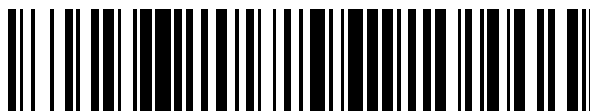


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 605 848**

51 Int. Cl.:

C07D 487/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.12.2003 PCT/EP2003/050942**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.07.2004 WO04056827**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2003 E 03799536 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.08.2016 EP 1575954**

54 Título: **Derivados de pirrolo-pirazol sustituidos como inhibidores de cinasa**

30 Prioridad:

19.12.2002 US 434952 P

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

16.03.2017

73 Titular/es:

**NERVIANO MEDICAL SCIENCES S.R.L. (100.0%)
Viale Pasteur, 10
20014 Nerviano (MI), IT**

72 Inventor/es:

**BRASCA, MARIA GABRIELLA;
AMICI, RAFFAELLA;
FANCELLI, DANIELE;
NESI, MARCELLA;
ORSINI, PAOLO;
ORZI, FABRIZIO;
ROUSSEL, PATRICK;
VULPETTI, ANNA y
PEVARELLO, PAOLO**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 605 848 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 pirrolo-pirazol sustituidos como inhibidores de cinasa

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCIONCampo de la invención:

10 La presente invención se refiere a derivados pirrolo-pirazol, a un proceso para su preparación y a composiciones farmacéuticas que los comprenden.

Discusión de los antecedentes

15 Varios fármacos citotóxicos como, p. ej. fluorouracilo (5-FU), doxorubicina y camptotecinas, dañan el ADN o afectan a las rutas metabólicas celulares y por tanto causan, en muchos casos, un bloqueo indirecto del ciclo celular. Por consiguiente, al producir un daño irreversible tanto en las células tumorales como en las normales, estos agentes tienen como resultado una toxicidad significativa y efectos secundarios.

20 A este respecto, son deseables compuestos capaces de funcionar como agentes antitumorales altamente específicos al conducir selectivamente a la captura y apoptosis de la célula tumoral, con eficacia comparable pero toxicidad reducida respecto a los fármacos disponible actualmente.

25 Es bien conocido que la progresión a lo largo del ciclo celular está gobernada por una serie de puntos de control, denominados de otro modo puntos de restricción, los cuales se regulan mediante una familia de enzimas conocida como cinasas dependientes de ciclina (CdK, del inglés Cyclin-dependent kinases). A su vez las propias Cdk se regulan a muchos niveles como, por ejemplo la unión a ciclinas.

30 La activación e inactivación coordinadas de diferentes complejos Cdk/ciclina es necesaria para la progresión normal a lo largo del ciclo celular. Ambas transiciones G1-S y G2-S críticas están controladas por la activación de diferentes actividades Cdk/ciclina. En G1, tanto la Cdk4/ciclina D como la Cdk2/ciclina E se cree que median el comienzo de la fase S. La progresión a lo largo de la fase S requiere la actividad de la Cdk2/ciclina A mientras la activación de la Cdc2/ciclina A (Cdk1) y la Cdc2/ciclina B son necesarias para el comienzo de la mitosis. Para una referencia general sobre las ciclinas y las cinasas dependientes de ciclina, véase, por ejemplo, Kevin R. Webster y col., en Exp. Opin. Invest. Drugs, 1998, Vol. 7(6), 865-887.

35 Los puestos de control son defectuosos en las células tumorales, debido, en parte, a la desregulación de la actividad cdk. Por ejemplo, en las células tumorales se ha observado la expresión alterada de la ciclina E y cdk, y la delección del gen p27 KIP inhibidor de cdk en ratones ha demostrado que da como resultado una mayor incidencia de cáncer.

40 Una creciente evidencia da soporte a la idea de que las cdk son enzimas limitantes de la velocidad en la progresión del ciclo celular y, como tales, representan dianas moleculares para la intervención terapéutica. En particular, la inhibición directa de la actividad cdk/ciclina cinasa debería ser de ayuda en la restricción de la proliferación no regulada de un tumor celular.

45 RESUMEN DE LA INVENCION

Es un objeto de la invención proporcionar compuestos que son útiles en el tratamiento de trastornos proliferativos celulares causados por y/o asociados con un ciclo celular alterado dependiente de la actividad cinasa. Otro objeto es proporcionar compuestos que tienen actividad inhibidora de cdk/ciclina cinasa.

50 Los presentes inventores han descubierto ahora que ciertos compuestos pirazol están dotados de actividad inhibidora de cdk/ciclina cinasa y por tanto son útiles en la terapia como agentes antitumorales y carecen, en términos tanto de toxicidad como de efectos secundarios, de los inconvenientes mencionados anteriormente asociados con los fármacos antitumorales disponibles actualmente.

55 Más específicamente, los derivados pirazol de la invención son útiles en el tratamiento de una variedad de cánceres, incluyendo pero sin limitarse a: carcinoma tal como cáncer de vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, esófago, vesícula, ovario, páncreas, estómago, cerviz, tiroides, próstata, y piel, incluyendo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoyéticos de linaje linfático, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas y linfoma de Burkett; tumores hematopoyéticos de linaje mieloides, incluyendo las leucemias mielogénicas aguda y crónica, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; otros tumores, que incluyen mesotelioma, melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratoxantoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi.

Debido al papel clave de las cdk en la regulación de la de proliferación celular, estos derivados de pirazol también son útiles en el tratamiento de una variedad de trastornos proliferativos celulares, como por ejemplo, la hiperplasia benigna de próstata, la adenomatosis familiar, la poliposis, la neurofibromatosis, la psoriasis, la proliferación de células lisas vasculares asociada con aterosclerosis, la fibrosis pulmonar, la artritis, la glomerulonefritis y la estenosis y reestenosis post-quirúrgica.

Los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, como sugiere el hecho de que cdk5 está involucrada en la fosforilación de la proteína tau (J. Biochem. 117, 741-749, 1995).

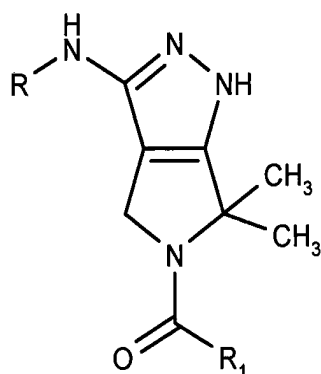
Los compuestos de esta invención, como moduladores de la apoptosis, también pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer, infecciones víricas, prevención del desarrollo de SIDA en individuos infectados con VIH, trastornos autoinmunes y trastornos neurodegenerativos.

Los compuestos de esta invención pueden ser útiles en la inhibición de la angiogénesis y la metástasis tumoral, así como el tratamiento del rechazo en el trasplante de órganos y la enfermedad injerto contra huésped.

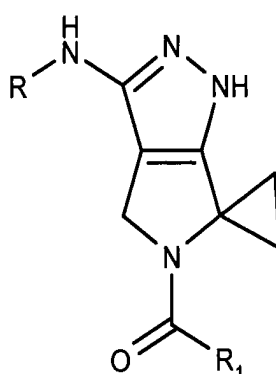
Los compuestos de la invención pueden actuar también como inhibidores de otras proteína cinasas, p. ej. la proteína cinasa C en diferentes isoformas, Met, PAK-4, PAK-5, ZC-1, STK-2, DDR-2, Aurora 1, Aurora 2, Bub-1, Chk1, Chk2, HER2, raf1, MEK1, MAPK, EGF-R, PDGF-R, FGF-R, IGF-R, PI3K, weel cinasa, Src, Abl, Akt, MAPK, ILK, MK-2, IKK-2, Cdc7, Nek, siendo de este modo eficaz en el tratamiento de enfermedades asociadas con otras proteína cinasas.

Los compuestos de la invención también son útiles en el tratamiento y prevención de la alopecia inducida por radioterapia o por quimioterapia.

Correspondientemente, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) para el tratamiento de trastornos proliferativos celulares causados por y/o asociados con un ciclo celular alterado dependiente de la actividad cinasa, mediante la administración a un mamífero que lo necesite, de una cantidad eficaz de un derivado de pirazol representado por la fórmula (Ia) o (Ib)



(Ia)



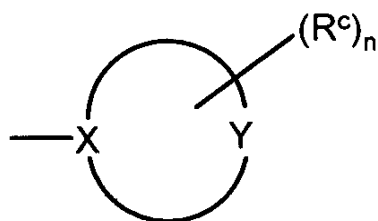
(Ib)

donde

R es un grupo $-\text{COR}^a$ o $-\text{CONHR}^a$, donde

R^a es un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ lineal o ramificado, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$, arilo y aril alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

R₁ es un grupo de fórmula (IIa):



(IIa)

donde, en la fórmula (IIa), el ciclo representa un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros donde X, directamente unido al resto de la molécula, representa un átomo de carbono; Y es un átomo de nitrógeno o es un grupo NH;

R^c es un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado, y cicloalquilo C₃-C₆; y n es 1;

y donde cualquiera de los grupos de R_a y R_c puede estar opcionalmente sustituido, en cualquiera de sus posiciones libres, por uno o varios grupos independientemente seleccionados entre: halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ polifluorado, arilo, hidroxilo, y alquilamino C₁-C₆.

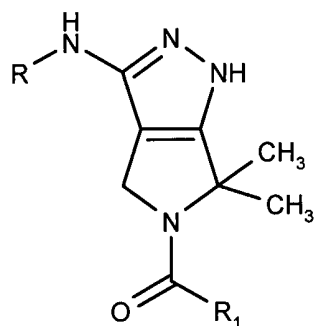
En una realización preferida de la invención el compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) descrito arriba es para el tratamiento de un trastorno proliferativo celular seleccionado entre el grupo consistente en cáncer, enfermedad de Alzheimer, infecciones víricas, trastornos autoinmunes y trastornos neurodegenerativos.

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

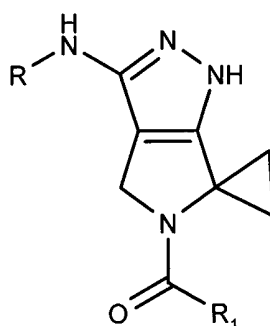
En otra realización preferida de la invención el compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) descrito arriba para el tratamiento de un trastorno proliferativo celular seleccionado entre el grupo consistente en la hiperplasia benigna de próstata, la adenomatosis familiar, la poliposis, la neurofibromatosis, la psoriasis, la proliferación de células lisas vasculares asociada con aterosclerosis, la fibrosis pulmonar, la artritis, la glomerulonefritis y la estenosis y reestenosis postquirúrgica.

Además, el compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) es para inhibición de la angiogénesis y la metástasis tumoral, así como para el tratamiento del rechazo en el trasplante de órganos y la enfermedad injerto contra huésped. Además de lo anterior, el objeto de la presente invención es un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) para el tratamiento y prevención de la alopecia inducida por radioterapia o por quimioterapia.

La presente invención proporciona también un derivado de pirazol representado por la fórmula (Ia) o (Ib)



(Ia)



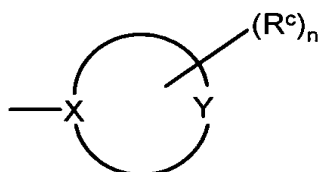
(Ib)

Donde

R es un grupo -COR^a o -CONHR^a, donde

R^a es un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado, cicloalquilo C₃-C₆, arilo y aril alquilo C₁-C₆;

R₁ es un grupo de fórmula (IIa):



(IIa)

donde, en la fórmula (IIa), el ciclo representa un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros donde X, directamente unido al resto de la molécula, representa un átomo de carbono; Y es un átomo de nitrógeno o es un grupo NH;

R^c es un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado, y cicloalquilo C₃-C₆; y n es 1;

- 5 y donde cualquiera de los grupos de Ra y Rc puede estar opcionalmente sustituido, en cualquiera de sus posiciones libres, por uno o varios grupos independientemente seleccionados entre: halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ polifluorado, arilo, hidroxilo, y alquilamino C₁-C₆.

- 10 La presente invención incluye también métodos para la síntesis de derivados de pirazol representados por la fórmula (Ia) o (Ib) que, a menos que se indique lo contrario, pueden agruparse convenientemente y definirse como compuestos de fórmula (I). Las composiciones farmacéuticas que comprenden los derivados de pirazol de fórmula (I) también se incluyen en la presente invención.

- 15 Una apreciación más completa de la invención y muchas de las consiguientes ventajas de la misma se obtendrán fácilmente, obteniéndose un mejor entendimiento en referencia a la descripción detallada siguiente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 20 Muchos compuestos heterocíclicos son conocidos en la técnica como inhibidores de proteína cinasa. Como ejemplo, 2-carboxamido-pirazoles y 2-ureido-pirazoles, y derivados de los mismos, se han dado a conocer como inhibidores de la proteína cinasa en las solicitudes de patente internacionales WO 01/12189, WO 01/12188, WO 02/48114 y WO 02/70515, todas a nombre del propio solicitante.

- 25 Los compuestos bicíclicos fundidos que comprenden fracciones pirazol y poseen actividad inhibidora de cinasa también se han dado a conocer en los documentos WO 00/69846 y WO 02/12242 así como WO 03/028720 (PCT/EP02/10534 reclamando prioridad desde la solicitud de patente de EEUU n° 09/962162 de 26 de septiembre de 2001) y co-pendiente PCT/EP03/04862 (reclamando prioridad desde la solicitud de patente de EEUU n° 60/381092 del 17 de mayo de 2002), todas a nombre del propio solicitante.

- 30 Los compuestos objeto de la presente invención están dentro del alcance de la fórmula general del documento mencionado anteriormente WO 02/12242, incorporado aquí por referencia, pero no se ejemplifican específicamente en el mismo.

- 35 A menos que se especifique lo contrario, al referirse a los compuestos de fórmula (I) per se así como a cualquier composición farmacéutica de los mismos o a cualquier tratamiento terapéutico que los comprenda, la presente invención incluye todos los hidratos, solvatos y complejos de los compuestos de esta invención. Si un centro quiral u otra forma de un centro isomérico está presente en un compuesto de la presente invención, todas las formas de dicho isómero o isómeros, incluyendo enantiómeros y diastereómeros, están destinadas a cubrirse aquí. Los compuestos que contienen un centro quiral se pueden usar como una mezcla racémica, una mezcla enriquecida enantioméricamente, o la mezcla racémica se puede separar usando técnicas bien conocidas y se puede usar un enantiómero individual solo. En los casos en los que los compuestos tienen dobles enlaces carbono-carbono insaturados, tanto los isómeros cis (Z) como trans (E) están dentro del alcance de esta invención. En los casos en que los compuestos pueden existir en formas tautoméricas, tales como los tautómeros ceto-enol, cada forma tautomérica se contempla como si se incluyera en esta invención, tanto si existe en equilibrio o está predominantemente en una forma.

- 50 En la presente descripción, salvo que se disponga otra cosa, con el término alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado, comprendiendo así alquilo C₁-C₄, se indica cualquier grupo como, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo, sec-butilo, n-pentilo, n-hexilo y similares.

Con el término cicloalquilo C₃-C₆ se indica, salvo que se disponga otra cosa, un anillo cicloalifático como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

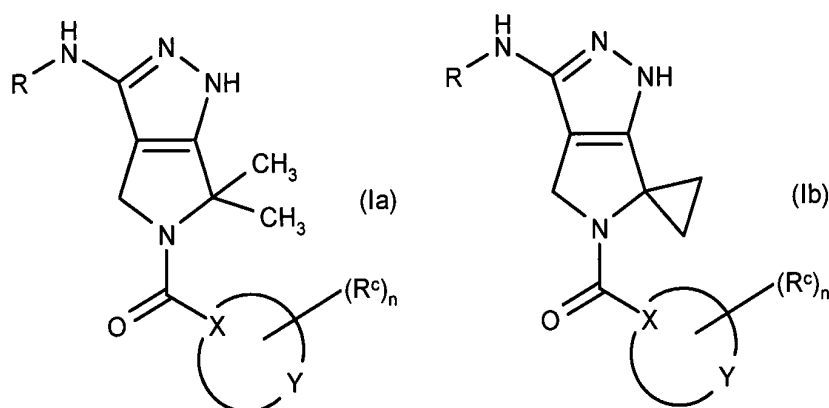
- 55 El término arilo incluye hidrocarburos carbocíclicos o heterocíclicos con fracciones de 1 a 2 anillos, bien fundidos o unidos entre sí mediante enlaces sencillos, donde al menos uno de los anillos es aromático; si está presente, cualquier hidrocarburo heterocíclico aromático también denominado grupo heteroarilo, comprende un anillo de 5 a 6 miembros con 1 a 3 heteroátomos o grupos heteroatómicos seleccionados entre N, NH, O o S.

- 60 Son ejemplos de grupos arilo de acuerdo con la invención, por ejemplo, fenilo, bifenilo, α- o β-naftilo, dihidronaftilo, tienilo, benzotienilo, furilo, benzofuranilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolilo, isoindolilo, purinilo, quinolilo, isoquinolilo, dihidroquinolinilo, quinoxalinilo, benzodioxolilo, indanilo, indenilo, triazolilo y similares.

- 65 A menos que se especifique otra cosa, el término heterociclo o heterociclilo incluye heterociclos saturados, parcialmente insaturados o completamente insaturados de 5 a 6 miembros con 1 a 3 heteroátomos o grupos heteroatómicos seleccionados entre N, NH, O o S.

Aparte de los heterociclos completamente insaturados, a los que se ha denominado previamente heterociclos aromáticos y englobados por el término arilo, son ejemplos de heterociclos saturados o parcialmente insaturados de acuerdo con la invención, por ejemplo, pirano, pirrolidina, pirrolina, imidazolina, imidazolidina, pirazolidina, pirazolina, tiazolina, tiazolidina, dihidrofurano, tetrahidrofurano, 1,3-dioxolano, piperidina, piperazina, morfolina y similares.

Al referirse a los compuestos de la invención donde R_1 es un grupo de fórmula (IIa), el anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros se une directamente al resto de la molécula a través del átomo X, como sigue:



Ejemplos de estos heterociclos de 5 a 7 miembros incluyen cualquier heterociclo de 5 a 6 miembros entre aquellos ya presentados y, adicionalmente, heterociclos de 7 miembros como por ejemplo, azepina, diazepina, oxazepina y similares.

Cualquier R^c , si está presente, se encuentra en cualquiera de las posiciones libres del anillo heterocíclico de fórmula (IIa) por sustitución de un átomo de hidrógeno.

De acuerdo con la presente invención y salvo que se disponga otra cosa, cualquiera de los grupos R^a y R^c anteriores puede estar sustituido opcionalmente, en cualquiera de sus posiciones libres, por uno o varios grupos, por ejemplo 1 a 6 grupos, seleccionados independientemente entre: halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ polifluorado, arilo, hidroxilo y alquilamino C₁-C₆.

A este respecto, con el término átomo de halógeno se indica un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

Con el término alquenilo o alquinilo se indica cualquiera de los grupos alquilo C₂-C₆ lineales o ramificados mencionados anteriormente, que poseen además un doble o triple enlace. Son ejemplos no limitantes de grupos alquenilo o alquinilo de la invención, por ejemplo, vinilo, alilo, 1-propenilo, isopropenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo, 2-pentenilo, 1-hexenilo, etinilo, 2-propinilo, 4-pentinilo, y similares.

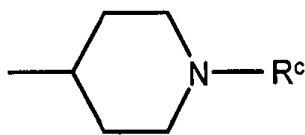
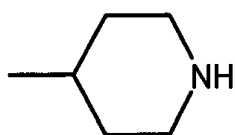
Con el término alquilo o alcoxi polifluorado se indica cualquiera de los grupos alcoxi o alquilo C₁-C₆ lineales o ramificados, los cuales están sustituidos por más de un átomo de flúor, como por ejemplo, trifluorometilo, trifluoroetilo, 1,1,1,3,3,3-hexafluoropropilo, trifluorometoxi y similares.

