

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 509**

51 Int. Cl.:
C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/444 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06830654 .7**
96 Fecha de presentación: **15.12.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1963319**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.09.2008**

54 Título: **Heteroarilpirrolopiridinonas activas como inhibidoras de cinasas**

30 Prioridad:
19.12.2005 US 311386

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
06.07.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
06.07.2012

73 Titular/es:
NERVIANO MEDICAL SCIENCES S.R.L.
VIALE PASTEUR, 10
20014 NERVIANO (MI), IT

72 Inventor/es:
VANOTTI, Ermes;
FORTE, Barbara;
MARTINA, Katia;
MENICHINCHERI, Maria;
CIRLA, Alessandra y
ORSINI, Paolo

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 384 509 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

Heteroarilpirrolopiridinonas activas como inhibidoras de cinasas

Campo de la invención

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

Antecedentes de la invención

10 El mal funcionamiento de las proteínas cinasas (las PK) es el distintivo de numerosas enfermedades. Una gran parte de los oncogenes y proto-oncogenes implicados en los cánceres humanos codifican las PK. El aumento de las actividades de las PK está implicado también en muchas enfermedades no malignas, tales como hiperplasia benigna de próstata, adenomatosis familiar, poliposis, neurofibromatosis, psoriasis, proliferación de las células vasculares lisas asociada con la aterosclerosis, fibrosis pulmonar, artritis, glomerulonefritis y estenosis post-quirúrgica y restenosis. Las PK están implicadas también en las enfermedades inflamatorias y en la multiplicación de los virus y parásitos. Las PK también pueden desempeñar un papel importante en la patogénesis y desarrollo de trastornos neurodegenerativos. El mal funcionamiento y la desregulación de las PK se exponen también en Current Opinion in Chemical Biology 1999, 3, 459 - 465.

20 Entre las distintas proteínas cinasas conocidas en la técnica como implicadas en el crecimiento de las células cancerosas, es la Cdc7, una serina-treonina cinasa conservada evolutivamente la que desempeña un papel fundamental en la unión de la regulación del ciclo celular y la duplicación del genoma, siendo esencial para la estimulación de los orígenes de la replicación del DNA (véase Montagnoli A. *et al.*, EMBO Journal, Vol. 21, No. 12, pp. 3171-3181, 2002; Montagnoli A. *et al.*, Cancer Research Vol. 64, October 1, pp. 7110-7116, 2004).

25 En la técnica son conocidos varios compuestos heterocíclicos como inhibidores de las proteínas cinasas. Entre ellos están, por ejemplo, los pirrolo-pirazoles descritos en el documento WO 02/12242; los tetrahidroindazoles descritos en el documento WO 00/69846; las pirrolo-piridinas descritas en el documento WO 01/98299; las aminoftalazinonas descritas en el documento WO 03/014090 y los aminoindazoles descritos en el documento WO 03/028720.

En adición, los derivados de pirrolopiridinona para el tratamiento de la obesidad están descritos en la patente WO 2003/27114 de Bayer Pharmaceuticals Corporation. En particular se describe una piridilpirrolopiridinona, concretamente la 5-ciclohexil-1-(2,4-dicloro-fenil)-3-metil-2-piridin-3-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona.

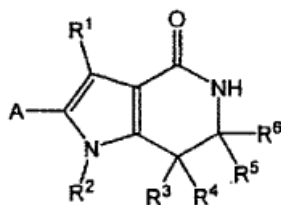
30 Los derivados de pirrolopiridinona, dotados con una actividad inhibidora de la proteína cinasa-2 activada con proteína cinasa activada con mitógeno, están descritos en la patente WO 2004/058762 A1 (prioridad diciembre 2002, archivos extranjeros diciembre 2003) de Pharmacia Corp. Los derivados de pirrolopiridinona están descritos también en los documentos WO2005/014572 y WO2005/013986.

Sumario de la invención

35 La invención se refiere a nuevos compuestos que son útiles, en terapia, como agentes frente a un hospedante de enfermedades causadas y/o asociadas con una desregulación de la actividad de las proteínas cinasas y, más particularmente, de la actividad de Cdk2 y Cdc7.

La invención se refiere también a compuestos que tienen actividad inhibidora de las proteínas cinasas y, más particularmente, actividad inhibidora de Cdk2 y Cdc7.

Un aspecto de la invención se refiere a derivados de heteroarilpirrolopiridinona que se representan por la fórmula (I)



(I)

40

en la que

A se selecciona del grupo que consiste en piridin-4-ilo, 3-fluoro-piridin-4-ilo, y 2-amino-pirimidin-4-ilo;

R¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno y alquilo (C₁-C₆);

5 R² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), alqueno (C₂-C₆), alquino (C₂-C₆), cicloalquilo (C₃-C₆), haloalquilo (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₆) polifluorado, heterociclilo, arilo, heteroarilo, cicloalquil (C₃-C₆)-alquilo (C₁-C₆), heterociclil-alquilo (C₁-C₆), aril- alquilo (C₁-C₆), heteroaril-alquilo (C₁-C₆), hidroxialquilo (C₁-C₈), alcoxi (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), ariloxi-alquilo (C₁-C₈), heteroariloxi-alquilo (C₁-C₈), aminoalquilo (C₁-C₈), alquilamino (C₁-C₈)- alquilo (C₁-C₈), dialquilamino (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), carbamoil-alquilo (C₁-C₈), y alcocarbonilo, donde cada uno de dichos restos arilo, heteroarilo, heterociclilo, ariloxi, y heteroariloxi puede estar sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes, siendo seleccionado cada sustituyente independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo, -

10 OCF₃, -OC(O)alquilo, -OC(O)arilo, -CF₃, heteroarilo, aralquilo, alquilarilo, heteroaralquilo, alquilheteroarilo, hidroxi, hidroxialquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, acilo, arilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, nitro, ciano, carboxi, alcocarbonilo, ariloxicarbonilo, aralcoxicarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, ariltio, heteroariltio, aralquiltio, heteroaralquiltio, cicloalquilo, heterociclilo, heterociclenilo, -NH(alquilo), -NH(cicloalquilo), y -N(alquilo)₂;

15 R³, R⁴, R⁵ y R⁶ se selecciona cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, haloalquilo (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₆) polifluorado, haloalqueno (C₁-C₆), alqueno (C₁-C₆) polifluorado, hidroxialquilo (C₁-C₈), alcoxi (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), ariloxi-alquilo (C₁-C₈), heteroariloxi-alquilo (C₁-C₈), aril-alcoxi (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), grupo azidoalquilo (C₁-C₈), aminoalquilo (C₁-C₈), alquilamino (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), dialquilamino (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), y alquil (C₁-C₈)-OC(O)-aminoalquilo (C₁-C₈), con la condición de que al menos uno de: R³, R⁴, R⁵ o R⁶ es diferente de hidrógeno;

20

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.

Se describe también un método para tratar los trastornos o enfermedades de la proliferación celular, que pueden ser causados y/o están asociados con una alteración de la actividad de las proteínas cinasas, mediante la administración a un mamífero que necesite dicho tratamiento de una cantidad de un compuesto de la fórmula (I).

25 Se describe también un método para antagonizar la actividad hacia Cdk2 o Cdc7, que comprende administrar a dichas Cdk2 o Cdc7 una cantidad de un compuesto de la fórmula (I) que es eficaz para antagonizar la actividad hacia Cdk2 o Cdc7.

30 Se describe también un método para tratar un trastorno o enfermedad en un mamífero, en el que se necesita una actividad antagonista hacia Cdk2 o Cdc7 en dicho mamífero, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad de un compuesto de la fórmula (I) que es eficaz para antagonizar la actividad hacia Cdk2 o Cdc7.

Se describe también un método para tratar un trastorno o enfermedad en un mamífero, para el que se necesita una actividad antagonista hacia Cdk2 o Cdc7 en dicho mamífero, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad de un compuesto de la fórmula (I) que es eficaz para tratar dicho trastorno o enfermedad.

35 Se describe también un método para tratar un trastorno o enfermedad seleccionado del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, incluyendo el cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de esófago, cáncer de vesícula, cáncer de ovarios, cáncer pancreático, cáncer de estómago, cáncer de cuello uterino, cáncer de tiroides, cáncer de próstata, y cáncer de piel, incluyendo carcinoma de células escamosas, tumores hematopoyéticos de linaje linfocítico, 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 peludas, linfoma de Burkitt, tumores hematopoyéticos de linaje mielocítico, incluyendo leucemias mielógenas agudas y crónicas, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimático, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; otros tumores, incluyendo melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentosum, queratocantoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi, en un mamífero, que comprende administrar a dicho mamífero que necesite dicho tratamiento una cantidad de un compuesto de la fórmula (I) que es eficaz para tratar dicha enfermedad o trastorno.

40

45

Se describe también un método para tratar un trastorno o enfermedad seleccionado del grupo que consiste en trastornos de la proliferación celular tales como, por ejemplo, hiperplasia benigna de próstata, adenomatosis familiar, poliposis, neuro-fibromatosis, psoriasis, proliferación de células vasculares lisas asociada con la aterosclerosis, fibrosis pulmonar, artritis, glomerulonefritis y estenosis post-quirúrgica y restenosis, en un mamífero, que comprende administrar a dicho mamífero que necesite dicho tratamiento una cantidad de un compuesto de la fórmula (I) que es eficaz para tratar dicha enfermedad o trastorno.

50

Se describe también un método para tratar un trastorno o enfermedad seleccionado del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón,

incluyendo el cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de esófago, cáncer de vesícula, cáncer de ovarios, cáncer pancreático, cáncer de estómago, cáncer de cuello uterino, cáncer de tiroides, cáncer de próstata, y cáncer de piel, incluyendo carcinoma de células escamosas, tumores hematopoyéticos de linaje linfóide, 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 peludas, linfoma de Burkitt, tumores hematopoyéticos de linaje mieloide, incluyendo leucemias mielógenas agudas y crónicas, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimático, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; otros tumores, incluyendo melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentosum, queratocarcinoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi, en un mamífero, que comprende administrar a dicho mamífero que necesite dicho tratamiento una cantidad de un compuesto de la fórmula (I) que es eficaz para antagonizar la actividad hacia Cdk2 o Cdc7.

Se describe también un método para tratar un trastorno o enfermedad seleccionado del grupo que consiste en hiperplasia benigna de próstata, adenomatosis familiar, poliposis, neuro-fibromatosis, psoriasis, proliferación de células vasculares lisas asociada con la aterosclerosis, fibrosis pulmonar, artritis, glomerulonefritis, estenosis postquirúrgica y restenosis, en un mamífero, que comprende administrar a dicho mamífero que necesite dicho tratamiento una cantidad de un compuesto de la fórmula (I) que es eficaz para antagonizar la actividad hacia Cdk2 o Cdc7.

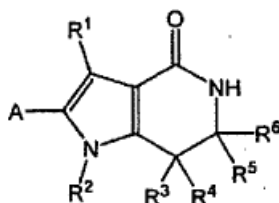
Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad del compuesto de la fórmula (I), o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Preferiblemente, los tipos específicos de cáncer que se pueden tratar entre los listados antes incluyen carcinoma, carcinoma de células escamosas, tumores hematopoyéticos de linaje mieloide o linfóide, tumores de origen mesenquimático, tumores del sistema nervioso central y periférico, melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentosum, queratocarcinoma, cáncer folicular de tiroides, y sarcoma de Kaposi.

Una apreciación más completa de la invención, y muchas de las ventajas que se esperan de la misma, se entenderán fácilmente cuando la misma será mejor comprendida con referencia a la siguiente descripción detallada.

Descripción detallada de la invención

Un aspecto de la invención se refiere a derivados de heteroarilpirrolopiridinona que se representan por la fórmula (I)



(I)

en la que

A se selecciona del grupo que consiste en piridin-4-ilo, 3-fluoro-piridin-4-ilo, y 2-amino-pirimidin-4-ilo;

R¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno y alquilo (C₁-C₆);

R² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), alqueno (C₂-C₆), alquino (C₂-C₆), cicloalquilo (C₃-C₆), haloalquilo (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₆) polifluorado, heterociclilo, arilo, heteroarilo, cicloalquil (C₃-C₆)-alquilo (C₁-C₆), heterociclil-alquilo (C₁-C₆), aril- alquilo (C₁-C₆), heteroaril-alquilo (C₁-C₆), hidroxialquilo (C₁-C₈), alcoxi (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), ariloxi-alquilo (C₁-C₈), heteroariloxi-alquilo (C₁-C₈), aminoalquilo (C₁-C₈), alquilamino (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), dialquilamino (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), carbamoil-alquilo (C₁-C₈), y alcoxicarbonilo, donde cada uno de dichos restos arilo, heteroarilo, heterociclilo, ariloxi, y heteroariloxi puede estar sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes, siendo seleccionado cada sustituyente independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo, -OCF₃, -OC(O)alquilo, -OC(O)arilo, -CF₃, heteroarilo, aralquilo, alquilarilo, heteroaralquilo, alquilheteroarilo, hidroxil, hidroxialquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, acilo, arilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, nitro, ciano, carboxi, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, aralcoxicarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, ariltio, heteroariltio, aralquiltio, heteroaralquiltio, cicloalquilo, heterociclilo, heterociclenilo, -NH(alquil), -NH(cicloalquil), y -N(alquil)₂;

