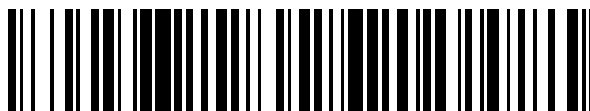


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 272**

51 Int. Cl.:

<b>C07D 217/24</b>	(2006.01)	<b>A61P 25/00</b>	(2006.01)
<b>C07D 401/10</b>	(2006.01)	<b>A61P 29/00</b>	(2006.01)
<b>C07D 405/10</b>	(2006.01)		
<b>C07D 471/04</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/4375</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/472</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/4725</b>	(2006.01)		
<b>A61P 35/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 37/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 9/00</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.07.2013 PCT/EP2013/002085**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **13.02.2014 WO14023390**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.07.2013 E 13737146 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2019 EP 2882714**

54 Título: **Derivados de (aza-)isoquinolinona**

30 Prioridad:

**08.08.2012 EP 12005752**

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

**10.07.2020**

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 2 773 272 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 (aza-)isoquinolinona

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 La invención tenía el objeto de hallar compuestos novedosos que tienen propiedades valiosas, en particular aquellos que pueden usarse para la preparación de medicamentos.

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

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

20 TANK-1 parece ser necesaria para la polimerización de la poli(ADP-ribosa) asociada a husillo mitótica. La actividad de poli(ADP-ribosil)ación de TANK-1 podría ser crucial para la formación precisa y el mantenimiento de la bipolaridad del husillo. Además, se ha mostrado que la actividad de la PARP de TANK-1 se requiere para la separación de telómero normal antes de la anafase. La interferencia con la actividad de la tanquirasa PARP da como resultado una mitosis aberrante, que genera una detención del ciclo celular transitoria, probablemente debido a la activación del punto de control del husillo, seguido por muerte celular. Por tanto, se espera que la inhibición de las tanquirasas tenga un efecto citotóxico sobre las células tumorales proliferantes (documento WO 2008/107478).

Los inhibidores de la PARP se describen por M. Rouleau *et al.* en Nature Reviews, volumen 10, 293-301 en estudios clínicos del cáncer (Tabla 2, página 298).

25 Según una revisión por Horvath y Szabo (Drug News Perspect 20(3), abril de 2007, 171-181) los estudios más recientes demostraron que los inhibidores de la PARP potencian la muerte de células cancerosas principalmente debido a que interfieren con la reparación del ADN en diversos niveles. Estudios más recientes también han demostrado que los inhibidores de la PARP inhiben la angiogenesis, o bien mediante la inhibición de la expresión del factor de crecimiento, o mediante la inhibición de las respuestas proliferativas celulares inducidas por el factor de crecimiento. Estos hallazgos también podrían tener implicaciones en el modo de los efectos *in vivo* anticancerígenos de los inhibidores de la PARP.

30 Además, un estudio de Tentori *et al.* (Eur. J. Cancer, 2007, 43 (14) 2124-2133) muestra que los inhibidores de la PARP abrogan la migración inducida por el factor de crecimiento placentario o VEGF y evitan la formación de redes de tipo tubular en sistemas a base de células, y alteran la angiogénesis *in vivo*. El estudio también demuestra que la angiogénesis inducida por el factor de crecimiento es deficiente en ratones deficientes de PARP-1. Los resultados del estudio proporcionan evidencia para seleccionar como diana PARP para la anti-angiogénesis, añadiendo implicaciones terapéuticas novedosas al uso de inhibidores de la PARP en el tratamiento del cáncer.

35 Se sabe bien que los defectos en las rutas de señalización conservadas para desempeñar papeles clave en los orígenes y el comportamiento de esencialmente todos los cánceres (E.A.Fearon, Cancer Cell, vol. 16, edición 5, 2009, 366-368). La ruta Wnt es una diana para la terapia anticancerosa. Una característica clave de la ruta Wnt es la proteólisis regulada (degradación) de  $\beta$ -catenina por el complejo de destrucción de la  $\beta$ -catenina. Las proteínas como WTX, APC o Axin están implicadas en el procedimiento de degradación. Una degradación apropiada de la  $\beta$ -catenina es importante para evitar una activación inapropiada de la ruta Wnt que se ha observado en muchos cánceres. Las tanquirasas inhiben la actividad de la axina y por lo tanto inhiben la degradación de la  $\beta$ -catenina. Por consiguiente, los inhibidores de la tanquirasa aumentan la degradación de la  $\beta$ -catenina. Un documento reciente en el periódico *Nature* no sólo ofrece importantes nuevos conocimiento en las proteínas que regulan la señalización de Wnt pero también soporta adicionalmente el enfoque para antagonizar los niveles de la  $\beta$ -catenina y la localización a través de moléculas pequeñas (Huang *et al.*, 2009; Nature, vol 461, 614-620). El compuesto XAV939 inhibe el crecimiento de células cancerosas DLD-1. Se encontraron que XAV9393 bloqueaba la acumulación estimulada por Wnt de  $\beta$ -catenina aumentando los niveles de las proteínas AXIN1 y AXIN2. El trabajo posterior de los autores estableció que XAV939 regula los niveles de AXIN a través de la inhibición de las tanquirasas 1 y 2 (TNKS1 y TNKS2), ambas de las cuales son miembros de la familia de la proteína poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP) (S.J. Hsiao *et al.*, Biochimie 90, 2008, 83-92).

Se ha encontrado que los compuestos según la invención y las sales de los mismos tienen propiedades farmacológicas muy valiosas mientras que se toleran bien.

55 La presente invención se refiere específicamente a compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1 que inhiben la tanquirasa 1 y 2, a composiciones que comprenden estos compuestos, y a procedimientos para el uso de los mismos para el tratamiento de dolencias y enfermedades inducidas por TANK.

Los compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1 pueden usarse además para el aislamiento e investigación de la actividad o expresión de las TANK.

5 El huésped o paciente puede pertenecer a cualquier especie de mamífero, por ejemplo una especie de primates, particularmente seres humanos; roedores, incluyendo ratones, ratas y hámsteres; conejos, vacas, perros, gatos, etc. Los modelos animales son de interés para investigaciones experimentales, proporcionando un modelo para el tratamiento de enfermedad humana.

10 La susceptibilidad de una célula particular para el tratamiento con los compuestos según la invención puede determinarse mediante pruebas *in vitro*. Típicamente, un cultivo de la célula se combina con un compuesto según la invención a diversas concentraciones durante un período de tiempo que es suficiente para permitir que los agentes activos tales como anti IgM induzcan a una respuesta celular tal como la expresión de un marcador de superficie, habitualmente entre aproximadamente una hora y una semana. Las pruebas *in vitro* pueden llevarse a cabo usando células cultivadas de sangre o de una muestra de biopsia. La cantidad de marcador de superficie expresada se evalúa mediante citometría de flujo usando anticuerpos específicos que reconocen el marcador.

15 La dosis varía dependiendo del compuesto específico usado, la enfermedad específica, el estado del paciente, etc. Una dosis terapéutica es típicamente suficiente para reducir considerablemente la población celular no deseada en el tejido diana mientras se mantiene la viabilidad del paciente. El tratamiento generalmente se continúa hasta que se produce una reducción considerable, por ejemplo, una reducción de al menos aproximadamente el 50% en la carga celular, y puede continuarse hasta que esencialmente no se detectan más células no deseadas en el organismo.

### TÉCNICA ANTERIOR

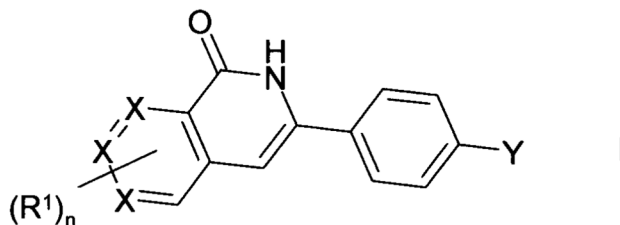
20 Se describen otros derivados de (aza-)isoquinolinona como productos intermedios en el documento EP1020445. Se describen otros derivados de isoquinolinona como inhibidores de la PARP en el documento WO 2010/133647.

Se describen otros derivados de isoquinolinona por: Won-Jea Cho *et al*, Bioorganic y Medicinal Chemistry Letters (1998), 8, 41-46; Sung Hoon Cheon *et al*, Archives of Pharmacal Research (1997), 20, 138-143; Sung Hoon Cheon *et al*, Archives of Pharmacal Research (2001), 24, 276-280.

25 Se describe un derivado de quinazolinona como inhibidor de la tanquirasa por E. Wahlberg *et al.*, Nature Biotechnology (2012), 30(3), 283.

### SUMARIO DE LA INVENCION

La invención se refiere a compuestos individuales según la reivindicación 1 cubiertos por la fórmula I



30 en la que

R<sup>1</sup> indica F, Cl, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, CHF<sub>2</sub> o CH<sub>2</sub>F,

R<sup>2</sup> indica H o alquilo ramificado o no ramificado con 1-6 átomos de C,

X indica C o N, con la condición de que sólo un X indica N,

Y indica A, Cyc, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>q</sub>OA, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>q</sub>N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>Het<sup>1</sup>, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>COOR<sup>2</sup>, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>CON(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub> o [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>SO<sub>2</sub>N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>,

35 Ar indica fenilo, que está no sustituido, o mono o disustituido por Hal, A, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>OR, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>Het<sup>2</sup>, NO<sub>2</sub>, CN, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>COOR, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>COA, NR<sup>2</sup>SO<sub>2</sub>A, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>SO<sub>2</sub>N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, S(O)<sub>n</sub>A, COHet<sup>2</sup>, O[C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>m</sub>N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, O[C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>Het<sup>2</sup>, NHCOOA, NHCON(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub> o COA,

40 Het<sup>1</sup> indica pirrolidinilo, azetidino, tetrahidroimidazolilo, tetrahidrofuranilo, oxetani, tetrahidropirazolilo, tetrahidropirani, 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<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>OR<sup>2</sup>, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>Het<sup>2</sup>, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>OHet<sup>2</sup>, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>Ar, NO<sub>2</sub>, CN, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>COOR<sup>2</sup>, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>CON(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, NR<sup>2</sup>COA, NR<sup>2</sup>SO<sub>2</sub>A, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>SO<sub>2</sub>N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, S(O)<sub>n</sub>A, COHet<sup>2</sup>, O[C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>m</sub>N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, O[C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>Ar, O[C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>Het<sup>2</sup>, NHCOOA, NHCON(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, CHO, COA, =S, =NR y/o =O,

Het<sup>2</sup> indica dihidropirrolilo, pirrolidinilo, azetidino, oxetaniilo, 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<sup>2</sup>, COOR<sup>2</sup>, CON(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, S(O)<sub>n</sub>A, S(O)<sub>n</sub>Ar, COA, A y/o =O,

- 5 A indica alquilo ramificado o no ramificado con 1-10 átomos de C, en el que dos átomos de carbono adyacentes pueden formar un doble enlace y/o uno o dos grupos CH- y/o CH<sub>2</sub> no adyacentes pueden reemplazarse por átomos de N, O y/o S y en el que 1-7 átomos de H pueden reemplazarse por F o Cl,

Cyc indica cicloalquilo con 3-7 átomos de C, que está no sustituido o monosustituido por OH, Hal o A,

Hal indica F, Cl, Br o I,

- 10 n indica 0, 1 ó 2,

m indica 1, 2 ó 3,

p indica 0, 1, 2, 3 ó 4,

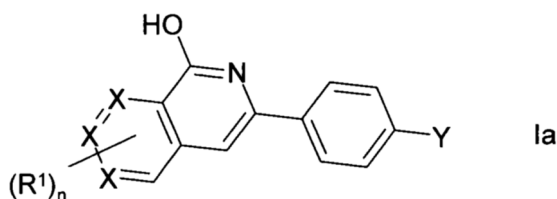
q indica 1, 2, 3 ó 4,

- 15 con la condición de que, si R<sup>1</sup> está ausente o es metilo o metoxilo, entonces Y no es metilo, trifluorometilo, piperidinometilo, butilo, 3-metoxi-1-propilo o 4-morfolinilo, y solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones.

El contenido reivindicado actualmente se refiere a la definición de las reivindicaciones; toda divulgación, que va más allá del alcance de las reivindicaciones, sólo sirve como fines de información.

- 20 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 según la reivindicación 1 y sus tautómeros de fórmula la



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

- 25 El término solvatos de los compuestos se entiende como aducciones de moléculas de disolventes inertes en los compuestos que se forman por su fuerza atractiva mutua. Solvatos son, por ejemplo, mono- o dihidratos o alcóxidos.

Se entiende, que la invención también se refiere a los solvatos de las sales. El término derivados farmacéuticamente aceptables se entiende como, por ejemplo, las sales de los compuestos según la invención.

- 30 La expresión "cantidad eficaz" indica la cantidad de un medicamento o de un principio activo farmacéutico que provoca en un tejido, sistema, animal o ser humano una respuesta biológica o médica que se busca o se desea, por ejemplo, mediante un investigador o médico.

Además, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" indica una cantidad que, en comparación con un correspondiente sujeto que no ha recibido esta cantidad, tiene la siguiente consecuencia: tratamiento mejorado, curación, prevención o eliminación de una enfermedad, síndrome, estado, dolencia, trastorno o efectos secundarios o también la reducción en el avance de una enfermedad, dolencia o trastorno.

- 35 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" también abarca las cantidades que son eficaces para el aumento de la función fisiológica normal.

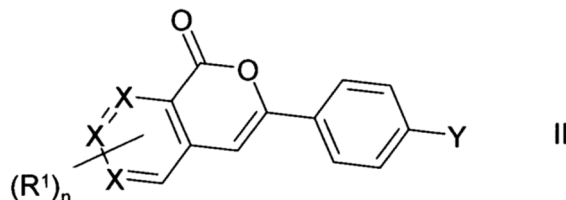
La invención también se refiere al uso de mezclas de los compuestos de la fórmula I, por ejemplo mezclas de dos diastereómeros, por ejemplo en la razón 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10, 1:100 ó 1:1000.

Estas son de manera particularmente preferible mezclas de compuestos estereoisoméricos.

- 40 "Tautómeros" se refiere a formas isoméricas de un compuesto que están en equilibrio entre sí. Las concentraciones de las formas isoméricas dependerán del entorno en el que se encuentra el compuesto en y puede ser diferente dependiendo de, por ejemplo, si el compuesto es un sólido o está en una disolución orgánica o acuosa.

La descripción da a conocer los compuestos de la fórmula I y sales de los mismos y un procedimiento para la preparación de compuestos de la fórmula I y sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, caracterizado porque

a) un compuesto de la fórmula II



5

en la que R<sup>1</sup>, X, Y y n tienen los significados indicados en la reivindicación 1,

se hace reaccionar con NH<sub>3</sub>,

o

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

10

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 de fenilo halogenado en un anillo de fenilo arilado,

y/o

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

15

Antes y después, los radicales R<sup>1</sup>, X, Y y n tienen los significados indicados para la fórmula I según la reivindicación 1, a menos que se indique expresamente lo contrario.

20

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

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

25

Además, A indica preferiblemente CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH o CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>. Cyc indica ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo, preferiblemente no sustituido o monosustituido por OH, Hal o A.

R<sup>1</sup> de manera particularmente preferible indica H, F, Cl, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub> o C<sub>F</sub><sub>3</sub>.

R<sup>2</sup> preferiblemente indica H, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, pentilo o hexilo, de manera particularmente preferible H o metilo.

30

Ar indica 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)etoxi]fenilo, o-, m- o p-[3-(N,N-dietil-amino)propoxi]fenilo, 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-hidroxil-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.

40

Ar además preferiblemente indica fenilo, que está monosustituido por Hal, A, [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>Het<sup>2</sup> o [C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>p</sub>COOR<sup>2</sup>.

- Het<sup>1</sup> preferiblemente indica 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 y/o  $[C(R^2)_2]_pOR^2$ .
- Het<sup>1</sup> de manera particularmente preferible indica pirrolidinilo, piperidinilo, tetrahidrofuranilo, oxetanilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está no sustituido o monosustituido por A o  $[C(R^2)_2]_pOR^2$ .
- Het<sup>2</sup> de manera particularmente preferible indica pirrolidinilo, piperidinilo o pirazolilo, cada uno de los cuales está monosustituido por A.
- 10 Hal preferiblemente indica F, Cl o Br, pero también I, de manera particularmente preferible F o Cl.
- Por toda la invención, todos los radicales que aparecen más de una vez pueden ser idénticos o diferentes, es decir son independientes entre sí.
- Los compuestos de la fórmula I pueden tener uno o más centros quirales y por tanto pueden aparecer en diversas formas estereoisoméricas. La fórmula I abarca todas esas formas.
- 15 Los compuestos de la fórmula I y también los materiales de partida para su preparación, además, se preparan por métodos conocidos en sí mismo, tal como se describe en la bibliografía (por ejemplo en los trabajos estándar, tales como Houben-Weilo, Methoden der organischen Chemie [Métodos de Química Orgánica], Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart), para ser precisos en las condiciones de reacción que se conocen y adecuados para dichas reacciones. El uso también puede realizarse en el presente documento de variantes conocidas por sí mismo que no se mencionan en el presente documento en mayores detalles.
- 20 Los compuestos de partida de la fórmula II se conocen en general. Sin embargo, si son novedosos pueden prepararse por métodos conocidos por sí mismo.
- Los compuestos de la fórmula I pueden obtenerse preferiblemente haciendo reaccionar un compuesto de la fórmula II con  $NH_3$ .
- 25 Dependiendo de las condiciones usadas, el tiempo de reacción es entre algunos minutos y 14 días, la temperatura de reacción es entre aproximadamente  $-10^\circ$  y  $140^\circ$ , normalmente entre  $30^\circ$  y  $130^\circ$ , en particular entre aproximadamente  $60^\circ$  y aproximadamente  $120^\circ$ . Se lleva a cabo la reacción en un disolvente inerte.
- Ejemplos de disolvente inertes adecuados 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 dietil éter, diisopropil éter, tetrahidrofurano (THF) o dioxano; éteres de glicol, tales como etilenglicol monometil o monoetil éter, etilenglicol dimetil éter (diglima); cetonas, tales como acetona o butanona; amidas, tales como acetamida, dimetilacetamida o dimetilformamida (DMF); nitrilos, tales como acetonitrilo; sulfóxidos, tales como dimetilsulfóxido (DMSO); disulfuro de carbono; ácidos carboxílicos, tales como ácido fórmico o ácido acético; compuestos de nitro, tales como nitrometano o nitrobenzono; ésteres, tales como acetato de etilo, o mezclas de dichos disolventes.
- 30 Se da preferencia particular para DMF.
- Los compuestos de la fórmula I puede obtenerse además convirtiendo un radical Y 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,
- 40 iii) la conversión en un acoplamiento de Suzuki de un anillo de fenilo halogenado en un anillo de fenilo arilado.
- Etapa i):
- 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 tolueno en condiciones estándar.
- 45 Preferiblemente se lleva a cabo la reacción a presión, preferiblemente 2 - 4 bares. Preferiblemente se añade un complejo de paladio y/o hierro, los complejos preferidos son (1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno)dichloropaladio(II) o 1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno.
- Dependiendo de las condiciones usadas, el tiempo de reacción es entre algunos minutos y 14 días, la temperatura de reacción es entre aproximadamente  $40^\circ$  y  $140^\circ$ , normalmente entre  $60^\circ$  y  $130^\circ$ , en particular entre aproximadamente  $90^\circ$  y aproximadamente  $110^\circ$ .