A partir de todo lo anterior, resulta claro para un experto en la materia que cualquier grupo cuyo nombre es un nombre compuesto, como por ejemplo, cicloalquilalquilo, arilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxi, alquiltio, ariloxi, arilalquilo, alquilcarboniloxi, arilalquilo, heterociclilalquilo y similares, se tiene que entender como construido de forma convencional a partir de las partes de las que deriva. Como ejemplo, un grupo como heterociclilalquilo es un grupo alcoxi, p. ej. alquilo, donde la fracción alquilo está sustituida además por un grupo heterociclilo, y donde alquilo y heterociclilo son como se define arriba.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen las sales de adición de ácidos con ácidos orgánicos o inorgánicos, p. ej. ácido nítrico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, perclórico, fosfórico, acético, trifluoroacético, propiónico, glicólico, láctico, oxálico, malónico, málico, maleico, tartárico, cítrico, benzoico, cinámico, mandélico, metanosulfónico, isetiónico y salicílico. Preferentemente, la sal de adición de ácido de los compuestos de la invención se selecciona entre la sal clorhidrato o mesilato.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen también las sales con bases inorgánicas u orgánicas, p. ej. metales alcalinos o alcalino-térreos, especialmente hidróxidos, carbonatos o bicarbonatos de sodio, potasio, calcio o magnesio, aminas cíclicas o acíclicas, preferentemente metilamina, etilamina, dietilamina, trietilamina, piperidina y similares.

Una clase de compuestos preferidos de fórmula (Ia) o (Ib) se representa mediante los derivados donde R es como se define arriba y R₁ es un grupo de fórmula (IIa) seleccionado entre:



5 donde R^c tiene los significados indicados arriba.

Se prefieren en particular, dentro de las clases anteriores, los compuestos de fórmula (Ia) donde R es un grupo –CORa con R^a como 4-fluorofenilo o ciclobutilo, y R₁ es como se define en la fórmula general.

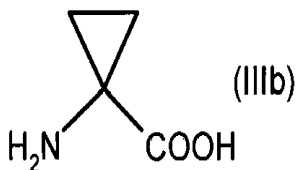
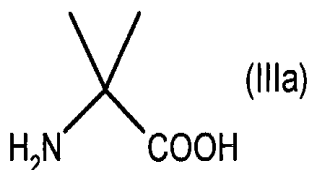
10 También se prefieren en particular los compuestos de fórmula (Ia) donde R es como se define en la fórmula general y R₁ es un grupo 1-metil-piperidil-4-ilo.

15 Para una referencia general a cualquier compuesto específico de fórmula (I) de la invención, opcionalmente en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, véase la sección experimental.

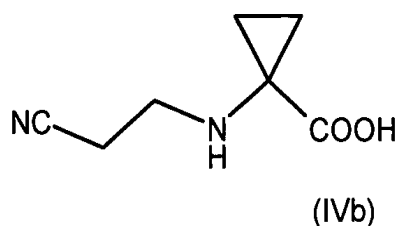
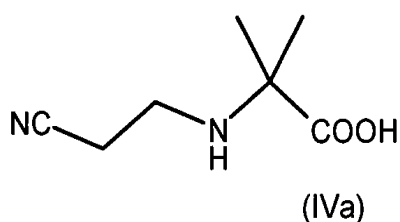
Como se ha indicado anteriormente, otro objeto de la presente invención se representa mediante el proceso para la preparación de compuestos de fórmula (I).

20 Por consiguiente, los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables se pueden obtener mediante un proceso que comprende:

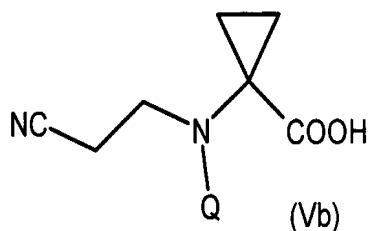
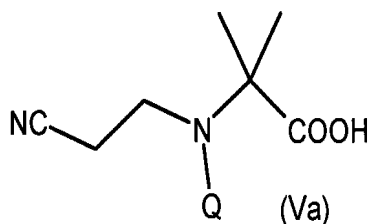
a) reacción de un compuesto de fórmula (IIIa) o (IIIb)



25 con acrilonitrilo para obtener el correspondiente derivado de fórmula (IVa) o (IVb)



30 b) protección del grupo amino del compuesto de fórmula (IVa) o (IVb) para obtener el correspondiente derivado de fórmula (Va) o (Vb)

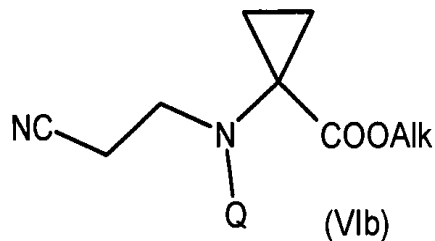
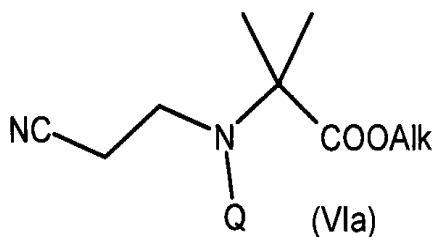


35

donde Q es un grupo protector de amino apropiado;

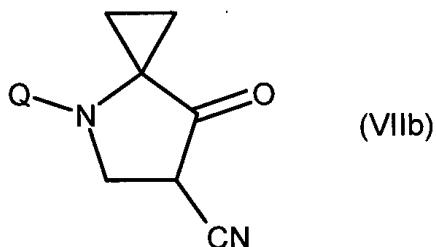
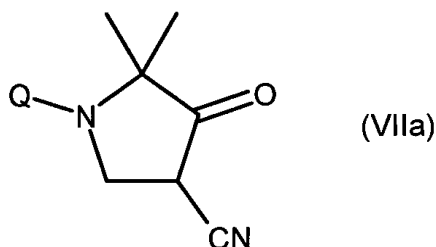
c) reacción del compuesto de fórmula (Va) o (Vb) con un agente alquilante apropiado, para obtener el correspondiente derivado de éster de fórmula (VIa) o (VIb)

5

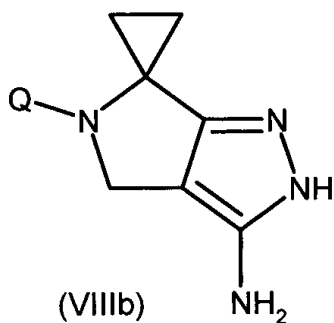
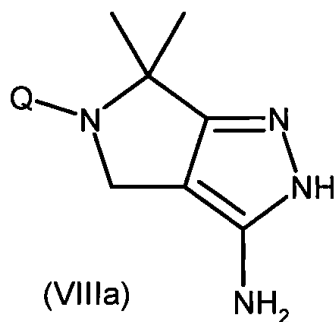


donde Alk representa un grupo alquilo C₁-C₄ apropiado;

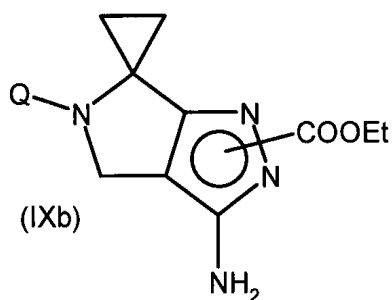
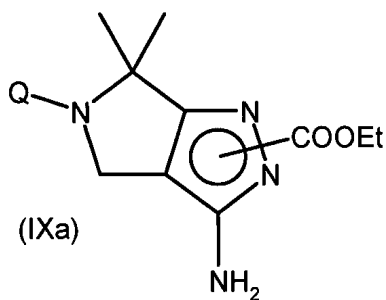
10 d) reacción del compuesto de fórmula (VIa) o (VIb) con hidruro sódico (NaH) para obtener el correspondiente derivado de fórmula (VIIa) o (VIIb)



15 e) reacción del compuesto de fórmula (VIIa) o (VIIb) con hidrato de hidrazina para obtener el compuesto de fórmula (VIIIa) o (VIIIb)



20 f) reacción del compuesto de fórmula (VIIIa) o (VIIIb) con cloroformiato de etilo para obtener el derivado de fórmula (IXa) o (IXb), cada una en cualquiera de las dos formas regioisoméricas

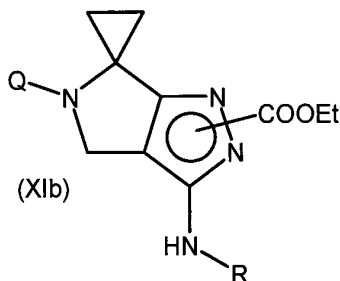
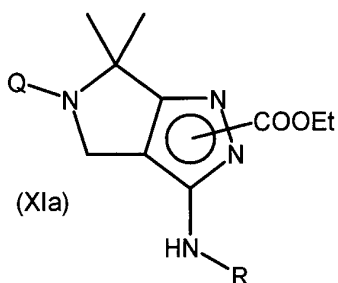


25 y reacción de los compuestos de fórmula (IXa) o (IXb) de acuerdo con cualquiera de las etapas alternativas (g.1) o (g.2)

g.1) con un compuesto de fórmula (X)



5 donde R^a es como se define arriba y Z es un átomo de halógeno, para obtener el compuesto de fórmula (XIa) o (XIb)



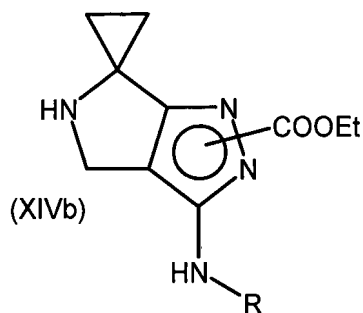
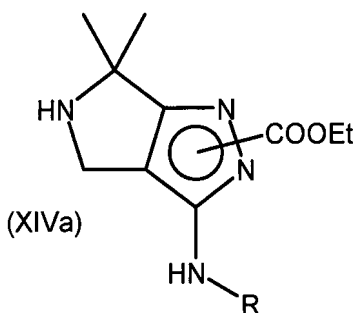
donde R es un grupo $-COR^a$;

10 g.2) con un compuesto de fórmula (XII)



15 donde R^a es como se define arriba, para obtener el compuesto de fórmula (XIa) o (XIb) donde R es un grupo $-CONHR^a$; o

h) desprotección del grupo amino del compuesto de fórmula (XIa) o (XIb) preparado de acuerdo con cualquiera de las etapas desde (g.1) hasta (g.2), para obtener el correspondiente derivado de fórmula (XIVa) o (XIVb)



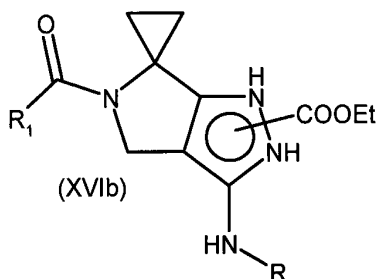
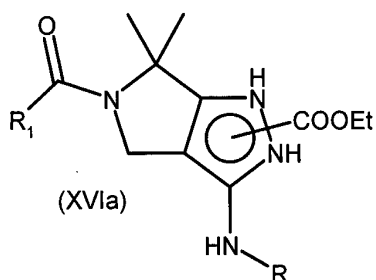
donde R tiene los significados indicados arriba; y reacción del compuesto de fórmula (XIVa) o (XIVb) de acuerdo con cualquiera de las etapas alternativas (i.1) o (i.3)

25

i.1) con un derivado acil haluro de fórmula (XV)



30 donde R_1 es como se indica en la fórmula (Ia) o (Ib) bajo el grupo (IIa) con X como átomo de carbono, y Z es un átomo de halógeno, para obtener el compuesto de fórmula (XVIa) o (XVIb)



donde R y R₁ son como se define arriba;

i.3) con un ácido carboxílico de fórmula (XIX) en presencia de un agente de condensación apropiado

5 R₁-COOH (XIX)

para obtener el compuesto de fórmula (XVIa) o (XVIb) donde R₁ es un grupo de fórmula (IIa) con X como átomo de carbono y R, Y, R^c y n son como se define arriba;

10 j) reacción del compuesto de fórmula (XVIa) o (XVIb) preparado de acuerdo con cualquiera de las etapas (i.1) a (i.3) bajo condiciones básicas, para obtener el correspondiente derivado de fórmula (Ia) o (Ib) donde R y R₁ son como se define arriba; y, opcionalmente,

15 k) conversión en otros compuestos de fórmula (Ia) o (Ib), respectivamente, y/o en sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

El proceso anterior en un proceso de analogía que se puede llevar a cabo de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica.

20 A partir de todo lo anterior, resulta claro para el experto en la materia que si un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib), preparado de acuerdo con el proceso anterior, se obtiene como una mezcla de isómeros, su separación en los isómeros individuales de la fórmula (Ia) o (Ib), llevada a cabo de acuerdo con técnicas convencionales, se encuentra todavía dentro del alcance de la presente invención.

25 Asimismo, la conversión en el compuesto libre (Ia) o (Ib) de una sal correspondiente del mismo, de acuerdo con métodos bien conocidos, aún se encuentra dentro del alcance de la invención.

30 De acuerdo con la etapa (a) del proceso, un compuesto de fórmula (IIIa) o (IIIb) reacciona con acrilonitrilo en presencia de una base apropiada, por ejemplo hidróxido sódico. La reacción se lleva a cabo preferentemente en agua a una temperatura en el intervalo entre -10 °C hasta temperatura ambiente.

35 De acuerdo con la etapa (b) del proceso, el grupo amino del compuesto de fórmula (IVa) o (IVb) está protegido de acuerdo con métodos convencionales, por ejemplo con anhídrido terc-butoxicarbonilo (Boc₂O) y en presencia de un disolvente apropiado como acetonitrilo o diclorometano, para obtener el correspondiente derivado de fórmula (Va) o (Vb) donde el grupo protector de amino Q justo representa terc-butoxicarbonilo (boc).

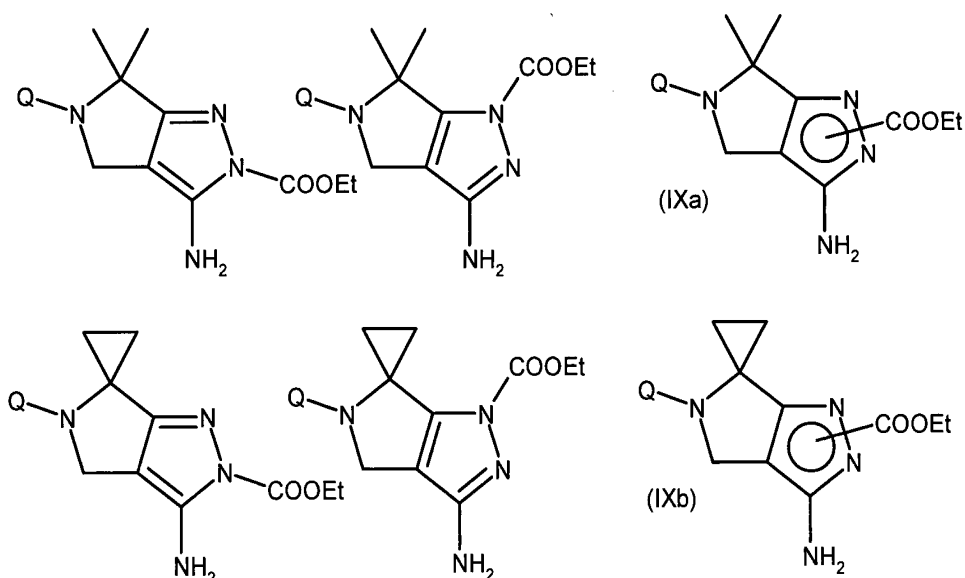
40 De acuerdo con la etapa (c) del proceso, el grupo carboxi del compuesto de fórmula (Va) o (Vb) se convierte en el correspondiente derivado de éster alquílico, por ejemplo operando en presencia de un haluro de alquilo apropiado, por ejemplo yoduro de metilo.

45 La reacción se lleva a cabo en presencia de un disolvente apropiado como dimetilformamida y bajo condiciones básicas, por ejemplo usando hidrogenocarbonato de sodio o potasio. De acuerdo con la etapa (d) del proceso, el compuesto de fórmula (VIa) o (VIb) se convierte en el correspondiente derivado cíclico de fórmula (VIIa) o (VIIb) mediante la reacción con hidruro sódico. La reacción se lleva a cabo en presencia de un disolvente apropiado como dioxano o tetrahidrofurano a temperatura de reflujo.

50 De acuerdo con la etapa (e) del proceso, el compuesto de fórmula (VIIa) o (VIIb) reacciona con hidrato de hidracina, preferentemente con un exceso de monohidrato de hidracina, por ejemplo hasta 10 equivalentes, en presencia de un disolvente apropiado como hidrocarburos halogenados, alcoholes inferiores o mezclas de los mismos. La reacción se lleva a cabo preferentemente en presencia de etanol, añadiendo hidracina a una solución del compuesto de fórmula (VIIa) o (VIIb) y bajo agitación durante un tiempo apropiado, por ejemplo unas 48 horas, a una temperatura en el intervalo entre unos 20 °C hasta unos 70 °C. Preferentemente, la reacción anterior se lleva a cabo en presencia de ácido acético glacial.

55 De acuerdo con la etapa (f) del proceso, el compuesto de fórmula (VIIIa) o (VIIIb) reacciona con cloroformiato de etilo para rendir el correspondiente derivado de fórmula (IXa) o (IXb). La reacción se lleva a cabo de acuerdo con condiciones operativas bien conocidas, en presencia de una base apropiada, por ejemplo diisopropiletilamina, y de un disolvente apropiado como tetrahidrofurano.

60 Claramente, el grupo etoxicarbonilo puede estar unido a cualquiera de los átomos de nitrógeno del pirazol de ambos compuestos de fórmula (VIIIa) y (VIIIb) para rendir los siguientes regioisómeros de fórmula (IXa) o (IXb)



5 A este respecto, cada pareja de regioisómeros de fórmula (IXa) o (IXb) se puede separar convenientemente de acuerdo con métodos bien conocidos, por ejemplo bajo condiciones cromatográficas, y cada regioisómero aislado de este modo se procesa posteriormente. De forma alternativa, la mezcla de regioisómeros se puede tratar como tal en las etapas posteriores del proceso, sin proporcionar ninguna separación.

10 De hecho, como el grupo etoxicarbonilo que conduce a dos regioisómeros distintos se elimina definitivamente al final del proceso, resulta evidente para el experto en la materia que ambas rutas anteriores se pueden llevar a cabo para la preparación de los compuestos de fórmula (Ia) o (Ib) de la invención.

15 Preferentemente, sin embargo, el proceso se lleva a cabo primero separando y aislando los regioisómeros de fórmula (IXa) o (IXb) a partir de su mezcla, como se indica en los ejemplos de trabajo, y posteriormente reaccionando hasta los compuestos deseados.

De acuerdo con la etapa (g.1) del proceso, el compuesto de fórmula (IXa) o (IXb) reacciona con un derivado apropiado de fórmula (X) donde Z representa un átomo de halógeno, preferentemente cloro o bromo.

20 Típicamente, el compuesto de fórmula (IXa) o (IXb) se disuelve en un disolvente apropiado como diclorometano, dimetilformamida, tetrahidrofurano, dioxano o similares, y se añade una base apropiada como trietilamina, diisopropilamina, carbonato sódico o similares. El compuesto de fórmula (X) se añade después y la mezcla se agita durante un tiempo de aproximadamente 2 hasta aproximadamente 15 horas, a una temperatura en el intervalo de unos 20 °C hasta unos 80 °C.

Opcionalmente se puede emplear un catalizador apropiado como dimetilamino-piridina

30 De acuerdo con la etapa (g.2) del proceso, el compuesto de fórmula (IXa) o (IXb) reacciona con un derivado de isocianato de fórmula (XII), operando sustancialmente como se indica en la etapa (g.1) del proceso, excepto en que la base puede no ser necesaria.

35 De acuerdo con la etapa (h) del proceso, el grupo amino protegido en la fórmula (XIa) o (XIb) se desprotege bajo condiciones operativas bien conocidas, por ejemplo bajo condiciones ácidas en presencia de ácido trifluoroacético o clorhídrico.

El compuesto de fórmula (XIa) o (XIb) se suspende de este modo en un disolvente apropiado como diclorometano o dioxano, y se trata con una solución concentrada del ácido seleccionado.