- 5 R^3 , R^4 , R^5 y R^6 se selecciona cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, haloalquilo (C_1-C_6), alquilo (C_1-C_6) polifluorado, haloalqueno (C_1-C_6), alqueno (C_1-C_6) polifluorado, hidroxialquilo (C_1-C_8), alcoxi (C_1-C_8)-alquilo (C_1-C_8), ariloxi-alquilo (C_1-C_8), heteroariloxi-alquilo (C_1-C_8), aril-alcoxi (C_1-C_8)-alquilo (C_1-C_8), grupo azidoalquilo (C_1-C_8), aminoalquilo (C_1-C_8), alquilamino (C_1-C_8)-alquilo (C_1-C_8), dialquilamino (C_1-C_8)-alquilo (C_1-C_8), y alquil (C_1-C_8)-OC(O)-aminoalquilo (C_1-C_8), con la condición de que al menos uno de: R^3 , R^4 , R^5 o R^6 es diferente de hidrógeno;
- o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.
- 10 Los compuestos de la fórmula (I) de la invención pueden tener átomos de carbono asimétricos y por lo tanto pueden existir como isómeros ópticos individuales, como mezclas racémicas o como cualquier otra mezcla incluyendo una mayoría de uno de los dos isómeros ópticos, y todos ellos se consideran comprendidos dentro del alcance de la presente invención.
- 15 Asimismo, el uso como posible agente antitumoral de todos los posibles isómeros y sus mezclas y tanto de los metabolitos como de los bioprecusores (denominados también pro-fármacos) farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula (I) están también dentro del alcance de la presente invención. Los profármacos son cualquiera de los compuestos unidos covalentemente que liberan el fármaco parental activo, de acuerdo con la fórmula (I), *in vivo*.
- En los casos en que los compuestos pueden existir en formas tautoméricas, por ejemplo tautómeros ceto-enólicos, cada forma tautomérica se contempla como incluida dentro de esta invención lo mismo si existe en equilibrio como en una forma predominante.
- 20 Excepto cuando se indique otra cosa, las siguientes definiciones se aplican a lo largo de la presente memoria descriptiva y reivindicaciones. Estas definiciones se aplican tanto si el término se usa por sí mismo como si se usa en combinación con otros términos. Por tanto la definición de "alquilo" se aplica a "alquilo" así como a las porciones "alquil" de "alquilamino", "dialquilamino", arilalcoxi (C_1-C_8)-alquilo (C_1-C_8), etc.
- "Mamífero" significa los seres humanos y otros animales.
- 25 "Tratar" se refiere e incluye, invertir, aliviar, inhibir el progreso, o prevenir, una enfermedad, trastorno o afección, o uno o más de sus síntomas; y, "tratamiento" y "terapéuticamente" se refieren al acto de tratar, como se ha definido antes.
- El término "cantidad eficaz" significa una cantidad de compuesto de la presente invención que es capaz de tratar una enfermedad específica o antagonizar una enzima específica, tal como una proteína cinasa específica. La dosis particular de compuesto administrada según la invención será determinada por las circunstancias particulares que rodean el caso incluyendo, por ejemplo, el compuesto administrado, la vía de administración, el estado físico del sujeto, y la gravedad de la afección patológica a ser tratada.
- 30 "Alquilo" significa un grupo hidrocarburo alifático, que puede ser lineal o ramificado. Ramificado significa que uno o más grupos alquilo, tales como metilo, etilo o propilo, están unidos a una cadena alquílica lineal. Los ejemplos no limitantes de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *tert*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, y similares. El grupo alquilo puede estar sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes que se puede seleccionar cada uno independientemente del grupo que consiste en halo, alquilo, arilo, aralquilo, cicloalquilo, ciano, hidroxilo, alcoxi, alquiltio, amino, -NH(alquil), -NH(cicloalquil), -N(alquil)₂, carboxi y -C(O)O-alquilo. Los ejemplos no limitantes de grupos alquilo adecuados incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, y *t*-butilo, isobutilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, y similares.
- 35 "Alqueno" significa un grupo hidrocarburo alifático que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono y que puede ser lineal o ramificado. El grupo alqueno puede estar sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes que pueden ser iguales o diferentes, siendo seleccionado cada sustituyente independientemente del grupo que consiste en halo, alquilo, arilo, cicloalquilo, ciano, y alcoxi. Los ejemplos no limitantes de grupos alqueno adecuados incluyen etenilo, propenilo, y *n*-butenilo.
- 40 "Alquino" significa un grupo hidrocarburo alifático que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono y que puede ser lineal o ramificado. Ramificado significa que uno o más grupos alquilo inferiores, tales como metilo, etilo o propilo, están unidos a una cadena de alquino lineal. Los ejemplos no limitantes de grupos alquino adecuados incluyen etinilo, propinilo, y 2-butenilo. El grupo alquino puede estar sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes, siendo cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en alquilo, arilo y cicloalquilo.
- 45 "Amino" significa un grupo -NH₂ mientras que el término arilamino comprende cualquier grupo -NH-arilo, en el que arilo es como se define más adelante.
- 50

"Halógeno" o "halo" significa un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

"Alquilo polifluorado" significa cualquier grupo alquilo como se ha definido antes que está sustituido con dos o más átomos de flúor tal como, por ejemplo, trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 3,3,3-trifluoropropilo, 1,1-difluoroetilo, 3,3-difluoropropilo y similares.

- 5 "Ariilo" significa cualquier hidrocarburo carbocíclico o heterocíclico con 1 a 2 restos de anillos, condensado o ligado uno con otro mediante enlaces sencillos, en el que al menos uno de los anillos es aromático. Si está presente, cualquier hidrocarburo heterocíclico aromático denominado también grupo "heteroarilo", comprende un anillo de 5 a 6 miembros con 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre N, O o S.

10 El grupo arilo o heteroarilo puede estar sin sustituir o sustituido en el anillo con uno o más sustituyentes, siendo seleccionado cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo, -OCF₃, -OC(O)alquilo, -OC(O)arilo, -CF₃, heteroarilo, alquilarilo, heteroaralquilo, alquilheteroarilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, acilo, arilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, nitro, ciano, carboxi, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, aralcoxycarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, ariltio, heteroariltio, aralquiltio, heteroaralquiltio, cicloalquilo, heterocicliilo, heterociclenilo, -NH(alquilo), -NH(cicloalquilo), y -N(alquilo)₂. Los ejemplos no limitantes de grupos arilo adecuados incluyen fenilo y naftilo. El grupo "arilo" puede estar también sustituido mediante el enlace de dos carbonos adyacentes sobre su anillo aromático por medio de una combinación de uno o más átomos de carbono y uno o más átomos de oxígeno tal como, por ejemplo, metilendioxi, etilendioxi, y similares. Ejemplos de grupos arilo según la invención son, 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.

15 "Cicloalquilo" significa un sistema de anillos no aromático mono- o multicíclico. El cicloalquilo puede estar sin sustituir o sustituido en el anillo mediante el reemplazo de un hidrógeno disponible en el anillo con uno o más sustituyentes, siendo seleccionado cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, alquilarilo, aralquenilo, heteroaralquilo, alquilheteroarilo, heteroaralquenilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, acilo, arilo, halo, nitro, ciano, carboxi, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, aralcoxycarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, ariltio, heteroariltio, aralquiltio, heteroaralquiltio, cicloalquilo, cicloalquenilo, heterocicliilo, heterociclenilo, -NH(alquilo), -NH(cicloalquilo), y -N(alquilo)₂. Los ejemplos no limitantes de cicloalquilos monocíclicos adecuados incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

20 "Heterocicliilo" o "heterociclo" significa cualquier anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros que comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre N, O o S. Si dicho heterociclo o grupo heterocicliilo es un heterociclo aromático, denominado también heteroarilo, está englobado en la definición anterior dada para los grupos arilo.

25 Como tal, además de los anteriores heterociclos aromáticos, el término heterocicliilo también incluye los heterociclos saturados o parcialmente insaturados tales como, por ejemplo, pirrolina, pirrolidina, imidazolina, imidazolidina, pirazolina, pirazolidina, piperidina, piperazina, morfolina, y similares. El grupo heterocicliilo puede estar sin sustituir o sustituido en el anillo con uno o más sustituyentes, siendo seleccionado cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo, -OCF₃, -OC(O)alquilo, -OC(O)arilo, -CF₃, heteroarilo, alquilarilo, heteroaralquilo, alquilheteroarilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, acilo, arilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, nitro, ciano, carboxi, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, aralcoxycarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, ariltio, heteroariltio, aralquiltio, heteroaralquiltio, cicloalquilo, heterocicliilo, heterociclenilo, -NH(alquilo), -NH(cicloalquilo), y -N(alquilo)₂.

30 A este respecto, como un ejemplo, cualquier grupo que se identifica como un arilalquilo tiene que ser considerado como un grupo alquilo que además está sustituido con arilo, en el que tanto el arilo como el alquilo son como se han definido antes. Claramente cuando R³ y R⁴ o R⁵ y R⁶, tomados juntos, forman un grupo cicloalquilo (C₃-C₈), el compuesto se conoce como un derivado espiro.

35 "Alcoxi" se refiere a un radical de la fórmula -O-alquilo, en la que alquilo es como se ha definido antes. Los ejemplos no limitantes de alcoxi incluyen metoxi, etoxi, *n*-propoxi, 1-metiletoxi (*iso*-propoxi), *n*-butoxi, *n*-pentoxi, 1,1-dimetiletoxi (*t*-butoxi), y similares.

40 "Ariiloxi" se refiere a un radical de la fórmula -O-arilo, en la que arilo es como se ha definido antes.

"Heteroariloxi" se refiere a un radical de la fórmula -O-heteroarilo, en la que heteroarilo es como se ha definido antes.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula (I) incluyen las sales de adición de ácido con ácidos inorgánicos u orgánicos tales como, por ejemplo, ácido nítrico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico,

perclórico, fosfórico, acético, trifluoroacético, propiónico, glicólico, láctico, oxálico, malónico, málico, maleico, tartárico, cítrico, benzoico, cinámico, mandélico, metanosulfónico, isetiónico y salicílico.

5 También se contemplan aquí los profármacos y los solvatos de los compuestos de la invención. El término "profármaco", como se emplea aquí, indica un compuesto que es un precursor de un fármaco, el cual, después de la administración a un sujeto, sufre una conversión química mediante procesos metabólicos o químicos para dar un compuesto de la fórmula (I) o una sal y/o solvato del mismo. Una exposición de profármacos se proporciona en T. Higuchi and V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems (1987) Volumen 14 del A.C.S. Symposium Series, y en Bioreversible Carriers in Drug Design, (1987) Edward B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, que se incorporan aquí ambas como referencia.

10 "Solvato" significa una asociación física de un compuesto de esta invención con una o más moléculas de disolvente. Esta asociación física implica grados variables de enlaces iónicos y covalentes, incluyendo enlace de hidrógeno. En ciertos casos el solvato será capaz de aislamiento, por ejemplo cuando se incorporan una o más moléculas de disolvente a la red cristalina del sólido cristalino. "Solvato" engloba tanto la fase en solución como los solvatos aislables. Los ejemplos no limitantes de solvatos adecuados incluyen etanolatos, metanolatos, y similares. "Hidrato" es un solvato en el que la molécula de disolvente es H₂O.

Una clase preferida de compuestos de la invención está representada por los derivados de la fórmula (I) en los que A es como se ha definido antes, R¹, R², R⁵ y R⁶ son como se han definido antes y tanto R³ como R⁴ son átomos de hidrógeno.

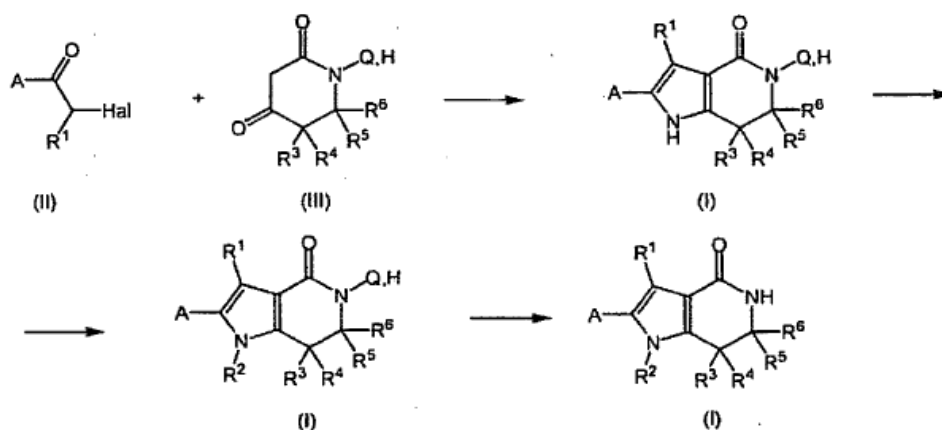
20 Otra clase preferida de compuestos de la invención está representada por los derivados de la fórmula (I) en los que A es como se ha definido antes, R¹, R², R³ y R⁴ son como se han definido antes y tanto R⁵ como R⁶ son átomos de hidrógeno.

Los compuestos más preferidos de la invención, dentro de las clases anteriores, son los derivados de la fórmula (I) en los que A es como se ha definido antes, R¹ es un átomo de hidrógeno, R², R³ son como se han definido antes y R⁴, R⁵, R⁶ son átomos de hidrógeno.

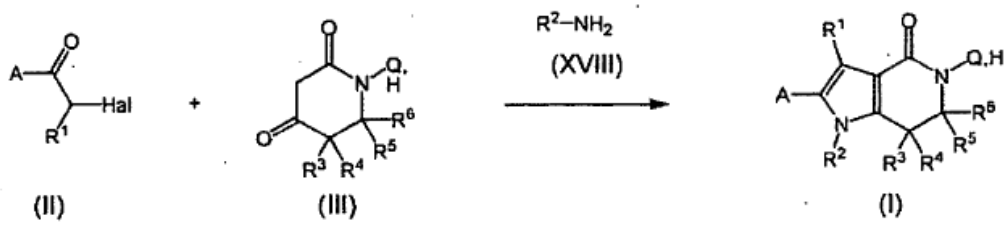
25 Los compuestos más preferidos de la invención, dentro de las clases anteriores, son los derivados de la fórmula (I) en los que A es como se ha definido antes, R¹ es un átomo de hidrógeno, R², R⁵ son como se han definido antes y R³, R⁴ y R⁶ son átomos de hidrógeno.

Los compuestos de la fórmula (I) se pueden obtener por los siguientes esquemas, que se describen en detalle a continuación:

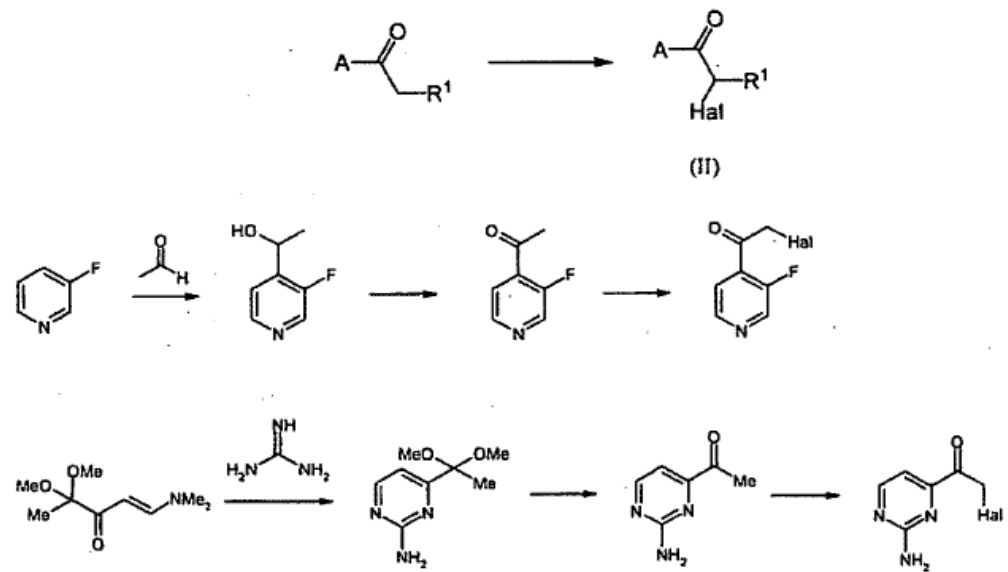
30 Esquema 1



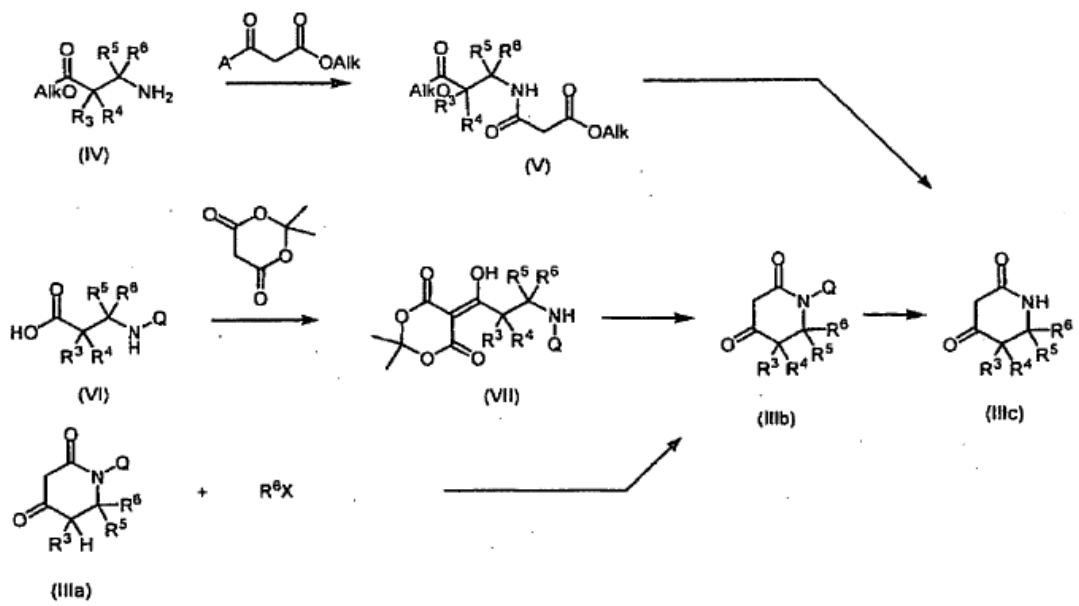
Esquema 2



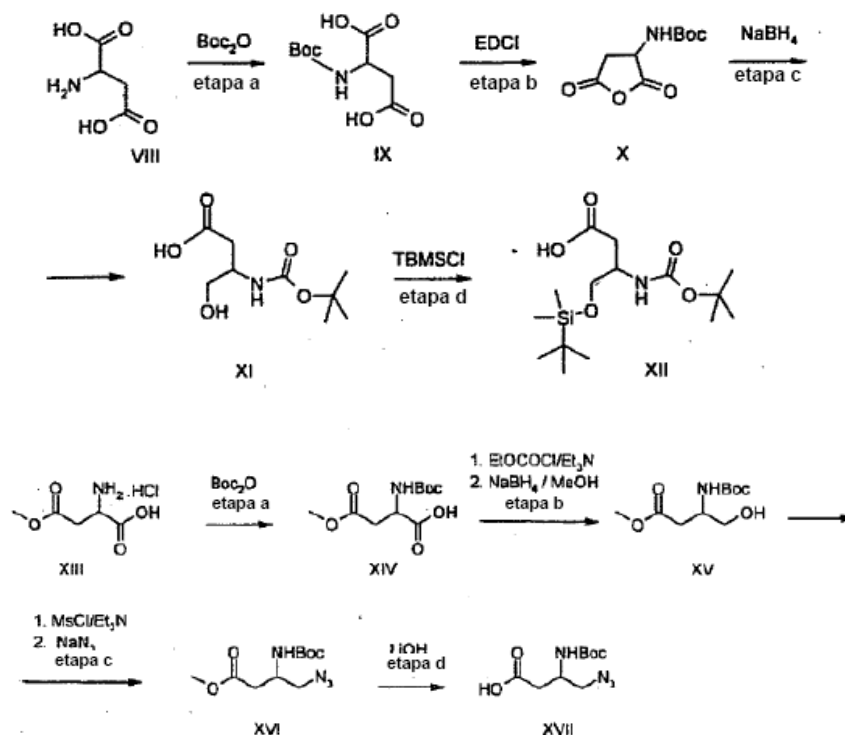
Esquema 3



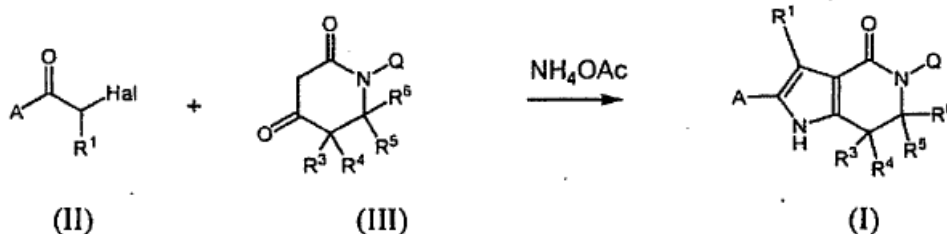
5 Esquema 4



Esquema 5



- 5 Los compuestos de la fórmula (I, $R^2=H$) se pueden preparar según el siguiente esquema sintético, haciendo reaccionar el derivado heteroarilo de la fórmula (II) con un derivado de piperidin-2,4-diona adecuado de la fórmula (III) en la que Q es H o un grupo protector de nitrógeno adecuado, preferiblemente *tert*-butoxicarbonilo o, por ejemplo, un grupo como el grupo *p*-metoxibencilo, *p*-metoxietilbencilo, *p*-metoxifenilo.



- 10 La reacción tiene lugar en presencia de acetato de amonio en un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, un alcohol inferior o ácido acético. Preferiblemente, se lleva a cabo la reacción en presencia de etanol trabajando a temperatura ambiente y durante un período de tiempo adecuado que varía desde aproximadamente 2 horas hasta aproximadamente 24 horas.

Los compuestos de la fórmula (II) y (III), así como cualquier otro reactante del proceso, son conocidos o, si no están comercialmente disponibles *per se*, se pueden preparar fácilmente según métodos conocidos.

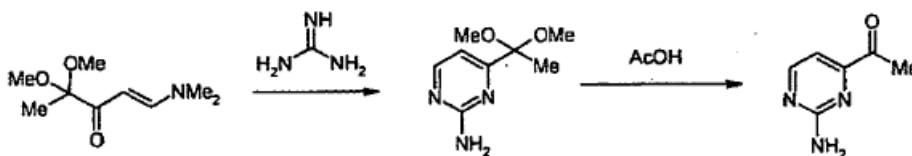
- 15 Como un ejemplo, los derivados de heteroarilo de la fórmula (II) se pueden preparar mediante halogenación, por ejemplo bromación o cloración, de un derivado heteroaril-etanona adecuado, según la siguiente ruta:



5 Se lleva a cabo la reacción trabajando con métodos convencionales, por ejemplo en presencia de bromo y en un disolvente adecuado tal como una mezcla de ácido acético y ácido bromhídrico, durante un tiempo que varía entre aproximadamente 1 hora y aproximadamente 24 horas. Alternativamente, un derivado heteroarilo adecuadamente activado, por ejemplo un enoléter o siliéter, se puede hacer reaccionar con una fuente de halógeno, por ejemplo N-bromo-succinimida (NBS), en un disolvente adecuado, tal como mezclas de tetrahidrofurano/agua.

Los ejemplos no limitantes de derivados de heteroarilo-etanona adecuados que pueden ser halogenados incluyen 1-piridin-4-iletanona, 1-piridin-4-ilpropan-1-ona, 1-(3-fluoropiridin-4-il)etanona y 1-(2-aminopirimidn-4-il)etanona.

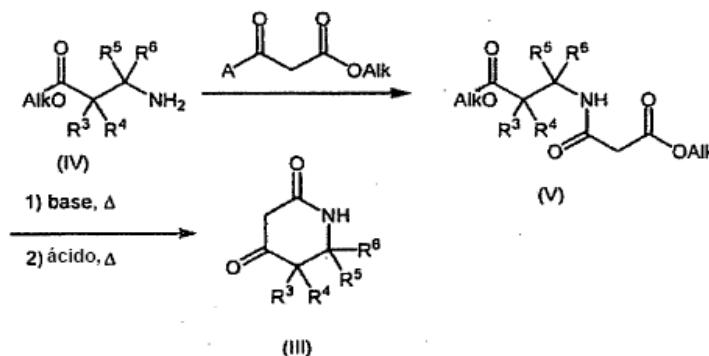
10 La 1-(3-fluoropiridin-4-il)etanona se puede preparar, por ejemplo, haciendo reaccionar 3-fluoropiridina comercial con acetaldehído en presencia de una base, tal como, por ejemplo, diisopropilamido de litio (LDA) y oxidando el 1-(3-fluoropiridin-4-il)etanol así obtenido, por ejemplo por medio de dióxido de manganeso en un disolvente adecuado, tal como tolueno. La 1-(2-aminopirimidin-4-il)etanona se puede obtener según la siguiente ruta:



15 La 1-(dimetilamino)-4,4-dimetoxi-1-penten-3-ona es un compuesto conocido que se puede preparar según métodos conocidos, por ejemplo como se indica en J. Het. Chem., 22(6), 1723-6, 1985. Se hace reaccionar fácilmente con guanidina, estando disponible por ejemplo en la forma de una sal de adición de ácido, por ejemplo como sal hidrocloreuro de guanidinio. Se lleva a cabo la reacción en condiciones básicas, por ejemplo en presencia de etilato de sodio y de un disolvente adecuado tal como un alcohol inferior, preferiblemente etanol. La reacción tiene lugar a la temperatura de reflujo, durante un tiempo adecuado de hasta aproximadamente 24 horas.

20 La reacción anterior lleva al núcleo de aminopirimidina que se convierte entonces en el intermedio final por tratamiento ácido a temperatura ambiente, por ejemplo en presencia de ácido acético.

También el derivado de piperidin-2,4-diona (III) es un compuesto conocido, o alternativamente, se puede preparar por métodos conocidos, por ejemplo según la ruta sintética que sigue, en la que Alk indica un grupo alquilo inferior adecuado, por ejemplo etilo, y A indica cloro o OAlk:



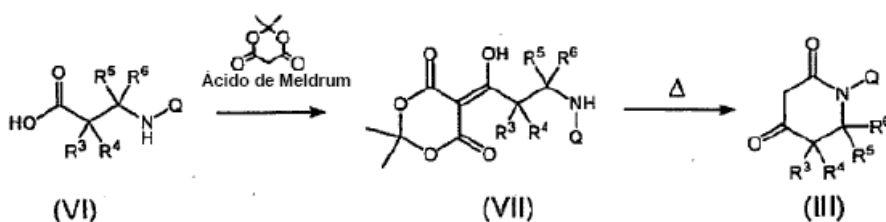
25 A este respecto, se hace reaccionar un derivado β-amino-carboxiéster adecuado (IV) en el que R³, R⁴, R⁵ y R⁶ tienen los significados indicados antes, con malonato de dialquilo o, alternativamente, con el éster alquílico del ácido 3-cloro-3-oxopropanoico, por ejemplo, malonato de dimetilo o 3-cloro-3-oxopropanoato de etilo, respectivamente. Cuando A es cloro se lleva a cabo la reacción en condiciones básicas, por ejemplo en presencia de trietilamina, y en

un disolvente adecuado tal como diclorometano, a una temperatura comprendida entre la temperatura ambiente y la temperatura de reflujo. Cuando A es Oalk, la reacción se realiza con o sin condiciones básicas y más convenientemente, en ausencia de disolventes, a la temperatura de reflujo del malonato de dialquilo.

5 Cuando no están comercialmente disponibles, se pueden obtener los derivados de β-amino-carboxiéster (IV) según procedimientos bien conocidos descritos en la bibliografía.

10 El derivado intermedio así obtenido (V) se convierte entonces en el compuesto de la fórmula (III), en primer lugar haciéndole reaccionar en condiciones básicas, por ejemplo en presencia de metilato de sodio y de un disolvente adecuado, preferiblemente tolueno, a la temperatura de reflujo y durante un tiempo que varía entre aproximadamente 2 horas y aproximadamente 24 horas. Posteriormente, el producto de la primera etapa se hace reaccionar tal cual, sin que sea aislado, con una mezcla de acetonitrilo/agua/ácido acético en condiciones de reflujo y durante un tiempo que varía entre aproximadamente 12 horas y aproximadamente 24 horas.

Como alternativa, el derivado de piperidin-diona (III) se puede preparar también, por ejemplo, según la ruta sintética que sigue

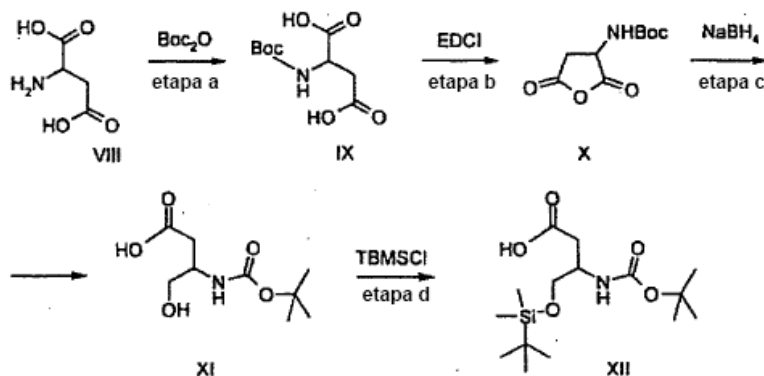


15 En el procedimiento, el ácido de Meldrum se hace reaccionar con un derivado aminoácido adecuado de la fórmula (VI) para obtener así un compuesto de la fórmula (VII) en el que Q es un grupo protector de nitrógeno adecuado y R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son como se han definido antes. El compuesto de la fórmula (VII) se cicla entonces disolviéndolo en un disolvente adecuado, por ejemplo acetato de etilo, y manteniéndolo a reflujo durante un período de tiempo de 1 a 24 horas.

20 El derivado aminoácido (VI) es un compuesto conocido o, alternativamente, se puede preparar por métodos conocidos, según procedimientos bien conocidos descritos en la bibliografía.

25 Por ejemplo, el ácido DL-3-*tert*-butoxicarbonilamino-4-(*tert*-butil-dimetil-silaniloxi)-butírico (XII) se puede sintetizar siguiendo el esquema sintético representado a continuación. En el procedimiento, el ácido DL aspártico (VIII) se hace reaccionar con dicarbonato de di-*tert*-butilo (Boc₂O) para obtener así el producto (IX); en presencia de hidrocloreuro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDCI) el compuesto (IX) se convierte en éster *tert*-butílico del ácido (2,4-dioxo-ciclopentil)-carbámico (X), que se reduce con borohidruro de sodio para obtener el producto (XI).

Por la subsiguiente protección con cloruro de *tert*-butildimetilsililo, se obtiene entonces el compuesto (XII) deseado.



30 Según la etapa (a) del procedimiento, se hace reaccionar el ácido DL-aspártico (VIII) con dicarbonato de di-*tert*-butilo en presencia de N,N-diisopropiletilamina. Se puede llevar a cabo la reacción en una mezcla de disolventes

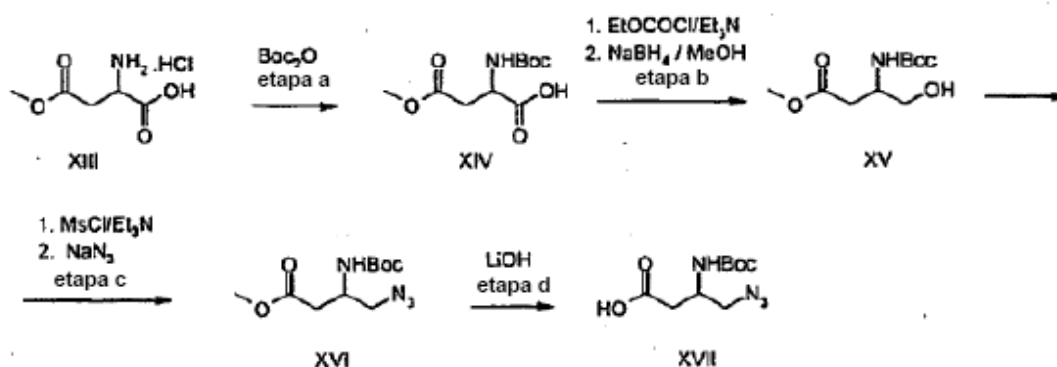
tales como, por ejemplo, dioxano y agua a una temperatura que varía desde aproximadamente 0 °C hasta aproximadamente 10 °C.

