un polvo de color blanco; HPLC/MS 1,89 min (C), [M+H] 338;

15 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm] 12,43 (s, 1H), 7,95 - 7,88 (m, 2H), 7,69 - 7,62 (m, 2H), 7,12 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 7,03 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 5,18 (s, 1H), 1,47 (s, 6H).

20 Ejemplo 13

Síntesis de 2-[4-(1-hidroxi-ciclopentil)-fenil]-3H-pirroló[2,1-t][1,2,4]triazin-4-ona ("A21")



25 Se enjuaga un vial de reacción de 15 mL con nitrógeno y se carga con THF seco (2,5 mL), virutas de magnesio (55,5 mg, 2,28 mmol) y cloruro de cerio (III) (20,5 mg, 0,084 mmol). Se enfría la suspensión a 0°C, se añade 1,4-dibromobutano (157 μL, 1,33 mmol). Se permite que la suspensión alcance la temperatura ambiente, se agita durante 30 minutos a esta temperatura y nuevamente se enfría a 0°C. Luego, se añade gota a gota una solución de éster metílico del ácido 4-(4-oxo-3,4-dihidro-pirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-2-il)-benzoico (113 mg, 0,42 mmol) en THF (1 mL). La mezcla de reacción se agita durante 30 minutos a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se neutraliza con solución saturada de cloruro de amonio y se divide entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio y se evapora. El residuo se somete a cromatografía en una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente para obtener 2-[4-(1-hidroxi-ciclopentil)-fenil]-3H-pirroló[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona como un sólido de color blanco; HPLC/MS 1,75 (C), [M+H] 296;

ES 2 587 939 T3

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] 11,92 (s, 1H), 7,98 - 7,89 (m, 2H), 7,67 (dd, $J = 2,7, 1,7$ Hz, 1H), 7,65 - 7,59 (m, 2H), 6,94 (dd, $J = 4,3, 1,7$ Hz, 1H), 6,60 (dd, $J = 4,3, 2,6$ Hz, 1H), 4,94 (s, 1H), 1,95 - 1,85 (m, 6H), 1,83 - 1,74 (m, 2H).

Datos farmacológicos

5

Tabla 2 Inhibición de tanquirasas de algunos compuestos representativos de la fórmula I

Compuesto No.	IC ₅₀ Tanquirasa 1 (ensayo de la enzima)	IC ₅₀ Tanquirasa 2 (ensayo de la enzima)	EC ₅₀ Tanquirasa 1/2 (ensayo celular)
"A1"	A	A	
"A2"	A	A	B
"A3"	A	B	B
"A4"			
"A5"	A	A	B
"A6"	A	A	
"A7"	A	B	B
"A11"	A	A	B
"A12"	A	A	B
"A13"	A	A	B
"A14"	A	A	A
"A15"	A	A	B
"A16"	B	B	
"A17"	B	B	C
"A18"	A	A	B
"A19"	A	A	A
"A20"	B	C	
"A21"	A	A	B

IC₅₀: <0,3 μM = A 0,3 - 3 μM = B 3 - 50 μM = C

Los compuestos mostrados en la Tabla 2 son compuestos particularmente preferidos de acuerdo con la invención.

5

Tabla 3 Inhibición de tanquirasas de algunos compuestos representativos de la fórmula I

Compuesto No.	IC ₅₀ PARP	IC ₅₀ TNKS 1 ELISA	IC ₅₀ TNKS 2 ELISA
"A1"		A	A

Compuesto No.	IC ₅₀	IC ₅₀	IC ₅₀
	PARP	TNKS 1 ELISA	TNKS 2 ELISA
"A5"	C	A	A
"A6"	C	A	A
"A7"	B	A	A
"A11"	B	A	A
"A12"	C	A	A
"A13"	C	A	A
"A14"	C	A	A
"A15"	C	A	A
"A17"		B	B
"A18"	C	A	A
"A19"			
"A21"	C	A	A

IC₅₀: <0,3 µM = A 0,3 - 3 µM = B 3 - 50 µM = C

Los compuestos mostrados en la Tabla 3 son compuestos particularmente preferidos de acuerdo con la invención.

Los ejemplos siguientes se refieren a medicamentos:

5 **Ejemplo A: viales de inyección**

Se ajusta una solución de 100 g de un ingrediente activo de la fórmula I y 5 g de hidrogenofosfato disódico en 3 L de agua bidestilada a un valor de pH 6,5 usando ácido clorhídrico 2 N, se filtra en forma estéril, se transfiere a los viales de inyección, se liofiliza bajo condiciones estériles y se sella bajo condiciones estériles. Cada vial de inyección contiene 5 mg de ingrediente activo.