Etapa ii):

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):

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

Etapa iv):

La conversión de un grupo alquilo halogenado en un grupo alquilo preferiblemente se lleva a cabo con  $\text{LiAlH}_4$  en THF o con cinc en ácido acético en condiciones estándar

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

#### Sales farmacéuticas y otras formas

- 15 Dichos compuestos según la invención pueden usarse en su forma no salina final. Por otro lado, la presente invención también abarca el uso de estos compuestos en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables, que pueden derivarse de diversas bases y ácidos orgánicos e inorgánicos mediante procedimientos conocidos en la técnica. Las Formas salinas farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1 están en su mayor parte preparadas por métodos convencionales. Si el compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 contiene un grupo carboxilo, una de sus sales adecuadas puede formarse haciendo reaccionar el compuesto con una base adecuada para proporcionar la correspondiente sal de adición de base. Tales bases son, por ejemplo, hidróxidos de metales alcalinos, 20 incluyendo hidróxido de potasio, hidróxido de sodio e hidróxido de litio; hidróxidos de metales alcalinotérreos, tales como hidróxido de bario e hidróxido de calcio; alcóxidos de metales alcalinos, por ejemplo etóxido de potasio y propóxido de sodio; y diversas bases orgánicas, tales como piperidina, dietanolamina y N-metilglutamina. También se incluyen las sales de aluminio de los compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1. En el caso de determinados compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1, las sales de adición de ácido pueden formarse tratando estos compuestos con ácidos 25 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 correspondientes sales de los mismos, tal como sulfato, nitrato o fosfato y similares, y sulfonatos de alquilo y monoarilo, tales como etanosulfonato, toluenosulfonato y bencenosulfonato, y otros ácidos orgánicos y correspondientes sales de los mismos, tales como acetato, trifluoroacetato, tartrato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato, ascorbato y similares. Por consiguiente, 30 las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1 incluyen los siguientes: acetato, adipato, alginato, arginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato (besilato), bisulfato, bisulfito, bromuro, butirato, alcanforato, sulfonato de alcanfor, caprilato, cloruro, clorobenzoato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dihidrogenofosfato, dinitrobenzoato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, formiato, galacterato (a partir de ácido múcico), galacturonato, glucoheptanoato, gluconato, glutamato, glicerofosfato, 35 hemisuccinato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hipurato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, yoduro, isetionato, isobutirato, lactato, lactobionato, malato, maleato, malonato, mandelato, metafosfato, metanosulfonato, metilbenzoato, monohidrogenofosfato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, oleato, palmoato, pectinato, persulfato, fenilacetato, 3-fenilpropionato, fosfato, fosfonato, ftalato, pero esto no representa una restricción.

- 40 Además, las sales básicas de los compuestos según la invención incluyen sales de aluminio, amonio, calcio, cobre, hierro(III), hierro(II), litio, magnesio, manganeso(III), manganeso(II), potasio, sodio y cinc, pero esto no pretende representar una restricción. De las sales mencionadas anteriormente, se da preferencia para amonio; las sales de metales alcalinos sodio y potasio, y las sales de metales alcalinotérreos calcio y magnesio. Las sales de los compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1 que se derivan de bases no tóxicas orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen 45 sales de aminas primaria, secundaria y terciaria, aminas sustituidas, incluyendo también aminas sustituidas que se producen de manera natural, aminas cíclicas, y resinas del intercambiador de iones básicas, por ejemplo arginina, betaína, cafeína, cloroprocaína, colina, N,N'-dibenciletilenodiamine (benzatina), dicitclohexilamina, dietanolamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilenodiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lidocaína, lisina, meglumina, N-metil-D-glucamina, morfolina, 50 piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietanolamina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina y tris(hidroximetil)metilamina (trometamina), pero esto no pretende representar una restricción.

- Los compuestos de la presente invención que contienen grupos que contienen nitrógeno básicos pueden cuaternizarse usando agentes tales como haluros de alquilo ( $\text{C}_1\text{-C}_4$ ), por ejemplo cloruro, bromuro e yoduro de metilo, etilo, isopropilo y terc-butilo; sulfatos de alquilo di( $\text{C}_1\text{-C}_4$ ), por ejemplo sulfato de dimetilo, dietilo y diamilo; haluros de alquilo ( $\text{C}_{10}\text{-C}_{18}$ ), por 55 ejemplo cloruro, bromuro e yoduro de decilo, dodecilo, laurilo, miristilo y estearilo; y haluros de arilalquilo ( $\text{C}_1\text{-C}_4$ ), por ejemplo cloruro de bencilo y bromuro de fenetilo. Los compuestos solubles tanto en agua como tanto en agua como aceite según la invención pueden prepararse usando tales sales.

Las sales farmacéuticas mencionadas anteriormente que se prefieren 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 esto no pretende representar una restricción.

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

10 Las sales de adición de ácido de compuestos básicos de la fórmula I según la reivindicación 1 se preparan poniendo en contacto la forma de base libre con una cantidad suficiente del ácido deseado, provocando la formación de la sal de manera convencional. La base libre puede regenerarse poniendo en contacto la forma salina con una base y aislando la base libre de manera convencional. Las formas de base libre difieren en un determinado respecto de las correspondientes formas salinas de las mismas con respecto a determinadas propiedades físicas, tales como solubilidad en disolventes polares; para los fines de la invención, sin embargo, las sales corresponden de otra manera a las respectivas formas de base libre de las mismas.

15 Tal como se menciona, las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1 se forman con metales o aminas, tales como metales alcalinos y metales alcalinotérreos o aminas orgánicas. Los metales preferidos son sodio, potasio, magnesio y calcio. Las aminas orgánicas preferidas son N,N'-dibenciletilenodiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilenodiamina, N-metil-D-glucamina y procaína.

20 Las sales de adición de base de compuestos ácidos según la invención se preparan poniendo en contacto la forma de ácido libre con una cantidad suficiente de la base deseada, provocando la formación de la sal de manera convencional. El ácido libre puede regenerarse poniendo en contacto la forma salina con un ácido y aislando el ácido libre de manera convencional. Las formas de ácido libre difieren en un determinado respecto de las correspondientes formas salinas de las mismas con respecto a determinadas propiedades físicas, tales como solubilidad en disolventes polares; para los fines de la invención, sin embargo, las sales corresponden de otra manera a las respectivas formas de ácido libre de las mismas.

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

30 Con respecto a lo indicado anteriormente, puede observarse que la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" en el presente contexto se entiende como un principio activo que comprende un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 en forma de una de sus sales, en particular si esta forma salina confiere propiedades farmacocinéticas mejoradas en el principio activo en comparación con la forma libre del principio activo o cualquier otra forma salina del principio activo usado más temprano. La forma salina farmacéuticamente aceptable del principio activo también puede proporcionar este principio activo por primera vez con una propiedad farmacocinética deseada que no tenía más temprano e incluso puede tener una influencia positiva en la farmacodinámica de este principio activo con respecto a esta eficacia terapéutica en el organismo.

#### Isótopos

35 Además se pretende que un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 incluya formas marcadas con isótopos del mismo. Una forma marcada con isótopos de un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 es idéntica a este compuesto aparte del hecho de que uno o más átomos del compuesto se ha(n) reemplazado por un átomo o átomos que tiene(n) una masa atómica o número de masa que difiere de la masa atómica o número de masa del átomo que se produce naturalmente de manera habitualmente. Ejemplos de isótopos que están fácilmente disponibles comercialmente y que pueden incorporarse en un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 mediante métodos bien conocidos incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, por ejemplo  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$  y  $^{36}\text{Cl}$ , respectivamente. Un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable de o bien que contiene uno o más de los isótopos mencionados anteriormente y/o bien otros isótopos de otros átomos se pretende que sea parte de la presente invención. Un compuesto marcado con isótopos de la fórmula I según la reivindicación 1 puede usarse de varias maneras beneficiosas. Por ejemplo, un compuesto marcado con isótopos de la fórmula I según la reivindicación 1 en la que, por ejemplo, se ha incorporado un radioisótopo, tal como  $^3\text{H}$  o  $^{14}\text{C}$ , es adecuado para ensayos de distribución de tejidos de sustrato y/o medicamentos. Estos radioisótopos, es decir tritio ( $^3\text{H}$ ) y carbono-14 ( $^{14}\text{C}$ ), se prefieren particularmente debido a simple preparación y excelente capacidad de detección. La incorporación de isótopos más pesados, por ejemplo deuterio ( $^2\text{H}$ ), en un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 tiene ventajas terapéuticas debido a la estabilidad metabólica más alta de este compuesto marcado con isótopos. La estabilidad metabólica más alta se traduce directamente en una semivida *in vivo* aumentada o dosis más bajas, que en la mayoría de las circunstancias representarían una realización preferida de la presente invención. Un compuesto marcado con isótopos de la fórmula I según la reivindicación 1 puede prepararse habitualmente llevando a cabo los procedimientos dados a conocer en los esquemas de síntesis y la descripción relacionada, en la parte de ejemplo y en la parte de preparación en el presente texto, reemplazando un reactivo no marcado con isótopos por un reactivo marcado con isótopos fácilmente disponible.

Deuterio ( $^2\text{H}$ ) también puede incorporarse en un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 con el fin de manipular el metabolismo oxidativo del compuesto mediante el efecto de isótopo cinético primario. El efecto de isótopo cinético



primario es un cambio de la velocidad para una reacción química que resulta del intercambio de los núcleos isotópicos, que a su vez se provoca por el cambio en energías del estado fundamental necesarias para la formación del enlace covalente después de este intercambio isotópico. El intercambio de un isótopo más pesado habitualmente da como resultado una disminución de la energía del estado fundamental para un enlace químico y por tanto provocan una reducción en la velocidad en rotura del enlace que limita la velocidad. Si la rotura del enlace se produce en o en la vecindad de una región de punto de silla a lo largo de la coordinada de una reacción de múltiples productos, las velocidades de distribución de productos pueden alterarse sustancialmente. Para la explicación: si el deuterio se une a un átomo de carbono a una posición no intercambiable, las diferencias de velocidad de  $kM/kD = 2-7$  son típicas. Si esta diferencia de velocidad se aplica con éxito a un compuesto de la fórmula I que es susceptible de oxidación, el perfil de este compuesto *in vivo* puede modificarse drásticamente y da como resultado propiedades farmacocinéticas mejoradas.

Cuando se descubre y se desarrolla agentes terapéuticos, el experto en la técnica intenta optimizar los parámetros farmacocinéticos mientras se mantiene las propiedades *in vitro* deseadas. Es razonable suponer que muchos compuestos con perfiles farmacocinéticos malos son susceptibles de metabolismo oxidativo. Los ensayos microsomaes hepáticos *in vitro* disponibles actualmente proporcionan información valiosa sobre el transcurso del metabolismo oxidativo de este tipo, que a su vez permite el diseño racional de los compuestos deuterados de la fórmula I según la reivindicación 1 con estabilidad mejorada a través de la resistencia a tal metabolismo oxidativo. Las mejoras significativas en los perfiles farmacocinéticos de los compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1 se obtienen de ese modo, y pueden expresarse cuantitativamente en cuanto a aumentos en la semivida ( $t/2$ ) *in vivo*, la concentración en el efecto terapéutico máximo ( $C_{max}$ ), área bajo la curva de respuesta a la dosis (AUC), y F; y en cuanto al espacio reducido, dosis y costes de materiales.

A continuación se pretende ilustrar lo anterior: un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 que tiene múltiples sitios de ataque potenciales para el metabolismo oxidativo, por ejemplo átomos de hidrógeno bencílicos y átomos de hidrógeno unidos a un átomo de nitrógeno, se prepara como una serie de análogos en los que diversas combinaciones de átomos de hidrógeno se reemplazan por átomos de deuterio, de modo que algunos, la mayoría o todos de estos átomos de hidrógeno se han reemplazado por átomos de deuterio. Las determinaciones de semividas permiten la determinación favorable y precisa del grado en el que la mejora en resistencia al metabolismo oxidativo ha mejorado. De esta manera, se determina que la semivida del compuesto original puede extenderse por hasta el 100% como el resultado del intercambio de deuterio-hidrógeno de este tipo.

El intercambio de deuterio-hidrógeno en un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 también puede usarse para lograr una modificación favorable del espectro del metabolito del compuesto de partida con el fin de disminuir o eliminar los metabolitos tóxicos no deseados. Por ejemplo, si un metabolito tóxico surge a través de la escisión del enlace carbono-hidrógeno (C-H) oxidativo, puede suponerse de manera razonable que el análogo deuterado disminuirá considerablemente o eliminará la producción del metabolito no deseado, incluso si la oxidación particular no es una etapa de determinación de la velocidad. Puede encontrarse información adicional sobre el estado de la técnica con respecto al intercambio de deuterio-hidrógeno, por ejemplo en Hanzlik *et al.*, J. Org. Chem. 55, 3992-3997, 1990, Reider *et al.*, J. Org. Chem. 52, 3326-3334, 1987, Foster, Adv. Drug Res. 14, 1-40, 1985, Gillette *et al.*, Biochemistry 33(10) 2927-2937, 1994, y Jarman *et al.* Carcinogenesis 16(4), 683-688, 1993.

La invención se refiere además a medicamentos que comprenden al menos un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 y/o sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones, y opcionalmente excipientes y/o adyuvantes.

Las formulaciones farmacéuticas pueden administrarse en forma de unidades de dosis que comprenden una cantidad predeterminada de principio activo por unidad de dosis. Una unidad de ese tipo puede comprender, por ejemplo, de 0,5 mg a 1 g, preferiblemente de 1 mg a 700 mg, de manera particularmente preferible de 5 mg a 100 mg, de un compuesto según la invención, dependiendo del estado tratado, el método de administración y la edad, peso y estado del paciente, o pueden administrarse formulaciones farmacéuticas en forma de unidades de dosis que comprenden una cantidad predeterminada de principio activo por unidad de dosis. Las formulaciones de unidad de dosis preferidas son aquellas que comprenden una dosis diaria o dosis parcial, tal como se indicó anteriormente, o una correspondiente fracción de la misma de un principio activo. Además, las formulaciones farmacéuticas de este tipo pueden prepararse usando un procedimiento que en general se conoce en la técnica farmacéutica.

Las formulaciones farmacéuticas pueden adaptarse para la administración a través de cualquier método adecuado deseado, por ejemplo por métodos por vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópico (incluyendo bucal, sublingual o transdérmico), vaginal o parenteral (incluyendo subcutáneo, intramuscular, intravenoso o intradérmico). Tales formulaciones pueden prepararse usando todos los procedimientos conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo, combinando el principio activo con el/los excipiente(s) o adyuvante(s).

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración oral pueden administrarse como unidades separadas, tales como, por ejemplo, cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; disoluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas comestibles o alimentos en forma de espuma; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

Por tanto, por ejemplo, en el caso de administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el componente de principio activo puede combinarse con un excipiente inerte oral, no tóxico y farmacéuticamente aceptable, tal como, por ejemplo, etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos se preparan triturando el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y mezclándolo con un excipiente farmacéutico triturado de manera similar, tal como, por ejemplo, un hidrato de carbono comestible, tal como, por ejemplo, almidón o manitol. Un sabor, conservante, dispersante y colorante también pueden estar presente.

Las cápsulas se producen preparando una mezcla de polvos tal como se describió anteriormente y cargando vainas de gelatinas conformadas con la misma. Los deslizantes y lubricantes, tales como, por ejemplo, ácido silícico altamente disperso, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol en forma sólida, pueden añadirse a la mezcla de polvos antes de la operación de carga. También puede añadirse un desintegrante o solubilizante, tal como, por ejemplo, agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio, con el fin de mejorar la disponibilidad del medicamento después de que se haya tomado la cápsula.

Además, si se desea o es necesario, aglutinantes, lubricantes y disgregantes adecuados así como colorantes can pueden incorporarse asimismo en la mezcla. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, tales como, por ejemplo, glucosa o beta-lactosa, edulcorantes hechos de maíz, caucho natural y sintético, tal como, por ejemplo, acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras, y similares. Los lubricantes usados en las formas farmacéuticas incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, sin restringirse a esto, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla de polvos, granulando o prensando a seco la mezcla, añadiendo un lubricante y un disgregante y presionando la mezcla entera para proporcionar comprimidos. Una mezcla de polvos se prepara mezclando el compuesto triturado de manera adecuada 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, a retardante de disolución, tal como, por ejemplo, parafina, un acelerador de absorción, tal como, por ejemplo, una sal cuaternaria, y/o un absorbente, tal como, por ejemplo, bentonita, caolín o fosfato de dicalcio. La mezcla de polvos puede granularse humectándola con un aglutinante, tal como, por ejemplo, jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o disoluciones de celulosa o materiales poliméricos y presionándola a través de un tamiz. Como una alternativa a la granulación, la mezcla de polvos puede discurrirse a través de una máquina de preparación de los comprimidos, proporcionando grumos de forma no uniforme, que se rompen hasta formar gránulos. Los gránulos pueden lubricarse mediante la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral con el fin de evitar pegando a los moldes de fundición de comprimidos. Entonces se presiona la mezcla lubricada para proporcionar comprimidos. Los compuestos según la invención también pueden combinarse con un excipiente inerte de flujo libre y entonces se presiona directamente para proporcionar comprimidos sin llevar a cabo las etapas de granulación o prensando a seco. Una capa protectora opaca o transparente que consiste en una capa de lacado y sellado, una capa de azúcar o material polimérico y una capa brillante de cera pueden estar presentes. Pueden añadirse colorantes a estos recubrimientos con el fin de poder diferenciar entre diferentes unidades de dosis.