Como en la etapa (b) del procedimiento, el compuesto de la fórmula (IX) se hace reaccionar con hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida en una variedad de disolventes incluyendo cloroformo, diclorometano, dimetilformamida. Se mantiene la agitación a una temperatura que varía desde aproximadamente 0 °C hasta la temperatura ambiente durante un tiempo adecuado que varía desde aproximadamente 4 horas hasta aproximadamente 10 horas.

Según la etapa (c), el compuesto de la fórmula (X) se convierte en el derivado hidroxi (XI) a través de la reacción con un agente reductor adecuado, tal como, por ejemplo, borohidruro de sodio. La reacción se puede realizar en tetrahidrofurano. A este respecto, la solución de borohidruro de sodio se enfría a 0 °C, y se añade el compuesto (X) gota a gota. Se mantiene la agitación durante un tiempo adecuado de aproximadamente 1 hora a 3 horas.

Según la etapa (d), se hace reaccionar el cloruro de *tert*-butildimetilsililo (TBDMSCl) con el compuesto (XI) en presencia de imidazol. Se puede llevar a cabo la reacción en un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, diclorometano, dimetilformamida, mientras se mantiene la agitación durante un tiempo que varía desde aproximadamente 5 horas hasta 10 horas.

Otro ejemplo de preparación de un derivado aminoácido (VI) es representado por el ácido DL-4-azido-3-*tert*-butoxicarbonilamino-butírico (XVII) que se puede sintetizar como se representa en el esquema que sigue:



En el procedimiento, se hace reaccionar éster 4-metílico del ácido DL-2-amino-succínico (XIII) con dicarbonato de di-*tert*-butilo (Boc_2O) para obtener así el producto (XIV) que se reduce con borohidruro de sodio para obtener el producto (XV). La activación de hidroxilo como mesilato y su sustitución nucleofílica con el grupo azido proporciona el compuesto (XVI) deseado que finalmente se hidroliza en condiciones básicas hasta el ácido (XVII).

Según la etapa (a) del procedimiento se hace reaccionar el éster 4-metílico del ácido DL-2-amino-succínico (XIII) con dicarbonato de di-*tert*-butilo en presencia de una base, por ejemplo carbonato de sodio. La reacción se puede llevar a cabo en una mezcla de disolventes tales como, por ejemplo, dioxano y agua a una temperatura que varía desde aproximadamente 0 °C hasta temperatura ambiente.

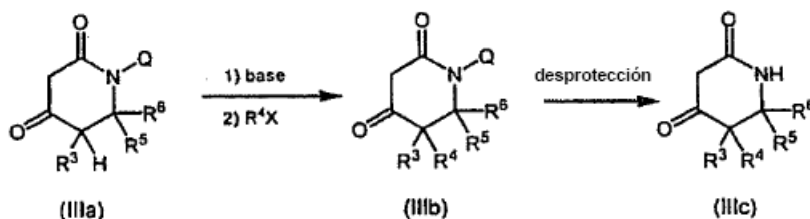
Como en la etapa (b) del procedimiento, el compuesto de la fórmula (XIV) se hace reaccionar con cloroformiato de etilo en presencia de trietilamina y se trata rápidamente con borohidruro de sodio a 0 °C durante aproximadamente una hora, después se mantiene la agitación a temperatura ambiente durante un tiempo adecuado que varía desde aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 4 horas.

Según la etapa (c) (primera parte), el alcohol de la fórmula (XV) se convierte en el correspondiente derivado mesilato a través de la reacción con cloruro de metanosulfonilo en un disolvente adecuado, por ejemplo, diclorometano a 0 °C durante un período de tiempo conveniente, desde aproximadamente 30 minutos hasta aproximadamente 1 hora, y después se mantiene la agitación a temperatura ambiente durante un tiempo adecuado desde aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 3 horas. La etapa (c) (segunda parte) se ocupa de la transformación de mesilato en el grupo azido (compuesto XVI) por medio de azida de sodio en dimetilformamida a temperatura entre aproximadamente 40 y aproximadamente 80 °C durante un período de tiempo desde aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 8 horas.

Según la etapa (d), la hidrólisis del éster metílico se realiza en condiciones básicas, por ejemplo, en presencia de hidróxido de litio. La reacción se puede llevar a cabo en una mezcla de disolventes adecuada tal como, por ejemplo,

tetrahidrofurano/agua, mientras se mantiene la agitación durante un período de tiempo que varía desde aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 4 horas.

5 Como alternativa, se puede transformar una piperidin-diona (IIIa) en otra piperidin-diona (IIIc), por ejemplo según la ruta sintética que sigue, en la que Q indica un grupo protector de nitrógeno adecuado tal como, en particular, *tert*-butoxicarbonilo, u otros grupos, tales como, por ejemplo, *p*-metoxifenilo, y X es haluro, triflato, mesilato, tosilato y similares.



10 A este respecto, un derivado piperidin-diona (IIIa) adecuado en el que R³, R⁵ y R⁶ y Q tienen los significados indicados antes, se hace reaccionar con una base, por ejemplo bis(trimetilsilil)amiduro de litio (LiHMDS). La reacción se realiza en un disolvente adecuado tal como tetrahidrofurano, a una temperatura comprendida entre -78 °C y la temperatura ambiente.

15 La mezcla de reacción se trata entonces con un R⁴X adecuado, donde X es un grupo tal como haluro, triflato, mesilato, tosilato y similares, obteniéndose así un compuesto de la fórmula (IIIb). El compuesto así obtenido se puede convertir en el compuesto de la fórmula (IIIc) tratándolo, por ejemplo, cuando Q es un grupo *tert*-butoxicarbonilo, con condiciones ácidas, por ejemplo en presencia de ácido trifluoroacético y de un disolvente adecuado, preferiblemente diclorometano, a temperatura ambiente y durante un tiempo comprendido entre aproximadamente 1 hora y aproximadamente 6 horas.

20 El compuesto final de la fórmula (I) así obtenido se puede convertir entonces en otro compuesto de la fórmula (I) según métodos bien conocidos en la técnica. Como un ejemplo, los compuestos de la fórmula (I) en los que R¹ representa un átomo de hidrógeno se pueden convertir fácilmente en los correspondientes compuestos en los que R¹ es un átomo de halógeno, mediante métodos convencionales publicados en la bibliografía para la halogenación de derivados de pirrol.

25 Los compuestos de la fórmula (I), en los que R² es diferente de un átomo de hidrógeno, se pueden obtener por diferentes procedimientos generales, por ejemplo, por N-derivatización del átomo de nitrógeno de pirrol de los compuestos de la fórmula (I), en los que R² es hidrógeno, haciéndolos reaccionar con electrófilos R²-X, donde X puede ser, por ejemplo, haluro, triflato, mesilato, tosilato y similares, de forma que se obtiene un compuesto con R² como se ha definido.

30 En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), en los que R² es diferente de un átomo de hidrógeno, se pueden preparar por N-derivatización del átomo de nitrógeno del pirrol de los compuestos de la fórmula (I), donde R² es hidrógeno, haciéndolos reaccionar con un alcohol por la reacción de Mitsunobu.

En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), en los que R² es diferente de un átomo de hidrógeno se pueden preparar también por construcción directa a partir de constituyentes más sencillos, por ejemplo mediante una reacción tipo Hantzsch.

35 Como se ha expuesto antes, los compuestos de la fórmula (I), en los que R² es como se ha definido, se pueden preparar haciendo reaccionar las pirrolpiperidinonas de la fórmula (I), en las que R² es un átomo de hidrógeno, con un electrófilo adecuado, tal como un haluro o un triflato conveniente, en un disolvente adecuado, tal como dimetilformamida, THF, dioxano, en presencia de una base adecuada, tal como hidruro de sodio, a temperaturas que varían desde -30 °C hasta la temperatura ambiente, preferiblemente a aproximadamente 0 °C, durante un período de tiempo que varía desde aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 24 horas.

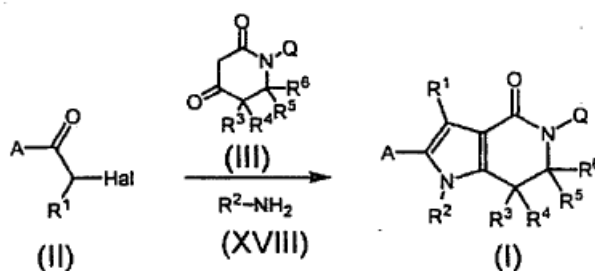
40 Alternativamente se puede utilizar una base diferente, por ejemplo carbonato de potasio o de cesio, opcionalmente en presencia de un éter corona, por ejemplo 18-corona-6, a temperaturas desde aproximadamente la temperatura ambiente hasta aproximadamente 100 °C, opcionalmente en una cavidad de microondas, en un disolvente adecuado, tal como DMF.

45 Los compuestos de la fórmula (I), en los que R² es como se ha definido antes, se pueden preparar también haciendo reaccionar las pirrolpiperidinonas de la fórmula (I), en las que R² es un átomo de hidrógeno, con un alcohol adecuado,

mediante la reacción de Mitsunobu, en un disolvente adecuado, tal como dimetilformamida, THF, diclorometano, en presencia de trifenilfosfina y azodicarboxilato de dialquilo, por ejemplo azodicarboxilato de dietilo, a temperaturas que varían desde aproximadamente -78 °C hasta aproximadamente la temperatura de reflujo, durante un período de tiempo que varía desde aproximadamente 1 hora hasta 24 horas.

- 5 Los compuestos de la fórmula (I), en los que R^2 es como se ha definido, se pueden preparar también haciendo reaccionar las pirrolopiridinonas de la fórmula (I), en las que R^2 es un átomo de hidrógeno, con un alcohol adecuado, mediante la reacción de Mitsunobu, en un disolvente adecuado, tal como dimetilformamida, THF o diclorometano. La reacción de Mitsunobu se puede llevar a cabo en presencia de trifenilfosfina y azodicarboxilato de dialquilo, por ejemplo azodicarboxilato de dietilo, a temperaturas que varían desde -78 °C hasta la temperatura de reflujo, durante un período de tiempo que varía desde aproximadamente 1 hora hasta 24 horas.

10 Según un método alternativo, los compuestos de la fórmula (I) se pueden preparar también directamente según el siguiente esquema sintético, haciendo reaccionar el derivado heteroarilo descrito antes de la fórmula (H) con un derivado de piperidin-diona adecuado de la fórmula (III) en la que Q es H o el grupo protector de nitrógeno mencionado antes, preferiblemente el grupo *tert*-butoxicarbonilo, en presencia de una amina adecuada de la fórmula (XVIII), en la que R^2 es como se ha definido.



La reacción tiene lugar en presencia de un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, un alcohol inferior o ácido acético. Preferiblemente, la reacción se lleva a cabo en presencia de etanol trabajando a temperaturas que varían desde aproximadamente la temperatura ambiente hasta aproximadamente 100 °C y durante un tiempo adecuado que varía desde aproximadamente 2 horas hasta aproximadamente 24 horas.

20 Cuando Q es un grupo protector, por ejemplo un grupo *tert*-butoxicarbonilo, el compuesto de la fórmula (I) deseado, en el que Q=H, se puede obtener tratándole en condiciones ácidas, por ejemplo en presencia de ácido trifluoroacético y de un disolvente adecuado, preferiblemente diclorometano, a temperatura ambiente y durante un tiempo que varía entre aproximadamente 1 hora y aproximadamente 6 horas.

25 Asimismo, la conversión de un compuesto de la fórmula (I) en una sal farmacéuticamente aceptable se realiza fácilmente según métodos conocidos, por ejemplo poniendo en contacto cualquier base libre de la fórmula (I) con cualquier ácido farmacéuticamente aceptable adecuado.

De todo lo anterior, queda claro para los expertos que cuando se preparan los compuestos de la fórmula (I) según los procedimientos mencionados, incluyendo cualquier variante de los mismos, los grupos funcionales opcionales dentro de los materiales de partida o los intermedios de los mismos y que podrían llevar a reacciones secundarias indeseadas, necesitan ser protegidos apropiadamente según técnicas convencionales. Asimismo, la conversión de estos últimos en los compuestos libres desprotegidos se puede realizar según procedimientos conocidos.

30 Por analogía, cualquier compuesto de la fórmula (I) que es susceptible de ser salificado se puede convertir fácilmente en la correspondiente sal de adición de ácido, trabajando en presencia de cualquier ácido farmacéuticamente aceptable, por ejemplo seleccionado entre los indicados previamente.

35 Como se puede apreciar fácilmente, si los compuestos de la fórmula (I) preparados según el procedimiento descrito antes se obtienen como una mezcla de isómeros, su separación en los isómeros individuales de la fórmula (I), según técnicas convencionales, está también dentro del alcance de la presente invención.

40 Las técnicas convencionales para la resolución de racematos incluyen, por ejemplo, cristalización de reparto de los derivados salinos diastereoisómeros o HPLC quiral preparativa.

Farmacología

Los compuestos de la fórmula (1) son activos como inhibidores de las proteínas cinasas y son por tanto útiles, por ejemplo, para limitar la proliferación desregulada de las células tumorales. En terapia, se pueden usar en el tratamiento de diferentes tumores, tales como los detallados anteriormente, así como en el tratamiento de otros

trastornos de la proliferación celular tales como psoriasis, proliferación de células vasculares lisas asociada con la aterosclerosis y estenosis post-quirúrgica y restenosis y en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

La actividad inhibidora de los supuestos inhibidores de la Cdc7 y la potencia de los compuestos seleccionados se determina por un método de valoración basado en el uso de tecnología de captura en resina Dowex.

- 5 La valoración consiste en la transferencia por medio de la cinasa de un resto fosfato marcado con radiactividad a un sustrato aceptor. El producto resultante marcado con ^{33}P se separa del trazador que no ha reaccionado, se transfiere a un cóctel de centelleo y la luz emitida se mide en un contador de centelleo.

Valoración de la inhibición de la actividad de Cdc7

- 10 La actividad inhibidora de los supuestos inhibidores de la Cdc7 y la potencia de los compuestos seleccionados se determina mediante un método de valoración basado en el uso de tecnología de captura en resina Dowex.

La valoración consiste en la transferencia por medio de la cinasa de un resto fosfato marcado con radiactividad a un sustrato aceptor. El producto resultante marcado con ^{33}P se separa del trazador que no ha reaccionado, se transfiere a un cóctel de centelleo y la luz emitida se mide en un contador de centelleo.