10 **Ejemplo B: Supositorios**

Se funde una mezcla de 20 g de un ingrediente activo de la fórmula I con 100 g de lecitina de soja y 1400 g de manteca de cacao, se vierte en moldes y se deja enfriar. Cada supositorio contiene 20 mg de ingrediente activo.

Ejemplo C: Solución

15 Se prepara una solución de 1 g de un ingrediente activo de la fórmula I, 9,38 g de NaH₂PO₄ · 2 H₂O, 28,48 g de Na₂HPO₄ · 12 H₂O y 0,1 g de cloruro de benzalconio en 940 mL de agua bidestilada. La solución se ajusta a un valor de pH 6,8, se completa hasta 1 L y se esteriliza por irradiación. Esta solución puede utilizarse en forma de gotas oftálmicas.

Ejemplo D: Ungüento

Se mezclan 500 mg de un ingrediente activo de la fórmula I con 99,5 g de vaselina en condiciones asépticas.

Ejemplo E: Comprimidos

Se comprime una mezcla de 1 kg de un ingrediente activo de la fórmula I, 4 kg de lactosa, 1,2 kg de almidón de patata, 0,2 kg de talco y 0,1 kg de estearato de magnesio de manera convencional para formar comprimidos, de tal manera que cada comprimido contenga 10 mg de ingrediente activo.

5 **Ejemplo F: Grageas**

Los comprimidos se comprimen en forma análoga al Ejemplo E y posteriormente se recubren de forma convencional con una cobertura de sacarosa, almidón de patata, talco, goma tragacanto y colorante.

Ejemplo G: Cápsulas

10 Se introducen 2 kg de ingrediente activo de la fórmula I en cápsulas de gelatina dura, de forma convencional de tal forma que cada cápsula contenga 20 mg del ingrediente activo.

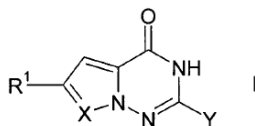
Ejemplo H: Ampollas

Se filtra en forma estéril una solución de 1 kg de un ingrediente activo de la fórmula I en 60 L de agua bidestilada en, se transfiere en ampollas, se liofiliza bajo condiciones estériles y se sella bajo esterilidad. Cada ampolla contiene 10 mg de ingrediente activo.