Los líquidos orales, tales como, por ejemplo, disolución, jarabes y elixires, pueden prepararse en forma de unidades de dosis de modo que una dada cantidad comprende una cantidad especificada previamente del compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una disolución acuosa con un aroma adecuado, mientras que los elixires se preparan usando un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden formularse mediante dispersión del compuesto en un vehículo no tóxico. Los solubilizantes y emulsionantes, tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados y polioxietilensorbitol éteres, conservantes, aditivos de sabor, tales como, por ejemplo, aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina, u otros edulcorantes artificiales y similares, pueden añadirse asimismo.

Las formulaciones de unidades de dosis para la administración oral, si se desea, pueden encapsularse en microcápsulas. La formulación también puede prepararse de tal manera que la liberación se extiende o se retarda, tal como, por ejemplo, mediante recubrimiento o incrustación de material particulado en polímeros, cera y similares.

Los compuestos de la fórmula I y sales, solvatos y derivados fisiológicamente funcionales de los mismos también pueden administrarse en forma de sistemas de administración de liposomas, tales como, por ejemplo, vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas pueden formarse a partir de diversos fosfolípidos, tales como, por ejemplo, colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Los compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1 y las sales, solvatos y sales fisiológicamente funcionales de los mismos también pueden administrarse usando anticuerpos monoclonales como portadores individuales en los que se acoplan las moléculas del compuesto. Los compuestos también pueden acoplarse a polímeros solubles como portadores de medicamentos seleccionados como diana. Tales polímeros pueden abarcar polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamidofenol, polihidroxietilaspártamidofenol o polilisina de poli(óxido de etileno), sustituidos por radicales de palmitoílo. Además los compuestos pueden acoplarse en una clase de polímeros biodegradables que son adecuados para lograr la liberación controlada de un medicamento, por ejemplo poli(ácido láctico), poli-épsilon-caprolactona, poli(ácido hidroxibutírico), poliortoésteres, poliacetales, polidihidroxipiranos, policianoacrilatos y copolímeros en bloque de hidrogeles reticulados o anfipáticos.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica pueden administrarse como emplastos independientes para un contacto extendido, estrecho con la epidermis del recipiente. Por tanto, por ejemplo, el principio

activo puede administrarse a partir del emplasto mediante iontoforesis, tal como se describe en términos generales en Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986).

Los compuestos farmacéuticos adaptados para la administración tópica pueden formularse como ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, disoluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.

5 Para el tratamiento de los ojos u otro tejido externo, por ejemplo boca y piel, las formulaciones se aplican preferiblemente como crema o ungüento tópico. En el caso de formulación para proporcionar un ungüento, el principio activo puede emplearse o bien con una base parafínica o bien una base de crema miscible en agua. Alternativamente, el principio activo puede formularse para proporcionar una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

10 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la aplicación tópica en los ojos incluyen colirios, en los que el principio activo se disuelve o se suspende en un portador adecuado, en particular un disolvente acuoso.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la aplicación tópica en la boca abarcan píldoras, pastillas y enjuagues bucales.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración rectal pueden administrarse en forma de supositorios o enemas.

15 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración nasal en la que la sustancia portadora es un sólido comprenden un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el rango 20-500 micras, que se administra de manera en la que se aspira rapé, es decir mediante inhalación rápida a través de las fosas nasales desde un recipiente que contiene el polvo sostenido cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas para la administración como pulverización nasal o gotas nasales con un líquido como sustancia portadora abarcan disoluciones del principio activo en agua o aceite.

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración mediante inhalación abarcan polvos o nieblas finamente particulados, que pueden generarse mediante diversos tipos de dispensadores presurizados con aerosoles, nebulizadores o insufladores.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración vaginal pueden administrarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización.

25 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen disoluciones de inyecciones estériles acuosas y no acuosas que comprenden antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos, por medio de los cuales la formulación se vuelve isotónica con la sangre del recipiente que va a tratarse; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas, que pueden comprender medios de suspensión y espesantes. Las formulaciones pueden administrarse en recipientes de dosis única o múltiples dosis, por ejemplo viales y ampollas sellados, y almacenarse en estado liofilizado,

30 de modo que solo es necesaria la adición del líquido portador estéril, por ejemplo agua para fines de inyección, inmediatamente antes del uso. Las disoluciones y suspensiones de inyección preparadas según la receta pueden prepararse a partir de comprimidos, gránulos y polvos estériles.

35 No hace falta decir que, además de los constituyentes mencionados de manera particular anteriormente, las formulaciones también pueden comprender otros agentes usuales en la técnica con respecto al tipo particular de formulación; por tanto, por ejemplo, las formulaciones que son adecuadas para la administración oral pueden comprender sabores. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 depende de varios factores, incluyendo,

40 por ejemplo, la edad y peso del animal, el estado preciso que requiere tratamiento, y su gravedad, la naturaleza de la formulación y el método de administración, y se determina por último por el médico o veterinario tratante. Sin embargo, una cantidad eficaz de un compuesto según la invención está en general en el rango de desde 0,1 hasta 100 mg/kg de peso corporal del receptor (mamífero) al día y de manera particularmente típica en el rango de desde 1 hasta 10 mg/kg de peso corporal al día. Por tanto, la cantidad real al día para un mamífero adulto que pesa 70 kg es habitualmente entre 70 y 700 mg, en la que esta cantidad puede administrarse como una única dosis al día o habitualmente en una serie de dosis parciales (tal como, por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco o seis) al día, de modo que la dosis diaria total es la misma.

45 Una cantidad eficaz de una sal o solvato o de un derivado fisiológicamente funcional de los mismos puede determinarse como la fracción de la cantidad eficaz del compuesto según la invención en sí mismo. Puede suponerse que dosis similares son adecuadas para el tratamiento de otros estados mencionados anteriormente.

Un tratamiento combinado de este tipo puede lograrse con la ayuda de dispensación simultánea, consecutiva o separada de los componentes individuales del tratamiento. Los productos de combinación de este tipo emplean los compuestos según la invención.

50 La invención se refiere además a medicamentos que comprenden al menos un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 y/o sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones, y al menos un principio activo de medicamento adicional.

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

(a) una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 y/o sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones, y

(b) una cantidad eficaz de un principio activo de medicamento adicional.

5 El conjunto comprende recipientes adecuados, tales como cajas, botellas individuales, bolsas o ampollas. El conjunto, por ejemplo, puede comprender ampollas separadas, conteniendo cada una una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 y/o sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones, y una cantidad eficaz de un principio activo de medicamento adicional en forma disuelta o liofilizada.

10 “Tratamiento” tal como se usa en el presente documento, significa un alivio, en su totalidad o en parte, de síntomas asociados con un trastorno o enfermedad, o ralentización o detención de la progresión adicional o empeoramiento de esos síntomas, o prevención o profilaxis de la enfermedad o trastorno en un sujeto en riesgo de desarrollar la enfermedad o trastorno

15 El término “cantidad eficaz” en relación con un compuesto de fórmula (I) puede significar una cantidad que puede aliviar, en su totalidad o en parte, síntomas asociados con un trastorno o enfermedad, o ralentización o detención de la progresión adicional o empeoramiento de estos síntomas, o prevención o proporcionando profilaxis para la enfermedad o trastorno en un sujeto que tiene o corre el riesgo de desarrollar una enfermedad dada a conocer en el presente documento, tal como estados inflamatorios, estados inmunológicos, estados cancerosos o metabólicos.

20 En una realización una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 es una cantidad que inhibe una tanquirasa en una célula, tal como, por ejemplo, *in vitro* o *in vivo*. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 inhibe la tanquirasa en una célula por el 10%, el 20%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 70%, el 80%, el 90% o el 99%, en comparación con la actividad de la tanquirasa en una célula sin tratar. La cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, por ejemplo en una composición farmacéutica, puede ser a un nivel que ejercerá el efecto deseado; por ejemplo, aproximadamente de 0,005 mg/kg del peso corporal de un sujeto a aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal de un sujeto en dosis unitaria para la administración tanto oral como parenteral.

## USO

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

30 La presente invención abarca los compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1 y/o sales y solvatos fisiológicamente aceptables de los mismos para su uso para el tratamiento o la prevención del cáncer, esclerosis múltiple, enfermedades cardiovasculares, lesión del sistema nervioso central y formas diferentes de inflamación.

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

35 También se abarcan los compuestos de la fórmula I y/o sales y solvatos fisiológicamente aceptables de los mismos para su uso para el tratamiento o la prevención de una enfermedad inducida por tanquirasa o un estado inducido por tanquirasa en un mamífero, en el que a este método se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la invención a un mamífero enfermo que necesita de tal tratamiento. La cantidad terapéutica varía según la enfermedad específica y puede determinarse por el experto en la técnica sin esfuerzo indebido.

40 La expresión “enfermedades o estados inducidos por tanquirasa” se refiere a estados patológicos que dependen de la actividad de una o más tanquirasas. Las enfermedades asociadas con la actividad de la tanquirasa incluyen cáncer, esclerosis múltiple, enfermedades cardiovasculares, lesión del sistema nervioso central y formas diferentes de inflamación.

45 La presente invención se refiere específicamente a compuestos de la fórmula I según la reivindicación 1 y sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones para su uso para el tratamiento de enfermedades en las que la inhibición, regulación y/o inhibición de la modulación de tanquirasa desempeña un papel importante.

50 La presente invención se refiere específicamente a compuestos de la fórmula I y sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones, para su uso para la inhibición de la tanquirasa.

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

- 5 Los cánceres representativos que los compuestos de fórmula I según la reivindicación 1 son útiles para el tratamiento o la prevención incluyen cáncer de la cabeza, cuello, ojos, boca, garganta, esófago, bronquios, laringe, faringe, pecho, huesos, pulmón, colon, recto, estómago, próstata, vejiga urinaria, úteros, cuello uterino, mama, ovarios, testículos u otros órganos reproductivos, piel, tiroides, sangre, ganglios linfáticos, riñones, hígado, páncreas, cerebro, sistema nervioso central, tumores sólidos y tumores transmitidos por la sangre.
- Las enfermedades cardiovasculares representativas que los compuestos de fórmula I según la reivindicación 1 son útiles para el tratamiento o la prevención incluyen reestenosis, aterosclerosis y sus consecuencias tales como accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, daño isquémico al corazón, pulmón, intestino, riñones, hígado, páncreas, bazo o cerebro.
- 10 Los compuestos dados a conocer de la fórmula I según la reivindicación 1 pueden administrarse en combinación con otros agentes terapéuticos conocidos, incluyendo agentes anticancerígenos. Tal como se usa en el presente documento, el término "agente anticancerígeno" se refiere a cualquier agente que se administra a un paciente con cáncer para los fines de tratamiento del cáncer.
- 15 El tratamiento anticancerígeno definido en el presente documento puede aplicarse como una única terapia o puede implicar, además del compuesto de la invención, cirugía convencional o radioterapia o quimioterapia. Tal quimioterapia puede incluir uno o más de las siguientes categorías de agentes antitumorales:
- (i) agentes antiproliferativos/ antineoplásicos/ que dañan el ADN y combinaciones de los mismos, tal como se usa en la oncología médica, tal como agentes alquilantes (por ejemplo cisplatino, carboplatino, ciclofosfamida, mostaza nitrogenada, melfalán, cloroambucilo, busulfano y nitrosoureas); antimetabolitos (por ejemplo antifolatos tales como fluoropirimidinas como 5-fluorouracil y tegafur, raltitrexato, metotrexato, arabinósido de citosina, hidroxiaurea y gemcitabina); antibióticos antitumorales (por ejemplo antraciclinas, como adriamicina, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarubicina, mitomicina-C, dactinomicina y mitramicina) ; agentes antimitóticos (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, topotecán, irinotecán y camptotecina) y agentes de diferenciación celulares (por ejemplo ácido all-trans-retinoico, ácido 13-cis-retinoico y fenretinida);
- 20 (ii) agentes citostáticos, tales como antiestrógenos (por ejemplo tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno y yodoxifeno), reguladores por descendencia 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 la aromatasas (por ejemplo como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano) e inhibidores de la 5 $\alpha$ -reductasa, tal como finasterida;
- 30 (iii) agentes que inhiben la invasión de célula cancerosa (por ejemplo inhibidores de la metaloproteinasas, como marimastat, e inhibidores de la función del receptor activador del plasminógeno de 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™] y el anticuerpo anti-erbB1 cetuximab [C225]), inhibidores de la farnesiltransferasa, inhibidores de la tirosina cinasa y inhibidores de la serina/ treonina cinasa, por ejemplo inhibidores de la familia del factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo inhibidores de la tirosina cinasa de la familia EGFR, tales como N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (gefitinib, AZD1839), N-(3-etilfenil)-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 del factor de crecimiento derivado de plaquetas y por ejemplo inhibidores de la familia del factor de crecimiento de hepatócitos;
- 40 (v) agentes antiangiogénicos, tales como aquellos que inhiben los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular, (por ejemplo el anticuerpo del factor de crecimiento de células endoteliales anti-vasculares bevacizumab [Avastin™], compuestos tales como aquellos dados a conocer en las solicitudes de patente internacional publicadas WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 y WO 98/13354) y compuestos que trabajan por otros mecanismos (por ejemplo linomida, inhibidores de función de la integrina  $\alpha v \beta 3$  y angiostatina);
- 45 (vi) agentes que dañan los vasos, tales como combretastatina A4 y los compuestos dados a conocer en las solicitudes de patente internacional WO 99/02166, WO 00/40529, WO 00/41669, WO 01/92224, WO 02/04434 y WO 02/08213;
- 50 (vii) terapias antisentido, por ejemplo, aquellas que se dirigen a las dianas listadas anteriormente, tales como ISIS 2503, un anti-Ras antisentido;
- (viii) enfoques de la terapia génica, incluyendo, por ejemplo, enfoques para el reemplazo de genes aberrantes, tales como p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrante, enfoques de GDEPT (terapia pro-fármaco enzimática dirigida por genes), tales como aquellos que usan citosina desaminasa, timidina cinasa o una enzima nitroreductasa bacteriana, y enfoques para el aumento de la tolerancia del paciente a la quimioterapia o la radioterapia, tal como terapia génica de resistencia a múltiples fármacos; y
- 55

5 (ix) enfoques de inmunoterapia, incluyendo, por ejemplo, enfoques *ex vivo* e *in vivo* para el aumento de la inmunogenicidad de células tumorales de pacientes, tales como transfección con citocinas, tales como interleucina 2, interleucina 4 o factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos, enfoques para la disminución de anergia de las células T, enfoques que usan células inmunes transfectadas, tales como células dendríticas transfectadas con citocina, enfoques que usan líneas celulares tumorales transfectadas con citocina, y enfoques que usan anticuerpos antiidiotípicos.

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

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

Tabla 1.		
	Floxuridina 2-clorodesoxiadenosina 6-Mercaptopurina 6-Tioguanina Citarabina 2-fluorodesoxicidina Metotrexato Idatrexato	Pentoestatina Raltitrexato Hidroxiurea Decitabina (SuperGen) Clofarabina (Bioenvision) Irofulveno (MGI Pharma) DMDC (Hoffmann-La Roche)  Etinilcitudina (Taiho)
Inhibidores de la topoisomerasa	Amsacrina Epirubicina Etopósido Tenipósido o Mitoxantrona Irinotecán (CPT-11) 7-etil-10-hidroxicamptotecina  Topotecán Dexrazoxanet (TopoTarget) Pixantrone (Novuspharna) Análogo de rebeccamicina (Exelixis)  BBR-3576 (Novuspharma)	Rubitecano (SuperGen) Mesilato de exatecán (Daiichi) Quinamed (ChemGenex) Gimatecán (Sigma- Tau) Diflomotecán (Beaufour-Ipsen)  TAS-103 (Taiho) Elsamitrucina (Espectro) J-107088 (Merck & Co) BNP-1350 (BioNumerik) CKD-602 (Chong Kun Dang)  KW-2170 (Kyowa Hakko)
Antibióticos antitumorales	Dactinomicina (Actinomicina D)	Amonafida  Azonafida

Tabla 1.		
	Doxorubicina (Adriamicina)	Anthrapirazol
	Deoxirubicina	Oxantrazol
	Valrubicina	Losoxantrona
	Daunorubicina	Sulfato de bleomicina
	(Daunomicina)	(Blenoxan)
	Epirubicina	Ácido bleomicínico
	Terarubicina	Bleomicina A
	Idarubicina	Bleomicina B
	Rubidazona	Mitomicina C
	Plicamicina	MEN-10755 (Menarini)
	Porfiromicina	GPX-100 (Gem Pharmaceuticals)
	Cianomorfolinodoxorubicina	
	Mitoxantrona (Novantron)	
Agentes antimetabólicos	Paclitaxel	SB 408075
	Docetaxel	(GlaxoSmithKline)
	Colchicina	E7010 (Abbott)
	Vinblastina	PG-TXL (Cell Therapeutics)
	Vincristina	
	Vinorelbina	IDN 5109 (Bayer)
	Vindesina	A 105972 (Abbott)
	Dolastatina 10 (NCI)	A 204197 (Abbott)
	Rizoxina (Fujisawa)	LU 223651 (BASF)
	Mivobulina (Warner-Lambert)	D 24851 (ASTA Medica)
	Cemadotina (BASF)	ER-86526 (Eisai)
	RPR 109881A (Aventis)	Combretastatina A4 (BMS)
		Isohomohalicondrina-B