La valoración de la inhibición de la actividad de Cdc7/Dbf4 se realiza según el siguiente protocolo.

- 15 El sustrato MCM2 es trans-fosforilado por el complejo Cdc7/Dbf4 en presencia de ATP marcado con $\gamma^{33}\text{-ATP}$. La reacción se para por la adición de resina Dowex en presencia de ácido fórmico. Las partículas de resina Dowex capturan el $\gamma^{33}\text{-ATP}$ sin reaccionar y lo arrastran al fondo del pocillo mientras que el sustrato MCM2 fosforilado con ^{33}P permanece en solución. Se recoge el sobrenadante, se transfiere a placas OptiPlate y se evalúa la amplitud de la fosforilación del sustrato por conteo β .

- 20 La valoración de la inhibición de la actividad de Cdc7/Dbf4 se realizó en placas de 96 pocillos según el siguiente protocolo.

A cada pocillo de la placa se añadieron:

- 25 - 10 μL del compuesto de ensayo (10 concentraciones crecientes en el intervalo de nM a μM para generar una curva dosis-respuesta). El disolvente para los compuestos de ensayo contenía DMSO al 3 % (concentración final 1 %).
 - 10 μL de sustrato MCM2 (concentración final 6 mM), una mezcla de ATP frío (concentración final 2 mM) y ATP radiactivo (relación molar 1/5000 con el ATP frío).
 - 10 μL de la enzima (Cdc7/Dbf4, concentración final 2 nM) que empezó la reacción. El tampón de la reacción consistió en HEPES 50 mM pH 7,9 que contiene MgCl_2 15 mM, DTT 2 mM, NaVO_3 3 μM , glicerofosfato 2 mM y 0,2 mg/mL de BSA.

- 30 Después de incubación durante 60 minutos a temperatura ambiente, se paró la reacción añadiendo a cada pocillo 150 μL de resina Dowex en presencia de ácido fórmico 150 mM. Después de otros 60 minutos de incubación, se sacaron 50 μL de suspensión y se transfirieron a las placas OPTIPLATES de 96 pocillos que contienen 150 μL de MicroScint 40 (Packard); después de 5-10 minutos agitando las placas se leyeron durante 1 min en un lector de radiactividad TOP-Count de Packard.

- 35 Determinación de la IC_{50} : se ensayaron los inhibidores a diferentes concentraciones que varían de 0,0005 a 10 μM . Se analizaron los datos experimentales con el programa de ordenador Assay Explorer utilizando la ecuación logística de cuatro parámetros:

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

- 40 en la que x es el logaritmo de la concentración del inhibidor, y es la respuesta; y empieza en la parte inferior y va hasta la parte superior con una forma sigmoïdal.

En adición los compuestos seleccionados han sido caracterizados en cuanto a la especificidad sobre Cdk2A, en un panel de ser/threo cinasas estrictamente relacionadas con el ciclo celular (Cdk2/ciclina E, Cdk1/ciclina B1, Cdk4/ciclina D1, Cdk5/p25), sobre IGF1-R, Aurora-2, AKT1.

Valoración de la inhibición de la actividad de Cdk2/Ciclina A

- 45 Reacción de la cinasa: se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con el fondo en U, sustrato de histona H1 1,5 μM , ATP 25 μM (0,2 μCi de P33 $\gamma\text{-ATP}$), 30 ng de Cdk2/Ciclina A co-expresadas en baculovirus, inhibidor 10 μM en un volumen final de 100 μL de tampón (TRIS HCl 10 mM pH 7,5, MgCl_2 10 mM, DTT 7,5 mM). Después de 10 min de incubación a 37 °C, se paró la reacción con 20 μL de EDTA 120 mM.

Captura: se transfirieron 100 µL de cada pocillo a una placa MultiScreen, para permitir que el sustrato se una al filtro de fosfocelulosa. Se lavaron entonces las placas 3 veces con 150 µL/pocillo de PBS libre de Ca⁺⁺/Mg⁺⁺ y se filtraron por el sistema de filtración MultiScreen.

5 Detección: se dejaron secar los filtros a 37 °C, después se añadieron 100 µL/pocillo del líquido de centelleo y se detectó la histona H1 marcada con ³³P mediante recuento de la radiactividad en el instrumento Top-Count.

Resultados: se analizaron los datos y se expresaron como % de inhibición con respecto a la actividad total de la enzima (= 100 %).

Todos los compuestos que presentan una inhibición ≥ 50 % se analizaron adicionalmente con el fin de estudiar y definir la potencia (IC₅₀) así como el perfil cinético de inhibidor mediante el cálculo de Ki.

10 Determinación de IC₅₀: el protocolo usado fue el mismo descrito antes, en el que los inhibidores se ensayaron a diferentes concentraciones que varían desde 0,0045 hasta 10 µM. Se analizaron los datos experimentales por el programa de ordenador GraphPad Prizm utilizando la ecuación logística de cuatro parámetros:

$$y = \text{parte inferior} + (\text{parte superior} - \text{parte inferior}) / (1 + 10^{-(\log(C_{50}-x) \cdot \text{pendiente})})$$

15 en la que x es el logaritmo de la concentración del inhibidor, y es la respuesta; y empieza en la parte inferior y va hasta la parte superior con una forma sigmoideal.

Cálculo de Ki: se variaron las concentraciones de ATP o del sustrato de histona H1: se usaron concentraciones 4, 8, 12, 24, 48 µM para ATP (que contiene P³³γ-ATP proporcionalmente diluido) y 0,4, 0,8, 1,2, 2,4, 4,8 µM para histona en ausencia y presencia de dos concentraciones diferentes, del inhibidor apropiadamente elegidas.

20 Se analizaron los datos experimentales por el programa de ordenador "SigmaPlot" para la determinación de Ki, utilizando una ecuación aleatoria del sistema bireactante:

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

25

donde A = ATP y B = histona H1.

Valoración de la inhibición de la actividad de Cdk2/Ciclina E

30 Reacción de la cinasa: se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con el fondo en U, sustrato de histona H1 1,5 µM (Sigma # H-5505), ATP 25 µM (0,2 µCi de P³³γ-ATP), 15 ng de Cdk2/GST-Ciclina E co-expresadas en baculovirus, concentraciones adecuadas del inhibidor en un volumen final de 100 µL de tampón (TRIS HCl 10 mM pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, DTT 7,5 mM + 0,2 mg/mL de BSA). Después de 10 min de incubación a 37 °C, se paró la reacción con 20 µL de EDTA 120 mM.

35 Captura: se transfirieron 100 µL de cada pocillo a una placa MultiScreen, para permitir que el sustrato se una al filtro de fosfocelulosa. Se lavaron entonces las placas 3 veces con 150 µL/pocillo de PBS libre de Ca⁺⁺/Mg⁺⁺ y se filtraron por el sistema de filtración MultiScreen.

Detección: se dejaron secar los filtros a 37 °C, después se añadieron 100 µL/pocillo del líquido de centelleo y se detectó la histona H1 marcada con ³³P mediante recuento de la radiactividad en el instrumento Top-Count.

Valoración de la inhibición de la actividad de Cdk1/Ciclina B1

40 Reacción de la cinasa: se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con el fondo en U, sustrato de histona H1 1,5 µM (Sigma # H-5505), ATP 25 µM (0,2 µCi de P³³γ-ATP), 30 ng de Cdk1/Ciclina B1 co-expresadas en baculovirus, concentraciones adecuadas del inhibidor en un volumen final de 100 µL de tampón (TRIS HCl 10 mM pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, DTT 7,5 mM + 0,2 mg/mL de BSA). Después de 10 min de incubación a 37 °C, se paró la reacción con 20 µL de EDTA 120 mM.

45 Captura: se transfirieron 100 µL de cada pocillo a una placa MultiScreen, para permitir que el sustrato se una al filtro de fosfocelulosa. Se lavaron entonces las placas 3 veces con 150 µL/pocillo de PBS libre de Ca⁺⁺/Mg⁺⁺ y se filtraron por el sistema de filtración MultiScreen.

Detección: se dejaron secar los filtros a 37 °C, después se añadieron 100 µL/pocillo del líquido de centelleo y se detectó la histona H1 marcada con ³³P mediante recuento de la radiactividad en el instrumento Top-Count.

Valoración de la inhibición de la actividad de Cdk4/Ciclina D1

5 Reacción de la cinasa: se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con el fondo en U, sustrato de GST-Rb (769-921) de ratón 0,4 μM (# sc-4112 de Santa Cruz), ATP 10 μM (0,5 μCi de $\text{P}^{33}\gamma\text{-ATP}$), 100 ng de GST-Cdk4/GST-Ciclina D1 expresado en baculovirus, concentraciones adecuadas del inhibidor en un volumen final de 50 μL de tampón (TRIS HCl 10 mM pH 7,5, MgCl_2 10 mM, DTT 7,5 mM + 0,2 mg/mL de BSA). Después de 40 min de incubación a 37 °C, se paró la reacción con 20 μL de EDTA 120 mM.

Captura: se transfirieron 60 μL de cada pocillo a una placa MultiScreen, para permitir que el sustrato se una al filtro de fosfocelulosa. Se lavaron entonces las placas 3 veces con 150 μL /pocillo de PBS libre de $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ y se filtraron por el sistema de filtración MultiScreen.

10 Detección: se dejaron secar los filtros a 37 °C, después se añadieron 100 μL /pocillo del líquido de centelleo y se detectó el fragmento Rb marcado con ^{33}P mediante recuento de la radiactividad en el instrumento Top-Count.

Valoración de la inhibición de la actividad de Cdk5/p25

La valoración de la inhibición de la actividad de Cdk5/p25 se realizó según el siguiente protocolo:

15 Reacción de la cinasa: se añadieron a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con el fondo en U, sustrato peptídico de histona biotinilada 1,0 μM , 0,25 μCi de $\text{P}^{33}\text{g-ATP}$, complejo Cdk5/p25 4 nM, inhibidor de 0-100 μM en un volumen final de 100 μL de tampón (Hepes 20 mM pH 7,5, MgCl_2 15 mM, DTT 1 mM). Después de 20 min de incubación a 37 °C, se paró la reacción por la adición de 500 μg de perlas SPA en solución salina tamponada con fosfato que contenía Triton X-100 al 0,1 %, ATP 50 μM y EDTA 5 mM. Se dejaron sedimentar las perlas, y se detectó la radiactividad incorporada en el péptido marcado con ^{33}P en un contador de centelleo Top Count.

20 Resultados: Se analizaron los datos y se expresaron como % de inhibición utilizando la fórmula:
 $100 \times (1 - (\text{desconocido} - \text{Bkgd}) / (\text{Enzima Control} - \text{Bkgd}))$

Se calcularon los valores de IC_{50} utilizando una variación de la ecuación logística de cuatro parámetros:

$$Y = 100 / [1 + 10^{((\text{LogEC50} - X) \times \text{Pendiente})}]$$

donde X = $\log(\mu\text{M})$ e Y = % de inhibición.

Valoración de la inhibición de la actividad de IGF-1 R cinasa

25 Los sustratos específicos de péptido o proteína son trans-fosforilados por sus específicas ser-thr o tyr cinasas en presencia de ATP marcado con $^{33}\text{P-}\gamma\text{-ATP}$ (marcado con gamma fosfato, Redivue™ Code Number AH9968, 1000-3000 Ci/mmol, Amersham Biosciences Piscataway, NJ USA), y en presencia de sus propios tampones y cofactores óptimos. Al final de la reacción de fosforilación, se captura más del 98 % de ATP frío y ATP radioactivo mediante un exceso de la resina dowex de intercambio iónico. Después se sedimenta la resina hacia el fondo de la placa de
 30 reacción por gravedad. Se retira seguidamente el sobrenadante y se transfiere a una placa de contaje, y después se evalúa por conteo β .

Reactivos / condiciones de valoración

i. Preparación de la resina Dowex:

35 Se pesan 500 g de resina húmeda (SIGMA, resina DOWEX preparada según pedido, 1x8 200-400 mallas, 2,5 Kg) y se diluyen hasta 2 litros en formiato de sodio 150 mM, pH 3,00.

40 Se deja que sedimente la resina (unas horas) y después se desecha el sobrenadante. Después de tres lavados como antes durante un par de días, se deja sedimentar la resina y se añaden dos volúmenes (con respecto al volumen de resina) de tampón de formiato de sodio 150 mM. Se mide entonces el pH y debe ser de alrededor de 3,00. La resina lavada es estable durante más de una semana; el stock de resina se mantiene a 4 °C antes de su uso.

ii. Tampón de la cinasa (KB):

HEPES 50 mM, pH 7,9

MnCl_2 3 mM

DTT 1 mM

45 NaVO_3 3 μM

BSA 0,2 mg/mL

iii. Pre-activación de la enzima:

Antes de empezar la valoración de la inhibición de la cinasa, se pre-incuba la IGF-1R durante 30 min a 28 °C en presencia de ATP 100 µM en KB, en un volumen igual a 1/60 de la mezcla de enzima total. Esto permitirá la autofosforilación de la enzima y la activación completa.

iii. Condiciones de valoración (concentraciones finales):

- 5 Concentración de la enzima = 6 nM
 Sustrato IRS1 = 10 µM
 ATP = 6 µM
³³P-γ-ATP = 1 nM

Valoración robotizada en dowex

- 10 La mezcla de ensayo consistió en:

- 1) 3x mezcla de enzima (preparada en tampón de la cinasa 3X), 7 µL/pocillo
- 2) 3x mezcla de sustrato y ATP (preparada en H₂O bidestilada), junto con ³³P-γ-ATP, 7 µL/pocillo
- 3) 3x compuestos de ensayo (diluidos en H₂O bidestilada – DMSO al 3 %) - 7 µL/pocillo

Dilución del compuesto y esquema de la valoración

- 15 i. Dilución de los compuestos:

Los compuestos de ensayo están disponibles como soluciones 10 mM en DMSO al 100 % y se distribuyen en placas de 96 pocillos en un laboratorio dedicado:

- 20 a)- para los estudios del % de inhibición, se preparan placas de dilución individuales a 1 mM, 100 µM y 10 µM en DMSO al 100 %, después se diluyen a una concentración 3X (30, 3 y 0,3 µM) en H₂O bidestilada, DMSO al 3 %. Se utiliza un Multitek 96 (Beckman Coulter, Inc.4300 N. Harbor Boulevard, P.O. Box 3100 Fullerton, CA 92834-3100 USA) para pipetear el compuesto a las placas de ensayo.
 b)- para la determinación de la IC₅₀, se diluyen los compuestos hasta 1 mM en DMSO al 100 % y se extienden en la primera columna de una placa de microtitulación (A1 a G1), 100 µL.

Se deja vacío el pocillo H1 para el inhibidor estándar interno, estaurosporina (SIGMA- Aldrich, St. Louis, MO, USA).

- 25 Se utiliza un Biomek 2000 (Beckman Coulter) para las diluciones seriadas 1:3 en agua, DMSO al 3 %, desde la columna A1 hasta la A10 y para los siete compuestos de la placa. En un experimento estándar, la concentración más alta de todos los compuestos es 30 µM, diluida después en la mezcla final de ensayo hasta 10 µM.