15

REIVINDICACIONES

1. Compuestos de la fórmula I



en donde

- 5 X denota N o CR¹,
- R¹ denota H, F, Cl, CH₃, CH₂OH, CH₂Cl, CH₂Br, CF₃, CHF₂ o CH₂F,
- R² denota H o A,
- Y denota Ar¹, Het¹ o Cyc,
- 10 Ar¹ denota fenilo o naftilo, que está no sustituido o mono, di o trisustituido por Hal, A, [C(R²)₂]_pOR², [C(R²)₂]_pN(R²)₂, [C(R²)₂]_pHet², NO₂, CN, [C(R²)₂]_pCOOR², [C(R²)₂]_pCON(R²)₂, NR²COA, NR²SO₂A, [C(R²)₂]_pSO₂N(R²)₂, S(O)_nA, COHet³, O[C(R²)₂]_mN(R²)₂, O[C(R²)₂]_pAr², O[C(R²)₂]_pHet², NHCOOA, NHCON(R²)₂, CHO y/o COA,
- 15 Ar² denota fenilo, que está no sustituido o que está mono o disustituido por Hal, A, [C(R²)₂]_pOR², [C(R²)₂]_pN(R²)₂, [C(R²)₂]_pHet³, NO₂, CN, [C(R²)₂]_pCOOR², [C(R²)₂]_pN(R²)₂, N(R²)₂COA, NR²SO₂A, [C(R²)₂]_pSO₂N(R²)₂, S(O)_nA, COHet³, O[C(R²)₂]_mN(R²)₂, O[C(R²)₂]_pHet³, NHCOOA, NHCON(R²)₂, CHO y/o COA,
- 20 Het¹ denota pirrolidinilo, azetidino, tetrahidroimidazolilo, tetrahydrofuranilo, tetrahidropirazolilo, tetrahidropiranilo, piperidinilo, morfolinilo, hexahidropiridazinilo, hexahidropirimidinilo, [1,3]dioxolanilo, piperazinilo, furilo, tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, indolilo, isoindolilo, bencimidazolilo, indazolilo, quinolilo, 1,3-benzodioxolilo, benzotiofenilo, benzofuranilo, imidazopiridilo o furo[3,2-b]piridilo, cada uno de los cuales está no sustituido o mono o disustituido por Hal, A, [C(R²)₂]_pOR², [C(R²)₂]_pN(R²)₂, [C(R²)₂]_pHet², [C(R²)₂]_pAr², NO₂, CN, [C(R²)₂]_pCOOR², [C(R²)₂]_pCON(R²)₂, NR²COA, NR²SO₂A, [C(R²)₂]_pSO₂N(R²)₂, S(O)_nA, COHet³, O[C(R²)₂]_mN(R²)₂, O[C(R²)₂]_pAr², O[C(R²)₂]_pHet², NHCOOA, NHCON(R²)₂, CHO, COA, =S, =NR y/o =O,
- 25 Cyc denota alquilo cíclico con 3, 4, 5, 6 o 7 átomos de C, que puede estar no sustituido o monosustituido por A, Hal, CN o Ar² o Het²,
- 30 Het² denota pirrolidinilo, azetidino, tetrahidroimidazolilo, tetrahydrofuranilo, tetrahidropirazolilo, tetrahidropiranilo, piperidinilo, morfolinilo, hexahidropiridazinilo, hexahidropirimidinilo, [1,3]dioxolanilo, piperazinilo, furilo, tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, indolilo, isoindolilo, bencimidazolilo, indazolilo, quinolilo, 1,3-benzodioxolilo, benzotiofenilo, benzofuranilo, imidazopiridilo o furo[3,2-b]piridilo, cada uno de los cuales está no sustituido o mono o disustituido por Hal, A, [C(R²)₂]_pOR², [C(R²)₂]_pN(R²)₂, [C(R²)₂]_pHet³, [C(R²)₂]_pOHet³, [C(R²)₂]_pAr², NO₂, CN, [C(R²)₂]_pCOOR², [C(R²)₂]_pCON(R²)₂, NR²COA, NR²SO₂A, [C(R²)₂]_pSO₂N(R²)₂, S(O)_nA, COHet³, O[C(R²)₂]_mN(R²)₂, O[C(R²)₂]_pAr², O[C(R²)₂]_pHet³, NHCOOA, NHCON(R²)₂, CHO, COA, =S, =NR y/o =O,
- 35 Het³ denota dihidropirrolilo, pirrolidinilo, azetidino, oxetanilo, tetrahidroimidazolilo, dihidropirazolilo, tetrahidropirazolilo, tetrahydrofuranilo, dihidropiridilo, tetrahidropiridilo, piperidinilo, morfolinilo, hexahidropiridazinilo, hexahidropirimidinilo, [1,3]dioxolanilo, tetrahidropiranilo o piperazinilo, cada uno de los cuales está no sustituido o mono o disustituido por Hal, CN, OR², COOR², CON(R²)₂, S(O)_nA, S(O)_nAr, COA, A y/o =O,
- 40 A denota alquilo no ramificado o ramificado con 1-10 átomos de C, en donde uno o dos grupos CH y/o CH₂ no adyacentes pueden ser reemplazados por átomos de N, O y/o S y en donde 1-7 átomos de H pueden estar reemplazados por F o Cl,
- Hal denota F, Cl, Br o I,
- n denota 0, 1 o 2,

m denota 1, 2 o 3,

p denota 0, 1, 2, 3 o 4,

con la condición de que, si R¹ está ausente, entonces Y no es 4-fluorofenilo, 3-bromofenilo o 5-cloro-2-fluorofenilo, y excluyendo

5 2-(4-oxo-3H-pirrololo[2,1-f][1,2,4]triazin-2-il)pirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo y 2-(4-oxo-3H-pirrololo[2,1-f][1,2,4]triazin-2-il)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo,

y sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones.

2. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 1 en los cuales

10 Ar¹ denota fenilo, que está monosustituido por Hal, A, [C(R²)₂]_pHet² o [C(R²)₂]_pCOOR²,

y sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones.

3. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 en los cuales

Het¹ denota pirrolidinilo, piperidinilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está no sustituido o monosustituido por A,

15 y sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones.

4. Compuestos de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 - 3 en los cuales

Het² denota pirrolidinilo, piperidinilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está monosustituido por A,

20 y sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones.

5. Compuestos de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 - 4 en los cuales

X denota N, CH, CCF₃ o CCH₃,

y sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones.