Tabla 1.		
	TXD 258 (Aventis)	(PharmaMar)
	Epotilona B (Novartis)	ZD 6126 (AstraZeneca)
	T 900607 (Tularik)	PEG-Paclitaxel (Enzon)
	T 138067 (Tularik)	AZ10992 (Asahi)
	Criptoficina 52 (Eli Lilly)	IDN-5109 (Indena)
	Vinflunina (Fabre)	AVLB (Prescient
	Auristatina PE (Teikoku Hormone)	NeuroPharma)
		Azaepotilona B (BMS)
	BMS 247550 (BMS)	BNP-7787 (BioNumerik)
	BMS 184476 (BMS)	CA-4-profármaco (OXIGENE)
	BMS 188797 (BMS)	Dolastatina-10 (NrH)
	Taxoprexina (Protarga)	CA-4 (OXIGENE)
Inhibidores de la 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™ (BioKeys)
Antagonistas del ADN	Trabectedina (PharmaMar)	Mafosfamida (Baxter International)
	Glufosfamida (Baxter Internacional)	
		Apaziquona (Spectrum Pharmaceuticals)
	Albúmina + 32P (Disoluciones de isótopos)	
		O6-bencilguanina (Paligent)
	Timectacina (NewBiotics)	
	Edotreotide (Novartis)	

Tabla 1.		
Inhibidores de la farnesiltransferasa	Arglabina (NuOncology Labs) Ionafarnib (Schering-Plough) BAY-43-9006 (Bayer)	Tipifarnib (Johnson & Johnson) Alcohol Perilico (DOR BioPharma)
Inhibidores de la bomba	CBT-1 (CBA Pharma) Tariquidar (Xenova) MS-209 (Schering AG)	Zosuquidar triclóhidrato (Eli Lilly) Dicitrato de biricodar (Vertex)
Inhibidores de la histona acetil transferasa	Tacedinalina (Pfizer) SAHA (Aton Pharma) MS-275 (Schering AG)	Butirato de pivaloiloimetilo (Titan) Depsipéptido (Fujisawa)
Inhibidores de la metaloproteinasa	Neovastat (Aeterna Laboratories)	CMT -3 (CollaGenex) BMS-275291 (Celltech)
Inhibidores de la ribonucleósido reductasa	Marimastat (British Biotech) Maltolato de galio (Titan) Triapina (Vion)	Tezacitabina (Aventis) Didox (Molecules for Health)
Agonistas/antagonistas de TNF-alfa	Virulizina (Lorus Therapeutics) CDC-394 (Celgene)	Revimid (Celgene)
Antagonistas del receptor de la endotelina-A	Atrasentán (Abbot) ZD-4054 (AstraZeneca)	YM-598 (Yamanouchi)
Agonistas del receptor del ácido retinoico	Fenretinida (Johnson & Johnson)	Alitretinoína (Ligand)

Tabla 1.		
	LGD-1550 (Ligand)	
Inmunomoduladores	Interferón Oncófago (Antigenics) GMK (Progenies) Vacuna contra adenocarcinoma (Biomira) CTP-37 (AVI BioPharma) JRX-2 (Immuno-Rx) PEP-005 (Peplin Biotech) Vacunas contra Synchrovax (CTL Immuno) Vacuna contra melanoma (CTL Immuno) Vacuna contra p21-RAS (Gem-Vax)	Terapia de dexosoma (Anosys) Pentrix (Australian Cancer Technology) JSF-154 (Tragen) Vacuna contra el cáncer (Intercell) Norelina (Biostar) BLP-25 (Biomira) MGV (Progenies) β-Aletina (Dovetail) CLL-Thera (Vasogen)
Agentes hormonales y antihormonales	Estrógenos Estrógenos conjugados Etiniloestradiol clorotrianiseno Idenestrol Hidroxiprogesterona caproato Medroxiprogesterona Testosterona Propionato de testosterona Fluoximesterona Metiltestosterona Dietilstilbestrol	Prednisona Metilprednisolona Prednisolona Aminoglutetimida Leuprolida Goserelina Leuporelina Bicalutamida Flutamida Octreotida Nilutamida Mitotano P-04 (Novogen)

Tabla 1.		
	Megestrol Tamoxifeno Toremofina Dexametasona	2-Metoxioestradiol (EntreMed)  Arzoxifeno (Eli Lilly)
Agentes fotodinámicos	Talaporfina (Light Sciences) Theralux (Theratechnologies)  Motexafina-Gadolinio (Pharmacyclics)	Pd-Bacteriofeoforbida (Yeda)  Texafirina lutécio (Pharmacyclics)  Hipericina
Inhibidores de la tirosina cinasa	Imatinib (Novartis) Leflunomida(Sugen/Pharmacia)  ZDI839 (AstraZeneca) Erlotinib (Oncogene Science)  Canertinib (Pfizer) Escualamina (Genaera) SU5416 (Pharmacia) SU6668 (Pharmacia) ZD4190 (AstraZeneca) ZD <sub>6</sub> 474 (AstraZeneca) Vatalanib (Novartis) PKI166 (Novartis) GW2016 (GlaxoSmithKline) EKB-509 (Wyeth)	Kahalide F (PharmaMar) CEP- 701 (Cephalon) CEP-751 (Cephalon) MLN518 (Millenium) PKC412 (Novartis) Fenoxodiol O Trastuzumab (Genentech) C225 (ImClone) rhu-Mab (Genentech) MDX-H210 (Medarex) 2C4 (Genentech) MDX-447 (Medarex) ABX-EGF (Abgenix) IMC-1C11 (ImClone)

Tabla 1.	
	EKB-569 (Wyeth)
Diversos agentes	<p>SR-27897 (inhibidor de CCK-A, Sanofi-Synthelabo)      BCX-1777 (inhibidor de PNP, BioCryst)</p> <p>Tocladesina (AMP agonista de AMP cíclico, Ribapharm)      Ranpirnasa (estimulante de la ribonucleasa, Alfacell)</p> <p>Alvocidib (inhibidor de CDK, Aventis)      Galarubicina (inhibidor de la síntesis de ARN, Dong-A)</p> <p>CV-247 (inhibidor de COX-2, Ivy Medical)      Tirapazamina (agente de reducción, SRI International)</p> <p>P54 (inhibidor de COX-2, Phytopharm)      N-Acetilcisteína (agente de reducción, Zambon)</p> <p>CapCell™ (estimulante de CYP450, Bavarian Nordic)      R-Flurbiprofeno (inhibidor de NF-kappaB, Encore)</p> <p>GCS-IOO (antagonista de gal3, GlycoGenesys)      3CPA (inhibidor de NF-kappaB, Active Biotech)</p> <p>Inmunógeno de G17DT (inhibidor de la gastrina, Aphton)      Seocalcitol (agonista del receptor de vitamina D, Leo)</p> <p>Efaproxiral (oxigenator, Allos Therapeutics)      131-I-TM-601 (antagonista del ADN, TransMolecular)</p> <p>PI-88 (inhibidor de la heparanasa, Progen)      Eflornitina (inhibidor de ODC, ILEX Oncology)</p> <p>Tesmilifeno (antagonista de la histamina, YMBioSciences)      Ácido minodróico (inhibidor de osteoclast, Yamanouchi)</p> <p>Histamina (agonista del receptor de histamina H2, Maxim)</p> <p>Tiazofurina (IMPDH inhibidor, Ribapharm)      Indisulam (estimulante de p53, Eisai)</p> <p>Cilengitida (antagonista de la integrina, Merck KGaA)      Aplidin (inhibidor de PPT, PharmaMar)</p> <p>SR-31747 (antagonista de IL-1, Sanofi-Synthelabo)      Rituximab (anticuerpo CD20, Genentech)</p> <p>CCI-779 (inhibidor de la mTOR cinasa, Wyeth)      Gemtuzumab (anticuerpo CD33, Wyeth Ayerst)</p> <p>Exisulinda (inhibidor de PDE-V, Cell Pathways)      PG2 (promotor de la hematopoyesis, Pharmagenesis)</p> <p>CP-461 (PDE-V inhibidor, Cell Pathways)      Immunol™ (triclosan mouthwash, Endo)</p> <p>AG-2037 (inhibidor de GART, Pfizer)      Triacetiluridina (profármaco uridina, Wellstat)</p>

Tabla 1.	
WX-UK1 (inhibidor del activador de plasminógeno, Willex)	SN-4071 (agente de sarcoma, Signature BioScience)
PBI-1402 (estimulante de PMN, ProMetic LifeSciences)	TransMID-107™ (inmunotoxina, KS Biomedix)
Bortezomib (inhibidor de proteasoma, Millennium)	PCK-3145 (promotor de la apoptosis, Procyon)
SRL-172 (estimulante de las células T, SR Pharma)	Doranidazol (promotor de la 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-retínico (diferenciador, NIH)
Midostaurina (inhibidor de PKC, Novartis)	MX6 (promotor de la apoptosis, MAXIA)
Brioestatina-1 (estimulante de PKC, GPC Biotech)	Apomina (promotor de la apoptosis, ILEX Oncology)
CDA-II (promotor de la apoptosis, Everlife)	Urocidina (promotor de la apoptosis, Bioniche)
SDX-101 (promotor de la apoptosis, Salmedix)	Ro-31-7453 (promotor de la apoptosis, La Roche)
Ceflatonina (promotor de la apoptosis, ChemGenex)	Brostalicina (promotor de la apoptosis, Pharmacia)

Las siguientes abreviaturas se refieren respectivamente a las definiciones a continuación:

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), L (microlitro), ACN (acetonitrilo), AcOH (ácido acético), CDCl<sub>3</sub> (cloroformo deuterado), CD<sub>3</sub>OD (metanol deuterado), CH<sub>3</sub>CN (acetonitrilo), c-hex (ciclohexano), DCC (diciclohexilcarbodiimida), DCM (diclorometano), DIC (diisopropilcarbodiimida), DIEA (diisopropiletilamina), DMF (dimetilformamida), DMSO (dimetilsulfóxido), DMSO-d<sub>6</sub> (dimetilsulfóxido deuterado), EDC (1-(3-dimetil-amino-propil)-3-etilcarbodiimida), ESI (ionización por electropulverización), EtOAc (acetato de etilo), Et<sub>2</sub>O (diel éter), EtOH (etanol), HATU (hexafluorofosfato de dimetilamino-([1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-iloxi)-metileno]-dimetilamonio), HPLC (cromatografía de líquidos de alta resolución), i-PrOH (2-propanol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (carbonato de potasio), CL (cromatografía de líquidos), MeOH (metanol), MgSO<sub>4</sub> (sulfato de magnesio), EM (espectrometría de masas), MTBE (Metil terc-butil éter), NaHCO<sub>3</sub> (bicarbonato de sodio), NaBH<sub>4</sub> (borohidruro de sodio), NMM (N-metilmorfolina), RMN (Resonancia Magnética Nuclear), PyBOP (hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-trispirrolidino-fosfonio), TA (temperatura ambiente), Rt (tiempo de retención), SPE (extracción en fase sólida), TBTU (tetrafluoro-borato de 2-(1-H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio), TEA (trietilamina), TFA (ácido trifluoroacético), THF (tetrahidrofurano), CCF (Cromatografía en Capa Fina), UV (Ultravioleta).

#### Descripción de los ensayos *in vitro*

Abreviaturas:

GST = Glutatión-S-transferasa

FRET= Transferencia de energía de resonancia fluorescente

HTRF® = (fluorescencia resuelta en el tiempo homogénea)

HEPES = Tampón de ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazin-etanosulfónico

DTT = Ditioneitol

5 BSA = albúmina de suero bovino

CHAPS = detergente;

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

10 Streptavidin-XLent® es un conjugado de estreptavidina-XL665 de alto grado para el que se han optimizado las condiciones de acoplamiento para producir un conjugado con rendimientos mejorados para algunos ensayos, particularmente aquellos que requieren alta sensibilidad.

Prueba de actividad bioquímica de la tanquirasa 1 y 2: Ensayo de autoparsilación

15 El ensayo de autoparsilación se discurre en dos etapas: la reacción enzimática en la que la tanquirasa-1 marcada con GST, con respecto a la tanquirasa-2 transfiere ADP-ribosa biotinilada a sí misma a partir de NAD biotinilado como co-sustrato y la reacción de detección en la que se analiza un FRET resuelto en el tiempo entre anti-GST marcado con criptato unido al marcador GST de la enzima y estreptavidina marcada con Xlent® unida al residuo de parsilación de la biotina. La actividad de autoparsilación fue detectable directamente a través del aumento en la señal de HTRF.

20 El ensayo de autoparsilación se realiza como formato de ensayo de 384 pocillos HTRF® (Cisbio, Codolet, Francia) en placas de microtitulación de 384 pocillos de volumen bajo Greiner y se usa para una selección de alto rendimiento. Se incuban Tanquirasa-1 marcada con GST 250 nM (1023-1327 aa), respectivamente aproximadamente Tanquirasa-2 marcada con GST 250 nM (873-1166 aa) y bio-NAD 5 µM (Biolog, Life science Inst., Bremen, Alemania) como co-sustrato en un volumen total de 5 µl (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) en ausencia o presencia del compuesto de prueba (10 concentraciones de dilución) durante 90 min a 30°C. Se detiene la reacción mediante la adición de 1 µl de disolución de EDTA 50 mM. Se añaden 2 µl de la disolución de detección (SA-Xlent® 1,6 µM (Cisbio, Codolet, Francia), Anti-GST-K® 7,4 nM (Eu-labelled anti-GST, Cisbio, Codolet, Francia) en HEPES 50 mM, KF 800 mM, BSA al 0,1%, EDTA 20 mM, CHAPS al 0,1%, pH 7,0). Tras 1 h de incubación a temperatura ambiente se mide el HTRF con un lector multimodal Envision (Perkin Elmer LAS Germany 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 razón de las señales de emisión. El valor completo 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 inhibitorios (CI<sub>50</sub>) se determinan usando o bien el programa Symyx Assay Explorer® o bien Condosseo® de GeneData.

30

#### Medición de la inhibición celular de la tanquirasa

Puesto que se ha descrito que las tanquirasas modulan el nivel celular de Axin2 (Huang *et al.*, 2009; Nature) el aumento del nivel de Axin2 se usa como lectura para la determinación de la inhibición celular de las tanquirasas en un ensayo basado en Luminex.

35 Se siembran en placas células de la línea celular de carcinoma de colon DLD1 en placas de 96 pocillos con 1,5x10<sup>4</sup> células por pocillo. Al día siguiente, se tratan las células con una dilución en serie del compuesto de prueba en siete etapas como triplicados con una concentración de DMSO final del 0,3%. Tras 24 horas, se lisan las células en tampón de lisis (Tris 20 mM /HCl pH 8,0, NaCl 150 mM, NP40 al 1%, glicerol al 10%) y se clarifican los lisados mediante centrifugación a través de una placa de filtro de 96 pocillos (0,65 mm). Se aísla la proteína Axin2 de los lisados celulares mediante incubación con un anticuerpo anti-Axin2 monoclonal (R&D Sistemas n.º MAB6078) que se une a perlas de carboxilo fluorescentes. Entonces, se detecta específicamente la Axin2 unida con un anticuerpo anti-Axin2 policlonal (Cell Signaling n.º 2151) y un anticuerpo secundario PE-fluorescente apropiado. La cantidad de la proteína Axin2 aislada se determina en una máquina Luminex<sup>200</sup> (Luminex Corporation) según la instrucción del fabricante contando 100 acontecimientos por pocillo. La inhibición de la tanquirasa mediante compuestos de prueba da como resultado niveles mayores de Axin2 que se correlaciona directamente con un aumento de fluorescencia detectable. Como controles se tratan las células con disolvente solo (control neutro) y con un inhibidor de referencia de la tanquirasa IWR-2 (3E-06 M) que se refiere como control para el aumento máximo de Axin2. Para análisis, se normalizan los datos obtenidos frente al control de disolvente sin tratar y se ajustan para determinación de los valores de CE<sub>50</sub> usando el software Assay Explorer (Accelrys).

45

#### Descripción del ensayo PARP1

50 Prueba de actividad bioquímica de PARP-1: Ensayo de autoparsilación

El ensayo de autoparsilación se discurre en dos etapas: la reacción enzimática en la que la Parp-1 marcada con His transfiere ADP-ribosa biotinilada/ ADP-ribosa a sí misma a partir de NAD biotinilado/ NAD como co-sustrato y la reacción

de detección en la que se analiza un FRET resuelto en el tiempo entre anticuerpo anti-His marcado con criptato unido al marcador His de la enzima y estreptavidina marcada con Xlent® unida al residuo de parsilación de la biotina. La actividad de autoparsilación es detectable directamente a través del aumento en la señal de HTRF.

5 El ensayo de autoparsilación se realiza como formato de ensayo de 384 pocillos HTRF® (Cisbio, Codolet, Francia) en placas de microtitulación de 384 pocillos de volumen bajo Greiner. Se incuban Parp-1 marcada con His 35 nM (humana, 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 co-sustrato en un volumen total de 6 µl (Tris 100 mM/ HCl, cloruro de Mg 4 mM, IGEPAL® CA630 al 0,01%, DTT 1 mM, DMSO al 0,5%, pH 8, ADN activado 13 ng/ml (BPS Bioscience, San Diego, US)) en ausencia o presencia del compuesto de prueba (10 concentraciones de dilución) durante 150 min a 23°C. Se detiene la reacción mediante la adición de 4 µl de la disolución de detención/ detección (SA-Xlent® 70 nM (Cisbio, Codolet, Francia), Anti-His-K® 2,5 nM (anti-His marcada con Eu, Cisbio, Codolet, Francia) en HEPES 50 mM, KF 400 mM, BSA al 0,1%, EDTA 20 mM, pH 7,0). Tras 1 h de incubación a temperatura ambiente se mide el HTRF con un lector multimodal Envision (Perkin Elmer LAS Germany 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 razón de las señales de emisión. El valor completo usado es la reacción libre de inhibidor. El valor cero farmacológico usado es Olaparib (LClabs, Woburn, US) en una concentración final de 1 µM. Los valores inhibitorios (CI50) se determinan usando o bien el programa Symyx Assay Explorer® o bien Condosseo® de GeneData.