Las columnas 11 y 12 se dejan disponibles para la referencia de la actividad total y la evaluación del fondo.

ii. Esquema de valoración

- 30 Se preparan placas de 384 pocillos, con el fondo en V (placas de ensayo) con 7 µL de la dilución (3X) del compuesto y se ponen después en una estación robotizada PlacaTrak 12 (Perkin Elmer, 45 William Street Wellesley, MA 02481-4078, USA); el robot tiene una cabeza de pipeteado de 384 puntas para empezar la valoración más una cabeza de 96 puntas para dispensar la resina, junto con un reservorio para la mezcla de enzima (3X) y otro para la mezcla de ATP (3X).

- 35 Al principio del experimento, el robot aspira 7 µL de mezcla ATP, hace un vacío de aire dentro de las puntas (5 µL), y aspira 7 µL de mezcla de IGF1R. La siguiente dispensación a las placas permite que comience la reacción de la cinasa después de 3 ciclos de mezclado, realizados por el propio robot.

En este punto, se restablece la concentración correcta para todos los reactivos.

- 40 El robot incuba las placas durante 60 minutos a temperatura ambiente, y después detiene la reacción pipeteando 70 µL de la suspensión de resina dowex a la mezcla de reacción. Se realizan tres ciclos de mezclado inmediatamente después de la adición de la resina.

La suspensión de resina tiene que ser agitada cuidadosamente durante toda la etapa de parada de la reacción porque su velocidad de sedimentación es extremadamente alta. La suspensión de resina es muy densa. Con el fin de evitar la formación de grumos, se usan puntas con agujero ancho para dispensarla.

- 45 Se realiza otro ciclo de mezclado después de que todas las placas se hayan parado, esta vez utilizando puntas normales. Se deja entonces que descansen las placas durante aproximadamente una hora con el fin de maximizar la captura de ATP. En este punto, se transfieren 20 µL del sobrenadante a Optiplates-384 (Perkin Elmer), con 70 µL de

Microscint 40 (Perkin Elmer). Después de 5 min de agitación orbital, se leen las placas en un contador de radiactividad Top Count de Perkin-Elmer.

iii. Análisis de los datos

5 Se analizaron los datos utilizando una versión adaptada del paquete de software "Assay Explorer" (Elsevier MDL, San Leandro, CA 94577). Para las concentraciones del compuesto individual, la actividad inhibitora se expresó típicamente como % de la inhibición obtenida en presencia del compuesto, comparada con la actividad total de la enzima obtenida cuando se omite el inhibidor. Los compuestos que presentan la inhibición deseada se pueden analizar además con el fin de estudiar la potencia del inhibidor mediante el cálculo de la IC_{50} . En este caso, los datos de inhibición obtenidos utilizando diluciones seriadas del inhibidor se pueden ajustar por regresión no lineal utilizando la siguiente ecuación:

$$v = v_0 + \frac{(v_0 - v_b)}{1 + 10^{n(\log IC_{50} - \log [I])}}$$

en la que v_b es la velocidad en la línea base, v es la velocidad de reacción observada, v_0 es la velocidad en ausencia de inhibidores, y $[I]$ es la concentración del inhibidor.

15 Análisis por transferencia Western de la fosforilación del receptor después de estimulación con IGF-1 en células MCF-7 de cáncer de mama humano.

Se sembraron células MCF-7 (ATCC# HTB-22) en placas de cultivo de tejidos de 12 pocillos a 2×10^5 células/pocillo en medio E-MEM (MEM+ BSS de Earle + glutamina 2 mM + aminoácidos no esenciales 0,1 mM) + FCS al 10 %, y se incubaron durante la noche a 37 °C, 5 % de CO₂, 100 % de humedad relativa. Se sometieron entonces las células a carencias reemplazando el E-MEM + FCS al 10 % con E-MEM + BSA al 0,1 %, y se incubaron durante la noche. Después de esta incubación, se trataron los pocillos con las concentraciones deseadas de compuesto durante 1 hora a 37 °C, y después se estimularon con IGF-1 humana recombinante 10 nM (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) durante 10 minutos a 37 °C. Se lavaron entonces las células con PBS y se lisaron en tampón de lisis celular a 100 microl/pocillo (M-PER Mammalian Protein Extraction Reagente [Product #78501, Pierce, Rockford, IL, USA] + EDTA 10 mM + cóctel de inhibidor de proteasa [Sigma-Aldrich producto #P8340] + cóctel de inhibidor de fosfatasa [Sigma-Aldrich productos #P2850 + #P5726]). Los lisados celulares se aclararon por centrifugación a 10.000xg durante 5 minutos, y se aplicaron 10 microg/pista de lisado de proteína aclarado sobre geles NuPAGE (NuPAGE 4-12 % geles Bis-Tris de 10-pistas, Invitrogen) con tampón de recorrido MOPS, después se transfirieron a filtros de nitrocelulosa Hybond-ECL (Amersham Biosciences, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK) utilizando cámaras Mini PROTEAN II (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). Los filtros que llevan la proteína transferida se incubaron durante 1 hora en tampón de bloqueo (TBS + BSA al 5 % + Tween 20 al 0,15 %), y se utilizó una sonda durante 2 horas en el mismo tampón que contiene una dilución 1/1000 de anticuerpo anti fosfo IGF-1R Tyr1131/InsR Tyr 1146 de conejo (producto #3021, Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA) para la detección de IGF-1R fosforilado, o dilución 1/1000 de anticuerpo anti IGF-1rβ(H-60) de conejo (producto #sc-9038, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA) para detectar la cadena β total de IGF-1 R. En cualquier caso, se lavaron entonces los filtros durante 30 minutos con varios cambios de TBS + Tween 20 al 0,15 %, y se incubaron durante 1 hora en tampón de lavado que contiene una dilución 1/5000 de IgG anti-conejo conjugada con peroxidasa de rábano (Amersham, producto #NA934), después se lavaron de nuevo y se desarrollaron usando el sistema de quimioluminiscencia ECL (Amersham) según las recomendaciones del fabricante. A menos que se indique otra cosa, los reactivos usados eran de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA.

40 Fosforilación de la proteína ribosómica S6 inducida por el factor de crecimiento en los fibroblastos humanos primarios

Se utilizó la fosforilación de la proteína ribosómica S6 en respuesta a la estimulación por el factor de crecimiento de los fibroblastos dérmicos humanos normales (NHDF) para evaluar la potencia del compuesto para inhibir la transducción de señales inducida por IGF-1 en las células, y la selectividad hacia los estímulos EGF y PDGF. Las células NHDF obtenidas de PromoCell (Heidelberg, Germany), se mantuvieron a 37 °C en una atmósfera humidificada con 5 % de CO₂ en medio de crecimiento de fibroblastos completo (PromoCell). Para la valoración, se sembraron las NHDF en placas de cultivo de tejidos de 384 pocillos (placas negras con fondo claro y plano; Matrix Technologies Inc., Hudson, NH, USA) a una densidad de 5000 células/pocillo en medio libre de suero que contiene 0,1 % de seroalbúmina bovina (BSA) y se incubaron durante 5 días. Las células con carencias se trataron durante 1 hora con las dosis deseadas de los compuestos y se estimularon después durante 2 horas adicionales con IGF-1 10 nM (Invitrogen Corp., CA, USA), o con EGF 10 nM (Gibco BRL, USA) o con PDGF-B/B 1 nM (Roche Diagnostics GmbH, Germany). Se fijaron entonces las células en PBS/ paraformaldehído al 3,7 % durante 20 minutos a temperatura ambiente, se lavaron dos veces con PBS, y se permeabilizaron con PBS/Triton X-100 al 0,3 % durante

15 minutos. Se saturaron entonces los pocillos con PBS/leche desnatada en polvo al 1 % (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) durante una 1 hora, y después se utilizó una sonda durante 1 hora a 37 °C con anticuerpo anti-fosfo-S6 (Ser 235/236) (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA, cat. #2211) a una dilución 1/200 en PBS/leche al 1 %/Tween 20 al 0,3 %. Se lavaron entonces los pocillos dos veces con PBS, y se incubaron durante 1 hora a 37 °C con PBS/leche al 1 %/Tween 20 al 0,3 % + 1 microg/mL de DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) + anticuerpo secundario conjugado con Cy5™ anti-conejo de cabra a una dilución 1/500 (Amersham Biosciences, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK). Se lavaron entonces los pocillos dos veces con PBS, y se dejaron en cada pocillo 40 microL de PBS para el análisis de inmunofluorescencia. Las imágenes de fluorescencia en los canales de DAPI y Cy5™ se adquirieron automáticamente, se almacenaron y se analizaron usando un instrumento Cellomics ArrayScan™ IV (Cellomics, Pittsburgh, USA). Se utilizó el algoritmo Cellomics Cytotoxicity Algorithm para cuantificar la fluorescencia citoplásmica asociada con fosfo-S6 (parámetro de señal de Cy5™: "Mean Lyso Mass-pH") para cada célula en 10 campos/pocillo, y eventualmente se expresó como un valor medio de población. A menos que se indique otra cosa, los reactivos se obtuvieron de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA.

Valoración de la inhibición de la actividad de Aurora-2

15 Esta valoración de la inhibición de la cinasa *in vitro* es la misma que se ha descrito para IGF-1R: el principio, la preparación de la resina Dowex, la dilución de los compuestos de ensayo, la valoración robotizada y el análisis de los datos fueron exactamente los mismos.

La enzima Aurora-2 no necesita ninguna pre-activación.

i. Tampón de la cinasa (KB) para Aurora-2:

20 HEPES 50 mM, pH 7,0
MnCl₂ 10 mM
DTT 1 mM
NaVO₃ 3 μM
BSA 0,2 mg/mL

25 ii. Condiciones de la valoración para Aurora-2 (concentraciones finales)

Concentración de la enzima = 2,5 nM
Sustrato (4x repeticiones de LRRWSLG) = 8 μM
ATP = 10 μM
³³P-Y-ATP = 1 nM

30 Valoración de la proliferación celular *in vitro*

Se sembró la línea de células de cáncer de colon humano HCT-116 a 5000 células/cm² en una placa de 24 pocillos (Costar) utilizando medio F12 (Gibco) suplementado con FCS al 10 % (EuroClone, Italy) L-glutamina 2 mM y 1 % de penicilina/estreptomina y se mantuvo a 37 °C, 5 % de CO₂ y 96 % de humedad relativa. Al día siguiente, se trataron las placas por duplicado con 5 μL de una dilución apropiada de compuestos partiendo de un stock 10 mM en DMSO. Se incluyeron en cada placa dos pocillos control no tratados. Después de 72 horas de tratamiento, se retiró el medio y se separaron las células de cada pocillo utilizando 0,5 mL de tripsina al 0,05 % (p/v), EDTA al 0,02 % (p/v) (Gibco). Se diluyeron las muestras con 9,5 mL de Isoton (Coulter) y se contaron utilizando un contador de células Multisizer 3 (Beckman Coulter). Se evaluaron los datos como tanto por ciento de los pocillos control:

40 % de CTR = (Tratado - Blanco)/(Control - Blanco).
Se calcularon los valores de la IC₅₀ mediante LSW/Data Analysis utilizando el ajuste de la curva sigmoidal por Microsoft Excel.

Dadas las valoraciones anteriores, resultó que los compuestos de la fórmula (I) de la invención tienen una notable actividad inhibidora de proteínas cinasas, por ejemplo actividad inhibidora de Aurora-2.

45 De forma interesante, se ensayaron estos mismos derivados en comparación con un compuesto estructuralmente muy próximo, definido aquí como compuesto de referencia, que está específicamente descrito en la solicitud de patente WO04/013146 mencionada antes - véase el compuesto No. 421 del ejemplo 6.

Valoración de la inhibición de la actividad de AKT-1

Se preparan los compuestos de ensayo como una solución 10 mM en DMSO al 100 % y se distribuyen en placas de 96 pocillos:

50 i – para los estudios del % de inhibición, se preparan placas de dilución individuales a 1 mM, 100 μM y 10 μM en DMSO al 100 %, se diluyen después a una concentración 3X (30, 3 y 0,3 μM) en H₂O bidestilada, DMSO al 3 %. Se usa un Multimek 96 (Beckman) para pipetear el compuesto a las placas de ensayo

ii - para la determinación de la IC₅₀, se diluyen los compuestos hasta 1 mM en DMSO al 100 % y se extienden en la primera columna de una placa de microtitulación (A1 a G1), 100 µL. Se deja vacío el pocillo H1 para el estándar interno.

5 Se utiliza un Biomek 2000 (Beckman) para las diluciones seriadas 1:3 en agua, DMSO al 3 %, desde la columna A1 hasta la A10 y para los siete compuestos de la placa. En un experimento estándar, la concentración más alta de todos los compuestos es 30 µM, que se diluye en la mezcla final de ensayo a 10 µM. Las columnas 11 y 12 se dejan disponibles para la referencia de la actividad total y la evaluación del fondo.

10 Esquema de valoración: Se preparan placas de ensayo con el fondo en U con 10 µL de la dilución (3X) del compuesto por pocillo, o DMSO al 3 %/agua, y se ponen después en una estación robotizada PlacaTrak (Packard); junto con un reservorio para la mezcla de enzima (3X) y otro para la mezcla de ATP (3X). Al principio del experimento, el robot (sistema PlacaTrak, Perkin Elmer) aspira 10 µL de mezcla ATP, hace un vacío de aire dentro de las puntas (10 µL), y aspira 10 µL de mezcla de enzima. La siguiente dispensación a las placas permite que comience la reacción de la cinasa después de 3 ciclos de mezclado, realizados por el propio robot.

En este punto, se restablece la concentración correcta para todos los reactivos.

15 El robot incuba las placas durante 60 minutos a temperatura ambiente, y después para la reacción pipeteando 150 µL de la suspensión de resina dowex a la mezcla de reacción. Se agita bien la resina antes de la adición a las placas.

Se deja sedimentar la resina durante otros 60 minutos; después el robot toma 50 µL de sobrenadante de cada pocillo y los dispensa a una Optiplate (Packard) con 150 µL de Microscint 40 (Packard).

20 Recuento: Las optiplates, cubiertas con una película de plástico para evitar salpicaduras radiactivas, se mezclan entonces durante 10 minutos antes de contar en un Top Count de Packard.

25 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar como agentes únicos o, alternativamente, en combinación con tratamientos anticáncer conocidos tales como un régimen de radioterapia o quimioterapia en combinación con agentes citostáticos o citotóxicos, agentes tipo antibiótico, agentes alquilantes, agentes antimetabolitos, agentes hormonales, agentes inmunológicos, agentes tipo interferón, inhibidores de la ciclooxigenasa (por ejemplo los inhibidores de la COX-2), inhibidores de las metaloproteasas de la matriz, inhibidores de la telomerasa, inhibidores de la tirosina cinasa, agentes anti-receptor del factor de crecimiento, agentes anti-HER, agentes anti-EGFR, agentes anti-angiogénesis (por ejemplo inhibidores de la angiogénesis), inhibidores de la farnesil-transferasa, inhibidores de la ruta de transducción de señales ras-raf, inhibidores del ciclo celular, otros inhibidores de cdks, agentes de unión a la tubulina, inhibidores de la topoisomerasa I, inhibidores de la topoisomerasa II, y similares.