40 De forma alternativa, se pueden emplear ventajosamente soluciones disponibles comercialmente de cloruro de hidrógeno gaseoso disuelto en dioxano (HCl 4M). La mezcla se agitó después durante un periodo de aproximadamente 2 horas hasta aproximadamente 15 horas a una temperatura en el intervalo de 20 °C hasta 40 °C.

45 De acuerdo con cualquiera de las etapas (i.1) o (i.3) del proceso, el compuesto de fórmula (XIVa) o (XIVb) sigue reaccionando con un derivado apropiado para obtener el correspondiente derivado carboxamido, ureido o carbamato de fórmula (XVIa) o (XVIb).

La etapa (i.1) se lleva a cabo con un haluro de acilo, preferentemente cloruro, de fórmula (XV) en un disolvente apropiado como diclorometano y bajo condiciones básicas, por ejemplo en presencia de una amina apropiada como diisopropiletilamina.

5 La reacción permite obtener derivados carboxamido de fórmula (XVIa) o (XVIb) donde R_1 es como se define en la fórmula (I) bajo grupos desde (a) hasta (c), (IIa) con X como un átomo de carbono y (IIb); a partir de lo anterior, resulta evidente para el experto en la materia que el átomo del grupo R_1 el cual está directamente unido a la fracción carbonilo de fórmula (XVIa) o (XVIb) es un átomo de carbono.

10 Asimismo, la condensación de la etapa (i.3) se lleva a cabo con un derivado de ácido carboxílico de fórmula (XIX), en presencia de un agente de condensación apropiado como, por ejemplo, diciclohexilcarbodiimida (DCC), 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) o O-benzotriazolil tetrametilisouronio tetrafluoroborato (TBTU), y operando de acuerdo con métodos bien conocidos para la preparación de derivados carboxamido.

15 De acuerdo con la etapa (j) del proceso, el compuesto de fórmula (XVIa) o (XVIb) obtenido en cualquiera de las etapas de (i.1) hasta (i.3) reacciona con una base apropiada, por ejemplo trietilamina, y en presencia de un disolvente apropiado como metanol o etanol para obtener el compuesto deseado de fórmula (Ia) o (Ib).

20 Finalmente, como para la etapa (k) del proceso, estos últimos compuestos (Ia) o (Ib) se pueden convertir opcionalmente en sales farmacéuticamente aceptables como se indica anteriormente, trabajando de acuerdo con métodos convencionales o, alternativamente, se pueden convertir en compuestos adicionales de fórmula (Ia) o (Ib).

25 Sólo como ejemplo no limitante, los compuestos de fórmula (Ia) o (Ib) que contienen una función carboxiéster se pueden convertir en una variedad de derivados de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica para convertir grupos carboxiéster en carboxamidas, carboxamidas N-sustituidas, carboxamidas N,N-disustituidas, ácidos carboxílicos y similares.

30 Las condiciones operativas son aquellas ampliamente conocidas en la técnica y pueden comprender, por ejemplo en la conversión de un grupo carboxiéster en un grupo carboxamida, la reacción con amoníaco o hidróxido amónico en presencia de un disolvente apropiado como un alcohol inferior, dimetilformamida o mezclas de los mismos; preferentemente la reacción se lleva a cabo con hidróxido amónico en una mezcla metanol/dimetilformamida, a una temperatura en el intervalo entre unos 50 °C hasta unos 100 °C.

35 Se aplican condiciones operativas análogas en la preparación de carboxamidas N-sustituidas o N,N-disustituidas donde una amina primaria o secundaria adecuada se usa en lugar de amoníaco o hidróxido amónico.

Asimismo, los grupos carboxiéster se pueden convertir en derivados de ácido carboxílico a través de condiciones de hidrólisis básica o ácida, ampliamente conocidas en la técnica.

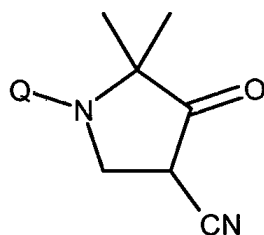
40 Como ejemplo adicional, los compuestos de fórmula (Ia) o (Ib) que contienen una función amino se pueden convertir fácilmente en los correspondientes derivados carboxamido o ureido.

45 A partir de todo lo anterior resulta evidente para el experto en la materia que de acuerdo con la etapa (k) del proceso, cualquier compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) que contiene un grupo funcional el cual se puede derivatizar adicionalmente a otro grupo funcional, trabajando de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica, conduciendo así a otros compuestos de fórmula (Ia) o (Ib), se debe entender que está comprendido dentro del alcance de la presente invención.

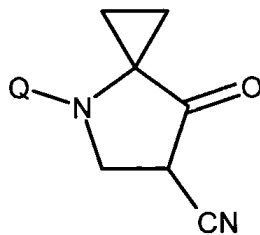
50 De acuerdo con cualquier variante del proceso para la preparación de los compuestos de fórmula (I), el material de partida y cualquier otro reactivo es conocido o se puede preparar fácilmente de acuerdo con métodos conocidos.

Como ejemplo, mientras los materiales de partida de fórmula (IIIa) o (IIIb) están disponibles comercialmente, los compuestos de fórmula (X), (XII), (XIII), (XV), (XVII), (XVIII), (XIX) y (XX) son conocidos o se pueden preparar fácilmente de acuerdo con métodos conocidos.

55 Los compuestos intermedios de fórmula (VIIa) o (VIIb) del proceso



(VIIa)



(VIIb)

donde Q representa un grupo protector de nitrógeno apropiado, por ejemplo terc-butoxicarbonilo (boc), son novedosos y por tanto, representan otro objeto de la invención.

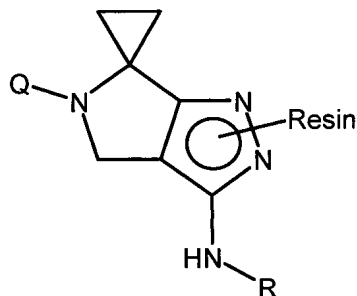
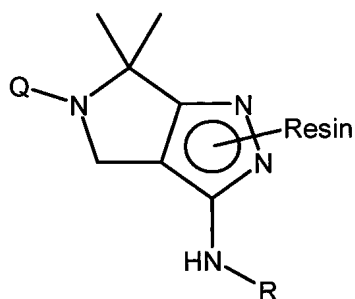
Como ya se aprecia fácilmente, si los compuestos de fórmula (I) preparados de acuerdo con el proceso descrito arriba se obtienen como una mezcla de isómeros, su separación en los isómeros individuales de fórmula (I), de acuerdo con técnicas convencionales, se encuentra dentro del alcance de la presente invención. Las técnicas convencionales para la resolución del racemato incluyen, por ejemplo, cristalización particionada de derivados salinos diastereoisoméricos o HPLC preparativa quiral.

Además, resulta claro a partir de lo anterior que un compuesto dado de fórmula (Ia) o (Ib) se puede preparar partiendo de la mezcla de los regioisómeros de fórmula (IXa) o (IXb) o, alternativamente, a partir de cada uno de los dos mismos regioisómeros.

Al preparar los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las variantes del proceso mencionadas anteriormente, los grupos funcionales opcionales dentro de los materiales de partida o los intermedios de los mismos y que podrían originar reacciones secundarias no deseadas, necesitan protegerse adecuadamente de acuerdo con las técnicas convencionales. Asimismo, la conversión de estos últimos en los compuestos libres desprotegidos se puede llevar a cabo de acuerdo con cualquier procedimiento conocido.

Además, los compuestos de fórmula (I) de la invención se pueden preparar también de acuerdo con técnicas de química combinatoria ampliamente conocidas en la técnica, lográndose las reacciones mencionadas anteriormente entre los diversos intermedios en serie y trabajando bajo condiciones de síntesis en fase sólida (SPS, del inglés solid-phase-synthesis).

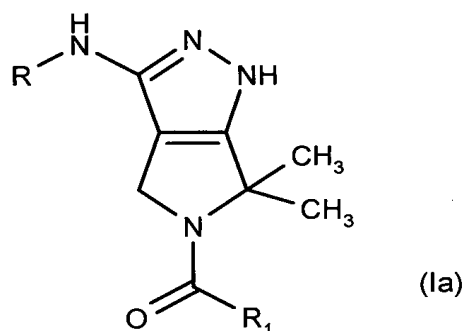
Como ejemplo, los compuestos de fórmula (XIa) o (XIb) que se preparan de acuerdo con cualquiera de las etapas (g.1) o (g.2) pueden estar soportados sobre una resina polimérica apropiada. Más particularmente, el grupo etoxicarbonilo en la fórmula (XIa) o (XIb) se puede eliminar bajo condiciones ácidas, por ejemplo en presencia de trietilamina o diisopropilamina, y el compuesto resultante anclado a la resina de soporte anterior, a través del propio átomo de nitrógeno del pirazol.



El intermedio soportado así obtenido puede reaccionar después de acuerdo con la etapa (h) y cualquiera de las etapas (i.1) o (i.3) del proceso, para obtener el correspondiente compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) de la invención aún soportado sobre la resina polimérica. La posterior separación de la resina, por ejemplo bajo condiciones básicas o ácidas de acuerdo con métodos conocidos, permite obtener el compuesto deseado de fórmula (Ia) o (Ib).

Claramente, llevando a cabo las reacciones anteriores del proceso en serie, es decir siguiendo un enfoque combinatorio por ejemplo como el indicado anteriormente, se pueden preparar y obtener varios compuestos de fórmula (Ia) y (Ib).

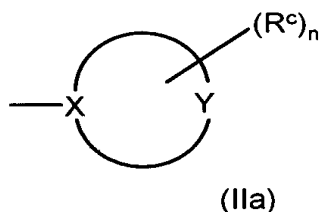
Por consiguiente, también se da a conocer en la presente invención una biblioteca de dos o más compuestos de fórmula (Ia)



Donde

- 5 **R** es un grupo $-\text{COR}^a$ o $-\text{CONHR}^a$ donde R^a es un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ lineal o ramificado, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$, arilo y aril alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

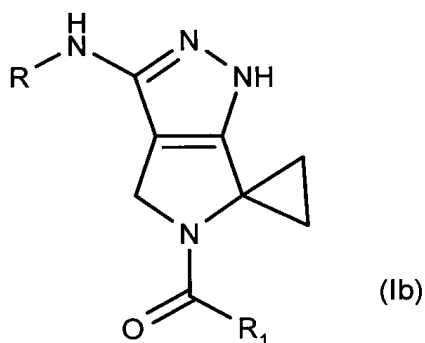
R₁ es un grupo de fórmula (IIa):



10 donde, en la fórmula (IIa), el ciclo representa un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros donde X, directamente unido al resto de la molécula, representa un átomo de carbono; Y es un átomo de nitrógeno o es un grupo NH; R^c es un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ lineal o ramificado y cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$; y n es 1;

15 y donde cualquiera de los grupos de R_a y R_c puede estar opcionalmente sustituidos, en cualquiera de sus posiciones libres, por uno o varios grupos independientemente seleccionados entre: halógeno, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ polifluorado, arilo, hidroxilo, y alquilamino $\text{C}_1\text{-C}_6$.

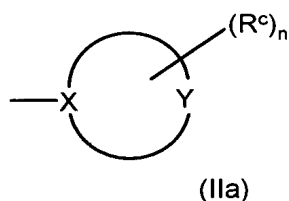
- 20 Asimismo, también se da a conocer en la presente invención una biblioteca de dos o más compuestos de fórmula (Ib)



25 Donde

R es un grupo $-\text{COR}^a$ o $-\text{CONHR}^a$ donde R^a es un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ lineal o ramificado, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$, arilo y aril alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

- 30 **R₁** es un grupo de fórmula (IIa):



donde, en la fórmula (IIa), el ciclo representa un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros donde X, directamente unido al resto de la molécula, representa un átomo de carbono; Y es un átomo de nitrógeno o es un grupo NH; R^c es un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alquilo C_1-C_6 lineal o ramificado y cicloalquilo C_3-C_6 ; y n es 1;

y donde cualquiera de los grupos de R_a y R_c puede estar opcionalmente sustituidos, en cualquiera de sus posiciones libres, por uno o varios grupos independientemente seleccionados entre: halógeno, alquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 polifluorado, arilo, hidroxilo, y alquilamino C_1-C_6 .

Para una referencia general a las bibliotecas anteriores de compuestos de fórmula (I) véase la sección experimental.

A partir de todo lo anterior, resulta evidente para el experto en la materia que una vez que se prepara de este modo una biblioteca de derivados de pirrolo-pirazol, por ejemplo consistente en unos pocos cientos o incluso unos pocos miles de compuestos de fórmula (Ia) o (Ib), dicha biblioteca se puede usar de forma muy ventajosa para el cribado frente a cinasas dadas, como se indica anteriormente.

Véase, para una referencia general a bibliotecas de compuestos y usos de los mismos como herramienta para el cribado de actividades biológicas, J. Med. Chem. 1999, 42, 2373-2382; y Bioorg. Med. Chem. Lett. 10 (2000), 223-226.

FARMACOLOGÍA

Los compuestos de la fórmula (I) son activos como inhibidores de la proteína cinasa y por tanto son útiles, por ejemplo, para limitar la proliferación desregulada de células tumorales.

En terapia, se pueden usar en el tratamiento de varios tumores, como aquellos definidos anteriormente, así como en el tratamiento de otros trastornos proliferativos celulares como la psoriasis, la proliferación de células lisas vasculares asociada con aterosclerosis y la estenosis y reestenosis post-quirúrgica, y en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

La actividad inhibidora de inhibidores putativos Cdk/ciclina y la potencia de los compuestos seleccionados se determinó mediante un método de ensayo basado en el uso de la tecnología SPA (Amersham Pharmacia Biotech).

El ensayo consiste en la transferencia de la fracción fosfato marcada radioactivamente mediante la cinasa a un sustrato biotinilado. Se permite que el producto biotinilado marcado con ^{33}P resultante se una a perlas de SPA recubiertas con estreptavidina (capacidad de biotina 130 pmol/mg), y la luz emitida se midió en un contador de escintilación.

Ensayo de inhibición de la actividad de Cdk2/ciclina A

Reacción cinasa: 4 μM de sustrato histona H1 biotinilado in house (Sigma # H-5505), 10 μM de ATP (0,1 microCi $P^{33}\gamma$ -ATP), 4,2 ng de complejo Cdk2/ciclina A, inhibidor en un volumen final de 30 μl de tampón (TRIS HCl 10 mM pH 7,5, $MgCl_2$ 10 mM, DTT 7,5 mM+ 0,2 mg/mL BSA) se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo en U. Tras una incubación de 30 min a t.a. se paró la reacción mediante 100 μl de PBS + EDTA 32 mM + Triton X-100 0,1 % + ATP 500 μM , conteniendo 1 mg de perlas de SPA. Después un volumen de 110 μl se transfiere a Optiplate. Tras 20 min de incubación para la captura de sustrato, se añadieron 100 μl de CsCl 5 M para permitir la estatificación de las perlas en la parte superior de la placa y se dejó reposar 4 horas antes del conteo de radioactividad en el instrumento Top-Count.

Determinación de IC₅₀: los inhibidores se analizaron a diferentes concentraciones en el intervalo de 0,0015 a 10 μM . Los datos experimentales se analizaron mediante el programa informático GraphPad utilizando la ecuación logística de cuatro parámetros:

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

donde x es el logaritmo de la concentración de inhibidor, y es la respuesta; y empieza en el fondo y llega a la cima con una forma sigmoide.

Cálculo de Ki:

Método experimental: la reacción se llevó a cabo en tampón (Tris 10 mM, pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, 0,2 mg/mL BSA, DTT 7,5 mM) conteniendo enzima 3,7 nM, histona y ATP (relación constante de ATP frío/marcado 1/3000). La reacción se paró con EDTA y el sustrato se capturó en fosfomembrana (placas Multiscreen de 96 pocillos de Millipore). Tras lavado extensivo, las placas multiscreen se leyeron en un contador superior. Se midieron el control (tiempo cero) para cada ATP y las concentraciones de histona.

Diseño experimental: las velocidades de la reacción se miden a cuatro concentraciones diferentes de ATP, sustrato (histona) e inhibidor. Se diseñó una matriz de 80 puntos de concentración alrededor de los respectivos valores de Km de ATP y sustrato, y los valores de IC₅₀ del inhibidor (0,3, 1, 3, 9 veces los valores de Km o IC₅₀). Un experimento preliminar del transcurso del tiempo en ausencia de inhibidor y a las diferentes concentraciones de ATP y sustrato permite la selección de un solo punto final (10 min) en el intervalo lineal de la reacción para el experimento de determinación de Ki.

Estimación de los parámetros cinéticos: Los parámetros cinéticos se estimaron mediante regresión no lineal de mínimos cuadrados simultánea usando [Eq. 1] (inhibidor competitivo respecto a ATP, mecanismo aleatorio) usando el conjunto completo de datos (80 puntos):

$$v = \frac{V_m \cdot A \cdot B}{\alpha \cdot K_a \cdot K_b + \alpha \cdot K_a \cdot B + \alpha \cdot K_b \cdot A + A \cdot B + \alpha \cdot \frac{K_a}{K_i} \cdot I \cdot (K_b + \frac{B}{\beta})} \quad [\text{Eq.1}]$$

donde A = [ATP], B = [sustrato], I = [inhibidor], V_m = velocidad máxima, K_a, K_b, K_i las constantes de disociación de ATP, sustrato e inhibidor respectivamente. α y β el factor de cooperatividad entre la unión de sustrato y ATP y la unión de sustrato e inhibidor respectivamente.

Además, los compuestos seleccionados se han caracterizado en un panel de ser/treo cinasas relacionado estrictamente al ciclo celular (Cdk2/ciclina E, Cdk1/ciclina B1, Cdk5/p25, Cdk4/ciclina D1), y también su especificidad en MAPK, PKA, EGFR, EGF1-R, Aurora-2 y Akt.

Ensayo de inhibición de la actividad de Cdk2/ciclina E

Reacción cinasa: 10 μM de sustrato histona H1 biotinilado in house (Sigma # H-5505), 30 μM de ATP (0,3 microCi P³³γ-ATP), 4 ng de complejo GST-Cdk2/ciclina E, inhibidor en un volumen final de 30 μl de tampón (TRIS HCl 10 mM pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, DTT 7,5 mM + 0,2 mg/mL BSA) se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo en U. Tras una incubación de 60 min a t.a. se paró la reacción mediante 100 μl de PBS + EDTA 32 mM + Triton X-100 0,1 % + ATP 500 μM, conteniendo 1 mg de perlas de SPA. Después un volumen de 110 μl se transfiere a Optiplate. Tras 20 min de incubación para la captura de sustrato, se añadieron 100 μl de CsCl 5 M para permitir la estatificación de las perlas en la parte superior de la placa y se dejó reposar 4 horas antes del conteo de radioactividad en el instrumento Top-Count.

Determinación de IC₅₀: véase arriba

Ensayo de inhibición de la actividad de Cdk1/ciclina B1

Reacción cinasa: 4 μM de sustrato histona H1 biotinilado in house (Sigma # H-5505), 20 μM de ATP (0,2 microCi P³³γ-ATP), 3 ng de complejo Cdk1/ciclina B, inhibidor en un volumen final de 30 μl de tampón (TRIS HCl 10 mM pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, DTT 7,5 mM + 0,2 mg/mL BSA) se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo en U. Tras una incubación de 20 min a t.a. se paró la reacción mediante 100 μl de PBS + EDTA 32 mM + Triton X-100 0,1 % + ATP 500 μM, conteniendo 1 mg de perlas de SPA. Después un volumen de 110 μl se transfiere a Optiplate. Tras 20 min de incubación para la captura de sustrato, se añadieron 100 μl de CsCl 5 M para permitir la estatificación de las perlas en la parte superior de la placa y se dejó reposar 4 horas antes del conteo de radioactividad en el instrumento Top-Count.

Determinación de IC₅₀: véase arriba

Ensayo de inhibición de la actividad de Cdk5/p25

El ensayo de inhibición de la actividad Cdk5/p25 se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo siguiente.