### Descripción del ensayo de ELISA de TNKS1 y TNKS2

Prueba de actividad bioquímica de TNKS 1 y 2: actividad de ELISA (Ensayo de autoparsilación)

20 Para el análisis de la actividad de autoparsilación de TNKS 1 y 2 se realiza una actividad de ELISA: En la primera etapa se captura TNKS marcada con GST en una placa recubierta de glutatión. Entonces se realiza el ensayo de la actividad con NAD biotilado en ausencia/ presencia de los compuestos. Durante la reacción enzimática TNKS marcada con GST transfiere ADPribosa biotilada a sí misma a partir de NAD biotilado como co-sustrato. Para la detección se añade conjugado de estreptavidina-HRP que se une a la TNKS biotilada y por tanto se captura en las placas. La cantidad de TNKS biotilada con respecto a TNKS autoparsilada se detecta 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 tanto con la actividad de TNKS.

30 La actividad de ELISA se realiza en placas de microtitulación recubiertas con glutatión de 384 pocillos (Express capture Glutathione coated plate, Biocat, Heidelberg, Alemania). Se equilibran previamente las placas con PBS. Entonces se incuban las placas con 50 µl de 20 ng/pocillo de Tnks-1 marcada con GST (1023-1327 aa, preparada de manera interna), respectivamente Tnks-2 marcada con GST (873-1166 aa, preparada de manera interna) en tampón 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 pocillos mediante incubación a temperatura ambiente durante 20 minutos con 50 µl de tampón de bloqueo (PBS, Tween-20 al 0,05%, BSA al 0,5%). Después se lavan las placas 3 veces con PBS-Tween-20. Se realiza la reacción enzimática en 50 µl de disolución de reacción (HEPES 50 mM, cloruro de Mg 4 mM, Pluronic F-68 0,05%, DTT 1,4 mM, DMSO al 0,5%, pH 7,7) con bio-NAD 10 mM (Biolog, Life science Inst., Bremen, Alemania) como co-sustrato en ausencia o presencia del compuesto de prueba (10 concentraciones de dilución) durante 1 hora a 30°C. Se detiene la reacción mediante lavado por 3 veces con PBS-Tween-20. Para la detección se añaden 50 µl de conjugado de estreptavidina, HRP 20 ng/ml (MoBiTec, Gottingen, Alemania) en PBS/ Tween-20 al 0,05%/ BSA al 0,01% y se incuban las placas durante 30 minutos a temperatura ambiente. Tras el lavado por 3 veces con PBS-Tween-20 se añaden 50 µl de disolución de sustrato de máxima sensibilidad SuperSignal ELISA Femto (ThermoFisherScientific (Pierce), Bonn, Alemania). Tras una incubación de 1 minuto a temperatura ambiente se miden las señales de luminiscencia con un lector multimodal Envision (Perkin Elmer LAS Germany GmbH) a 700 nm. El valor completo usado es la reacción sin inhibidor. El valor cero farmacológico usado es XAV-939 (Tocris) en una concentración final de 5 µM. Los valores inhibitorios (CI50) se determinan usando o bien el programa Symyx Assay Explorer® o bien Condosseo® de GeneData.

50 Antes y después, se indican todas las temperaturas en °C. En los siguientes ejemplos, "tratamiento final convencional" significa: se añade agua si es necesario, se ajusta el pH, si es necesario, a 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 mediante cromatografía sobre gel de sílice y/o mediante cristalización. Los valores de Rf sobre gel de sílice; eluyente: acetato de etilo /metanol 9:1.

HPLC/EM condiciones A

columna:	Chromolith PerformanceROD RP-18e, 100 x 3 mm <sup>2</sup>
gradiente:	A:B = de 99:1 a 0:100 en 1,8 min



velocidad de flujo:	2,0 ml/min
eluyente A:	agua + el 0,05% de ácido fórmico
eluyente B:	acetonitrilo + el 0,04% de ácido fórmico
longitud de onda:	220 nm
espectroscopía de masas:	modo positivo

## HPLC/EM condiciones B

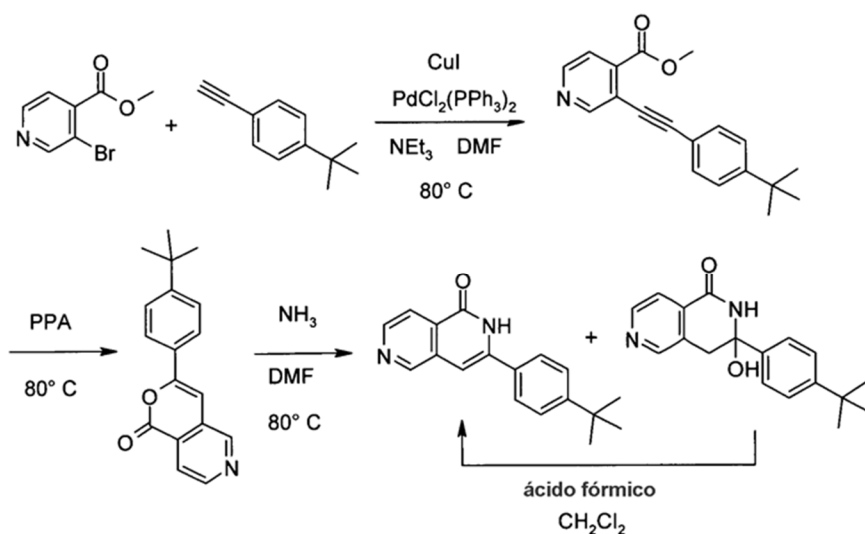
columna:	Chromolith PerformanceROD RP-18e, 100 x 3 mm <sup>2</sup>
gradiente:	A:B = de 99:1 a 0:100 en 3,5 min
velocidad de flujo:	2,0 ml/min
eluyente A:	agua + el 0,05% de ácido fórmico
Eluyente B:	acetonitrilo + el 0,04% de ácido fórmico
longitud de onda:	220 nm
espectroscopía de masas:	modo positivo

5 Se registró <sup>1</sup>H-RMN en un espectrómetro Bruker DPX-300, DRX-400 o AVII-400, usando una señal residual de disolvente deuterado como referencia interna. Desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se notifican en ppm relativo a la señal de disolvente residual ( $\delta = 2,49$  ppm para <sup>1</sup>H-RMN en DMSO-d<sub>6</sub>). Se notifican datos de <sup>1</sup>H-RMN tal como sigue: desplazamiento químico (multiplicidad, constantes de acoplamiento, y número de hidrógenos). Se abrevia la multiplicidad tal como sigue: s (singlete), d (doblete), t (triplete), q (cuartete), m (multiplete), a (ancho).

10 Se realiza la química de microondas en un reactor de microondas de modo simple Emrys™ Optimiser de Personal Chemistry.

**Ejemplo 1 (ejemplo de referencia)**

Síntesis de 3-(4-terc-butil-fenil)-2H-[2,6]naftiridin-1-ona ("A1")



5 A una disolución de éster metílico del ácido 3-bromo-isonicotínico (648 mg, 3,00 mmol) en DMF (6 ml) se le añade cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio(II) (210 mg, 0,30 mmol), yoduro de cobre (I) (17,1 mg, 0,090 mmol), trietilamina (1,25 ml, 9,00 mmol) y 1-terc-butil-4-etinil-benceno (570 mg, 3,60 mmol). Se purga la disolución marrón oscura resultante con nitrógeno, se calienta hasta  $80^\circ\text{C}$  y se agita en un vial de reacción cerrado a esta temperatura durante 3 horas. Se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente y se reduce en un volumen a vacío. Se cromatografía el residuo sobre una columna de gel de sílice con ciclohexano/ acetato de etilo como eluyente proporcionando éster metílico del ácido 3-(4-terc-butil-feniletinil)-isonicotínico como un aceite marrón; HPLC/EM 2,28 min (A),  $[\text{M}+\text{H}]$  294. Se calienta una mezcla de éster metílico del ácido 3-(4-terc-butil-feniletinil)-isonicotínico (786 mg, 2,68 mmol) y poli(ácido fosfórico) (10 g) hasta  $80^\circ\text{C}$  y se agita a esta temperatura durante tres días. Se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente y se añade agua. Se retira mediante filtración el precipitado resultante, se lava con agua y se seca a vacío produciendo 3-(4-terc-butil-fenil)-pirano[4,3-c]piridin-1-ona como un polvo verde oliva; HPLC/EM 2,16 min (A),  $[\text{M}+\text{H}]$  280;

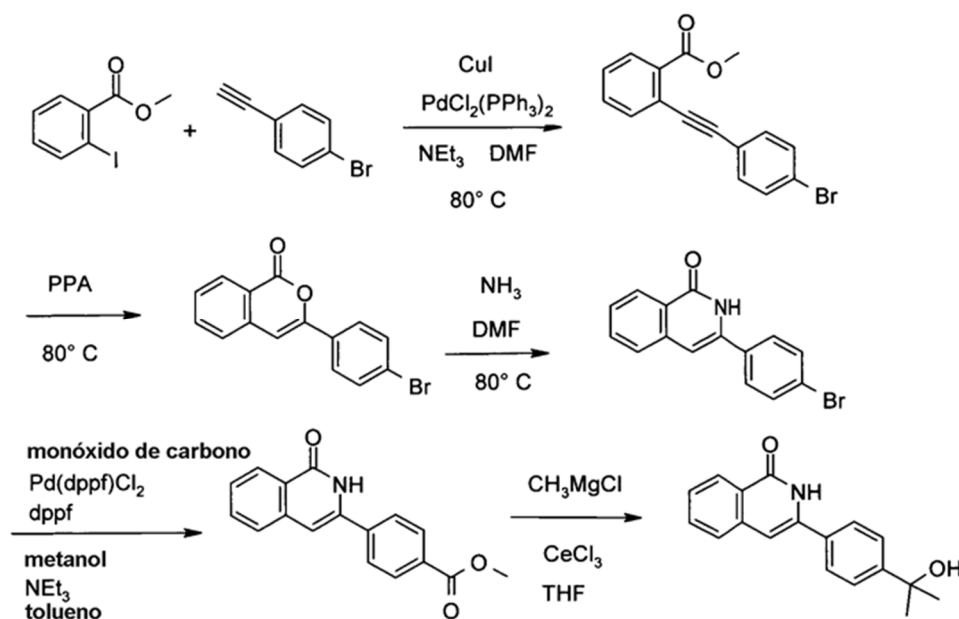
15  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, DMSO)  $\delta = 9,08$  (s, 1H), 8,76 (d,  $J=5,2$ , 1H), 8,00 (d,  $J=5,1$ , 1H), 7,86 (d,  $J=8,6$ , 2H), 7,58 (d,  $J=8,6$ , 2H), 7,55 (s, 1H), 1,33 (s, 9H).

20 A una suspensión de 3-(4-terc-butil-fenil)-pirano[4,3-c]piridin-1-ona (556 mg, 1,99 mmol) en DMF (2 ml) se le añade amoníaco acuoso (el 25% en peso, 2 ml) y se agita la mezcla a  $80^\circ\text{C}$  durante 44 horas. Se diluye la mezcla de reacción con agua. Se retira mediante filtración el precipitado resultante, se lava con agua y se seca a vacío produciendo una mezcla de 3-(4-terc-butil-fenil)-2H-[2,6]naftiridin-1-ona y 3-(4-terc-butil-fenil)-3-hidroxi-3,4-dihidro-2H-[2,6]naftiridin-1-ona. A una suspensión de este material en diclorometano (4 ml) se le añade ácido fórmico (0,5 ml) y se agita la disolución resultante durante 2 horas a temperatura ambiente. Entonces se añade una disolución de hidrogenocarbonato de sodio saturado. Se retira mediante filtración el precipitado resultante, se lava con agua y se seca a vacío produciendo 3-(4-terc-butil-fenil)-2H-[2,6]naftiridin-1-ona como un polvo de color hueso; HPLC/EM 1,88 min (A),  $[\text{M}+\text{H}]$  279.

25  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, DMSO)  $\delta = 11,83$  (s, 1H), 9,09 (s, 1H), 8,59 (d,  $J=5,3$ , 1H), 7,98 (d,  $J=5,3$ , 1H), 7,76 (d,  $J=8,5$ , 2H), 7,53 (d,  $J=8,5$ , 2H), 7,00 (s, 1H), 1,33 (s, 9H).

## Ejemplo 2

Síntesis de éster metílico del ácido 4-(1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-3-il)-benzoico ("A2" [ejemplo de referencia]) y 3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A3")



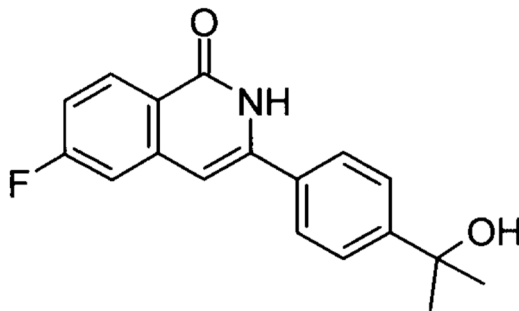
- 5 A una disolución de éster metílico del ácido 2-yodo-benzoico (1,31 g, 5,00 mmol) en DMF (10 ml) se le añaden cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio(II) (351 mg, 0,50 mmol), yoduro de cobre (I) (28,5 mg, 0,15 mmol), trietilamina (2,08 ml, 15,0 mmol) y 1-bromo-4-etinil-benceno (905 mg, 5,00 mmol). Se purga la disolución marrón oscura resultante con nitrógeno, se calienta hasta 80°C y se agita en un vial de reacción cerrado a esta temperatura durante 16 horas. Se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente y se divide entre agua y diclorometano. Se lava la fase orgánica con HCl 1 N, se seca sobre sulfato de sodio y se evapora a vacío. Se purifica mediante cromatografía de columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente proporcionando éster metílico del ácido 2-(4-bromo-feniletinil)-benzoico como un aceite marrón; HPLC/EM 3,46 min (B), [M+H] 315/317.
- 10 Se calienta una mezcla de éster metílico del ácido 2-(4-bromo-feniletinil)-benzoico (1,24 g, 3,95 mmol) y poli(ácido fosfórico) (16 g) hasta 80°C y se agita a esta temperatura durante 20 horas. Se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente y se añade agua. Se retira mediante filtración el precipitado resultante, se lava con agua y se seca a vacío produciendo 3-(4-bromo-fenil)-isocromen-1-ona como un polvo marrón; HPLC/EM 2,18 min (A), [M+H] 301/303.
- 15 A una suspensión de 3-(4-bromo-fenil)-isocromen-1-ona (1,05 g, 3,50 mmol) en DMF (7 ml) se le añade amoníaco acuoso (el 25% en peso, 7 ml) y se agita la mezcla a 80°C durante 3 días. Se diluye la mezcla de reacción con agua. Se retira mediante filtración el precipitado resultante, se lava con agua y se seca a vacío produciendo 3-(4-bromo-fenil)-2H-isoquinolin-1-ona como un polvo marrón; HPLC/EM 1,96 min (A), [M+H] 300/302;
- 20 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ = 11,53 (s, 1H), 8,21 (d, J=7,7, 1H), 7,72 (m, 6H), 7,50 (ddd, J=8,2, 5,4, 2,9, 1H), 6,95 (s, 1H).
- 25 En un autoclave, se purga una disolución de 3-(4-bromo-fenil)-2H-isoquinolin-1-ona (942 mg, 3,14 mmol) y trietilamina (0,70 ml, 5,04 mmol) en metanol (10 ml) y tolueno (10 ml) con nitrógeno. Se añaden (1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno) dicloropaladio (II) (77 mg, 0,09 mmol) y 1,1-bis-(difenil-fosfino)-ferroceno (70 mg, 0,13 mmol). Entonces se carga el autoclave con monóxido de carbono y se calienta hasta 100°C. Se mantiene el autoclave a esta temperatura durante 16 horas con una presión de monóxido de carbono de 2 - 3 bares. Se lleva el autoclave a presión atmosférica y se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente. Se forma un precipitado, que se retira mediante filtración, se lava con metanol y se seca a vacío produciendo éster metílico del ácido 4-(1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-3-il)-benzoico como agujas de color hueso; HPLC/EM 2,47 min (B), [M+H] 280;
- 30 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ= 11,61 (s, 1H), 8,22 (d, J=7,9, 1H), 8,05 (d, J=8,4, 2H), 7,95 (m, 2H), 7,75 (d, J=3,8, 2H), 7,53 (m, 1H), 7,06 (s, 1H), 3,89 (s, 3H).
- Se prepara de manera análoga éster metílico del ácido 4-(7-fluoro-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-3-il)-benzoico (ejemplo de referencia) ("A4"):
- HPLC/EM 1,84 min (A), [M+H] 298; <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ= 11,75 (s, 1H), 8,05 (d, J=8,6, 2H), 7,94 (d, J=8,6, 2H), 7,86 (m, 2H), 7,65 (td, J=8,7, 2,8, 1H), 7,10 (s, 1H), 3,89 (s, 3H).
- 35 A una suspensión de éster metílico del ácido 4-(1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-3-il)-benzoico (494 mg, 1,77 mmol) en THF (7 ml) se le añade cloruro de cerio (III) (481 mg, 1,95 mmol). Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Entonces se añade cloruro de metilmagnesio (el 20% de disolución en THF, 2,70 ml, 7,44 mmol) y se agita la mezcla de

reacción a temperatura ambiente durante una hora adicional. Con cuidado, se añade agua a la mezcla de reacción. Se filtra la mezcla a través de una almohadilla de celite y se divide entre agua y diclorometano. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio y se evapora. Se tritura el residuo con terc-butil metil éter produciendo 3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona como un polvo amarillo claro; HPLC/EM 1,66 min (A), [M+H] 280;

- 5  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$ = 11,46 (s, 1H), 8,20 (dd, J=7,8, 0,6, 1H), 7,72 (m, 4H), 7,58 (d, J=8,6, 2H), 7,48 (ddd, J=8,2, 5,2, 3,1, 1H), 6,90 (s, 1H), 5,11 (s, 1H), 1,46 (s, 6H).