Si se formula como una dosis fija, tales productos de combinación emplean los compuestos de esta invención dentro del intervalo de dosificación descrito más adelante y el otro agente farmacéuticamente activo dentro del intervalo de dosificación aprobado.

35 Cuando una formulación de combinación es inapropiada, los compuestos de la fórmula (I) se pueden usar secuencialmente con agentes anticáncer conocidos.

40 Los compuestos de la fórmula (I) de la presente invención, adecuados para la administración a un mamífero, por ejemplo, a los seres humanos, se pueden administrar por las vías usuales y el nivel de dosificación depende de la edad, peso, y condiciones del paciente y de la vía de administración. Por ejemplo, una dosis adecuada para administración oral de un compuesto de la fórmula (I) puede variar de aproximadamente 10 a 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 farmacéuticas, por ejemplo, oralmente, en la forma de comprimidos, cápsulas, comprimidos recubiertos con azúcar o con película, soluciones o suspensiones líquidas; rectalmente en la forma de supositorios; parenteralmente, por ejemplo, intramuscularmente, o por medio de inyección o perfusión intravenosa y/o intratecal y/o intraespinal.

45 La presente invención incluye también composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en asociación con un excipiente farmacéuticamente aceptable, que puede ser un vehículo 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 farmacéutica adecuada.

50 Por ejemplo, las formas sólidas orales pueden contener, junto con el compuesto activo, diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, azúcar, celulosa, almidón de maíz o almidón de patata; lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o de calcio, y/o polietilenglicoles; agentes aglutinantes, por ejemplo,

5 almidones, goma arábica, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinilpirrolidona; agentes disgregantes, por ejemplo, almidón, ácido algínico, alginatos o glicolato sódico de almidón; mezclas efervescentes; colorantes; edulcorantes; agentes humectantes tales como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos; y, en general, sustancias no tóxicas y farmacológicamente inactivas usadas en las formulaciones farmacéuticas. Estas preparaciones farmacéuticas se pueden fabricar de la manera conocida, por ejemplo, por medio de procedimientos de mezcla, granulación, compresión, recubrimiento con azúcar, o recubrimiento con película.

Las dispersiones líquidas para administración oral pueden ser, por ejemplo, jarabes, emulsiones y suspensiones.

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

10 Las suspensiones y las emulsiones pueden contener, como ejemplos de excipientes, gomas naturales, agar, alginato de sodio, pectina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, o alcohol polivinílico.

Las suspensiones o soluciones para inyecciones intramusculares pueden contener, junto con el compuesto activo, un vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, agua estéril, aceite de oliva, oleato de etilo, glicoles, por ejemplo, propilenglicol y, si se desea una cantidad adecuada de hidrocloreto de lidocaina.

15 Las soluciones para inyecciones o perfusiones intravenosas pueden contener como vehículo, agua estéril o preferiblemente pueden estar en la forma de soluciones salinas isotónicas acuosas estériles o pueden contener propilenglicol como vehículo.

20 Los supositorios pueden contener, junto con el compuesto activo, un excipiente farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, un éster de ácido graso y sorbitán polioxietileno, un tensioactivo o lecitina.

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

Métodos generales

25 Se realizó una cromatografía rápida sobre gel de sílice (grado Merck 9395, 60A). Se realizó HPLC en una columna Waters X Terra RP 18 (4,6 x 50 mm, 3,5 μ m) utilizando un sistema de HPLC Waters 2790 equipado con un detector 996 Waters PDA y un espectrómetro de masas Micromass mod. ZQ de cuadrupolo sencillo, equipado con una fuente de iones para electronebulización (ESI). La fase móvil A era tampón de acetato de amonio 5 mM (pH 5,5 con ácido acético/acetonitrilo 95:5), y la fase móvil B era H₂O/acetonitrilo (5:95). Gradiente de 10 a 90 % de B en 8 minutos, mantener 90 % de B 2 minutos. Detección UV a 220 nm y 254 nm. Caudal 1 mL/min. Volumen de inyección 10 μ L. Recorrido completo, intervalo de masas de 100 a 800 amu. El voltaje capilar era 2,5 KV; la temperatura de la fuente era 120 °C; el cono fue 10 V. Los tiempos de retención (HPLC t.r.) se dan en minutos a 220 nm o a 254 nm. Las masas se dan como relación m/z.

35 Cuando fue necesario, los compuestos han sido purificados por HPLC preparativa en una columna Waters Symmetry C18 (19 x 50 mm, 5 μ m) utilizando un sistema Waters 600 de HPLC preparativa equipado con un detector 996 Waters PDA y un espectrómetro de masas Micromass mod. ZMD de cuadrupolo sencillo, ionización para electronebulización, modo positivo. La fase móvil A era TFA al 0,01 % en agua y la fase móvil B era acetonitrilo. Gradiente de 10 a 90 % de B en 8 minutos, mantener 90 % de B 2 minutos. Caudal 20 mL/min.

La espectrometría ¹H-NMR se realizó sobre un Mercury VX 400 que opera a 400,45 MHz equipado con una sonda de resonancia doble de 5 mm [Varian ¹H (15N-31P) ID_PFG],

40 Los compuestos de la fórmula (I), que tienen un átomo de carbono asimétrico y se obtienen como una mezcla racémica, se resolvieron por separación por HPLC en columnas quirales. En particular, por ejemplo, se pueden usar las columnas preparativas CHIRALPACK® AD.

Ejemplo 1. Hidrobromuro de 2-bromo-1-piridin-4-iletanona

45 A una solución en agitación de 4-acetilpiridina (10 mL, 90 mmol) en ácido acético glacial (40 mL) y ácido bromhídrico al 48 % (15 mL), se añadió gota a gota bromo (4,65 mL, 90 mmol) en ácido acético glacial (10 mL). Después de la adición, se agitó la solución a temperatura ambiente durante la noche. El precipitado blanco se separó por filtración y se lavó con etanol absoluto, obteniéndose así el compuesto del título (22,2 g, 90 %) como un sólido blanco que contiene trazas de dibromo derivado, que se usó tal cual en la siguiente etapa.

¹H NMR (DMSO-d₆ / 400 MHz) δ ppm 5,05 (s, 2 H) 8,15 (d, 2 H) 9,0 (d, 2 H).

50

Ejemplo 2. Hidrobromuro de 2-bromo-1-(3-fluoropiridin-4-il)etanona

Sobre una solución en agitación de 3-fluoropiridina (14 g, 144,2 mmol) en THF anhidro (150 mL), enfriada a -78 °C y bajo argón, se añadieron lentamente gota a gota, 79,2 mL (158,6 mmol) de una solución 2 N de diisopropilamido de litio (LDA) en *n*-heptano, THF, etilbenceno, en aproximadamente 1 h. Después de agitar durante 2,5 h se añadió lentamente gota a gota una solución enfriada (aproximadamente 0 °C) de acetaldehído (8,9 mL, 158,5 mmol) en 25 mL de THF anhidro y se agitó la mezcla de reacción a -78 °C durante 1,5 h. Se calentó la solución a ~30 °C y se añadió una solución de cloruro de amonio (150 g) en 700 mL de agua. Se extrajo la mezcla con acetato de etilo (3 x 400 mL) y las capas orgánicas se lavaron con salmuera (4 x 200 mL) y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de concentración, se cristalizó el aceite con *n*-hexano (40 mL) y se obtuvieron 15,6 g (76 % de rendimiento) de 1-(3-fluoropiridin-4-il)etanol. Se mantuvo a reflujo una mezcla de 1-(3-fluoropiridin-4-il)etanol (10 g, 70,3 mmol) y MnO₂ comercial activado (8 g, 92,1 mmol) en tolueno (100 mL) hasta la desaparición del material de partida. Después de enfriar, se filtró la mezcla sobre un lecho de celita, se lavó la torta con tolueno y se concentraron las fases orgánicas para dar 3-fluoro-4-acetilpiridina (6,9 g, 70 %) que se usó directamente en la siguiente etapa. A una solución en agitación de 3-fluoro-4-acetilpiridina (5,3 g, 38,1 mmol) en ácido acético glacial (14 mL) y ácido bromhídrico al 48 % (5,3 mL), se añadió lentamente y gota a gota bromo (2 mL, 38 mmol) en ácido acético glacial (5,3 mL). Después de la adición, se agitó la solución a 60 °C durante 2,5 horas. Se enfrió esta solución y se añadió acetato de etilo (70 mL). Después de 30 minutos de agitación, se filtró la mezcla y se lavó el sólido concienzudamente con acetato de etilo y se secó. Se obtuvo el compuesto del título con el 82 % de rendimiento (9,4 g).
¹H NMR (DMSO-d₆ / 400 MHz) δ ppm 4,88 (s, 2 H) 7,83 (dd, 1 H) 8,62 (dd, 1 H) 8,81 (d, 1 H).

Ejemplo 3. Hidrobromuro de 1-(2-aminopirimidin-4-il)-2-bromoetanona

Una mezcla de 3,3-dimetoxi-2-butanona (25 g, 189,2 mmol) y N,N-dimetilformamida dimetilacetil (22,5 g, 189,2 mmol) se agitó a 110 °C durante 30 horas y después se destiló (115 °C, 1 mm de Hg) obteniéndose así 1-(dimetilamino)-4,4-dimetoxipent-1-en-3-ona, como un sólido amarillo (27,3 g, 146 mmol, 77 %). Sobre una solución de sodio (3,48 g, 151,6 mmol) en etanol anhidro (400 mL), se añadió hidrocloreuro de guanidina sólido (14,5 g, 151,6 mmol) a temperatura ambiente, para dar una suspensión blanca a la que se añadió una solución de 1-(dimetilamino)-4,4-dimetoxipent-1-en-3-ona (28,4 g, 151,6 mmol) en etanol anhidro (50 mL). Se mantuvo la mezcla a reflujo durante 19 horas. Después de enfriar, se filtró el precipitado y se lavó con etanol y con abundante agua, obteniéndose así un sólido blanco (8,56 g). Se concentraron las soluciones etanólicas a sequedad, se recogieron con acetato de etilo hirviente (1 L), se filtraron en caliente y después se enfriaron para obtener una segunda cosecha. Cantidad total de 4-(1,1-dimetoxietil)pirimidin-2-amina: 17,66 g, 63,5 %. Una solución de dicha amina (17,5 g, 95,5 mmol) en ácido fórmico se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas y se concentró a sequedad y el residuo se agitó en etanol (50 mL) y después se filtró obteniéndose así 1-(2-aminopirimidin-4-il)etanona (9,2 g, 70 %). A una solución de 1-(2-aminopirimidin-4-il)etanona (412 mg, 3 mmol) en ácido acético glacial (1 mL) y HBr acuoso al 48 % (0,3 mL), se añadió bromo (0,153 mL) en ácido acético (0,4 mL) y la solución anaranjada resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. Después de diluir con acetato de etilo (15 mL), se filtró el precipitado y se lavó con acetato de etilo obteniéndose así el compuesto del título como un sólido blanquecino (580 mg, 65 %).
¹H NMR (DMSO-d₆ / 400 MHz) δ ppm: 4,9 (s, 2 H), 7,0 (d, 2 H), 8,5 (d, 2 H).

Ejemplo 4. Ácido N-(*terc*-butoxicarbonil)-DL-aspártico

Se disolvió ácido DL aspártico (1 g) en 20 mL de dioxano/agua 1:1 y se añadieron 4,15 mL de trietilamina. Se enfrió la mezcla a 0 °C y se añadieron 2,4 g de dicarbonato de di-*terc*-butilo. Se dejó la solución a temperatura ambiente durante la noche. Se concentró la suspensión y se extrajo con acetato de etilo y agua. Se acidificó el extracto acuoso con NaHSO₄ acuoso al 5 % y después se extrajo con AcOEt tres veces. Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a vacío para obtener 1,53 g del compuesto del título.
¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,36 (s, 9 H) 2,45 - 2,57 (m, 1 H) 2,60 - 2,72 (m, 1 H) 4,19 - 4,31 (m, 1 H) 7,01 (d, J=8,50 Hz, 1 H) 12,45 (bs, 2 H).

Ejemplo 5. Éster *terc*-butílico del ácido DL-(2,5-dioxo-tetrahydro-furan-3-il)-carbámico

Una mezcla de 1 g (4,29 mmol) de ácido N-(*terc*-butoxicarbonil)-DL-aspártico y 0,98 g (5,15 mmol) de hidrocloreuro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDCI) en 100 mL de DCM, se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se extrajo la solución tres veces con NaHSO₄ acuoso al 5 %, se secaron los extractos orgánicos sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a vacío. De este modo se obtuvieron 750 mg del compuesto del título.
¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,38 (s, 9 H) 2,78 - 2,90 (m, 1 H) 3,15 - 3,28 (m, 1 H) 4,54 - 4,65 (m, 1 H) 7,73 (d, J=7,91 Hz, 1 H).

Ejemplo 6. Ácido DL-3-*terc*-butoxicarbonilamino-4-hidroxi-butírico

A una solución de 192 mg de borohidruro de sodio en 15 mL de THF anhidro, enfriada a 0 °C, se añadió gota a gota 1 g de éster *terc*-butílico del ácido DL-(2,5-dioxo-tetrahydro-furan-3-il)-carbámico, disuelto en 15 mL de THF anhidro, y se mantuvo la agitación durante 4 horas a 0 °C.

5 Se acidificó la solución con NaHSO₄ acuoso al 5 %, y se concentró. Se extrajo el producto con AcOEt tres veces. Las fases orgánicas reunidas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron a vacío para dar 700 mg del compuesto del título.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,37 (s, 9 H) 2,14 - 2,29 (m, 1 H) 2,36 - 2,48 (m, 1 H) 3,13 - 3,40 (m, 2 H) 3,65 - 3,81 (m, 1 H) 4,69 (bs, 1 H) 6,47 - 6,60 (d, J=8,21 Hz, 1 H) 11,99 -12,18 (bs, 1 H).

10 Ejemplo 7. Ácido DL-3-*terc*-butoxicarbonilamino-4-(*terc*-butil-dimetil-silaniloxi)-butírico

A una solución de 1 g de ácido DL-3-*terc*-butoxicarbonilamino-4-hidroxi-butírico en una mezcla de DMF/DCM 1:5, se añadieron 1,24 g de imidazol y 1,7 g de cloruro de *terc*-butildimetilsililo. Se dejó la solución en agitación a temperatura ambiente durante la noche. Se extrajo la solución tres veces con NaHSO₄ acuoso al 5 % y se lavaron las fases acuosas dos veces con DCM. Se secaron los extractos orgánicos sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a vacío para obtener 2,1 g del compuesto del título.

15 [M+H]⁺ = 334; [M-H]⁻ = 332

Ejemplo 8. Éster 4-metílico del ácido DL-2-*terc*-butoxicarbonilamino-succínico

A una solución en agitación de éster 4-metílico del ácido DL-2-amino-succínico en dioxano/H₂O (2:1, 110 mL) se añadió Na₂CO₃ (3,92 g, 0,037 mol). Cuando cesó la evolución de CO₂, se añadió más Na₂CO₃ (3,92 g, 0,037 mol), seguido por adición de Boc₂O (8,87 g, 0,04 mol) y se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 1 h (se forma un precipitado blanco antes de 30 minutos) y a temperatura ambiente durante la noche. Se separó el disolvente y se lavó el residuo con Et₂O. Se acidificó la solución acuosa con NaHSO₄ acuoso saturado y se extrajo con Et₂O. Se secó la fase orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (6,7 g, 74 %).