Reacción cinasa: 10 µM de sustrato histona H1 biotinilado in house (Sigma # H-5505), 30 µM de ATP (0,3 microCi $P^{33}\gamma$ -ATP), 15 ng de complejo CDK5/p25, inhibidor en un volumen final de 30 µl de tampón (TRIS HCl 10 mM pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, DTT 7,5 mM + 0,2 mg/mL BSA) se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo en U. Tras una incubación de 30 min a t.a. se paró la reacción mediante 100 µl de PBS + EDTA 32 mM + Triton X-100 0,1 % + ATP 500 µM, conteniendo 1 mg de perlas de SPA. Después un volumen de 110 µl se transfiere a Optiplate.

Tras 20 min de incubación para la captura de sustrato, se añadieron 100 µl de CsCl 5 M para permitir la estatificación de las perlas en la parte superior de la placa y se dejó reposar 4 horas antes del conteo de radioactividad en el instrumento Top-Count.

Determinación de IC₅₀: véase arriba

Ensayo de inhibición de la actividad de Cdk4/ciclina D1

Reacción cinasa: 0,4 µM de sustrato GST-Rb de ratón (769-921) (# sc-4112 de Santa Cruz), 10 µM de ATP (0,5 µCi $P^{33}\gamma$ -ATP), 100 ng de GST-Cdk4/ciclina D1 expresado en baculovirus, concentraciones apropiadas de inhibidor en un volumen final de 50 µl de tampón (TRIS HCl 10 mM pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, DTT 7,5 mM + 0,2 mg/mL BSA) se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo en U. Tras una incubación de 40 min a 37 °C se paró la reacción mediante 20 µl de EDTA 120 mM.

Captura: 60 µl se transfirieron desde cada pocillo a una placa MultiScreen, para permitir la unión del sustrato al filtro de fosfocelulosa. Las placas se lavaron entonces 3 veces con 150 µl/pocillo de PBS Ca⁺⁺/Mg⁺⁺ libre y se filtraron mediante un sistema de filtración MultiScreen.

Detección: se dejaron secar los filtros a 37 °C, después se añadieron 100 µl/pocillo de escintilante y se detectó el fragmento Rb marcado con ³³P mediante conteo de radioactividad en el instrumento Top-Count.

Determinación de IC₅₀: véase arriba

Ensayo de inhibición de la actividad de MAPK

Reacción cinasa: 10 µM de sustrato MBP biotinilado in house (Sigma # M-1891), 15 µM de ATP (0,15 microCi $P^{33}\gamma$ -ATP), 30 ng de GST-MAPK (Upstate Biotechnology # 14-173), inhibidor en un volumen final de 30 µl de tampón (TRIS HCl 10 mM pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, DTT 7,5 mM + 0,2 mg/mL BSA) se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo en U. Tras una incubación de 30 min a t.a. se paró la reacción mediante 100 µl de PBS + EDTA 32 mM + Triton X-100 0,1 % + ATP 500 µM, conteniendo 1 mg de perlas de SPA. Después un volumen de 110 µl se transfiere a Optiplate.

Tras 20 min de incubación para la captura de sustrato, se añadieron 100 µl de CsCl 5 M para permitir la estatificación de las perlas en la parte superior de la placa y se dejó reposar 4 horas antes del conteo de radioactividad en el instrumento Top-Count.

Determinación de IC₅₀: véase arriba

Ensayo de inhibición de la actividad de PKA

Reacción cinasa: 10 µM de sustrato histona H1 biotinilado in house (Sigma # H-5505), 10 µM de ATP (0,2 microCi $P^{33}\gamma$ -ATP), 0,45U PKA (Sigma # 2645), inhibidor en un volumen final de 30 µl de tampón (TRIS HCl 10 mM pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, DTT 7,5 mM + 0,2 mg/mL BSA) se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo en U. Tras una incubación de 90 min a t.a. se paró la reacción mediante 100 µl de PBS + EDTA 32 mM + Triton X-100 0,1 % + ATP 500 µM, conteniendo 1 mg de perlas de SPA. Después un volumen de 110 µl se transfiere a Optiplate. Tras 20 min de incubación para la captura de sustrato, se añadieron 100 µl de CsCl 5 M para permitir la estatificación de las perlas en la parte superior de la placa y se dejó reposar 4 horas antes del conteo de radioactividad en el instrumento Top-Count.

Determinación de IC₅₀: véase arriba

Ensayo de inhibición de la actividad de EGFR

Reacción cinasa: 10 µM de sustrato MBP biotinilado in house (Sigma # M-1891), 2 µM de ATP (0,04 microCi $P^{33}\gamma$ -ATP), 36 ng de GST-EGFR expresado en célula de insecto, inhibidor en un volumen final de 30 µl de tampón (Hepes 50 mM pH 7,5, MgCl₂ 3 mM, MnCl₂ 3 mM, DTT 1 mM, NaVO₃ 3 µM + 0,2 mg/mL BSA) se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo en U. Tras una incubación de 20 min a t.a. se paró la reacción mediante 100 µl de PBS + EDTA 32 mM + Triton X-100 0,1 % + ATP 500 µM, conteniendo 1 mg de perlas de SPA. Después un volumen de 110 µl se transfiere a Optiplate.

Tras 20 min de incubación para la captura de sustrato, se añadieron 100 µl de CsCl 5 M para permitir la estratificación de las perlas en la parte superior de la placa y se dejó reposar 4 horas antes del conteo de radioactividad en el instrumento Top-Count.

Determinación de IC₅₀: véase arriba

Ensayo de inhibición de la actividad de IGF1-R

El ensayo de inhibición de la actividad IGF1-R se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo siguiente.

Reacción cinasa: 10 µM de sustrato MBP biotinilado in house (Sigma # M-1891), 0-20 µM de inhibidor, 6 µM de ATP, 1 microCi ³³P-ATP y 22,5 ng de GST-IGF1-R (pre-incubado durante 30 min a temperatura ambiente con ATP frío 60 µM) en un volumen final de 30 µl de tampón (HEPES 50 mM pH 7,9, MnCl₂ 3 mM, DTT 1 mM, NaVO₃ 3 µM) se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo en U. Tras una incubación de 35 min a temperatura ambiente, se paró la reacción mediante 100 µl de PBS conteniendo EDTA 32 mM, ATP frío 500 µM, Triton X100 0,1 % y 10 mg/mL de perlas de SPA recubiertas con estreptavidina. Tras 20 min de incubación, se retiraron 110 µl de suspensión y se transfirieron a OPTIPLATES de 96 pocillos conteniendo 100 µl de CsCl 5 M. Tras 4 horas, las placas se leyeron durante 2 min en un lector de radioactividad Packard TOP-Count

Ensayo de inhibición de la actividad de Aurora-2

Reacción cinasa: 8 µM de péptido biotinilado (4 repeticiones de LRRWSLG), 10 µM de ATP (0,045 uCi P³³γ-ATP), 15 ng de Aurora2, inhibidor en un volumen final de 30 µl de tampón (HEPES 50 mM pH 7,0, MgCl₂ 10 mM, DTT 1 mM, 0,2 mg/mL BSA, ortovanadato 3 µM) se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo en U. Tras una incubación de 30 min a temperatura ambiente, se paró la reacción y el péptido biotinilado se capturó añadiendo 100 µl de suspensión de perlas.

Estratificación: se añadieron 100 µl de CsCl₂ 5 M a cada pocillo y se dejó reposar 4 horas antes del conteo de radioactividad en el instrumento Top-Count.

Determinación de IC₅₀: véase arriba

Ensayo de inhibición de la actividad de Cdc7/dbf4

El ensayo de inhibición de la actividad Cdc7/dbf4 se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo siguiente.

El sustrato Biotina-MCM2 se trans-fosforila mediante el complejo Cdc7/Dbf4 en presencia de ATP trazado con γ³³-ATP. El sustrato Biotina-MCM2 fosforilado se captura después mediante perlas de SPA recubiertas con estreptavidina y se evalúa la extensión de la fosforilación mediante conteo β.

El ensayo de inhibición de la actividad Cdc7/dbf4 se llevó a cabo en placas de 96 pocillos de acuerdo con el protocolo siguiente.

A cada uno de los pocillos se añadió:

- 10 µl de sustrato (MCM2 biotinilado, concentración final 6 µM)
- 10 µl de enzima (Cdc7/Dbf4, concentración final 12,5 nM)
- 10 µl del compuesto de prueba (12 incrementos de concentración en el rango de nM a µM para generar una curva de respuesta a la dosis).
- 10 µl de una mezcla de ATP frío (concentración final 10 µM) y ATP radioactivo (relación molar 1/2500 con ATP frío) se usó después para iniciar la reacción, la cual se dejó tener lugar a 37 °C.

Sustrato, enzima y ATP se diluyeron en HEPES 50 mM pH 7,9 conteniendo MgCl₂ 15 mM, DTT 2 mM, NaVO₃ 3 µM, glicerofosfato 2 mM y 0,2 mg/mL BSA. El disolvente para los compuestos del ensayo contenía también DMSO al 10 %.

Tras la incubación durante 20 minutos, se detuvo la reacción mediante la adición en cada pocillo de 100 µl de PBS pH 7,4, conteniendo EDTA 50 mM, ATP frío 1 mM, Triton X100 0,1 % y 10 mg/mL de perlas de SPA recubiertas de estreptavidina.

Después de 15 minutos de incubación a temperatura ambiente para permitir que se produzca la interacción de MCM2 biotinilado-perlas de SPA con estreptavidina, las perlas se atraparon en una placa de filtro de 96 pocillos

(Unifilter^R GF/BTM) usando un Packard Cell Harvester (Filtermate), se lavaron con agua destilada y después se contaron usando un Top Count (Packard).

Se sustrajo el blanco de las cuentas y después los datos experimentales (cada punto por triplicado) se analizaron para determina IC₅₀ usando un análisis de regresión no lineal (Sigma Plot).

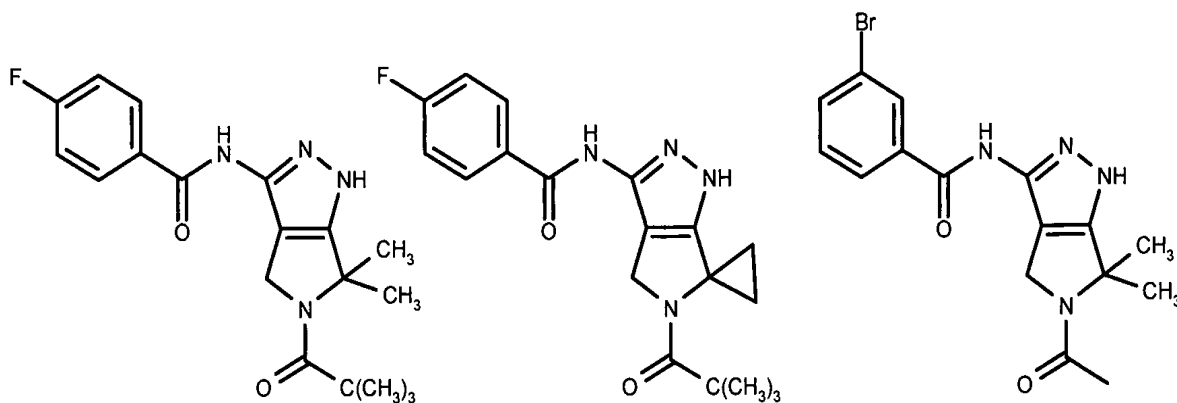
Dados los ensayos de inhibición anteriores, los compuestos de fórmula (I) de la invención resultaron poseedores de una notable actividad inhibidora de cdk. Véanse, por ejemplo, los datos experimentales siguientes (IC₅₀) de dos compuestos representativos de la invención de fórmula (Ia) y (Ib) ensayados frente a Cdk2/ciclina A:

Compuesto 1: N-[5-(2,2-dimetilpropanoil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidropirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-fluorobenzamida (IC₅₀ 0,030 µM); y

Compuesto 2: N-[5-(2,2-dimetilpropanoil)-1,4,5,6-tetrahidropirrol[3,4-c]pirazol-6-espirociclopropan-3-il]-4-fluorobenzamida (IC₅₀ 0,025 µM).

Sorprendentemente, dicha actividad inhibidora resultó ser notablemente superior que la de un compuesto muy cercano de la técnica anterior WO 02/12242, al que se hace referencia aquí como compuesto de Referencia (véase compuesto 1143, fin de página 76; y ejemplo 19, compuesto de acoplamiento páginas 242-3 de WO 02/12242), usado con fines comparativos y ensayado frente a Cdk2/ciclina A, como se indica anteriormente:

Compuesto de Referencia: N-[5-acetil-6,6-dimetil-4,6-dihidropirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-(3-bromo)benzamida (IC₅₀ 1,7 µM).



Compuesto 1

Compuesto 2

Compuesto de Referencia

Hasta el momento, los compuestos novedosos de la invención están dotados inesperadamente de una actividad inhibidora de cdk significativamente superior que los compuestos más cercanos estructuralmente de la técnica anterior WO 02/12242 y por tanto son particularmente ventajosos, en terapia, contra trastornos proliferativos asociados con un ciclo celular alterado dependiente de la actividad cinasa.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar de forma individual o, alternativamente, en combinación con tratamientos anti-cáncer conocidos, como terapia de radiación o régimen de quimioterapia en combinación con agentes citostáticos o citotóxicos, agentes tipo antibiótico, agentes alquilantes, agentes antimetabolito, agentes hormonales, agentes inmunológicos, agentes tipo interferona, inhibidores de la ciclooxigenasa (p. ej. inhibidores de COX-2), inhibidores de metaloproteasa matriz, inhibidores de la telomerasa, inhibidores de tirosina cinasa, agentes receptores del factor anti-crecimiento, agentes anti-HER, agentes anti-EGFR, agentes anti-angiogénesis (p. ej. inhibidores de la angiogénesis), inhibidores de farnesil transferasa, inhibidores de la ruta de transducción de señal ras-raf, inhibidores del ciclo celular, otros inhibidores de cdk, agentes de unión a tubulina, inhibidores de la topoisomerasa I, inhibidores de la topoisomerasa II, y similares.

Si se formulan como una dosis fija, dichos productos combinados emplean los compuestos de esta invención dentro del intervalo de dosificación descrito abajo y emplean el otro agente farmacéuticamente activo dentro del intervalo de dosificación aprobado.

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

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

Por ejemplo, una dosificación adecuada adoptada para la administración oral de un compuesto de fórmula (I) puede estar en el intervalo de aproximadamente 10 hasta aproximadamente 500 mg por dosis, de 1 a 5 veces al día. Los compuestos de la invención se pueden administrar en una variedad de formas de dosificación, p. ej., oralmente, en forma de comprimidos, cápsulas, comprimidos grajeados o recubiertos con película, soluciones líquidas o suspensiones; rectalmente en forma de supositorios; parenteralmente, p. ej., intramuscularmente, o mediante inyección o infusión intravenosa y/o intratecal y/o intraespinal.

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

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de la invención se preparan usualmente siguiendo métodos convencionales y se administran en una forma farmacéuticamente adecuada. Por ejemplo, las formas orales sólidas pueden contener, junto con el principio activo, diluyentes, p. ej., lactosa, dextrosa, sacarosa, sucrosa, celulosa, almidón de maíz o almidón de patata; lubricantes, p. ej., sílice, talco, ácido esteárico, estearato magnésico o cálcico, y/o polietilenglicoles; agentes aglutinantes, p. ej., almidones, goma arábica, gelatina metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinil pirrolidona; agentes desintegrantes, p. ej., almidón, ácido algínico, alginatos o glicolato de almidón de maíz; mezclas efervescentes; sustancias colorantes; edulcorantes; agentes humectantes como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos; y, en general, sustancias no tóxicas y farmacológicamente inactivas usadas en formulaciones farmacéuticas. Estas preparaciones farmacéuticas se pueden preparar de forma conocida, por ejemplo, mediante procedimientos de mezcla, granulación, compresión, grajeado, o recubrimiento con película.

Las dispersiones líquidas para administración oral pueden ser, p. ej., jarabes, emulsiones y suspensiones. Como ejemplo, los jarabes pueden contener, como portador, sacarosa o sacarosa con glicerina y/o manitol y sorbitol.

Las suspensiones y las emulsiones pueden contener, como ejemplos de portadores, goma natural, agar, alginato sódico, pectina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, o alcohol polivinílico. La suspensión o soluciones para inyecciones intramusculares pueden contener, junto con el principio activo, un portador farmacéuticamente aceptable, p. ej., agua estéril, aceite de oliva, oleato de etilo, glicoles, p. ej., propilenglicol y, si se desea, una cantidad adecuada de clorhidrato de lidocaína.

Las soluciones para inyecciones o infusiones intravenosas pueden contener, como portador, agua estéril o preferentemente deben encontrarse en forma de soluciones estériles, acuosos, isotónicas, salinas, o pueden contener propilenglicol como portador.

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

Con la intención de ilustrar mejor la presente invención, sin poner ninguna limitación a la misma, ahora se indican los ejemplos siguientes.

Métodos generales

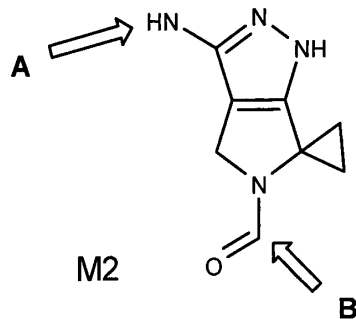
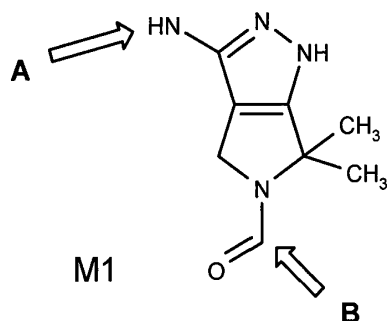
Antes de tomar en consideración la preparación sintética de los compuestos específicos de fórmula (I) de la invención, por ejemplo como se indica en los ejemplos siguientes, se debe prestar atención al hecho de que algunos compuestos están listado aquí y se indican de acuerdo con su nombre químico mientras que otros, la mayoría de ellos, se han identificado convenientemente y sin ambigüedad mediante un sistema de codificación, junto con sus datos de RMN-¹H (véanse las tablas siguientes III, IV y V) y datos de HPLC/Masas (véase la tablas siguiente VI).

Cada código, en particular, identifica un compuesto específico individual de fórmula (Ia) o (Ib) y consiste en tres unidades A-M-B.

A representa cualquier sustituyente R [véase fórmula (Ia) o (Ib)] y está unido al resto de la molécula a través del grupo NH; cada grupo A específico se representa y numera consecutivamente en la tabla I siguiente.

Asimismo, B representa cualquier sustituyente R₁ [véase fórmula (Ia) o (Ib)] y está unido al resto de la molécula a través del grupo carbonilo (CO); cada grupo B específico se representa y numera consecutivamente en la tabla II siguiente.

M se refiere al núcleo central de la fracción divalente que se sustituye por los grupos A y B; en particular, M puede variar entre M1 o M2 como por la fórmula inferior, identificando cada uno el núcleo central de un compuesto con la fórmula (Ia) o (Ib), respectivamente:

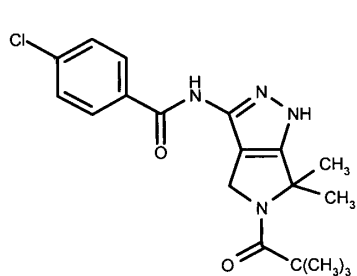


5

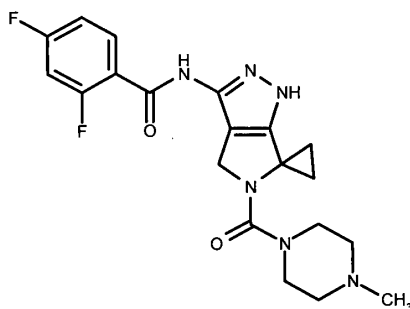
Para facilitar la referencia, todos los grupos A y B de las tablas I y II se han identificado con la fórmula química apropiada, indicando también el punto de unión con el resto de la molécula M.