Los siguientes compuestos se preparan de manera análoga:

6-Fluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A5")



- 10 HPLC/EM 1,72 min (A), [M+H] 298;

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$ = 11,51 (s, 1H), 8,25 (dd, J=8,9, 6,0, 1H), 7,72 (d, J=8,5, 2H), 7,58 (d, J=8,5, 2H), 7,50 (dd, J=10,0, 2,5, 1H), 7,30 (td, J=8,8, 2,6, 1H), 6,88 (s, 1H), 5,10 (s, 1H), 1,46 (s, 6H);

7-fluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A6")

HPLC/EM 1,71 min (A), [M+H] 298;

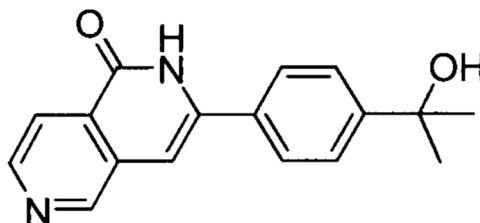
- 15  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$ = 11,58 (s, 1H), 7,85 (dd, J=9,5, 2,8, 1H), 7,80 (dd, J=8,8, 5,3, 1H), 7,72 (d, J=8,5, 2H), 7,62 (m, 1H), 7,57 (d, J=8,5, 2H), 6,95 (s, 1H), 5,08 (s, 1H), 1,46 (s, 6H);

3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-7-metil-2H-isoquinolin-1-ona ("A7")

HPLC/EM 1,76 min (A), [M+H] 294;

- 20  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz, DMSO)  $\delta$ = 11,35 (s, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,72 (d, J=8,5, 2H), 7,56 (m, 4H), 6,86 (s, 1H), 5,08 (s, 1H), 2,45 (s, 3H), 1,46 (s, 6H);

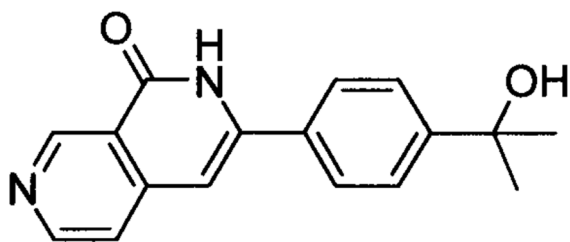
3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-2H-2,6-naftiridin-1-ona ("A23")



HPLC/EM 1,42 min (A), [M+H] 281;

- 25  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$ = 11,83 (s, 1H), 9,10 (s, 1H), 8,61 (d, J=5,3, 1H), 8,00 (d, J=5,3, 1H), 7,75 (m, 2H), 7,60 (m, 2H), 7,02 (s, 1H), 5,11 (s, 1H), 1,47 (s, 6H);

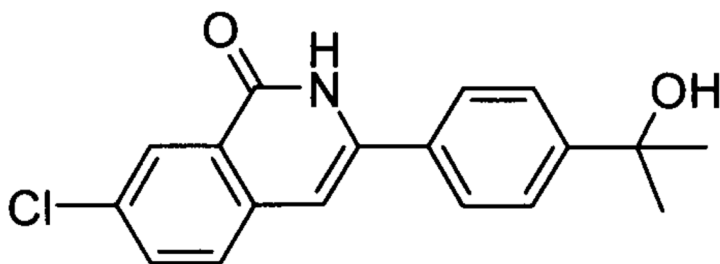
3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-2H-2,7-naftiridin-1-ona ("A24")



HPLC/EM 1,27 min (A), [M+H] 281;

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$ = 11,78 (s, 1H), 9,31 (s, 1H), 8,69 (d, J=5,5, 1H), 7,75 (m, 2H), 7,60 (m, 3H), 6,89 (s, 1H), 5,12 (s, 1H), 1,46 (s, 6H);

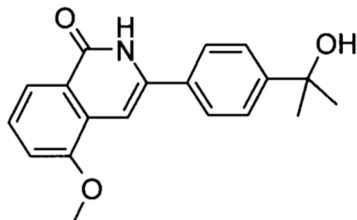
- 5 7-cloro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A25")



HPLC/EM 1,83 min (A), [M+H] 314;

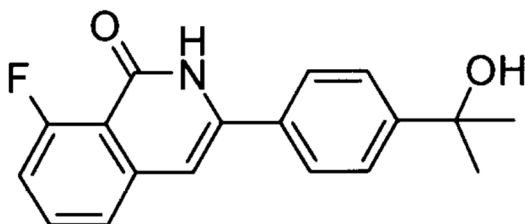
$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ [ppm] 11,65 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,80 - 7,69 (m, 4H), 7,62 - 7,54 (m, 2H), 6,94 (s, 1H), 5,11 (s, 1H), 1,46 (s, 6H);

- 10 3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-5-metoksi-2H-isoquinolin-1-ona ("A26")



;

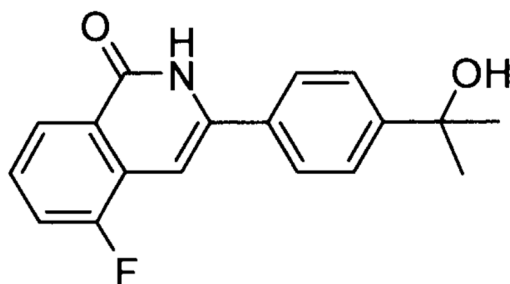
- 8-fluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A27")



HPLC/EM 1,67 min (A), [M+H] 298;

- 15  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ [ppm] 11,42 (s, 1H), 7,82 - 7,70 (m, 2H), 7,67 (td, J = 8,0, 4,9 Hz, 1H), 7,62 - 7,53 (m, 2H), 7,50 (dd, J = 8,1, 1,0 Hz, 1H), 7,16 (ddd, J = 11,9, 8,0, 1,1 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 5,10 (s, 1H), 1,46 (s, 6H);

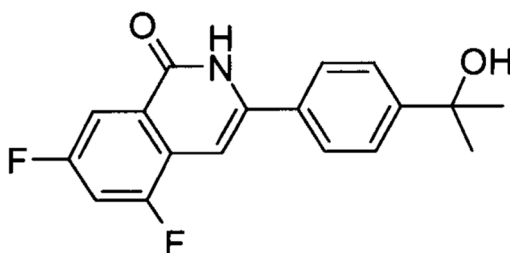
- 5-fluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A28")



HPLC/EM 1,75 min (A), [M+H] 298;

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ [ppm] 11,69 (s, 1H), 8,04 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,80 - 7,72 (m, 2H), 7,64 - 7,54 (m, 3H), 7,48 (td,  $J = 8,0, 5,3$  Hz, 1H), 6,84 (s, 1H), 5,12 (s, 1H), 1,46 (s, 6H);

5 5,7-difluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A33")

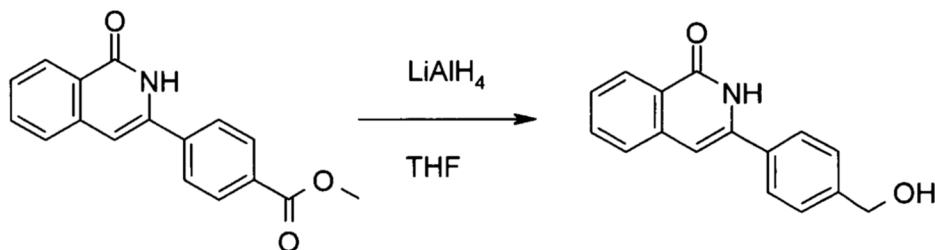


HPLC/EM 1,82 min (A), [M+H] 316;

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  11,82 (s, 1H), 7,80 - 7,68 (m, 4H), 7,63 - 7,54 (m, 2H), 6,83 (s, 1H), 5,12 (s, 1H), 1,46 (s, 6H).

### 10 **Ejemplo 3**

Síntesis de 3-(4-hidroximetil-fenil)-2H-isoquinolin-1-ona ("A8")

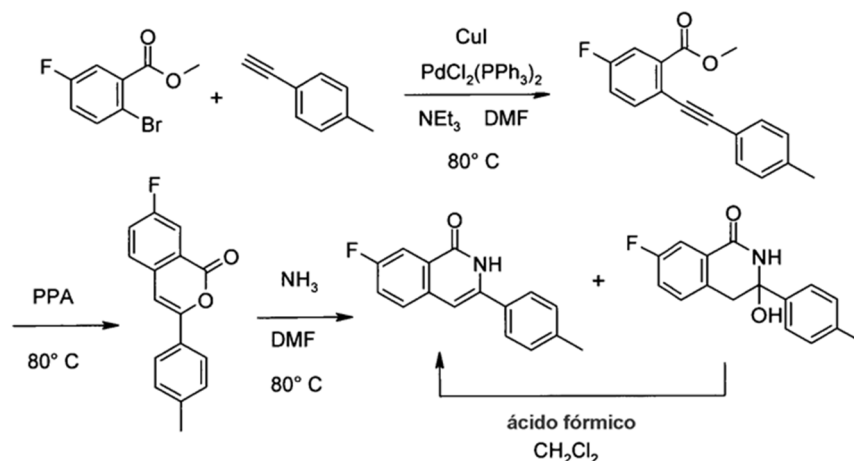


15 Bajo nitrógeno, se añade hidruro de litio y aluminio (22,8 mg, 0,60 mmol) a una suspensión de éster metílico del ácido 4-(1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-3-il)-benzoico (83,8 mg, 0,301 mmol) (para la preparación véase el ejemplo anterior) en THF (3 ml). Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 16 horas. Se añaden lentamente algunas gotas de metanol y luego HCl (disolución acuosa 2 N, 0,5 ml) a la mezcla de reacción. Entonces se filtra sobre una almohadilla de celite. Se evapora el filtrado y se tritura el residuo con terc-butil metil éter produciendo 3-(4-hidroximetil-fenil)-2H-isoquinolin-1-ona como un polvo marrón; HPLC/EM 1,55 min (A), [M+H] 252;

20  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$ = 11,49 (s, 1H), 8,20 (dd,  $J=7,8, 0,6$ , 1H), 7,76 (d,  $J=8,3$ , 2H), 7,71 (m, 2H), 7,48 (ddd,  $J=8,2, 4,8, 3,6$ , 1H), 7,43 (d,  $J=8,4$ , 2H), 6,91 (s, 1H), 5,25 (s, 1H), 4,56 (s, 2H).

### **Ejemplo 4**

Síntesis de 7-fluoro-3-p-tolil-2H-isoquinolin-1-ona ("A9" [ejemplo de referencia])



5 A una disolución de éster metílico del ácido 2-bromo-5-fluoro-benzoico (466 mg, 2,00 mmol) en DMF (4 ml) se le añaden cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio(II) (104 mg, 0,20 mmol), yoduro de cobre (I) (11,4 mg, 0,060 mmol), trietilamina (0,83 ml, 6,00 mmol) y 1-etinil-4-metil-benceno (279 mg, 2,40 mmol). Se purga la disolución marrón oscura resultante con nitrógeno, se calienta hasta 80°C y se agita en un vial de reacción cerrado a esta temperatura durante 16 horas. Se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente y se divide entre agua y diclorometano. Se lava la fase orgánica con HCl 1 N, se seca sobre sulfato de sodio y se evapora a vacío. Se cromatografía el residuo sobre una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente proporcionando éster metílico del ácido 5-fluoro-2-p-toliletinil-benzoico como un aceite marrón; HPLC/EM 2,29 min (A), [M+H] 269.

10 Se calienta una mezcla de éster metílico del ácido 5-fluoro-2-p-toliletinil-benzoico (359 mg, 1,34 mmol) y poli(ácido fosfórico) (4 g) hasta 80°C y se agita a esta temperatura durante 20 horas. Se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente y se añade agua. Se divide la mezcla entre agua y diclorometano. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio y se evapora. Se cromatografía el residuo sobre una columna de gel de sílice con ciclohexano/diclorometano como eluyente produciendo 7-fluoro-3-p-tolil-isocromen-1-ona como un sólido de color hueso; HPLC/EM 2,16 min (A), [M+H] 255.

15 A una suspensión de 7-fluoro-3-p-tolil-isocromen-1-ona (200 mg, 0,79 mmol) en DMF (1,5 ml) se le añade amoniaco acuoso (el 25% en peso, 1,5 ml) y se agita la mezcla a 80°C durante 3 días. Se diluye la mezcla de reacción con agua. Se retira mediante filtración el precipitado resultante, se lava con agua y se seca a vacío produciendo a mezcla de 7-fluoro-3-p-tolil-2H-isoquinolin-1-ona y 7-fluoro-3-hidroxi-3-p-tolil-3,4-dihidro-2H-isoquinolin-1-ona. A una suspensión de este material en diclorometano (2 ml) se le añade ácido fórmico (100 ml) y se agita la disolución resultante durante 8 horas a temperatura ambiente. Se evapora la disolución hasta sequedad produciendo 7-fluoro-3-p-tolil-2H-isoquinolin-1-ona como un sólido blanco; HPLC/EM 1,92 min (A), [M+H] 254;

20 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ= 11,60 (s, 1H), 7,85 (dd, J=9,5, 2,8, 1H), 7,80 (dd, J=8,8, 5,3, 1H), 7,68 (d, J=8,2, 2H), 7,62 (td, J=8,7, 2,8, 1H), 7,30 (d, J=8,0, 2H), 6,94 (s, 1H), 2,37 (s, 3H).

25 Los siguientes compuestos se preparan de manera análoga:

6-fluoro-3-p-tolil-2H-isoquinolin-1-ona ("A10" [ejemplo de referencia]) HPLC/EM 1,93 min (A), [M+H] 254;

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ= 11,51 (s, 1H), 8,24 (dd, J=8,9, 6,0, 1H), 7,68 (d, J=8,2, 2H), 7,49 (dd, J=10,0, 2,5, 1H), 7,30 (m, 3H), 6,87 (s, 1H), 2,37 (s, 3H);

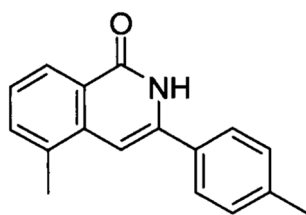
8-fluoro-3-p-tolil-2H-isoquinolin-1-ona ("A11" [ejemplo de referencia]) HPLC/EM 1,87 min (A), [M+H] 254;

30 <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO) δ= 11,40 (s, 1H), 7,67 (m, 3H), 7,49 (d, J=7,3, 1H), 7,30 (d, J=8,0, 2H), 7,16 (ddd, J=12,0, 8,0, 1,0, 1H), 6,88 (d, J=2,3, 1H), 2,37 (s, 3H);

5-fluoro-3-p-tolil-2H-isoquinolin-1-ona ("A12" [ejemplo de referencia]) HPLC/EM 1,98 min (A), [M+H] 254;

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ= 11,66 (s, 1H), 8,03 (d, J=7,9, 1H), 7,72 (d, J=8,2, 2H), 7,58 (ddd, J=10,3, 8,0, 1,1, 1H), 7,47 (td, J=8,0, 5,3, 1H), 7,31 (d, J=7,9, 2H), 6,82 (s, 1H), 2,37 (s, 3H);

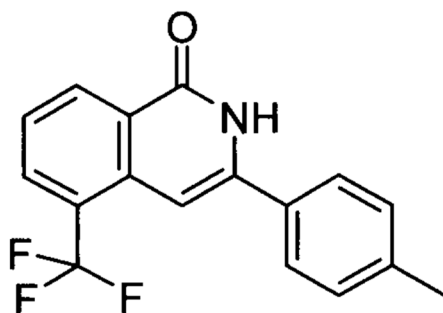
35 5-metil-3-(p-tolil)-2H-isoquinolin-1-ona ("A29" [ejemplo de referencia])



HPLC/EM 1,98 min (A), [M+H] 250;

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ= 11,47 (s, 1H), 8,07 (ddt, J=8,0, 1,5, 0,7, 1H), 7,72 (m, 2H), 7,55 (ddd, J = 7,2, 1,4, 0,9, 1H), 7,35 (dd, J = 8,0, 7,2, 1H), 7,31 (m, 2H), 6,82 (s, 1H), 2,55 (s, 3H), 2,37 (s, 3H);

5 3-(p-tolil)-5-(trifluorometil)-2H-isoquinolin-1-ona ("A30" [ejemplo de referencia])

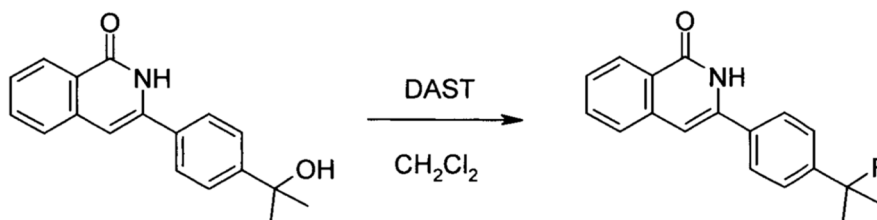


[HPLC/EM 2,11 min (A), [M+H] 304;

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ= 11,92 (s, 1H), 8,51 (d, J=8,0, 1H), 8,13 (d, J=7,1, 1H), 7,64 (m, 3H), 7,34 (d, J=7,9, 2H), 6,72 (m, 1H), 2,38 (s, 3H).

10 **Ejemplo 5**

Síntesis de 3-[4-(1-fluoro-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A13" [ejemplo de referencia])



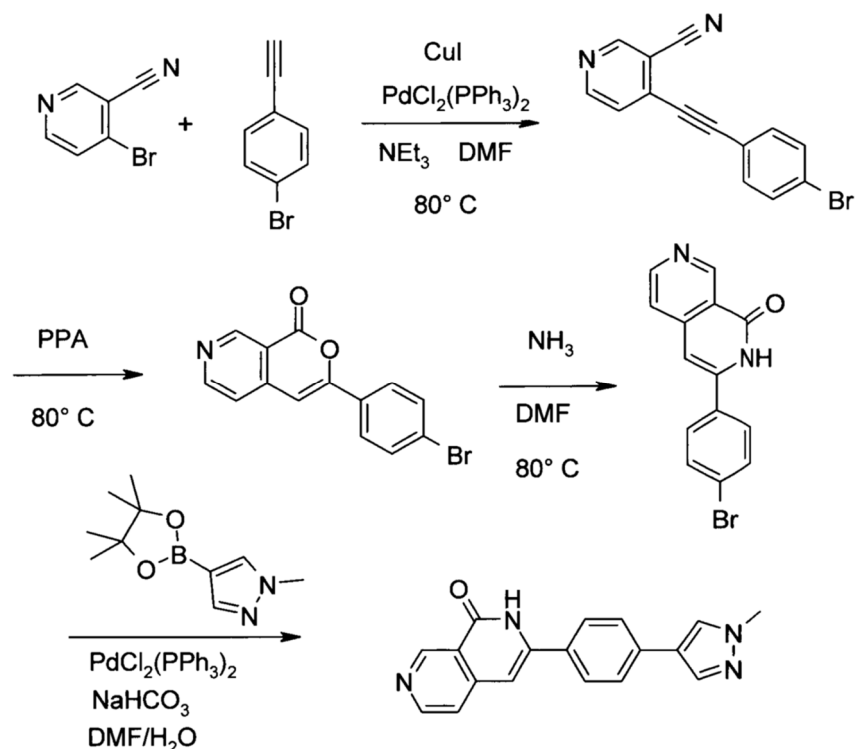
15 Se enfría una suspensión de 3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona (55,8 mg, 0,20 mmol) en diclorometano (0,5 ml) hasta -78°C. Se añade trifluoruro de dietilaminoazufre (105 µl, 0,80 mmol). Se deja que la mezcla de reacción alcance la temperatura ambiente en el plazo de 30 minutos (formación de una disolución transparente). Se evapora la mezcla de reacción y se trata el residuo con agua y una disolución de hidrogenocarbonato de sodio saturado. Se retiran mediante filtración los sólidos y se cromatografían sobre una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente produciendo 3-[4-(1-fluoro-1-metiletil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona como un polvo blanco fino; HPLC/EM 1,94 min (A), [M+H] 282;

20 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ= 11,49 (s, 1H), 8,22 (d, J=8,1, 1H), 7,83 (d, J=8,2, 2H), 7,73 (m 2H), 7,54 (d, J=8,4, 2H), 7,50 (ddd, J=8,2, 5,0, 3,3, 1H), 6,94 (s, 1H), 1,70 (d, J=22,2, 6H).