25 6. Compuestos de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 - 5 en los cuales

X denota N, CH, CCF₃ o CCH₃,

R¹ denota H, F, Cl o CH₃,

R² denota H,

Y denota Ar¹, Het¹ o Cyc,

30 Ar¹ denota fenilo, que está monosustituido por Hal, A, [C(R²)₂]_pHet² o [C(R²)₂]_pCOOR²,

Het¹ denota pirrolidinilo, piperidinilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está o no sustituido o monosustituido por A,

Cyc denota alquilo cíclico con 3, 4, 5, 6 o 7 átomos de C que puede estar no sustituido o monosustituido por A, Hal, CN o Ar² o Het²,

35 Het² denota pirrolidinilo, piperidinilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está monosustituido con A,

A denota alquilo no ramificado o ramificado con 1-10 átomos de C, en donde uno o dos grupos no adyacentes CH y/o CH₂ pueden estar reemplazados por átomos de O y en donde 1-7 átomos de H pueden estar reemplazados por F o Cl,

Hal denota F, Cl, Br o I,

5 p denota 0 o 1,

con la condición de que, si R¹ está ausente, entonces Y no es 4-fluorofenilo, 3-bromofenilo o 5-cloro-2-fluorofenilo,

y sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones.

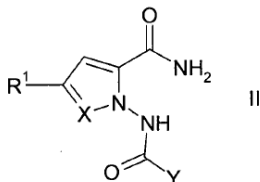
7. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionados del grupo

No.	Nombre
"A1"	2-p-tolil-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A2"	éster metílico del ácido 4-(4-oxo-3,4-dihidro-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-2-il)-benzoico
"A3"	2-(4-terc-butil-fenil)-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A4"	2-(1-acetil-piperidin-4-il)-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A5"	2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A6"	2-(4-bromo-fenil)-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A7"	2-[4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A8"	2-(4-pirrolidin-1-ilfenil)-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A9"	2-ciclohexil-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A10"	2-(1-terc-butilpirazol-4-il)-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A11"	2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-6-metil-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A12"	6-fluoro-2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A13"	6-metil-2-[4-(1-metilpirazol-4-il)fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A14"	2-[4-(1-etil-1-hidroxi-propil)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A15"	2-[4-[1-(2-hidroxi-etoxi)-1-metil-etil]-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A16"	2-[4-(1-amino-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A17"	6-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2-metil-5H-1,5,7,7a-tetraaza-inden-4-ona
"A18"	6-cloro-2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A19"	2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-7-metil-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A20"	2-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-7-trifluorometil-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona
"A21"	2-[4-(1-hidroxi-ciclopentil)-fenil]-3H-pirrol[2,1-f][1,2,4]triazin-4-ona

y sus solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones.

8. Proceso para la preparación de compuestos de la fórmula I de acuerdo con las reivindicaciones 1 - 7 y sus sales solvatos, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, caracterizado porque

5 a) un compuesto de la fórmula II



en donde X, R¹ e Y tienen los significados indicados en la reivindicación 1,

se hace reaccionar con NH₃, una base inorgánica o un alcoholato alcalino,

o

10 b) se convierte un radical en otro radical Y mediante

i) la conversión de un átomo de halógeno en un grupo éster,

ii) la conversión de un grupo éster en un grupo alcohol,

iii) la conversión en un acoplamiento de Suzuki de un anillo fenilo halogenado en un anillo

fenilo arilado,

15 y/o

se convierte una base o un ácido de la fórmula I en una de sus sales.

9. Medicamentos que comprenden al menos un compuesto de la fórmula I y/o sus sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo mezclas de los mismos en todas las proporciones, y opcionalmente un portador, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 10. Compuestos de la fórmula I y sus sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones, para uso en el tratamiento y/o prevención de cáncer, esclerosis múltiple, enfermedades cardiovasculares, lesiones del sistema nervioso central y diferentes formas de inflamación.

25 11. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 10 para uso en el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades seleccionadas del grupo de cáncer de cabeza, cuello, ojos, boca, garganta, esófago, bronquios, laringe, faringe, pecho, huesos, pulmones, colon, recto, estómago, próstata, vejiga urinaria, útero, cuello de la matriz, mama, ovarios, testículos u otros órganos reproductores, piel, tiroides, sangre, nódulos linfáticos, riñones, hígado, páncreas, cerebro, sistema nervioso central, tumores sólidos y tumores transmitidos por la sangre.

30 12. Medicamentos que comprenden al menos un compuesto de la fórmula I y/o sus sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones, y al menos un ingrediente activo de un medicamento adicional.

13. Conjunto (kit) que consiste de empaques separados de

(a) una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I y/o sus sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, incluyendo sus mezclas en todas las proporciones,

y

35 (b) una cantidad efectiva de un ingrediente activo de un medicamento adicional.