- 10 Por consiguiente, junto como ejemplo, el compuesto A06-M1-B01 de la tabla III representa el compuesto de fórmula (Ia) con el núcleo central M1, estando sustituido por el grupo A06 y por el grupo B01, en las posiciones indicadas por las flechas; asimismo, el compuesto A04-M2-B08 de la tabla V representa el compuesto de fórmula (Ib) con el núcleo central M2, estando sustituido por el grupo A04 y por el grupo B08, en las posiciones indicadas por las flechas:

15



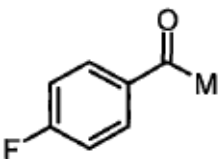
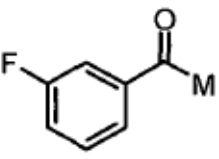
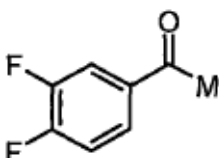
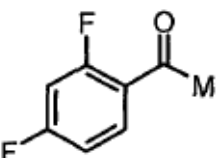
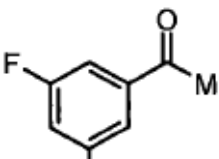
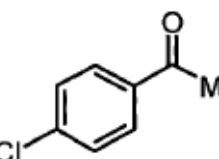
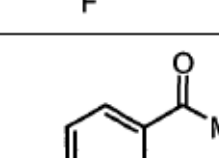
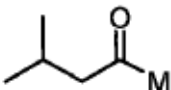
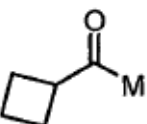
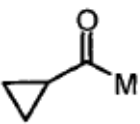
A06-M1-B01



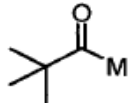
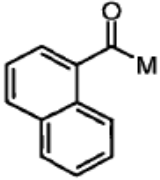
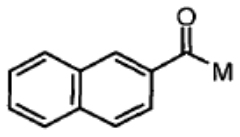
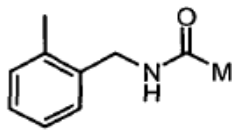
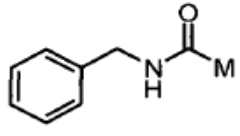
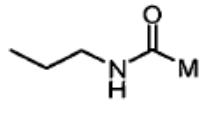
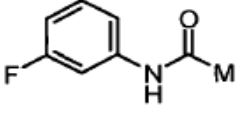
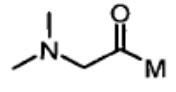
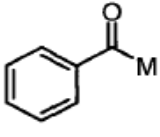
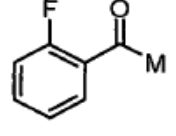
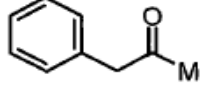
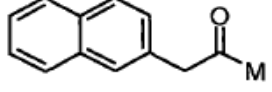
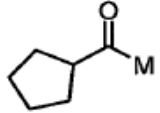
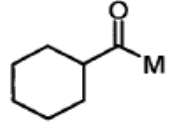
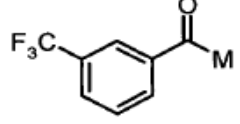
A04-M2-B08

20

Tabla I

A01		A02	
A03		A04	
A05		A06	
A07			
		A12	
A13		A14	

(Continuación)

A15			
		A22	
A23		A24	
A25		A26	
A27			
A29		A30	
A43			
A47		A48	
A49		A50	
		A54	

(Continuación)

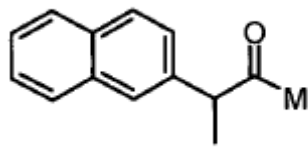
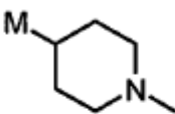
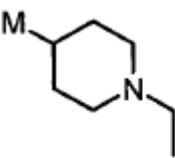
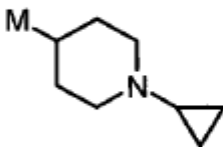
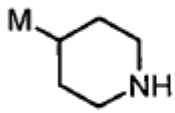
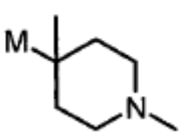
A55			
-----	---	--	--

Tabla II

B03		B04	
B05		B06	
B21			

5

Ejemplo 1**N-(2-cianoetil)-2-metilalanina**

10

Se añadieron 50 g (0,48 mol) de 2-metilalanina a una solución enfriada (agua/hielo) de NaOH (19,6 g) en agua (100 mL). Cuando la solución se tornó clara se gotearon 34 mL (0,50 mol) de acrilonitrilo con refrigeración. Se dejó la mezcla reposar durante una noche. Después de 18 horas se añadieron 28 mL de ácido acético con refrigeración (agua/hielo); precipitó un sólido blanco; se gotearon 200 mL de etanol al 95 % en el matraz, se continuó agitando durante 1 hora, entonces se dejó la mezcla en nevera durante 2-3 horas. Después de filtrar, se recogió el sólido y se secó en un horno a 80 °C. Se evaporaron los filtrados y se recogieron con etanol (160 mL). Tras refrigerar se recogió una cierta cantidad de producto adicional, el cual se filtró y secó. Se obtuvieron 72 g del compuesto del título de la primera filtración. Rendimiento total: 95 %.

15

20

ESI MS: m/z 157 (MH⁺);
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,47 (s, 1H), 2,70 (t, 2H), 2,48 (t, 2H), 1,18 (s, 6H).

Trabajando de forma análoga se preparó el siguiente compuesto:

25

Ácido 1-[(2-cianoetil)amino]ciclopropanocarboxílico

EI MS: m/z 154 (M), 136 (M-H₂O), 114 (M-CH₂CN), 68 (100 %, ciclopr=C=O);
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,47 (s, 1H), 2,86 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 2,48 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 1,09 (dd, 2H, J = 6,9 Hz, J = 4,1 Hz), 0,86 (dd, 2H, J = 6,9 Hz, 4,1 Hz).

30

Ejemplo 2**N-(*tert*-butoxicarbonil)-N-(2-cianoetil)-2-metilalanina**

- 5 Se disolvieron 44,5 g (0,285 mol) de N-(2-cianoetil)-2-metilalanina y 51,7 g de hidróxido de tetrametilamonio pentahidrato en acetonitrilo (2 L) a 40 °C y cuando se obtuvo una solución clara se añadieron 112 g de Boc₂O. Se dejó la mezcla a 40 °C durante 24 horas. El día posterior se añadieron 20 g adicionales de Boc₂O mientras se mantenía la temperatura a 40 °C. Se añadieron 20 g de Boc₂O hasta un total de 192 g cada 8-12 horas. Transcurridos 4 días se evaporó el disolvente, se recogió el residuo con agua (1000 mL) y se lavó dos veces con éter etílico (500 mL). La fracción acuosa se llevó a pH 3-4 con ácido cítrico y se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua (200 mL) y se concentró. Se obtuvieron 52 g del compuesto del título (rendimiento: 72 %).

ESI MS: m/z 274 (M+NH₄);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 3,52 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 2,68 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 1,18 -1,38 (m, 15H).

Trabajando de forma análoga se preparó el siguiente compuesto:

Ácido 1-[(*tert*-butoxicarbonil)(2-cianoetil)amino]ciclopropanocarboxílico

- 20 ESI MS: m/z 272 (M+NH₄), 255 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,55 (bs, 1H), 3,33 (m, 2H), 2,71 (m, 2H), 2,71 (m, 2H), 0,97-1,63 (m, 13H).

Ejemplo 3

- 25 **N-(*tert*-butoxicarbonil)-N-(2-cianoetil)-2-metilalaninato de metilo**

Se disolvieron 62 g (0,23 mol) de N-(*tert*-butoxicarbonil)-N-(2-cianoetil)-2-metilalanina en 350 mL de DMF y se añadieron 50 g de KHCO₃. Unos pocos minutos después se gotearon 30 mL de yoduro de metilo (MeI) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 6 horas. Se añadieron entonces 15 mL adicionales de MeI. Se dejó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. Después de diluir con 1,5 L de agua, se extrajo la disolución con acetato de etilo (3 veces). Las fases orgánicas se lavaron con una pequeña cantidad de agua, se secaron con sulfato sódico, se evaporaron y se secaron en una bomba mecánica. Se obtuvieron de este modo 60,5 g (97 %) de N-(*tert*-butoxicarbonil)-N-(2-cianoetil)-2-metilalaninato de metilo.

- 35 ESI MS: m/z 288 (M+NH₄);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 3,55 (m, 5H), 2,70 (t, 2H, J = 6,7 Hz), 1,40 (s, 6H), 1,36 (s, 9H).

Trabajando de forma análoga se preparó el siguiente compuesto:

- 40 **1-[(*tert*-Butoxicarbonil)(2-cianoetil)amino]ciclopropanocarboxilato de metilo**

ESI MS: m/z 286 (M+NH₄);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 3,61 (s, 3H), 3,42 (t, 2H, J = 6,7 Hz), 2,71 (m, 2H), 1,07-1,62 (m, 13H).

- 45 **Ejemplo 4**

4-Ciano-3-hidroxi-2,2-dimetil-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-carboxilato de *tert*-butilo

- 50 Se disolvieron 45 g de metil N-(*tert*-butoxicarbonil)-N-(2-cianoetil)-2-metilalaninato en dioxano (240 mL) bajo nitrógeno y se añadieron 7,9 g de hidruro sódico. La mezcla se llevó a reflujo durante 6 horas (120 °C temperatura interna), y se dejó reposar durante una noche a temperatura ambiente (CCF: CH₂Cl₂/EtOH 90/10). Se evaporó el disolvente, se añadió agua (1000 mL) y se llevó la mezcla a pH 3-4 con ácido cítrico. Se extrajo la fase acuosa 4 veces con acetato de etilo, los extractos se lavaron con una cantidad limitada de agua y se evaporaron. Se recogió el residuo con hexano, y se evaporó y cristalizó de hexano. Se obtuvieron de este modo 33,1 g de 4-ciano-3-hidroxi-2,2-dimetil-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-carboxilato de *tert*-butilo (rendimiento: 85 %).

ESI MS: m/z 237 (M-H⁻);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 4,06-4,10 (2s, 2H, confórmers), 1,48 (s, 6H), 1,47 (s, 9H).

- 60 Trabajando de forma análoga se preparó el siguiente compuesto:

6-Ciano-7-oxo-4-azaespiro[2,4]heptano-4-carboxilato de *tert*-butilo

ESI MS: m/z 235 (M-H⁻);

65

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 4,63 (t, 1H, J = 9,8 Hz), 4,24 (t, 1H, J = 10,2 Hz), 3,74 (t, 1H, 10,2 Hz), 1,67-2,16 (m, 2H), 1,34-1,41 (s, 9H), 0,93-1,20 (m, 2H).

Ejemplo 5

3-Amino-6,6-dimetil-2,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-5(4H)-carboxilato de *tert*-butilo

Se añadieron 32 g de 4-ciano-3-hidroxi-2,2-dimetil-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-carboxilato de *tert*-butilo (0,134 mol) a 430 mL de etanol absoluto. Se añadieron a esta solución 9 mL (0,18 mol) de hidrato de hidrazina, seguidos de 12 mL de AcOH glacial (1,5 eq); Se agitó la mezcla a 60 °C durante 48 horas, se eliminó el etanol, se recogió el residuo con 400 mL de una solución de bicarbonato sódico, y se extrajo varias veces con acetato de etilo hasta la total extracción del producto deseado. Las fases orgánicas se secaron y evaporaron. Después de purificar mediante cromatografía flash (eluyente: CHCl₃/EtOH 97/3) y triturar con una mezcla de hexano/acetato de etilo 9/1, se obtuvieron 25 g del compuesto del título. Rendimiento total 30,5 g (rendimiento: 88 %).

ESI MS: m/z 253 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 4,06-4,10 (2s, 2H, confórmers), 1,48 (2s, 6H, confórmers), 1,47 (2s, 9H, confórmers).

Trabajando de forma análoga se preparó el siguiente compuesto:

3-Amino-2,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-6-espirociclopropano-5(4H)-carboxilato de *tert*-butilo

ESI MS: m/z 251 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,12 (bs, 1H), 5,13 (bs, 2H), 4,16-4,33 (m, 2H), 1,57-1,91 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 0,65-0,83 (m, 2H).

Ejemplo 6

3-Amino-6,6-dimetilpirrol-3,4-c]pirazol-2,5(4H,6H)-dicarboxilato de 5-*tert*-butilo 2-etilo y 3-Amino-6,6-dimetil-4,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxilato de 5-*tert*-butilo 1-etilo

Se disolvieron 15 g de 3-Amino-6,6-dimetil-2,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-5(4H)-carboxilato de *tert*-butilo (59,4 mmol) en THF anhidro (150 mL) y se trataron, a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno, primero con N,N-diisopropiletilamina (50 mL) y posteriormente con ClCO₂Et (4,65 mL, 1 eq.) por goteo. 90 minutos más tarde, se diluyó el disolvente con AcOEt (1 L), se lavó con agua y a continuación con salmuera, se secó con sulfato sódico y se evaporó. El crudo del producto se purificó mediante cromatografía flash (hexano/AcOEt 2/8) para rendir 7,3 g de 3-amino-6,6-dimetilpirrol-3,4-c]pirazol-2,5(4H,6H)-dicarboxilato de 5-*tert*-butilo 2-etilo como producto mayoritario con un 38 % de rendimiento, junto con 5,7 g de 3-amino-6,6-dimetil-4,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxilato de 5-*tert*-butilo 1-etilo con un rendimiento del 30 %.

3-Amino-6,6-dimetilpirrol-3,4-c]pirazol-2,5(4H,6H)-dicarboxilato de 5-*tert*-butilo 2-etilo

ESI MS: m/z 325 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 4,35 (q, 2H), 4,10 (2s, 2H, confórmers), 1,50-1,51 (m, 6H), 1,41-1,43 (2s, 9H, confórmers), 1,29 (t, 3H).

3-Amino-6,6-dimetil-4,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxilato de 5-*tert*-butilo 1-etilo

ESI MS: m/z 325 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 4,28 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 4,09-4,14 (2s, 2H, confórmers), 1,66-1,67 (m, 6H), 1,41-1,44 (2s, 9H, confórmers), 1,27 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

Trabajando de forma análoga se prepararon los siguientes compuestos:

3-Amino-pirrol-3,4-c]pirazol-6-espirociclopropano-2,5(4H, 6H)-dicarboxilato de 5-*tert*-butilo 2-etilo

ESI MS: m/z 323 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 4,30 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 4,27 (bs, 2H), 1,65-2,01 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,27 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 0,82-0,96 (m, 2H).

3-Amino-4,6-dihidropirrolo[3,4-c]pirazol-6-espirociclopropano-1,5-dicarboxilato de 5-*terc*-butilo 1-etiloESI MS: m/z 323 (MH⁺);

5 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 4,26 (bs, 2H), 4,21 (q, 2H, J = 7,0 Hz), 1,36-1,97 (m, 13H), 1,23 (t, 3H, J = 7,0 Hz).

Ejemplo 7**3-[(4-Fluorobenzil)amino]-6,6-dimetil-4,6-dihidropirrolo[3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxilato de 5-*terc*-butilo 1-etilo**

10 Se disolvió 3-amino-6,6-dimetil-4,6-dihidropirrolo[3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxilato de 5-*terc*-butilo 1-etilo (2,0 g, 6,16 mmol) en THF (40 mL), se trató primero con N,N-diisopropiletilamina (5,4 mL, 30,80 mmol) y a continuación, a 0 °C, con cloruro de 4-fluorobenzil (800 µL, 6,77 mmol) disuelto en THF (8 mL) por goteo. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas, se concentró y se disolvió en DCM, se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y con salmuera. La fase orgánica se secó con sulfato sódico, se evaporó y se purificó mediante cromatografía flash (eluyente: hexano/AcOEt 80/20) para rendir 2,5 g del compuesto del título con un 90 % de rendimiento.

ESI MS: m/z 447 (MH⁺);

20 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,47 (s, 1H), 8,04-8,17 (m, 2H), 7,25-7,37 (m, 2H), 4,44-4,47 (2s, 2H, confórmers), 4,43 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 1,73-1,75 (2s, 6H, confórmers), 1,43-1,46 (2s, 9H, confórmers), 1,33 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

25 Trabajando de forma análoga se prepararon los siguientes compuestos:

3-[(4-Fluorobenzil)amino]-6,6-dimetilpirrolo[3,4-c]pirazol-2,5(4H,6H)-dicarboxilato de 5-*terc*-butilo 2-etiloESI MS: m/z 447 (MH⁺);

30 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,78 (s, 1H), 7,95-7,99 (m, 2H), 7,40-7,47 (m, 2H), 4,51-4,49 (2s, 2H, confórmers), 4,43 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 1,59-1,60 (2s, 6H), 1,43-1,46 (2s, 9H, confórmers), 1,34 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

3-[(4-Fluorobenzil)amino]-pirrolo[3,4-c]pirazol-6-espirociclopropano-2,5(4H,6H)-dicarboxilato de 5-*terc*-butilo 2-etiloESI MS: m/z 445 (MH⁺);

40 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,81 (s, 1H), 7,95-8,06 (m, 2H), 7,39-7,49 (m, 2H), 4,67 (bs, 2H), 4,41 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 1,80-2,10 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,32 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 0,93-1,06 (m, 2H).

Ejemplo 8**3-([3-Fluorofenil]amino)carbonil-amino)-6,6-dimetil-4,6-dihidropirrolo[3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxilato de 5-*terc*-butilo 1-etilo**

45 Se disolvió 3-amino-6,6-dimetil-4,6-dihidropirrolo[3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxilato de 5-*terc*-butilo 1-etilo (3,0 g, 9,24 mmol) en THF anhidro (50 mL), se trató a temperatura ambiente con 3-fluorofenil-isocianato (1,4 g, 10,21 mmol, 1,1 eq) y se agitó durante una noche. Al día siguiente se evaporó la mezcla de reacción, se recogió con DCM y se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó con sulfato sódico y se evaporó a sequedad. La purificación mediante cromatografía flash (CH₂Cl₂/MeOH 90/10) proporcionó 3,05 g (rendimiento 71 %) del compuesto del título.

ESI MS: m/z 462 (MH⁺);

55 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9,74 (s, 1H), 9,05 (s, 1H), 7,44 (m, 1H), 7,33 (m, 1H), 7,16 (m, 1H), 6,84 (m, 1H), 4,43 (m, 4H), 1,76 (2s, 6H), 1,48 (2s, 9H, confórmers), 1,36 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

Ejemplo 9**3-[(Piperidin-1-carbonil)-amino]-6,6-dimetil-4,6-dihidropirrolo[3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxilato de 5-*terc*-butilo 1-etilo**

60 Se añadió a una solución a -40 °C de trifosgeno (550 mg, 1,85 mmol, 0,4 eq) en tetrahidrofurano (50 mL), una solución de 3-amino-6,6-dimetil-4,6-dihidropirrolo[3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxilato de 5-*terc*-butilo 1-etilo (1,5 g, 4,62 mmol) en tetrahidrofurano (50 mL) y N,N-diisopropiletilamina (1,8 mL, 2,2 eq). Después de 3 horas se añadió una solución de piperidina (690 µL, 1,5 eq) y N,N-diisopropiletilamina (1,2 mL, 1,5 eq) en tetrahidrofurano (25 mL). Se

permitió a la reacción alcanzar la temperatura ambiente en 2 horas (CCF: AcOEt/Hexano 90/10). Después de evaporar el disolvente, se disolvió el sólido en DCM y la solución se lavó con salmuera, la fase orgánica se secó con sulfato sódico y se concentró. Se purificó el sólido mediante cromatografía flash (eluyente: AcOEt/hexano 50/50). El sólido se trató con éter diisopropílico y se filtró para proporcionar 1,45 g del compuesto del título con un 72 % de rendimiento.

ESI MS: m/z 462 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9,36 (s, 1H), 4,46 (m, 4H), 3,40 (m, 4H), 1,76 (2s, 6H), 1,54 (m, 6H), 1,44 (2s, 9H, conformeros), 1,36 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

Ejemplo 10

3-[(4-Fluorobenzil)amino]-6,6-dimetil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-1(4H)-carboxilato de etilo clorhidrato

Se disolvió 3-[(4-fluorobenzil)amino]-6,6-dimetil-4,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-1,5-dicarboxilato de 5-*tert*-butilo 1-etilo (2,5 g, 5,59 mmol) en dioxano (50 mL) y se trató con HCl 4M en dioxano (28 mL, 20 eq). Se concentró la reacción después de 2 horas a 40 °C (CCF: CH₂Cl₂/MeOH 90/10) y se trató el residuo con éter dietílico, se filtró para proporcionar el compuesto del título (2,09 g) como un sólido con un 98 % de rendimiento.