**Ejemplo 6**

Síntesis de 3-[4-(1-Metil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-2H-[2,7]naftiridin-1-ona ("A14" [ejemplo de referencia])

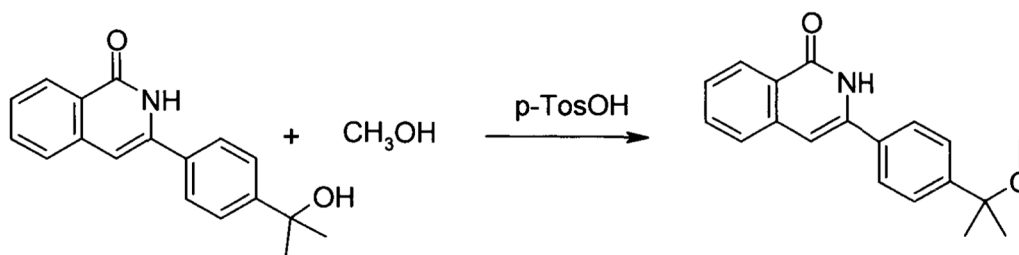




- 5 A una disolución de 4-bromo-nicotinonitrilo (1,10 g, 6,00 mmol) en DMF (20 ml) se le añaden cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio(II) (211 mg, 0,30 mmol), yoduro de cobre (I) (34 mg, 0,18 mmol), trietilamina (1,66 ml, 12,0 mmol) y 1-bromo-4-etinil-benceno (1,19 g, 6,6 mmol). Se purga la mezcla con nitrógeno, se calienta hasta 80°C y se agita en un vial de reacción cerrado a esta temperatura durante 4 horas. Se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente y se divide entre agua y diclorometano. Se lava la fase orgánica con HCl 1 N, se seca sobre sulfato de sodio y se evapora a vacío. Se cromatografía el residuo sobre una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente proporcionando 4-(4-bromo-feniletinil)-nicotinonitrilo como un polvo amarillo claro; HPLC/EM 2,09 min (B), [M+H]<sup>+</sup>283/285.
- 10 Se calienta una mezcla de 4-(4-bromo-feniletinil)-nicotinonitrilo (546 mg, 1,93 mmol) y poli(ácido fosfórico) (8 g) hasta 80°C y se agita a esta temperatura durante 20 horas. Se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente y se añade agua. Se retira mediante filtración el precipitado resultante, se lava con agua y se tritura con una disolución de hidrogenocarbonato de sodio saturada. Se retiran mediante filtración los sólidos, se lava con agua y se seca a vacío produciendo 3-(4-bromofenil)-pirano[3,4-c]piridin-1-ona como un sólido beige claro; HPLC/EM 1,92 min (A), [M+H]<sup>+</sup>302/304.
- 15 A una suspensión de 3-(4-bromo-fenil)-pirano[3,4-c]piridin-1-ona (378 mg, 1,25 mmol) en DMF (3 ml) se le añade amoníaco acuoso (el 25% en peso, 3 ml) y se agita la mezcla a 80°C durante 20 horas. Se diluye la mezcla de reacción con agua. Se retira mediante filtración el precipitado resultante, se lava con agua y se seca a vacío produciendo 3-(4-bromofenil)-2H-[2,7]naftiridin-1-ona como un sólido amarillo; HPLC/EM 1,48 min (A), [M+H]<sup>+</sup>301/303.
- 20 Se purga una suspensión de 3-(4-bromo-fenil)-2H-[2,7]naftiridin-1-ona (63,2 mg, 0,210 mmol), 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (65,5 mg, 0,32 mmol) e hidrogenocarbonato de sodio (21,2 mg, 0,25 mmol) en DMF (1 ml) y agua (0,25 ml) y se calienta hasta 40°C. Entonces se añade cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio(II) (3,0 mg, 0,004 mmol). Se calienta la mezcla de reacción hasta 80°C y se agita a esta temperatura durante 20 horas. Se deja que la mezcla se enfríe hasta temperatura ambiente y se añade agua en exceso. Se retira mediante filtración el precipitado resultante se lava con agua y se seca a vacío produciendo 3-[4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-2H-[2,7]naftiridin-1-ona como un sólido verde oliva; HPLC/EM 1,33 min (A), [M+H]<sup>+</sup>303;
- 25 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ = 11,80 (s, 1H), 9,31 (s, 1H), 8,69 (d, J=5,5, 1H), 8,26 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,82 (d, J=8,5, 2H), 7,72 (d, J=8,5, 2H), 7,59 (d, J=5,1, 1H), 6,94 (s, 1H), 3,89 (s, 3H).

### Ejemplo 7

- 30 Síntesis de 3-[4-(1-metoxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("15" [ejemplo de referencia])

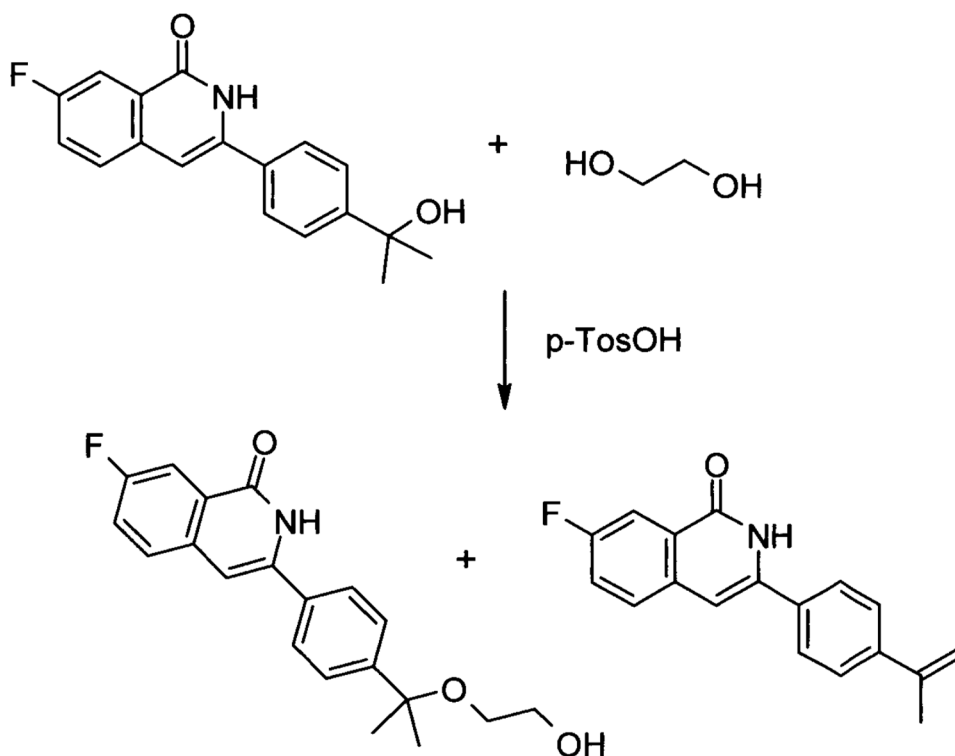


5 A una suspensión de 3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona (83,8 mg, 0,30 mmol) en metanol (1 ml) se le añade ácido tolueno-4-sulfónico monohidratado (5,2 mg, 0,030 mmol). Se agita la mezcla de reacción durante 5 días a temperatura ambiente. Se evapora la mezcla de reacción, una suspensión blanca, y se cromatografía el residuo sobre una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente produciendo 3-[4-(1-metoxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona como cristales blancos; HPLC/EM 2,66 min (B), [M+H] 294;

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ= 11,45 (s, 1H), 8,22 (dd, J=7,8, 0,7, 1H), 7,81 (d, J=8,6, 2H), 7,73 (m, 2H), 7,50 (m, 3H), 6,94 (s, 1H), 3,04 (s, 3H), 1,50 (s, 6H).

### Ejemplo 8

10 Síntesis de 7-fluoro-3-{4-[1-(2-hidroxi-etoxi)-1-metil-etil]-fenil}-2H-isoquinolin-1-ona ("A16") y 7-fluoro-3-(4-isopropenil-fenil)-2H-isoquinolin-1-ona ("A17" [ejemplo de referencia])



15 A una suspensión de 7-fluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona (29,7 mg, 0,10 mmol) en etano-1,2-diol (0,9 ml) se le añade ácido tolueno-4-sulfónico monohidratado (3,8 mg, 0,020 mmol). Se agita la mezcla de reacción durante 11 días a temperatura ambiente. Se divide la mezcla de reacción entre agua y diclorometano. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio y se evapora. Se cromatografía el residuo sobre una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente produciendo dos productos:

7-fluoro-3-{4-[1-(2-hidroxi-etoxi)-1-metil-etil]-fenil}-2H-isoquinolin-1-ona como un sólido blanco; HPLC/EM 1,73 min (A), [M+H] 342;

20 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ= 11,60 (s, 1H), 7,86 (dd, J=9,5, 2,8, 1H), 7,81 (dd, J=8,8, 5,4, 1H), 7,77 (d, J=8,4, 2H), 7,63 (td, J=8,7, 2,8, 1H), 7,55 (d, J=8,5, 2H), 6,98 (s, 1H), 4,56 (t, J=5,4, 1H), 3,50 (q, J=5,3, 2H), 3,19 (t, J=5,6, 2H), 1,50 (s, 6H)

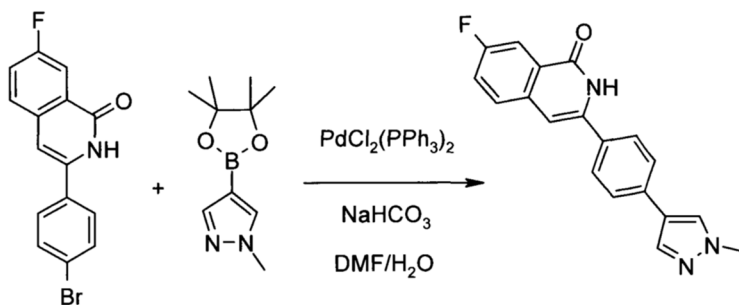
y

7-fluoro-3-(4-isopropenil-fenil)-2H-isoquinolin-1-ona como un sólido blanco; HPLC/EM 2,05 min (A), [M+H] 280;

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO) δ= 11,64 (s, 1H), 7,86 (dd, J=9,5, 2,8, 1H), 7,82 (dd, J=8,9, 5,4, 1H), 7,79 (d, J=8,5, 2H), 7,63 (m, 3H), 7,01 (s, 1H), 5,54 (s, 1H), 5,18 (m, 1H), 2,15 (s, 3H).

### Ejemplo 9

5 Síntesis de 7-fluoro-3-[4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A18" [ejemplo de referencia])



10

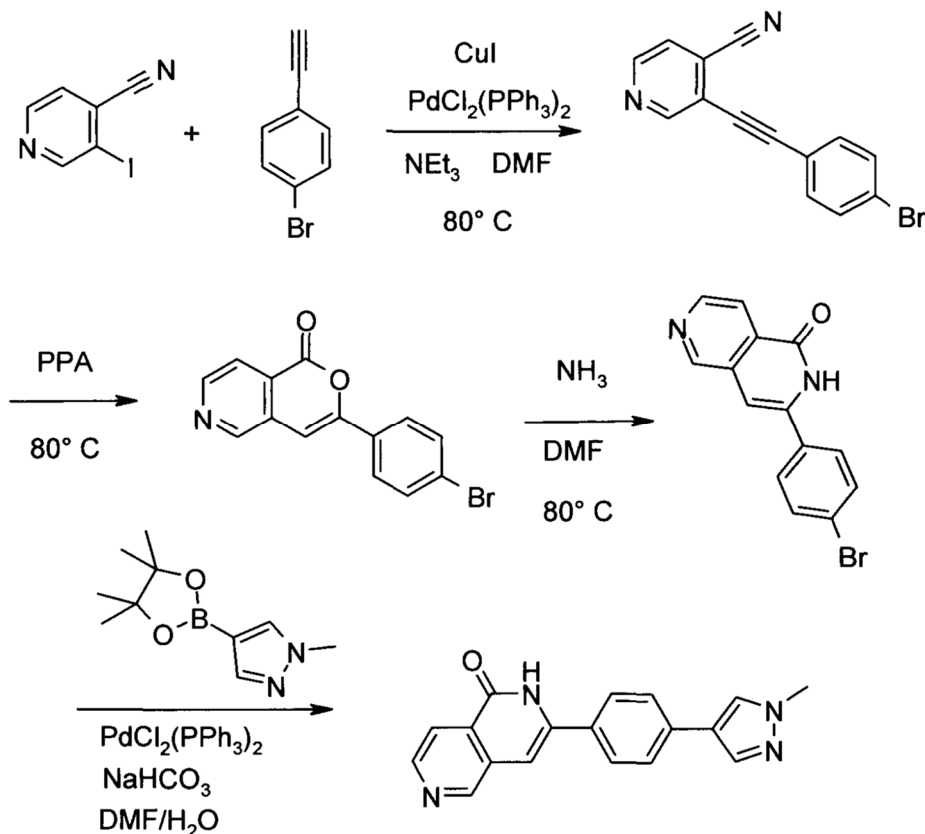
Se purga una suspensión de 3-(4-bromo-fenil)-7-fluoro-2H-isoquinolin-1-ona (159 mg, 0,50 mmol), 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (114 mg, 0,55 mmol) e hidrogenocarbonato de sodio (50,4 mg, 0,60 mmol) en DMF (1 ml) y agua (0,5 ml) con nitrógeno y se calienta hasta 40°C. Entonces se añade cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio (II) (7,0 mg, 0,01 mmol). Se calienta la mezcla de reacción hasta 80°C y se agita a esta temperatura durante 20 horas. Se deja que la mezcla se enfríe hasta temperatura ambiente y se añade agua en exceso. Se retira mediante filtración el precipitado resultante y se lava con agua. Se cromatografía el residuo sobre una columna de gel de sílice con metanol/diclorometano produciendo 7-fluoro-3-[4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona como un sólido ocre; HPLC/EM 2,43 min (B), [M+H] 320;

15

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, DMSO) δ= 11,60 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,96 (d, J=0,4, 1H), 7,86 (dd, J=9,4, 2,8, 1H), 7,80 (m, 3H), 7,69 (d, J=8,5, 2H), 7,62 (td, J=8,7, 2,8, 1H), 7,00 (s, 1H), 3,88 (s, 3H).

### Ejemplo 10

Síntesis de 3-[4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-2H-[2,6]naftiridin-1-ona ("A19" [ejemplo de referencia])



5 A una disolución de 3-yodo-isonicotinonitrilo (911 mg, 3,96 mmol) en DMF (10 ml) se le añaden cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio (II) (139 mg, 0,20 mmol), yoduro de cobre(I) (22,6 mg, 0,12 mmol), trietilamina (1,10 ml, 7,9 mmol) y 1-bromo-4-etinil-benceno (716 mg, 3,96 mmol). Se purga la mezcla con nitrógeno, se calienta hasta 80°C y se agita en un vial de reacción cerrado a esta temperatura durante 18 horas. Se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente y se divide entre diclorometano y HCl 1 N. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio y se evapora. Se cromatografía el residuo sobre una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como eluyente proporcionando 3-(4-bromofeniletinil)-isonicotinonitrilo como un sólido beige; HPLC/EM 2,13 min (A), [M+H] 283/285.

10 Se calienta una mezcla de 3-(4-bromo-feniletinil)-isonicotinonitrilo (855 mg, 3,02 mmol) y poli(ácido fosfórico) (8 g) hasta 80°C y se agita a esta temperatura durante 4 días. Se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente y se añade agua. Se retira mediante filtración el precipitado resultante, se lava con agua y se seca a vacío produciendo 3-(4-bromo-fenil)-pirano[4,3-c]piridin-1-ona como un sólido gris; HPLC/EM 1,98 min (A), [M+H] 302/304.

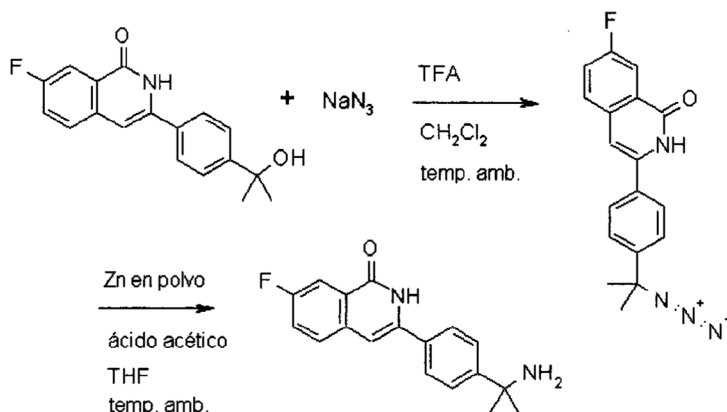
15 A una suspensión de 3-(4-bromo-fenil)-pirano[4,3-c]piridin-1-ona (622 mg, 2,06 mmol) en DMF (4 ml) se le añade amoníaco acuoso (el 25% en peso, 4 ml) y se agita la mezcla a 80°C durante 20 horas. Se diluye la mezcla de reacción con agua. Se retira mediante filtración el precipitado resultante, se lava con agua, se seca a vacío y se suspende en diclorometano (4 ml). Se añade ácido trifluoroacético (400 µl) y se agita la mezcla durante la noche a temperatura ambiente. Se retira mediante filtración el sólido y se lava con diclorometano. Se tritura el residuo con una disolución de hidrogenocarbonato de sodio acuosa saturada. Se retira mediante filtración el sólido, se lava con agua y se seca a vacío produciendo 3-(4-bromofenil)-2H-[2,6]naftiridin-1-ona como un sólido gris; HPLC/EM 1,66 min (A), [M+H] 301/303.

20 Se purga una suspensión de 3-(4-bromo-fenil)-2H-[2,6]naftiridin-1-ona (55,0 mg, 0,18 mmol), 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (57 mg, 0,27 mmol) e hidrogenocarbonato de sodio (18,4 mg, 0,22 mmol) en DMF (0,5 ml) y agua (0,25 ml) con nitrógeno y se calienta hasta 40°C. Entonces se añade cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio (II) (2,6 mg, 0,004 mmol). Se calienta la mezcla de reacción hasta 80°C y se agita a esta temperatura durante 20 horas. Se deja que la mezcla se enfríe hasta temperatura ambiente y se añade agua en exceso. Se retira mediante filtración el precipitado resultante se lava con agua y 2-propanol y se seca a vacío produciendo 3-[4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-2H-[2,6]naftiridin-1-ona como un sólido gris; HPLC/EM 1,47 min (A), [M+H] 303;

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, DMSO) δ= 11,84 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,61 (d, J=5,3, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,00 (d, J=5,3, 1H), 7,97 (d, J=0,4, 1H), 7,81 (d, J=8,5, 2H), 7,71 (d, J=8,5, 2H), 7,07 (s, 1H), 3,89 (s, 3H).

### Ejemplo 11

30 Síntesis de 3-[4-(1-amino-1-metil-etil)fenil]-7-fluoro-2H-isoquinolin-1-ona ("A20")



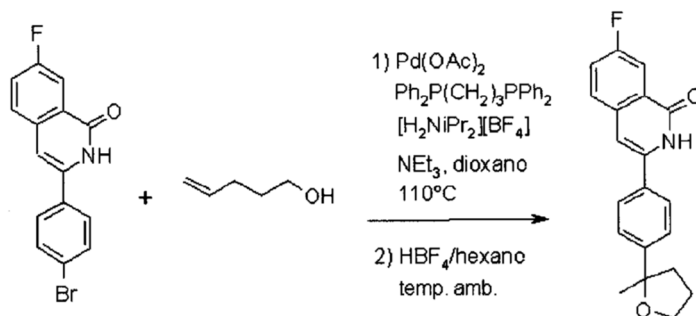
35 A una suspensión de 7-fluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona (149 mg, 0,50 mmol) y azida de sodio (71,5 mg, 1,10 mmol) en diclorometano (1 ml) se le añade gota a gota una disolución de ácido trifluoroacético (316 ml, 4,1 mmol) en diclorometano (0,5 ml) con enfriamiento externo con hielo. Se agita la mezcla de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. Se añaden agua y el 25% de amoníaco acuoso (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 produciendo 3-[4-(1-azido-1-metil-etil)-fenil]-7-fluoro-2H-isoquinolin-1-ona como un polvo blanco; HPLC/EM 2,07 min (A), [M+H] 323.

40 A una disolución de 3-[4-(1-azido-1-metil-etil)-fenil]-7-fluoro-2H-isoquinolin-1-ona (141 mg, 0,44 mmol) en 4 ml de THF se le añaden polvo de cinc (143 mg, 2,19 mmol) y ácido acético (250 µl, 4,37 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% obteniendo una disolución transparente. Se añaden más THF y metanol. Se filtra la mezcla y se evapora el filtrado.

Se tritura el residuo con agua, se retiran mediante filtración los sólidos, se lava con agua y se seca a vacío produciendo clorhidrato de 3-[4-(1-amino-1-metiletil)-fenil]-7-fluoro-2H-isoquinolin-1-ona como un sólido blanco; HPLC/EM 1,35 min (A), [M+H] 297; <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ[ppm] 11,70 (s, 1H), 8,79 (s, 3H), 7,91 - 7,78 (m, 4H), 7,73 - 7,68 (m, 2H), 7,64 (td, J = 8,7, 2,8 Hz, 1H), 7,04 (s, 1H), 1,68 (s, 6H).

### 5 **Ejemplo 12**

Síntesis de 7-fluoro-3-[4-(2-metiltetrahidrofurano-2-il)fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A21" [ejemplo de referencia])

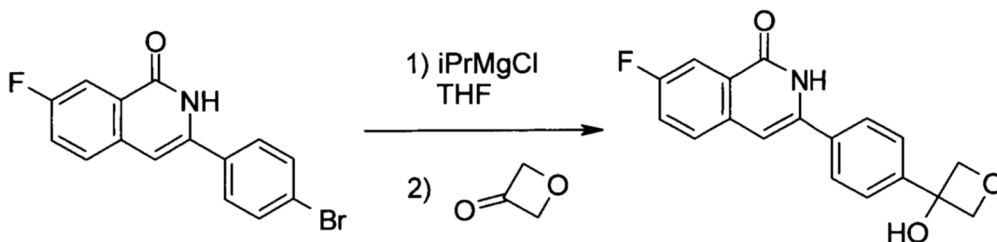


Se preparó siguiendo M. McConville *et al.*, Org. Biomol. Chem., 2010, 8, 5614 - 5619.

10 Se pesan 3-(4-bromo-fenil)-7-fluoro-2H-isoquinolin-1-ona (159 mg, 0,50 mmol), acetato de paladio (II) (5,6 mg, 0,03 mmol), 1,3-bis-(difenilfosfino)-propano (21,3 mg, 0,05 mmol), 4-penten-1-ol (51,7 mg, 0,60 mmol) y tetrafluoroborato de diisopropilamonio (142 mg, 0,75 mmol) en un vial de reacción. Se añade 1,4-dioxano (1 ml) y se purga el vial de reacción con nitrógeno. Se agita la suspensión resultante durante 1 minuto, se añade trietilamina (208 ml, 1,50 mmol) y se purga el vial de reacción con nitrógeno y se cierra. Se agita la mezcla de reacción durante la noche a 110°C. Se deja que la mezcla de reacción se enfríe hasta temperatura ambiente. Se añaden n-Heptano (1,5 ml) y ácido tetrafluorobórico (0,21 ml, disolución al 54% en dietil éter, 1,5 mmol) y se agita vigorosamente la mezcla bifásica resultante a temperatura ambiente durante 3 horas. Se añade trietilamina (69 ml, 0,5 mmol) y entonces se divide la mezcla de reacción entre agua y diclorometano. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio y se evapora. Se cromatografía el residuo sobre una columna de gel de sílice con ciclohexano/acetato de etilo como un eluyente produciendo 7-fluoro-3-[4-(2-metil-tetrahidrofurano-2-il)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona como un polvo blanco; HPLC/EM 2,78 min. (B), [M+H] 324; <sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ[ppm] 11,58 (s, 1H), 7,85 (dd, J = 9,5, 2,8 Hz, 1H), 7,80 (dd, J = 8,8, 5,3 Hz, 1H), 7,77 - 7,71 (m, 2H), 7,62 (td, J = 8,7, 2,8 Hz, 1H), 7,53 - 7,46 (m, 2H), 6,95 (s, 1H), 3,94 (td, J = 7,8, 6,4 Hz, 1H), 3,83 (td, J = 8,0, 5,7 Hz, 1H), 2,11 (ddd, J = 12,0, 8,0, 5,7 Hz, 1H), 2,04 (dt, J = 11,9, 7,4 Hz, 1H), 1,97 (dtt, J = 15,4, 7,7, 5,6 Hz, 1H), 1,74 (dq, J = 12,0, 7,6, 6,4 Hz, 1H), 1,46 (s, 3H).

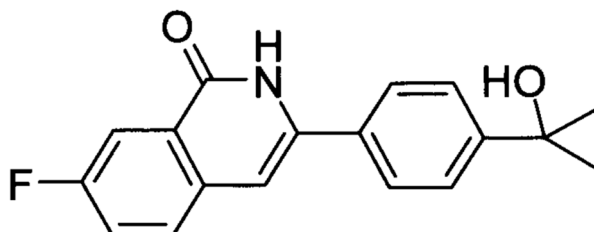
### **Ejemplo 13**

25 Síntesis de 7-fluoro-3-[4-(3-hidroxioxetan-3-il)fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A22" [ejemplo de referencia])



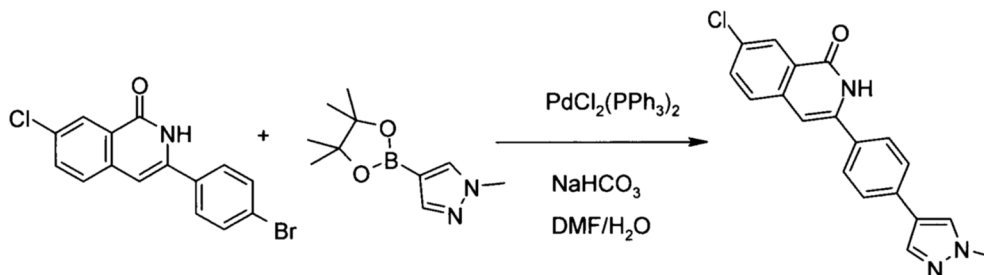
De manera análoga, se prepara los siguientes compuesto:

7-fluoro-3-[4-(1-hidroxiciclopropil)fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A31" [ejemplo de referencia])



**Ejemplo 14**

Síntesis de 7-cloro-3-[4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona ("A32" [ejemplo de referencia])



Se lleva a cabo la reacción tal como se describe en el ejemplo 6 (última etapa).

- 5 Se obtiene 7-cloro-3-[4-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona como un sólido gris; HPLC/EM 1,87 min (A), [M+H]<sup>+</sup> 336;

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ[ppm] 11,66 (s, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,84 - 7,77 (m, 2H), 7,75 (m, 2H), 7,69 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,99 (s, 1H), 3,88 (s, 3H).

Datos farmacológicos

- 10 Tabla 2 Inhibición de las tanquirasas de algunos compuestos representativos de la fórmula I según la reivindicación 1

N.º de compuesto	Cl <sub>50</sub> de la tanquirasa 1 (ensayo enzimático)	Cl <sub>50</sub> de la tanquirasa 2 (ensayo enzimático)	CE <sub>50</sub> de la tanquirasa 1/2 (ensayo celular)
"A1"	A	B	A
"A2"	A	A	B
"A3"	A	A	A
"A4"	B	B	B
"A5"	A	B	B
"A6"	A	A	A
"A7"	B	B	B
"A8"	A	B	A
"A9"	A	A	B
"A10"	B	B	C
"A11"	A	A	B
"A12"	A	B	B
"A13"	A	B	B
"A14"	A	B	B
"A15"	A	B	A

N.º de compuesto	CI <sub>50</sub> de la tanquirasa 1 (ensayo enzimático)	CI <sub>50</sub> de la tanquirasa 2 (ensayo enzimático)	CE <sub>50</sub> de la tanquirasa 1/2 (ensayo celular)
"A16"	A	A	A
"A17"	A	B	A
"A18"	A	B	A
"A19"	B	B	
"A20"	A	A	B
"A21"	A	B	B
"A23"	A	A	B
"A24"	A	A	B
"A25"	A	B	B
"A27"	A	A	A
"A28"	A	A	A
"A29"	A	B	B
"A30"	B	C	
"A32"	A	B	B
"A33"	A	B	A

CI<sub>50</sub>: < 0,3 µM = A 0,3 - 3 µM = B 3-50 µM = C

Tabla 3 Inhibición de las tanquirasas de algunos compuestos representativos de la fórmula I según la reivindicación 1

N.º de compuesto	CI <sub>50</sub> de PARP	CI <sub>50</sub> de TNKS1 ELISA	CI <sub>50</sub> de ELISA de TNKS2
"A1"		A	
"A3"	B	A	A
"A9"	A	A	A
"A10"	C	A	A
"A14"	C	A	A
"A5"	B	A	A

N.º de compuesto	Cl <sub>50</sub> de PARP	Cl <sub>50</sub> de TNKS1 ELISA	Cl <sub>50</sub> de ELISA de TNKS2
"A15"	B	A	A
"A6"	B	A	A
"A18"	B	A	A
"A11"	B	A	A
"A12"	B	A	A
"A16"	B	A	A
"A17"	B	A	A
"A20"	A	A	A
"A27"	B	A	A
"A28"	B	A	A
"A29"	A	A	A
"A23"	C	A	A
"A24"	C	A	A
"A33"	A	A	A

Cl<sub>50</sub>: < 0,3 µM = A 0,3 - 3 µM = B 3-50 µM = C

Los compuestos mostrados en la tabla 3 se prefieren particularmente los compuestos según la invención.

Los siguientes ejemplos se refieren a medicamentos:

#### 5 **Ejemplo A: Viales de inyección**

Se ajusta una disolución de 100 g de un principio activo de la fórmula I según la reivindicación 1 y 5 g de hidrogenofosfato de sodio en 3 l de agua bidistilada hasta pH 6,5 usando ácido clorhídrico 2 N, se filtra de manera estéril, se transfiere en viales de inyección, se liofiliza en condiciones estériles y se sella en condiciones estériles. Cada vial de inyección contiene 5 mg de principio activo.

#### 10 **Ejemplo B: Supositorios**

Se funde una mezcla de 20 g de un principio activo de la fórmula I según la reivindicación 1 con 100 g de lecitina de soya y 1400 g de manteca de cacao, se vierte en moldes y se deja que se enfríe. Cada supositorio contiene 20 mg de principio activo.

#### **Ejemplo C: Disolución**

15 Se prepara una disolución a partir de 1 g de un principio activo de la fórmula I según la reivindicación 1, 9,38 g de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2 H<sub>2</sub>O, 28,48 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12 H<sub>2</sub>O y 0,1 g de cloruro de benzalconio en 940 ml de agua bidistilada. Se ajusta el pH a 6,8, y se prepara la disolución a 1 l y se esteriliza mediante irradiación. Esta disolución puede usarse en forma de colirios.

#### **Ejemplo D: Ungüento**



Se mezclan 500 mg de un principio activo de la fórmula I según la reivindicación 1 con 99,5 g de vaselina en condiciones asépticas.

**Ejemplo E: Comprimidos**

5 Se presiona una mezcla de 1 kg de principio activo de la fórmula I según la reivindicación 1, 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 proporcionando comprimidos de tal manera que cada comprimido contiene 10 mg de principio activo.

**Ejemplo F: Comprimidos recubiertos de azúcar**

Se presionan los comprimidos de manera análoga al Ejemplo E y posteriormente se recubren de manera convencional con un recubrimiento de sacarosa, almidón de patata, talco, tragacanto y colorante.

10 **Ejemplo G: Cápsulas**

Se introducen 2 kg de principio activo de la fórmula I según la reivindicación 1 en cápsulas de gelatina dura de manera convencional de tal manera que cada cápsula contiene 20 mg del principio activo.

**Ejemplo H: Ampollas**

15 Se filtra de manera estéril una disolución de 1 kg de principio activo de la fórmula I según la reivindicación 1 en 60 l de agua bidestilada, se transfiere en ampollas, se liofiliza en condiciones estériles y se sella en condiciones estériles. Cada ampolla contiene 10 mg de principio activo.

## REIVINDICACIONES

## 1. Compuestos seleccionados del grupo

N.º	Nombre
"A3"	3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona
"A5"	6-fluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona
"A6"	7-fluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona
"A7"	3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-7-metil-2H-isoquinolin-1-ona
"A8"	3-(4-hidroximetil-fenil)-2H-isoquinolin-1-ona
"A16"	7-fluoro-3-[4-[1-(2-hidroxi-etoxi)-1-metil-etil]-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona
"A20"	3-[4-(1-amino-1-metil-etil)fenil]-7-fluoro-2H-isoquinolin-1-ona
"A23"	3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-2H-2,6-naftiridin-1-ona
"A24"	3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-2H-2,7-naftiridin-1-ona
"A25"	7-cloro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-2H-isoquinolin-1-ona
"A26"	3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-5-metoxi-2H-isoquinolin-1-ona
"A27"	8-fluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-2H-isoquinolin-1-ona
"A28"	5-fluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)fenil]-2H-isoquinolin-1-ona
"A33"	5,7-difluoro-3-[4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-fenil]-2H-isoquinolin-1-ona

5 y solvatos, sales, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones.

2. Medicamentos que comprenden al menos un compuesto según la reivindicación 1 y/o sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones, y opcionalmente un portador, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 3. Compuestos según la reivindicación 1 y sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones, para su uso para el tratamiento y/o la prevención de cáncer, esclerosis múltiple, enfermedades cardiovasculares, lesión del sistema nervioso central y formas diferentes de inflamación.

15 4. Compuestos según la reivindicación 3 para su uso para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades seleccionadas del grupo de cáncer de cabeza, cuello, ojos, boca, garganta, esófago, bronquios, laringe, faringe, pecho, huesos, pulmón, colon, recto, estómago, próstata, vejiga urinaria, úteros, cuello uterino, mama, ovarios, testículos u otros órganos reproductivos, piel, tiroides, sangre, ganglios linfáticos, riñones, hígado, páncreas, cerebro, sistema nervioso central, tumores sólidos y tumores transmitidos por la sangre.

20 5. Medicamentos que comprenden al menos un compuesto según la reivindicación 1 y/o sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones, y al menos un principio activo de medicamento adicional.

6. Conjunto que consiste en paquetes separados de

(a) una cantidad eficaz de un compuesto según la reivindicación 1 y/o sales, solvatos, sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas razones, y

(b) una cantidad eficaz de un principio activo de medicamento adicional.