ESI MS: m/z 347 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,28 (s, 1H), 8,06-8,11 (m, 2H), 7,28-7,34 (m, 2H), 4,40 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 3,92 (s, 2H), 1,42 (s, 6H), 1,33 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

Trabajando de forma análoga se prepararon los siguientes compuestos:

3-[(4-Fluorobenzil)amino]-6,6-dimetil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-2(4H)-carboxilato de etilo clorhidrato

ESI MS: m/z 347 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,92 (s, 1H), 9,89 (s, 1H), 8,02 (m, 2H), 7,49 (m, 2H), 4,61 (s, 2H), 4,51 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 1,69 (s, 6H), 1,39 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

3-[(4-Fluorobenzil)amino]-5,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-6-espirociclopropano-2(4H)-carboxilato de etilo clorhidrato

ESI MS: m/z 345 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,87 (bs, 1H), 10,00 (bs, 2H), 7,93-8,04 (m, 2H), 7,39-7,53 (m, 2H), 4,69 (bs, 2H), 4,41 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 1,68 (dd, 2H, J = 8,6 Hz, J = 6,1 Hz), 1,41 (dd, 2H, J = 8,6 Hz, J = 6,1 Hz), 1,33 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

Ejemplo 11

5-(2,2-Dimetilpropanoil)-3-[(4-fluorobenzil)amino]-6,6-dimetil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-1(4H)-carboxilato de etilo

Se trató 3-[(4-fluorobenzil)amino]-6,6-dimetil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]pirazol-1(4H)-carboxilato de etilo clorhidrato (2,0 g, 5,77 mmol) en diclorometano (70 mL) a 0 °C con N,N-diisopropietilamina (1,6 mL, 9,2 mmol, 1,6 eq) y con cloruro de pivaloilo (780 µL, 6,3 mmol, 1,1 eq). Se llevó la reacción a temperatura ambiente de forma gradual y se agitó durante una noche (CCF: CH₂Cl₂/AcOEt 90/10). Se lavó la solución con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y salmuera. La fase orgánica se secó con sulfato sódico, se evaporó y se purificó mediante cromatografía flash (eluyente: CH₂Cl₂/AcOEt 90/10) para rendir 2,03 g del compuesto del título con un 82 % de rendimiento.

ESI MS: m/z 431 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,51 (s, 1H), 8,05-8,14 (m, 2H), 7,23-7,37 (m, 2H), 4,90 (s, 2H), 4,42 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 1,80 (s, 6H), 1,33 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 1,22 (s, 9H).

Trabajando de forma análoga se preparó el siguiente compuesto:

5-(2,2-Dimetilpropanoil)-3-[(4-fluorobenzoil)amino]-5,6-dihidropirrol[3,4-c]pirazol-6-espirociclopropano-2(4H)-carboxilato de etiloESI MS: m/z 429 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,81 (bs, 1H), 7,96-8,04 (m, 2H), 7,38-7,48 (m, 2H), 5,10 (bs, 2H), 4,42 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 2,33 (dd, 2H, J = 6,8 Hz, J = 4,2 Hz), 1,32 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 1,22 (s, 9H), 0,90 (dd, 2H, J = 6,8 Hz, J = 4,2 Hz).

Ejemplo 12**N-[5-(2,2-dimetilpropanoil)-6,6-dimetil-1,4,5,6-tetrahidropirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-4-fluorobenzamida**

Se disolvió 5-(2,2-dimetilpropanoil)-3-[(4-fluorobenzoil)amino]-6,6-dimetil-5,6-dihidropirrol[3,4-c]pirazol-1(4H)-carboxilato de etilo (2,0 g, 4,64 mmol) en metanol (60 mL), se trató con TEA (6,45 mL, 46,4 mmol, 10 eq) y se agitó durante una noche a temperatura ambiente. (CCF: CH₂Cl₂/MeOH 95/5). Después de evaporar, se trató el sólido con éter dietílico/hexano y se filtró para rendir 1,43 g del compuesto del título con un 86 % de rendimiento.

ESI MS: m/z 359 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,41 (bs, 1H), 10,91 (bs, 1H), 7,98-8,11 (m, 2H), 7,20-7,44 (m, 2H), 4,66-4,92 (bs, 2H), 1,64 (s, 6H), 1,21 (s, 9H).

Trabajando de forma análoga se prepararon los siguientes compuestos:

N-[5-(2,2-dimetilpropanoil)-2,4,5,6-tetrahidropirrol[3,4-c]pirazol-6-espirociclopropan-3-il]-4-fluorobenzamidaESI MS: m/z 357 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,59-12,47 (bs, 1H), 10,94 (bs, 1H), 8,02-8,11 (m, 2H), 7,27-7,37 (m, 2H), 4,99 (s, 2H), 2,25 (dd, 2H, J = 6,5 Hz, J = 4,4 Hz), 1,20 (s, 9H), 0,79 (dd, 2H, J = 6,5 Hz, J = 4,4 Hz).

N-{6,6-dimetil-5-[(2R)-tetrahidrofuran-2-ilcarbonil]-1,4,5,6-tetrahidropirrol[3,4-c]pirazol-3-il}-4-fluorobenzamidaESI MS: m/z 373 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,49 (bs, 1H), 10,96 (bs, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,34 (m, 2H), 4,86 (m, 2H), 4,56 (t, 1H), 3,83 (m, 2H), 2,02 (m, 2H), 1,86 (m, 2H), 1,68 (s, 6H).

α_D +27,7 (c = 0,50, MeOH)**N-{6,6-dimetil-5-[(2S)-tetrahidrofuran-2-ilcarbonil]-1,4,5,6-tetrahidropirrol[3,4-c]pirazol-3-il}-4-fluorobenzamida**ESI MS: m/z 373 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,49 (bs, 1H), 10,96 (bs, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,34 (m, 2H), 4,86 (m, 2H), 4,56 (t, 1H), 3,83 (m, 2H), 2,02 (m, 2H), 1,86 (m, 2H), 1,68 (s, 6H).

α_D -25,9 (c = 0,76, MeOH)**Ejemplo 13****Éster metílico del ácido 4-(1-metil-piperidin-4-iloxi)-benzoico**

A una solución de 1-metil-piperidin-4-ol (6,8 g, 59 mmol), PPh₃ (trifenilfosfina, 15,5 g, 59 mmol) y éster metílico del ácido 4-hidroxibenzoico (6 g, 39 mmol) en THF (150 mL) a 0 °C, se añadió lentamente azodicarboxilato de dietilo (9,5 mL, 59 mmol) en THF (30 mL). Se dejó calentar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante un periodo de 24 horas. Se lavó la solución con acetato de etilo (3 × 250 mL), se alcalinizó con NH₄OH (pH ~ 8) y se extrajo con diclorometano (3 × 250 mL). Los extractos combinados de diclorometano se lavaron con salmuera, se secaron y se evaporaron para dar un aceite que se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílica utilizando diclorometano:MeOH (90:10) como eluyente, para dar el compuesto del título como un aceite amarillo (7,4 g, 75 %).

ESI MS: m/z 250 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,7 (m, 2H), 2,0 (m, 2H), 2,2 (m, 5H), 2,7 (m, 2H), 3,8 (s, 3H), 4,5 (m, 1H), 7,1 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,9 (d, J = 9,0 Hz, 2H).

Ejemplo 14

Ácido 4-(1-metil-piperidin-4-iloxi)benzoico, clorhidrato

Se disolvió éster metílico del ácido 4-(1-metil-piperidin-4-iloxi)-benzoico (7,3 g, 29 mmol) en HCl acuoso 6N (220 mL). Después de calentar a 85 °C durante 6 horas, se eliminó el disolvente bajo vacío. Se recogió el residuo con agua y se evaporó dos veces para posteriormente recogerlo con acetona dos veces más. El sólido obtenido se trituró finalmente con acetona para dar la sal de clorhidrato como un polvo blanco (6,4 g, 80 % rendimiento).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 2,0 (m, 4H), 2,8 (m, 3H), 3,3 (m, 4H), 4,7 (m, 1H), 7,1 (m, 2H), 7,9 (m, 2H), 9,9 (d, J = 20,4 Hz, 1H), 12,6 (s, 1H).

Ejemplo 15

Éster etílico del ácido 4-(4-hidroxi-piperidin-1-il)benzoico

Se calentó a 120 °C durante 6 horas una mezcla de éster etílico del ácido 4-fluoro-benzoico (1,68 g, 10 mmol), piperidin-4-ol (1,12 g, 11 mmol) y carbonato potásico anhidro (1,38 g, 10 mmol) en DMSO (10 mL). Después de enfriar, se vertió la mezcla en agua y hielo (500 mL) y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó y evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice utilizando hexano/AcOEt (10/30) como eluyente para dar el compuesto del título como un sólido blanco (1,6 g, 64 %).

ESI MS: m/z 250 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,3 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,4 (m, 2H), 1,8 (m, 2H), 3,0 (m, 2H), 3,7 (m, 2H), 4,2 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 4,7 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 6,9 (m, 2H), 7,7 (m, 2H).

Ejemplo 16

Éster etílico del ácido 4-(4-fluoro-piperidin-1-il)benzoico

A una solución de éster etílico del ácido 4-(4-hidroxi-piperidin-1-il)benzoico (1,25 g, 5 mmol) en diclorometano seco (30 mL) a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno, se añadió lentamente DAST (0,97 g, 6 mmol) en diclorometano (5 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y se extinguió con NaHCO₃ acuoso. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó y evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice utilizando hexano/AcOEt (70/30) como eluyente para dar el compuesto del título como un sólido blanco (0,7 g, 56 %).

ESI MS: m/z 252 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,3 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,8 (m, 2H), 2,0 (m, 2H), 3,3 (m, 2H), 3,6 (m, 2H), 4,2 (s, 2H), 4,8 (s, 1H), 7,0 (s, 2H), 7,8 (s, 2H).

Ejemplo 17

Ácido 4-(4-fluoro-piperidin-1-il)benzoico

Se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas una mezcla de éster etílico del ácido 4-(4-fluoro-piperidin-1-il)benzoico (0,7 g, 2,7 mmol) en etanol (50 mL) y una solución de hidróxido sódico 2N (20 mL). Se evaporó entonces el etanol, se diluyó la solución con agua (20 mL) y se neutralizó con HCl 2N. El ácido se separó como un sólido blanco el cuál se lavó con agua y se secó bajo vacío (0,52 g, 82 %).

ESI MS: m/z 224 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,8 (m, 2H), 2,0 (m, 2H), 3,3 (m, 2H), 3,5 (m, 2H), 5,0 (s, 1H), 7,0 (s, 2H), 7,8 (s, 2H), 12,2 (s, 1H).

Trabajando de la forma descrita en el ejemplo previo, esto es, utilizando cualquier material de partida adecuado y cualquier reactivo adecuado de acuerdo con los procedimientos descritos previamente, se prepararon compuestos adicionales de fórmula (Ia) y (Ib), tal y como se informa en la siguiente tabla III. Ver el "método general" al principio de la sección experimental para notas aclaratorias del sistema de codificación para la identificación de cada compuesto específico de fórmula (Ia) y (Ib).

Tabla III

A12M1B21.HCO ₂ H	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 0,9 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 1,2 (s, 3H), 1,5 (m, 2H), 1,7 (s, 6H), 2,2 (m, 12H), 4,7 (s, 2H) 8,2 (s, 1H), 10,4 (s, 1H) 12,3 (s, 1H)
A01M1B21.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): (mezcla de dos conformeros) δppm 1,29 (s, 3H), 1,38 (s, 3H), 1,65 (m, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,73 (s, 3H), 1,95 (d, J = 14,0 Hz, 2H), 2,08 (m, 2H), 2,46 (d, J = 14,0 Hz, 2H), 2,74 (d, J = 5,0 Hz, 3H), 2,79 (d, J = 5,0 Hz, 3H), 2,87 (m, 2H), 3,13 (m, 2H), 3,3-3,5 (m, 4H), 4,86 (s, 4H), 7,35 (t, J = 8,9 Hz, 4H), 8,09 (dd, J = 8,9, 5,5 Hz, 4H), 9,5 (bs, 1H), 9,7 (bs, 1H), 11,01 (s, 1H) 11,03 (s, 1H), 12-13 (bs, 2H).

5 **Ejemplo 18****N-{6,6-dimetil-5-[(1-metilpiperidin-4-il)carbonil]-2,4,5,6-tetrahidropirrol-3,4-c}pirazol-3-il-4-fluorobenzamida**

Se trató 3-[(4-fluorobenzoyl)amino]-6,6-dimetil-5,6-dihidropirrol-3,4-c}pirazol-1(4H)-carboxilato de etilo clorhidrato (0,5 g, 1,3 mmol) en diclorometano (25 mL) con N,N-diisopropiletilamina (1,13 mL, 6,5 mmol, 5 eq) y TBTU (0,542 g, 1,69 mmol, 1,3 eq) a temperatura ambiente durante 1 hora y a continuación se añadió ácido 1-metil-piperidina-4-carboxílico clorhidrato (0,29 g, 1,61 mmol, 1,2 eq). Se agitó la reacción durante una noche (CCF: CH₂Cl₂/MeOH 90/10). Se lavó la solución con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y salmuera, se secó la fase orgánica con sulfato sódico y se concentró. Se disolvió el residuo en metanol (16 mL), se trató con TEA (2 mL, 14,3 mmol, 11 eq) y se agitó durante una noche a temperatura ambiente. (CCF: CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 90/10/1). Después de evaporar, se purificó el sólido mediante cromatografía flash (eluyente: CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 90/10/2). Se trató el sólido con éter diisopropílico y se filtró para rendir 0,36 g del compuesto del título con un rendimiento del 69 %.

ESI MS: m/z 400 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,48 (bs, 1H), 10,97 (bs, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,35 (m, 2H), 4,75 (bs, 2H), 2,87 (m, 2H), 2,40 (m, 1H), 2,24 (s, 3H), 2,05 (m, 2H), 1,67 (m, 10H).

Trabajando de forma análoga se preparó el siguiente compuesto:

N-[5-[(1-metilpiperidin-4-il)carbonil]-2,4,5,6-tetrahidropirrol-3,4-c}pirazol-6-espirociclopropan-3-il]-4-fluorobenzamida

ESI MS: m/z 398 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,20 (bs, 1H), 11,00 (s, 1H), 8,10 (m, 2H), 7,36 (m, 2H), 4,91 (s, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,40 (m, 1H), 2,23 (m, 5H), 2,0 (m, 2H), 1,65 (m, 4H), 0,89 (m, 2H).

Trabajando de forma análoga y utilizando el producto de partida y cualquier reactivo adecuados, de acuerdo con los procedimientos mencionados anteriormente, se prepararon los compuestos adicionales de fórmula (Ia) y (Ib), tal y como se informa en la siguiente tabla IV.

40 **Tabla IV**

A01M1B03.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 11,02 (s, 1H), 9,56 (bs, 1H), 8,11 (m, 2H), 7,36 (m, 2H), 4,80 (bs, 2H), 3,43 (m, 2H), 3,07 (m, 2H), 2,75 (d, 3H), 2,69 (m, 1H), 1,94 (m, 4H), 1,67 (m, 6H).
A02M1B03.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 1,68 (m, 6H), 1,93 (m, 4H), 2,74 (m, 4H), 3,07 (m, 2H), 3,42 (m, 2H), 4,81 (s, 2H), 7,46 (m, 1H) 7,59 (td, J = 7,96, 5,91 Hz, 1H), 7,82 (ddd, J = 10,00, 2,32, 1,59 Hz, 1H), 7,87 (dt, J = 7,90, 1,11 Hz, 1H), 9,49 (s, 1H), 11,09 (s, 1H).
A03M1B03.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 1,69 (m, 6H), 1,93 (m, 4H), 2,74 (m, 4H), 3,02 (m, 2H), 3,34 (m, 2H), 4,79 (s, 2H), 7,40 (m, 1H) 7,53 (m, 1H), 7,60 (m, 1H), 9,48 (s, 1H), 11,11 (s, 1H).
A04M1B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,48 (bs, 1H), 10,93 (s, 1H), 7,75 (m, 1H), 7,40 (m, 1H), 7,22 (m, 1H), 4,75 (bs, 2H), 2,85 (m, 2H), 2,38 (m, 1H), 2,21 (bs, 3H), 2,01 (m, 2H), 1,67 (m, 10H).

ES 2 605 848 T3

A05M1B03.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,6 (bs, 1H) 11,19 (s, 1H), 9,49 (bs, 1H), 7,72 (m, 2H), 7,51 (m, 1H), 4,80 (bs, 2H), 3,46 (m, 2H), 3,06 (m, 2H), 2,76 (bd, 3H), 2,71 (m, 1H), 1,97 (m, 2H), 1,81 (m, 2H), 1,67 (s, 6H).
A06M1B03.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,55 (bs, 1H) 11,06 (s, 1H), 9,66 (bs, 1H), 8,02 (m, 2H), 7,63 (m, 2H), 4,81 (s, 2H), 3,4 (m, 2H), 3,01 (m, 2H), 2,75 (bs, 3H), 2,68 (m, 1H), 1,95 (m, 2H), 1,84 (m, 2H), 1,67 (s, 6H).
A07M1B03.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,60 (bs, 1H), 11,25 (s, 1H), 9,50 (bs, 1H), 8,19 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,92 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 4,83 (s, 2H), 3,4 (m, 2H), 3,01 (m, 2H), 2,78 (bd, 3H), 2,75 (m, 1H), 1,9 (m, 2H), 1,8 (m, 2H), 1,67 (s, 6H).
A12M1B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,29 (bs, 1H), 10,40 (s, 1H), 4,65 (s, 2H), 2,86 (m, 2H), 2,35 (m, 1H), 2,22 (bs, 3H), 2,17 (d, J = 7,07 Hz, 2H), 2,02 (m, 3H), 1,64 (m, 10H), 0,92 (d, J = 6,6 Hz, 6H).
A12M1B03.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,29 (s, 1H), 10,41 (bs, 1H), 9,57 (s, 1H), 4,71 (s, 2H), 3,46 (m, 2H), 3,07 (m, 2H), 2,75 (bd, 3H), 2,69 (m, 1H), 2,17 (d, J = 6,95 Hz, 2H), 2,04 (m, 1H), 1,67 (s, 6H), 0,92 (d, J = 6,7 Hz, 6H).
A13M1B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,29 (bs, 1H), 10,27 (s, 1H), 4,69 (s, 2H), 3,35 (m, 1H), 2,87 (m, 2H), 2,38 (m, 1H), 2,24 (bs, 3H), 2,20 (m, 6H), 2,07 (m, 2H), 1,63 (m, 10H).
A13M1B03.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,34 (bs, 1H), 10,30 (s, 1H), 9,48 (bs, 1H), 4,75 (s, 2H), 3,47 (m, 2H), 3,31 (m, 1H), 3,09 (m, 2H), 2,75 (bd, 3H), 2,70 (m, 1H), 2,23-1,76 (m, 10H), 1,64 (s, 6H).
A13M1B03.CH ₃ SO ₃ H	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,33 (bs, 1H), 10,31 (s, 1H), 9,21 (bs, 1H), 4,75 (s, 2H), 3,44 (m, 2H), 3,24 (m, 1H), 3,09 (m, 2H), 2,78 (bd, 3H), 2,72 (m, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,23-1,72 (m, 10H), 1,64 (s, 6H).
A14M1B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,30 (bs, 1H), 10,72 (s, 1H), 4,63 (s, 2H), 2,86 (m, 2H), 2,34 (m, 1H), 2,23 (bs, 3H), 2,04 (m, 2H), 1,83 (m, 1H), 1,63 (m, 10H), 0,79 (m, 4H).
A22M1B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,44 (bs, 1H), 11,12 (s, 1H), 8,25 (m, 1H), 8,09 (m, 1H), 8,03 (m, 1H), 7,75 (m, 1H), 7,60 (m, 3H), 4,82 (bs, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,38 (m, 1H), 2,19 (s, 3H), 1,98 (m, 2H), 1,70 (m, 10H).
A23M1B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,51 (bs, 1H), 11,11 (s, 1H), 8,67 (bs, 1H), 8,07 (m, 4H), 7,66 (m, 2H), 4,80 (bs, 2H), 2,86 (m, 2H), 2,38 (m, 1H), 2,22 (s, 3H), 2,02 (m, 2H), 1,69 (m, 10H).
A24M1B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,11 (bs, 1H), 8,82 (s, 1H), 7,19 (m, 4H), 6,81 (m, 1H), 4,61 (s, 2H), 4,29 (d, J = 5,80 Hz, 2H), 2,85 (m, 2H), 2,33 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,03 (m, 2H), 1,63 (m, 10H).
A25M1B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,08 (bs, 1H), 8,85 (s, 1H), 7,30 (m, 5H), 6,91 (bs, 1H), 4,61 (s, 2H), 4,32 (d, J = 5,90 Hz, 2H), 2,86 (m, 2H), 2,35 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,05 (m, 2H), 1,63 (m, 10H).
A26M1B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,00 (bs, 1H), 8,67 (s, 1H), 6,45 (bs, 1H), 4,59 (s, 2H), 3,06 (m, 2H), 2,83 (m, 2H), 2,34 (m, 1H), 2,19 (s, 3H), 1,96 (m, 2H), 1,65 (m, 4H), 1,62 (s, 6H), 1,43 (m, 2H), 0,88 (t, 3H).
A27M1B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,25 (bs, 1H), 9,05 (s, 1H), 7,45 (m, 1H), 7,33 (m, 1H), 7,13 (m, 1H), 6,81 (m, 1H), 4,68 (s, 2H), 2,89 (m, 2H), 2,40 (m, 1H), 2,26 (s, 3H), 2,1 (m, 2H), 1,65 (m, 10H).
A30M1B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 12,48 (bs, 1H), 10,93 (bs, 1H), 8,0 (m, 2H), 7,61 (m, 1H), 7,51 (m, 2H), 4,76 (bs, 2H), 2,86 (m, 2H), 2,38 (m, 1H), 2,23 (bs, 3H), 2,03 (m, 2H), 1,67 (m, 10H).
A01M1B04.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm 1,24 (t, J = 7,32 Hz, 3H), 1,69 (s, 6H), 1,98 (m, 4H), 2,78 (m, 1H), 3,09 (dd, J = 7,32, 5,00 Hz, 4H), 3,50 (d, J = 11,71 Hz, 2H), 4,80 (s, 2H), 7,36 (t, J = 8,78 Hz, 2H), 8,09 (m, 2H), 9,30 (s, 1H), 11,01 (s, 1H), 12,56 (s, 1H).

ES 2 605 848 T3

A03M1B04.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm1,24 (t, J = 7,32 Hz, 3H), 1,69 (s, 6H), 1,91 (m, 4H), 2,77 (m, 1H), 3,31 (m, 6H), 4,80 (s, 2H), 7,61 (m, 1H), 7,91 (m, 1H), 8,07 (m, 1H), 9,24 (s, 1H), 11,11 (s, 1H), 12,59 (s, 1H).
A12M01B04.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm0,92 (d, J = 6,58 Hz, 6H), 1,24 (t, J = 7,26 Hz, 3H), 1,65 (s, 6H), 1,88 (m, 4H), 2,06 (m, 1H), 2,17 (d, J = 7,07 Hz, 2H), 2,70 (m, 1H), 3,23 (m, 6H), 4,72 (s, 2H), 9,32 (s, 1H), 10,41 (s, 1H), 12,34 (s, 1H).
A13M01B04.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm1,25 (t, J = 7,32 Hz, 3H), 1,65 (s, 6H), 2,03 (m, 10H), 2,77 (m, 1H), 3,28 (m, 7H), 4,75 (s, 2H), 9,31 (s, 1H), 10,30 (s, 1H), 12,35 (s, 1H).
A27M01B04.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm1,24 (t, J = 7,32 Hz, 3H), 1,66 (s, 6H), 1,89 (m, 4H), 2,75 (s, 1H), 3,18 (m, 6H), 4,73 (s, 2H), 6,80 (m, 1H), 7,08 (ddd, J = 8,17, 1,95, 0,73 Hz, 1H), 7,32 (td, J = 8,17, 6,95 Hz, 1H), 7,52 (dt, J = 11,89, 2,35 Hz, 1H), 9,10 (s, 1H), 9,22 (s, 1H), 9,27 (s, 1H), 12,24 (s, 1H).
A01M1B05	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,48 (bs, 1H), 10,97 (s, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,35 (m, 2H), 4,75 (s, 2H), 3,00 (m, 2H), 2,44 (m, 1H), 2,24 (m, 2H), 1,8-1,5 (m, 5H), 1,67 (s, 6H), 0,38 (m, 4H).
A03M1B05.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm0,82 (m, 2H), 0,99 (s, 2H), 1,68 (s, 6H), 1,91 (m, 4H), 2,79 (m, 1H), 3,38 (m, 5H), 4,81 (s, 2H), 7,62 (m, 1H), 7,92 (ddd, J = 8,72, 4,27, 1,40 Hz, 1H), 8,08 (ddd, J = 11,52, 7,80, 2,13 Hz, 1H), 9,14 (s, 1H), 11,12 (s, 1H), 12,57 (s, 1H).
A12M1B05.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm0,82 (m, 2H), 0,93 (d, J = 6,58 Hz, 6H), 1,00 (s, 2H), 1,65 (s, 6H), 1,90 (m, 4H), 2,06 (m, 1H), 2,17 (d, J = 7,07 Hz, 2H), 2,76 (m, 1H), 3,36 (m, 5H), 4,73 (s, 2H), 9,20 (s, 1H), 10,41 (s, 1H), 12,35 (s, 1H).
A13M1B05.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm0,82 (m, 2H), 1,01 (s, 2H), 1,65 (s, 6H), 2,01 (m, 10H), 2,78 (m, 1H), 3,33 (m, 6H), 4,77 (s, 2H), 9,23 (s, 1H), 10,30 (s, 1H), 12,25 (s, 1H).
A27M1B05.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm0,82 (q, J = 6,87 Hz, 2H), 1,00 (m, 2H), 1,66 (s, 6H), 1,88 (m, 4H), 2,77 (m, 1H), 3,40 (m, 5H), 4,75 (s, 2H), 6,81 (m, 1H), 7,09 (ddd, J = 8,11, 1,95, 0,79 Hz, 1H), 7,32 (td, J = 8,20, 7,01 Hz, 1H), 7,52 (dt, J = 11,77, 2,23 Hz, 1H), 9,10 (s, 1H), 9,17 (m, 1H), 9,21 (s, 1H), 12,99 (s, 1H).
A01M1B06.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm1,68 (s, 6H), 1,80 (m, 4H), 2,81 (m, 1H), 3,01 (m, 2H), 3,38 (m, 2H), 4,78 (s, 2H), 7,36 (t, J = 8,84 Hz, 2H), 8,09 (dd, J = 8,96, 5,43 Hz, 2H), 8,35 (m, 1H), 8,62 (d, J = 9,88 Hz, 1H), 11,00 (s, 1H), 12,52 (s, 1H).
A03M1B06.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm1,68 (s, 6H), 1,83 (m, 4H), 2,80 (m, 1H), 3,00 (m, 2H), 3,37 (m, 2H), 4,78 (s, 2H), 7,61 (m, 1H), 7,92 (m, 1H), 8,07 (ddd, J = 11,49, 7,83, 2,13 Hz, 1H), 8,45 (m, 2H), 11,11 (s, 1H), 12,57 (s, 1H).
A01M2B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,20 (bs, 1H), 11,00 (s, 1H), 8,10 (m, 2H), 7,36 (m, 2H), 4,91 (s, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,4 (m, 1H), 2,23 (m, 5H), 2,0 (m, 2H), 1,65 (m, 4H), 0,89 (m, 2H).
A04M2B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,24 (bs, 1H), 10,91 (s, 1H), 7,75 (m, 1H), 7,41 (m, 1H), 7,22 (m, 1H), 4,91 (s, 2H), 2,79 (m, 2H), 2,34 (m, 1H), 2,24 (m, 2H), 2,16 (s, 3H), 1,91 (m, 2H), 1,65 (m, 4H), 0,89 (m, 2H).
A05M2B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,31 (bs, 1H), 11,16 (s, 1H), 7,75 (m, 2H), 7,51 (m, 1H), 4,91 (s, 2H), 2,79 (m, 2H), 2,35 (m, 1H), 2,25 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 1,90 (m, 2H), 1,65 (m, 4H), 0,90 (m, 2H).
A06M2B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,45 (bs, 1H), 11,06 (s, 1H), 8,03 (m, 2H), 7,61 (m, 2H), 4,91 (s, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,41 (m, 1H), 2,21 (m, 5H), 2,0 (m, 2H), 1,65 (m, 4H), 0,89 (m, 2H).
A07M2B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,30 (bs, 1H), 11,25 (s, 1H), 8,20 (m, 2H), 7,92 (m, 2H), 4,94 (s, 2H), 2,95 (m, 2H), 2,45 (m, 1H), 2,27 (m, 2H), 2,2 (m, 2H), 1,73 (m, 4H), 0,91 (m, 2H).
A12M2B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,06 (bs, 1H), 10,04 (s, 1H), 4,82 (s, 2H), 2,85 (m, 2H), 2,34 (m, 1H), 2,22 (m, 7H), 2,05 (m, 3H), 1,65 (m, 4H), 0,93 (d, J = 6,58 Hz, 6H),

	0,85 (m, 2H).
A13M2B03	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,04 (bs, 1H), 10,08 (s, 1H), 4,85 (s, 2H), 3,25 (m, 1H), 2,85 (m, 2H), 2,39 (m, 1H), 2,25-1,75 (m, 13H), 1,67 (m, 4H), 0,85 (m, 2H).
A01M2B04	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,45 (bs, 1H), 11,00 (s, 1H), 8,10 (m, 2H), 7,36 (m, 2H), 4,91 (s, 2H), 2,95 (m, 2H), 2,42 (m, 3H), 2,24 (m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,7 (m, 4H), 1,02 (t, 3H), 0,89 (m, 2H).
A04M2B04	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,23 (bs, 1H), 10,91 (s, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,41 (m, 1H), 7,22 (m, 1H), 4,91 (s, 2H), 2,91 (m, 2H), 2,35 (m, 3H), 2,24 (m, 2H), 1,91 (m, 2H), 1,65 (m, 4H), 1,00 (t, 3H), 0,89 (m, 2H).
A05M2B04	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,31 (bs, 1H), 11,61 (s, 1H), 7,75 (m, 2H), 7,54 (m, 1H), 4,92 (s, 2H), 2,92 (m, 2H), 2,35 (m, 3H), 2,25 (m, 2H), 1,92 (m, 2H), 1,65 (m, 4H), 1,01 (t, 3H), 0,90 (m, 2H).
A06M2B04	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,25 (bs, 1H), 11,05 (s, 1H), 8,03 (m, 2H), 7,6 (m, 2H), 4,91 (s, 2H), 2,90 (m, 2H), 2,45-2,20 (m, 5H), 1,85 (m, 2H), 1,67 (m, 4H), 1,02 (t, 3H), 0,89 (m, 2H).
A07M2B04	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,31 (bs, 1H), 11,34 (s, 1H), 8,20 (m, 2H), 7,91 (m, 2H), 4,95 (s, 2H), 3,15-1,5 (m, 13H), 1,06 (t, 3H), 0,91 (m, 2H).
A13M2B04	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,04 (bs, 1H), 10,27 (s, 1H), 4,86 (s, 2H), 2,89 (m, 2H), 2,45-1,75 (m, 14H), 1,65 (m, 4H), 1,00 (t, 3H), 0,85 (m, 2H).
A14M2B04	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,05 (bs, 1H), 10,71 (s, 1H), 4,79 (s, 2H), 2,88 (m, 2H), 2,31 (m, 3H), 2,21 (m, 2H), 1,89 (m, 3H), 1,62 (m, 4H), 0,99 (t, 3H), 0,82 (m, 6H).
A01M2B05	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,25 (bs, 1H), 11,00 (s, 1H), 8,11 (m, 2H), 7,36 (m, 2H), 4,92 (s, 2H), 3,00 (m, 2H), 2,44 (m, 1H), 2,24 (m, 4H), 1,6 (m, 5H), 0,89 (m, 2H), 0,38 (m, 4H).
A06M2B05	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,3 (bs, 1H), 11,06 (s, 1H), 8,05 (m, 2H), 7,6 (m, 2H), 4,92 (s, 2H), 3,00 (m, 2H), 2,44 (m, 1H), 2,24 (m, 4H), 1,62 (m, 5H), 0,89 (m, 2H), 0,39 (m, 4H).
A07M2B05	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm12,3 (bs, 1H), 11,24 (s, 1H), 8,21 (m, 2H), 7,9 (m, 2H), 4,94 (s, 2H), 2,99 (m, 2H), 2,44 (m, 1H), 2,25 (m, 4H), 1,59 (m, 5H), 0,89 (m, 2H), 0,37 (m, 4H).
A01M2B06.HCl	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆): δppm0,92 (m, 2H), 1,78 (m, 4H), 2,24 (m, 2H), 2,81 (m, 1H), 3,01 (m, 2H), 3,38 (m, 2H), 4,95 (s, 2H), 7,37 (t, J = 8,84 Hz, 2H), 8,10 (dd, J = 8,96, 5,43 Hz, 2H), 8,35 (m, 1H), 8,65 (d, J = 9,88 Hz, 1H), 11,00 (s, 1H), 12,52 (s, 1H).

Ejemplo 19

5 N-{6,6-dimetil-5-[(4-metilpiperazin-1-il)carbonil]-2,4,5,6-tetrahidropirrol-3,4-c}pirazol-3-il}-4-fluorobenzamida

Se añadió a una solución de trifosgeno (195 mg, 0,65 mmol, 0,56 eq) en DCM (15 mL), una solución de 3-[(4-fluorobencil)amino]-6,6-dimetil-5,6-dihidropirrol-3,4-c}pirazol-2(4H)-carboxilato de etilo clorhidrato (442 mg, 1,15 mmol) en DCM (30 mL) seguida de N,N-diisopropiletilamina (760 µL, 4,31 mmol, 3,75 eq). Después de 3 horas se añadió una solución de N-metilpiperazina (195 µL, 1,72 mmol, 1,5 eq) y diisopropiletilamina (300 µL, 1,72 mmol, 1,5 eq) en DCM (8 mL). Se agitó la reacción durante una noche a temperatura ambiente (CCF: CH₂Cl₂/MeOH 90/10). Se lavó la solución con salmuera, se secó la fase orgánica con sulfato sódico y se concentró. Se disolvió el residuo en metanol (16 mL), se trató con TEA (1,6 mL, 11,5 mmol, 10 eq) y se agitó durante una noche a temperatura ambiente. (CCF: CH₂Cl₂/MeOH 90/10). El sólido se trató con éter diisopropílico y se filtró para rendir 0,294 g del título del compuesto con un 64 % de rendimiento.

ESI MS: m/z 401 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,39 (bs, 1H), 10,39 (s, 1H), 8,04 (m, Ar, 2H), 7,31 (m, 2H), 4,53 (bs, 2H), 3,04 (m, 4H), 2,40 (m, 4H), 2,22 (bs, 3H), 1,60 (bs, 6H).

Trabajando de forma análoga se prepararon los siguientes compuestos:

N-[5-[(4-metilpiperazin-1-il)carbonil]-2,4,5,6-tetrahidropirrol-3-il]-4-fluorobenzamida

ESI MS: m/z 399 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,19 (bs, 1H), 10,95 (s, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,35 (m, 2H), 4,70 (bs, 2H), 3,18 (m, 4H), 2,34 (m, 7H), 1,92 (m, 2H), 0,97 (m, 2H).

Ejemplo 20

4-Cloro-N-[6,6-dimetil-5-(4-pirrolidin-1-ilmetil-piperidin-1-carbonil)-1,4,5,6-tetrahidropirrol-3-il]benzamida, clorhidrato

Se calentó a 150 °C durante 15 minutos en un horno de microondas una mezcla de N-[5-(4-aminometil-piperidina-1-carbonil)-6,6-dimetil-2,4,5,6-tetrahidropirrol-3-il]-4-cloro-benzamida (310 mg, 0,7 mmol), 1,4-dibromobutano (92 µL, 0,7 mmol) y NaHCO₃ (600 mg, 7 mmol) en etanol absoluto (15 mL). Se evaporó la solución después de enfriar. Se recogió el residuo con diclorometano/MeOH (90:10) y agua, se filtró la suspensión obtenida y la fase orgánica se evaporó a sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía flash con diclorometano/MeOH/NH₄OH aq. 30 % (95/5/0,5). Se obtuvo el producto con un rendimiento del 20 % (71 mg).

El compuesto se disolvió en metanol (3 mL), se añadió una solución de HCl 4N en dioxano (40 µL, 0,61 mmol) y a continuación se evaporó la solución. Se trituró el sólido obtenido en éter para dar la sal de clorhidrato del título como un polvo blanco.

ESI MS: m/z 485 (MH⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,24 (m, 2H), 1,63 (s, 6H), 1,92 (m, 7H), 2,67 (t, J = 11,83 Hz, 2H), 3,01 (m, 2H), 3,09 (t, J = 6,46 Hz, 2H), 3,47 (m, 4H), 4,56 (s, 2H), 7,59 (d, J = 8,54 Hz, 2H), 8,01 (d, J = 8,66 Hz, 2H), 9,49 (s, 1H), 11,02 (s, 1H), 12,50 (s, 1H).

Ejemplo 21

Varios compuestos de la invención de fórmula (Ia) y (Ib), preparados como se ha descrito previamente, se caracterizaron mediante técnicas de HPLC/Masas, por tanto, mediante el tiempo de retención (t.r.) y la masa [M+H]⁺.

Se informa de las condiciones operativas a continuación:

Método 1 HPLC/MS

El equipamiento de HPLC consistió en un sistema HPLC Waters 2790 equipado con un detector PDA Waters 996 y un espectrómetro de masas de cuadrupolo simple Micromass mod. ZQ, equipado con una fuente de iones de electrospray (ESI). El control de los instrumentos, adquisición y procesamiento de datos se realizó con el software Millennium 4.0 y MassLynx 3.5.

Los ensayos de HPLC se llevaron a cabo a 25 °C con un flujo de 1 mL/min utilizando una columna RP18 Waters X Terra (4,6 × 50 mm, 3,5 µm). La fase móvil A fue tampón acetato amónico 5 mM (pH 5,5 con ácido acético/acetonitrilo 95:5), y la fase móvil B fue H₂O/acetonitrilo (5:95); el gradiente fue de 10 a 90 % en B en 8 minutos y se mantuvo al 90 % en B durante 2 minutos. El volumen de inyección fue de 10 µL.

Se operó el espectrómetro de masas en modo de ión positivo y negativo, el voltaje de capilaridad se ajustó a 2,5 kV; la temperatura de la fuente fue de 120 °C; el cono fue de 10 V; se estableció en barrido completo, con un rango de masas desde 100 a 800 amu.

Método 2 HPLC/MS

El equipamiento de HPLC consistió en un sistema HPLC Waters 2790 equipado con un detector PDA Waters 996 y un espectrómetro de masas de cuadrupolo simple Micromass mod. ZQ, equipado con una fuente de iones de electrospray (ESI). El control de los instrumentos, adquisición y procesamiento de datos se realizó con el software Millennium 4.0 y MassLynx 3.5.

Los ensayos de HPLC se llevaron a cabo a 25 °C con un flujo de 1 mL/min utilizando una columna RP18 Waters X Terra (4,6 × 50 mm, 3,5 µm). La fase móvil A fue tampón acetato amónico 5 mM (pH 5,5 con ácido acético/acetonitrilo 95:5), y la fase móvil B fue H₂O/acetonitrilo (5:95); el gradiente fue de 10 a 90 % en B en 4 minutos y se mantuvo al 90 % en B durante 1 minutos. El volumen de inyección fue de 10 µL.

Se operó el espectrómetro de masas en modo de ión positivo y negativo, el voltaje de capilaridad se ajustó a 2,5 kV; la temperatura de la fuente fue de 120 °C; el cono fue de 10 V; se estableció en barrido completo, con un rango de masas desde 100 a 800 amu.

5 Método 3 HPLC/MS

- Los espectros de masas se tomaron en un espectrómetro de masas de trampa de iones Finnigan LCQ utilizando la técnica de ionización de electrospray (ESI) con detección de ión positivo y negativo. Se conectó el espectrómetro de masas directamente a un sistema HPLC SSP4000 (Thermo Separation), equipado con un muestreador automático LcPal (CTC Analytics) y un detector de UV 6000LP PDA (Thermo Separation). El control de los instrumentos, adquisición y procesamiento de datos se realizó con el software Xcalibur 1.2. Los análisis de HPLC se llevaron a cabo a temperatura ambiente con un flujo de 1 mL/min en una columna RP C18 Waters X-Terra (4,6 × 50 mm, 3,5 µm).
- 15 La fase móvil A fue tampón acetato amónico 5 mM (pH 5,5 con ácido acético):acetonitrilo 90:10, y la fase móvil B fue tampón de acetato amónico 5 mM (pH 5,5 con ácido acético):acetonitrilo 10:90; el gradiente fue de 0 a 100 % en B en 7 minutos y se mantuvo al 100 % en B durante 2 minutos antes del reequilibrado. El tiempo total del ensayo fue de 12 minutos. El volumen de inyección fue de 10 µL. La detección de UV se llevó a cabo entre 215 y 400 nm.
- 20 Los iones se generaron bajo las siguientes condiciones: voltaje del spray ESI 4,0 kV, calentado a una temperatura de capilaridad de 255 °C, gas portador nitrógeno con una presión de 5,0 Bar. Se utilizó el modo de detección de barrido completo (desde 50 a 1000 amu) con un análisis de MS/MS del ión más intenso (normalización de la energía de colisión: 35 %).
- 25 Detección de UV: 215-400 nm.

Método 4 HPLC/MS

- El sistema HPLC utilizado (Alliance 2790, con muestreador automático termostatzado y válvula de desvío LabPro, detector de UV 2487 e interfaz satén, espectrómetro de masas ZQ con interfaz ESI) es un producto de Waters Inc., Milford, Massachusetts. El detector de nitrógeno quimioluminescente (CLND) mod. 8060 es un producto de ANTEK Instruments Inc., Houston, Texas. El procesador de líquido Miniprep 75 es un producto de Tecan Group Ltd., Maennedorf, Suiza.
- 35 Las condiciones cromatográficas utilizadas fueron las siguientes: el flujo se ajustó a 1 mL/min. Las dos fases móviles (fase móvil A: 0,1 % ácido fórmico, fase móvil B: 0,1 % ácido fórmico en metanol) se emplearon para un ensayo de 10 min de gradiente lineal desde 5 % en B hasta un 95 % en B, el cual se mantuvo durante 2 min, seguido de un reequilibrado a 5 % en B durante los siguientes 3 minutos. El tiempo del ensayo fue de 15 min. El volumen de inyección de 10 µL, el muestreador automático a una temperatura de 25 °C, longitud de onda de detección de 220 nm.
- 40

45

50

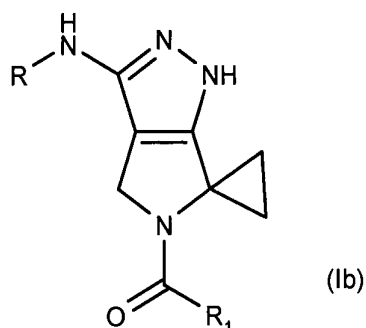
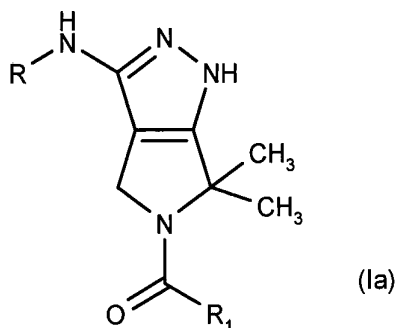
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib)

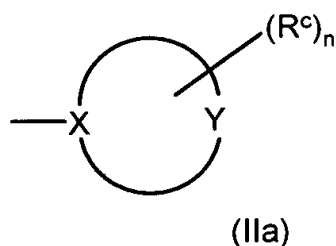


donde

R es un grupo $-\text{COR}^a$ o $-\text{CONHR}^a$, donde

R^a es un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ lineal o ramificado, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$, arilo y aril alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

R₁ es un grupo de fórmula (IIa):

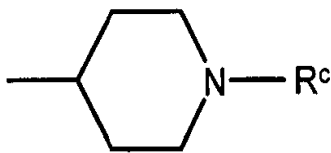
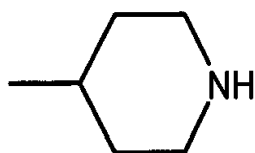


donde, en la fórmula (IIa), el ciclo representa un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros donde X, directamente unido al resto de la molécula, representa un átomo de carbono; Y es un átomo de nitrógeno o es un grupo NH;

R^c es un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ lineal o ramificado, y cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$; y n es 1;

y donde cualquiera de los grupos de R_a y R_c puede estar opcionalmente sustituido, en cualquiera de sus posiciones libres, por uno o varios grupos independientemente seleccionados entre: halógeno, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ polifluorado, arilo, hidroxilo, y alquilamino $\text{C}_1\text{-C}_6$.

2. Un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) de acuerdo con la reivindicación 1 donde R es como se define en la reivindicación 1 y R_1 es un grupo de fórmula (IIa) seleccionado entre:



donde R^c es como se define en la reivindicación 1.

3. Un compuesto de fórmula (Ia) de acuerdo con la reivindicación 1, donde R es un grupo $-\text{COR}^a$ con R^a como 4-fluorofenilo o ciclobutilo, y R_1 es como se define en la reivindicación 1.

4. Un compuesto de fórmula (Ia) de acuerdo con la reivindicación 1 donde R es como se define en la reivindicación 1 y R_1 es un grupo 1-metil-piperidil-4-ilo.

5. Un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) de acuerdo con la reivindicación 1, opcionalmente en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, seleccionado del grupo consistente en:

N-{6,6-dimetil-5-[(1-metilpiperidin-4-il)carbonil]-2,4,5,6-tetrahidropirrol[3,4-c]pirazol-3-il}-
ciclobutancarboxamida;

N-{6,6-dimetil-5-[(1-metilpiperidin-4-il)carbonil]-2,4,5,6-tetrahidropirrol[3,4-c]pirazol-3-il}-4-fluorobenzamida;
N-[5-[(1-metilpiperidin-4-il)carbonil]-2,4,5,6-tetrahidropirrol[3,4-c]pirazol-6-espirociclopropan-3-il]-4-fluorobenzamida;

4-cloro-N-[6,6-dimetil-5-(4-pirrolidin-1-ilmetil-piperidin-1-carbonil)-1,4,5,6-tetrahidro-pirrol[3,4-c]pirazol-3-il]-
benzamida.

6. El compuesto A13-M1-B03 de fórmula (Ia) de acuerdo con la reivindicación 1 donde R es un grupo $-COR^a$ con R^a como ciclobutilo y R_1 es un grupo de fórmula (IIa) correspondiente a 1-metil-piperidil-4-ilo, bien como tal o en forma de sal clorhidrato o mesilato.

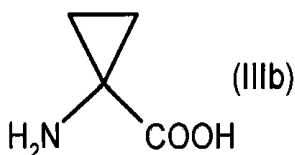
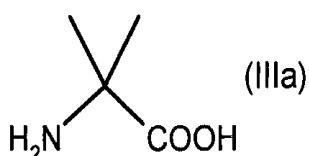
7. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib), como se define en la reivindicación 1, y al menos un excipiente, portador y/o diluyente farmacéuticamente aceptables.

8. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7 que comprende además uno o varios agentes quimioterapéuticos.

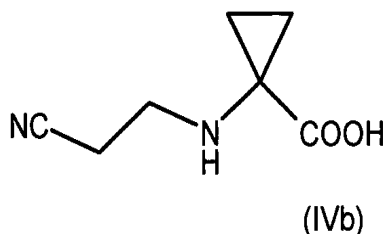
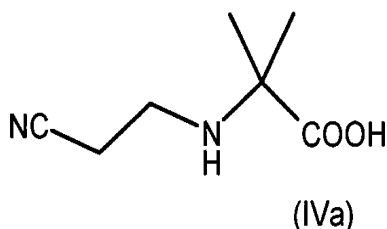
9. Un producto o kit que comprende un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib), como se define en la reivindicación 1 o una composición farmacéutica del mismo como se define en la reivindicación 7, y uno o varios agentes quimioterapéuticos, como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en terapia contra el cáncer.

10. Un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) como se define en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el cual comprende:

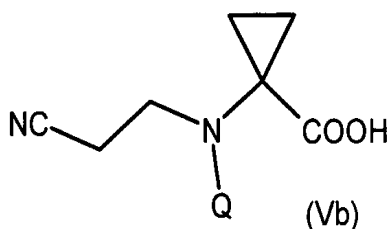
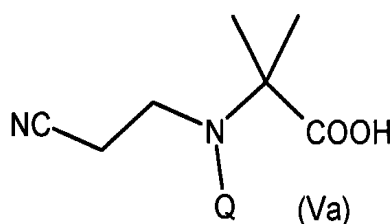
a) reacción de un compuesto de fórmula (IIIa) o (IIIb)



con acrilonitrilo para obtener el correspondiente derivado de fórmula (IVa) o (IVb)

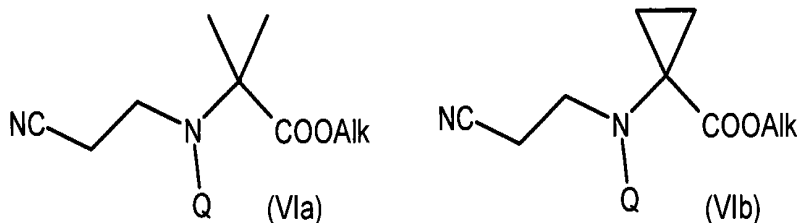


b) protección del grupo amino del compuesto de fórmula (IVa) o (IVb) para obtener el correspondiente derivado de fórmula (Va) o (Vb)



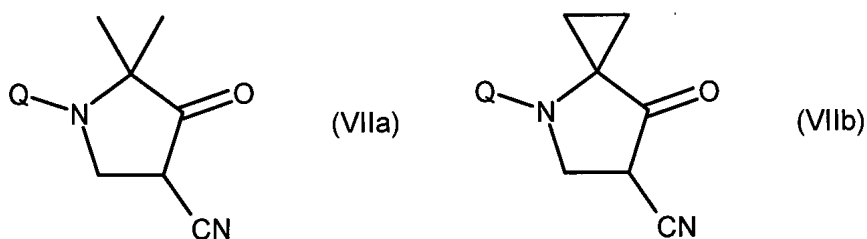
donde Q es un grupo protector de amino apropiado;

- 5 c) reacción del compuesto de fórmula (Va) o (Vb) con un agente alquilante apropiado, para obtener el correspondiente derivado de éster de fórmula (VIa) o (VIb)

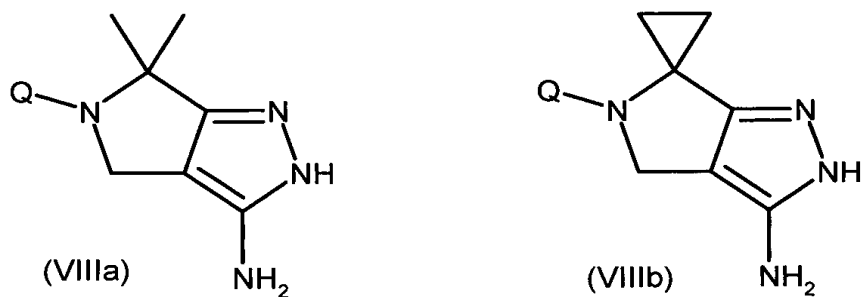


donde Alk representa un grupo alquilo C₁-C₄ apropiado;

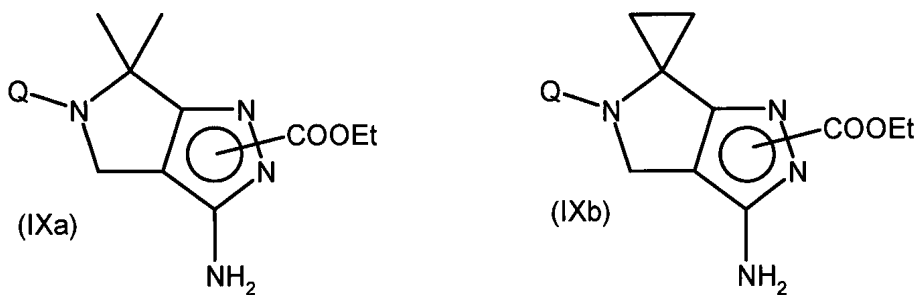
- 10 d) reacción del compuesto de fórmula (VIa) o (VIb) con hidruro sódico (NaH) para obtener el correspondiente derivado de fórmula (VIIa) o (VIIb)



- 15 e) reacción del compuesto de fórmula (VIIa) o (VIIb) con hidrato de hidrazina para obtener el compuesto de fórmula (VIIIa) o (VIIIb)



- 20 f) reacción del compuesto de fórmula (VIIIa) o (VIIIb) con cloroformiato de etilo para obtener el derivado de fórmula (IXa) o (IXb), cada uno en cualquiera de las dos formas regioisoméricas

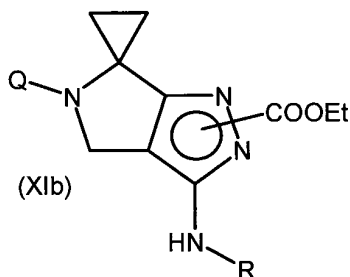
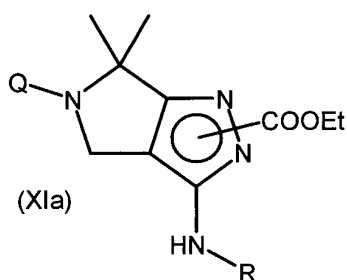


y reacción de los compuestos de fórmula (IXa) o (IXb) de acuerdo con cualquiera de las etapas alternativas (g.1) o (g.2)

g.1) con un compuesto de fórmula (X)



donde R^a es como se define en la reivindicación 1 y Z es un átomo de halógeno, para obtener el compuesto de fórmula (XIa) o (XIb)



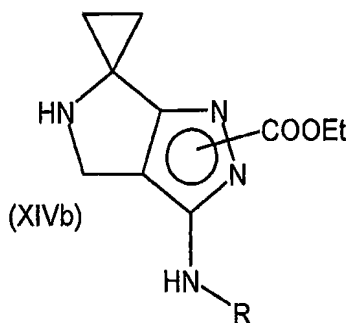
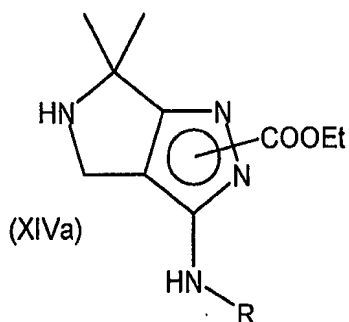
donde R es un grupo $-\text{COR}^a$;

g.2) con un compuesto de fórmula (XII)



donde R^a es como se define en la reivindicación 1, para obtener el compuesto de fórmula (XIa) o (XIb) donde R es un grupo $-\text{CONHR}^a$; o

h) desprotección del grupo amino del compuesto de fórmula (XIa) o (XIb) preparado de acuerdo con cualquiera de las etapas desde (g.1) hasta (g.2), para obtener el correspondiente derivado de fórmula (XIVa) o (XIVb)

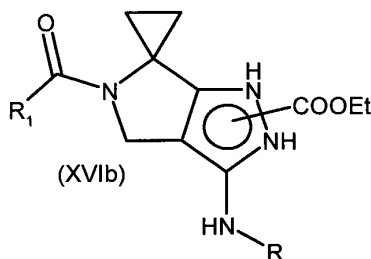
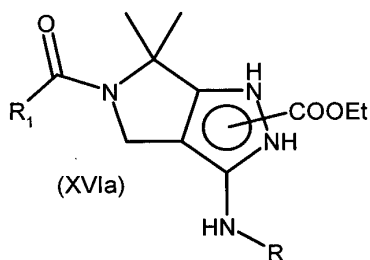


donde R se define arriba; y reacción del compuesto de fórmula (XIVa) o (XIVb) de acuerdo con cualquiera de las etapas alternativas (i.1) o (i.3)

i.1) con un derivado acil haluro de fórmula (XV)



donde R_1 es como se indica en la reivindicación 1 bajo el grupo (IIa) con X como átomo de carbono, y Z es un átomo de halógeno, para obtener el compuesto de fórmula (XVIa) o (XVIb)



donde R y R₁ son como se define arriba;
i.3) con un ácido carboxílico de fórmula (XIX) en presencia de un agente de condensación apropiado



para obtener el compuesto de fórmula (XVIa) o (XVIb) donde R₁ es un grupo de fórmula (IIa) con X como átomo de carbono y R, Y, R^c y n son como se define arriba;

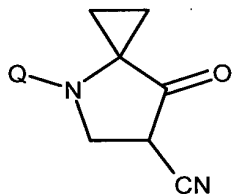
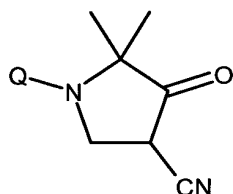
j) reacción del compuesto de fórmula (XVIa) o (XVIb) preparado de acuerdo con cualquiera de las etapas (i.1) a (i.3) bajo condiciones básicas, para obtener el correspondiente derivado de fórmula (Ia) o (Ib) donde R y R₁ son como se define arriba; y, opcionalmente,

k) conversión en otros compuestos de fórmula (Ia) o (Ib), respectivamente, y/o en sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

11. El proceso de la reivindicación 10 donde, en la etapa (b), Q es terc-butoxicarbonilo (boc).

12. El proceso de la reivindicación 10 donde, en la etapa (c), Alk es metilo.

13. Los compuestos de fórmula (VIIa) o (VIIb)



donde Q representa un grupo protector de nitrógeno apropiado como terc-butoxicarbonilo (boc).

14. Un compuesto como se define en la reivindicación 1 para el tratamiento de trastornos proliferativos celulares causados por y/o asociados con un ciclo celular alterado dependiente de la actividad cinasa mediante la administración a un mamífero que lo necesite, de una cantidad eficaz de dicho compuesto, en el que dicho trastorno proliferativo celular se selecciona entre el grupo consistente en cáncer, enfermedad de Alzheimer, infecciones víricas, trastornos autoinmunes y trastornos neurodegenerativos.

15. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 14 en el que el cáncer se selecciona a partir del grupo consistente en carcinoma, carcinoma de células escamosas, tumores hematopoyéticos de linaje mieloide o linfoide, tumores de origen mesenquimal, tumores del sistema nervioso central y periférico, melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratoxantoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi.

16. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 14 en el que el trastorno proliferativo celular se selecciona entre el grupo consistente en la hiperplasia benigna de próstata, la adenomatosis familiar, la poliposis, la neurofibromatosis, la psoriasis, la proliferación de células lisas vasculares asociada con aterosclerosis, la fibrosis pulmonar, la artritis, la glomerulonefritis y la estenosis y reestenosis post-quirúrgica.

17. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 14 para la inhibición de la angiogénesis tumoral y la metástasis.

18. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 14 para el tratamiento del rechazo en el trasplante de órganos y la enfermedad injerto contra huésped.

19. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 14 para el tratamiento o prevención de la alopecia inducida por radioterapia o quimioterapia.

20. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 14 en el que el mamífero que se tiene que tratar se somete también a terapia de radiación o régimen de quimioterapia en combinación con al menos un agente citostático o citotóxico.

21. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 14 en el que el mamífero que se tiene que tratar es un humano.

22. Un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib), como se define en la reivindicación 1, para el uso como medicamento.

23. Un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib), como se define en la reivindicación 1, para el tratamiento de tumores.