25 [M+H]⁺ = 248; [M-H]⁻ = 246

Ejemplo 9. Éster metílico del ácido DL-3-*terc*-butoxicarbonilamino-4-hidroxi-butírico

A una solución de éster 4-metílico del ácido DL-2-*terc*-butoxicarbonilamino-succínico (5 g, 0,02 mol) en THF seco (100 mL) a -10 °C, se añadió Et₃N (3,1 mL, 0,022 mol), seguido por cloroformiato de etilo (2,1 mL, 0,022 mol). Después de 10 min, se añadió NaBH₄ (2,27 g, 0,06 mol) y después se añadió gota a gota a la mezcla MeOH durante un período de 20 min a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 0 °C y durante 2 horas a temperatura ambiente y después se neutralizó con NaHSO₄ acuoso saturado. Se separó el disolvente orgánico y se extrajo el producto con AcOEt tres veces. Las fases orgánicas reunidas se lavaron consecutivamente con NaHSO₄ acuoso saturado, agua, NaHCO₃ acuoso saturado, agua y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se evaporó el disolvente y se purificó el residuo por cromatografía rápida (*n*-hexano/AcOEt 5:1), obteniéndose el compuesto del título (1,63 g, 35 %).

35 [M+H]⁺ = 234

Ejemplo 10. Éster metílico del ácido DL-4-azido-3-*terc*-butoxicarbonilamino-butírico

A una solución en agitación de éster metílico del ácido DL-3-*terc*-butoxicarbonilamino-4-hidroxi-butírico (700 mg, 3 mmol) en CH₂Cl₂ (10 mL), se añadieron Et₃N (0,626 mL, 4,5 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,350 mL, 4,5 mmol) a 0 °C. Se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 30 minutos y a temperatura ambiente durante 2 h. Se lavó la fase orgánica con salmuera, NaHSO₄ acuoso saturado, NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera y se secó y se separó el disolvente para dar el correspondiente mesilato (712 mg, 76 %).

45 Se disolvió el mesilato en DMF (10 mL). Se añadió azida de sodio (585 mg, 9 mmol) y se calentó la mezcla a 60 °C durante 6 h. Se separó el disolvente y se recogió el residuo en AcOEt. Se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó y se evaporó para dar 450 mg del compuesto del título (76 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,38 (s, 9 H) 2,40 - 2,58 (m, 2 H) 3,3 (bs, 2 H) 3,6 (s, 3 H) 3,9 (m, 1 H) 7,01 (d, J=8,3 Hz, 1 H).

Ejemplo 11. Ácido DL-4-azido-3-*terc*-butoxicarbonilamino-butírico

50 Se disolvió el éster metílico del ácido DL-4-azido-3-*terc*-butoxicarbonilamino-butírico (450 mg, 1,74 mmol) en THF (12 mL) y se hidrolizó añadiendo una solución acuosa de LiOH (393 mg).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,4 (s, 9 H) 2,40 (d, 2 H, J=6,8 Hz) 3,3 (bs, 2 H) 3,9 (m, 1 H) 7,01 (d, J=8,3 Hz) 12,3 (s, 1 H).

Ejemplo 12. Éster *terc*-butílico del ácido DL-2-(*terc*-butil-dimetil-silaniloximetil)-4,6-dioxo-piperidin-1-carboxílico

A una solución de 2 g de ácido DL-3-*terc*-butoxicarbonilamino-4-(*terc*-butil-dimetil-silaniloxi)-butírico en 70 mL de DCM, se añadieron 1 g de ácido de Meldrum y 1,1 g de 4-dimetilaminopiridina. Se enfrió la solución a 0 °C y se añadieron gota a gota 1,37 g de EDCI, disueltos en 30 mL de DCM. Se mantuvo la agitación durante 3 horas y después se extrajo la solución tres veces con NaHSO₄ acuoso al 5 %. Se secaron los extractos orgánicos sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a vacío. Se disolvió el sólido en 200 mL de acetato de etilo, se mantuvo a reflujo durante 4 horas, y después se concentró a sequedad. El producto crudo se purificó por cromatografía rápida sobre gel de sílice obteniéndose así 510 mg del compuesto del título como un aceite.

Tiempo de retención en HPLC 6,42 [M+H]⁺ = 358; [M-H]⁻ = 356

¹H NMR (DMSO-d₆ / 400 MHz) δ ppm: -0,09-0,07 (6H), 0,76-0,92 (9H), 1,44 (9H), 2,52 (m, 1H), 2,81 (m, 1H), 3,3 (2H), 3,7 (m, 2H), 4,27 (m, 1H).

Trabajando de un modo análogo al del Ejemplo 12, y opcionalmente separando el grupo protector *terc*-butoxicarbonilo por tratamiento con ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, se prepararon los siguientes compuestos de los Ejemplos 13-15.

Ejemplo 13. (R)-6-benciloximetil-piperidin-2,4-diona

A partir de Boc-O-bencil-L-beta-homoserina.

¹H NMR (DMSO-d₆ / 400 MHz) δ ppm: 2,4 (dd, 1H), 2,7 (dd, 1H), 3,01-3,17 (dd, 2H), 3,48 (s, 2H), 3,77 (m, 1H), 4,46 (s, 2H), 7,28 (m, 2H), 7,33 (m, 3H), 8,06 (bs, 1H).

[M+H]⁺ = 234

Ejemplo 14. Éster *terc*-butílico del ácido DL-2-(3-benciloxicarbonilamino-propil)-4,6-dioxo-piperidin-1-carboxílico

A partir de Boc-β-LYS(Z)-OH dicitclohexilamina.

ESI (+) MS: m/z 405 (MH⁺).

Ejemplo 15. DL-6-azidometil-piperidin-2,4-diona

A partir de ácido DL-4-azido-3-*terc*-butoxicarbonilamino-butírico.

¹H NMR (DMSO-d₆ / 400 MHz) δ ppm: 2,3 (m, 2H), 3,11 (m, 3H), 3,85 (m, 2H), 9,5 (s, 1H).

Ejemplo 16. 5-(3-Benciloxi-propil)-piperidin-2,4-diona

A una solución de 2,4-dioxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3,84 g, 18 mmol) en THF anhidro (100 mL), enfriada a -20 °C en atmósfera de nitrógeno, se añadió gota a gota LiHMDS 1 M en THF (54 mL). Después de 20 min en agitación, se añadió (3-bromo-propoximetil)-benceno (54 mmol) y se agitó la solución a -20 °C durante 2 horas. Se vertió la mezcla de reacción en KHSO₄ acuoso al 5 %, y se extrajo dos veces con DCM. Las capas orgánicas recogidas se concentraron hasta 500 mL y se añadieron 50 mL de TFA. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de evaporación, se purificó el residuo por cromatografía en columna (hexano/EtOAc 1 :2) obteniéndose 3,85 g del compuesto del título (14,7 mmol, 82 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,35 (m, 1H), 1,58 (m, 2H), 1,74 (m, 1H), 2,50 (m, 1H), 3,00 - 3,33 (m, 4H), 3,43 (t, 2H), 4,45 (s, 2H), 7,20 - 7,40 (m, 5H), 8,04 (s, 1H).

ESI (+) MS: m/z 262 (MH⁺).

Trabajando de un modo análogo al del Ejemplo 16, a partir del haluro de alquilo adecuado, se prepararon los siguientes compuestos de los Ejemplos 17-19.

Ejemplo 17. 5-(2-Benciloxi-etil)-piperidin-2,4-diona

¹H NMR (44 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,60 (m, 1H), 1,97 (m, 1H), 2,59 (m, 1H), 3,15 (m, 1H), 3,40 (m, 1H), 3,51 (m, 2H), 4,46 (s, 2H), 7,33 (m, 6H), 8,06 (m, 2H).

ESI (+) MS: m/z 248 (MH⁺).

Ejemplo 18. 5-(3,3,3-Trifluoro-propil)-piperidin-2,4-diona y 5-(3,3-difluoro-alil)-piperidin-2,4-diona

A partir de 1,1-trifluoro-3-yodo-propano.

ESI (+) MS: m/z 210 (MH⁺)

ESI (+) MS: m/z 190 (MH⁺)

Ejemplo 19. 5-(2-Fluoro-etil)-piperidin-2,4-diona

A partir de 1-fluoro-2-bromo-etano.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- D_6) δ ppm 1,65 (m, 1H), 2,07 (m, 1 H), 2,63 (m, 1 H), 3,15 - 3,43 (m, 4H), 4,48 (m, 1H), 4,52 (m, 1H), 8,08 (s, 1H)

5 ESI (+) MS: m/z 160 (MH^+).

Ejemplo 20. Éster *terc*-butílico del ácido DL-6-(3-benciloxycarbonilamino-propil)-oxo-2-piridin-il-1,4,6,7-tetrahidro-pirroló[3,2-c]piridin-5-carboxílico

10 A una suspensión de hidrobromuro de 2-bromo-1-piridin-4-iletanona (0,76 g, 2,59 mmol) y éster *terc*-butílico del ácido DL-2-(3-benciloxycarbonilamino-propil)-4,6-dioxo-piperidin-1-carboxílico (1,05 g, 2,59 mmol) en EtOH absoluto (40 mL), se añadió acetato de amonio (0,81 g, 10,8 mmol) y la solución de color rojo fuerte se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Después de la separación del disolvente se trató el residuo con acetato de etilo/etanol absoluto 15:1 (50 mL), se separó el precipitado por filtración y la solución obtenida se cargó sobre gel de sílice rápida y se eluyó con acetato de etilo/etanol absoluto 15:1. De este modo se obtuvo el compuesto del título como un sólido amarillento (0,4 g, 30 % de rendimiento).

15 ESI (+) MS: m/z 505 (MH^+)

Trabajando de un modo análogo al del Ejemplo 19, se obtuvieron también los siguientes compuestos de los Ejemplos 21-32.

Ejemplo 21. (R)-6-benciloximetil-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirroló[3,2-c]piridin-4-ona

20 ^1H NMR (DMSO- D_6 / 400 MHz) ppm: 2,91 (dd, 1H), 3,01 (dd, 1H), 3,51 (m, 2H), 3,87 (m, 1H), 4,53 (s, 2H), 6,96 (s, br, 1 H), 7,01 (s, 1H), 7,34 (m, 5H), 7,61 (d, 2H), 8,49 (d, 2H), 11,91 (bs, 1H).
[$\text{M}+\text{H}$] $^+$ =334

Ejemplo 22. DL-7-(2-fluoro-etil-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirroló[3,2-c]piridin-4-ona

25 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- D_6) δ ppm 1,92 (m, 1H), 2,19 (m, 1 H), 3,10 (m, 1H), 3,26 (m, 1 H), 3,53 (m, 1H), 4,54 (m, 1 H), 4,63 (m, 1 H), 7,01 (s, 1 H), 7,07 (s, 1H), 7,65 (d, 2H), 8,49 (d, 2H), 11,80 (s, 1H).
ESI (+) MS: m/z 260 (MH^+).

La mezcla racémica (7R.7S) se separó por cromatografía quiral en columna, según métodos convencionales, utilizando una columna CHIRALPACK AD® y eluyendo con *n*-hexano/*i*-propanol/metanol = 55:35:10, para obtener así los enantiómeros (7R) y (7S) deseados, cuya estereoquímica absoluta no fue determinada:

Ejemplo 23. Hidrocloruro de (R) y (S)-7-(2-fluoro-etil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirroló[3,2-c]piridin-4-ona

30 Primer pico eluido) ^1H NMR (400 MHz, DMSO- D_6) δ ppm 2,05 (m, 1 H), 2,24 (m, 1 H), 3,15 (m, 1 H), 3,30 (m, 1 H), 3,60 (m, 1H), 4,56 (m, 1H), 4,68 (m, 1H), 7,31 (s, 1 H), 7,59 (s, 1H), 8,26 (d, 2H), 8,72 (d, 2H), 12,53 (s, 1 H).
ESI (+) MS: m/z 260 (MH^+).

35 Segundo pico eluido) ^1H NMR (400 MHz, DMSO- D_6) δ ppm 2,08 (m, 1 H), 2,24 (m, 1 H), 3,15 (m, 1 H), 3,30 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 4,56 (m, 1 H), 4,68 (m, 1 H), 7,31 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 8,26 (d, 2H), 8,72 (d, 2H), 12,53 (s, 1 H).
ESI (+) MS: m/z 260 (MH^+).

Ejemplo 24. Éster *terc*-butílico del ácido DL-6-(*terc*-butil-dimetil-silaniloximetil)-4-oxo-2-piridin-4-il-1,4,6,7-tetrahidro-pirroló[3,2-c]piridin-5-carboxílico

Tiempo de retención en HPLC 6,76 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ =458; [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ = 456

Ejemplo 25. 6-Azidometil-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirroló[3,2-c]piridin-4-ona

40 ^1H NMR (DMSO- d_6 / 400 MHz) δ ppm: 2,87 (dd, 1H), 3,02 (dd, 1H), 3,50 (dd, 1 H), 3,57 (dd, 1H), 3,83 (m, 1 H), 7,02 (s, 1H), 7,20 (s, 1 H), 7,62 (d, 2H), 8,49 (d, 2H), 11,95 (bs, 1H).
[$\text{M}+\text{H}$] $^+$ = 269

Trabajando de un modo análogo y a partir de hidrobromuro de 1-(2-aminopirimidin-4-il)-2-bromoetanona se obtuvieron también los siguientes compuestos:

Ejemplo 26. (R)-2-(2-Amino-pirimidin-4-il)-6-benciloximetil-1,5,6,7-tetrahidro-pirroló[3,2-c]piridin-4-ona

^1H NMR (DMSO- d_6 / 400 MHz) δ ppm: 2,88 (dd, 1H), 2,97 (dd, 1H), 3,46 (m, 2H), 3,82 (m, 1H), 4,49 (s, 2H), 6,28 (bs, 2H), 6,87 (d, 1H), 6,94 (bs, 1H), 6,99 (s, 1H), 7,32 (m, 5H), 8,13 (d, 1H), 11,74 (bs, 1H).
[$\text{M}+\text{H}$] $^+$ =350

Ejemplo 27. DL-2-(2-Amino-pirimidin-4-il)-7-(2-benciloxipropil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,70 (m, 4H), 2,92 (m, 1H), 3,19 (m, 1H), 3,42 (m, 2H), 3,49 (m, 1 H), 4,43 (s, 2H), 6,29 (s, 2H), 6,90 (d, 1 H), 6,98 (s, 1 H), 7,01 (s, 1 H), 7,20 - 7,35 (m, 5H), 8,13 (d, 1H), 11,62 (s, 1H).
ESI (+) MS: m/z 378 (MH⁺).

5 **Ejemplo 28. DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(2-hidroxi-etil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,80 (m, 1H), 2,07 (m, 1H), 3,07 (m, 1 H), 3,24 (m, 1 H), 3,47 (m, 1 H), 3,55 (m, 2H), 4,50 (m, 2H), 6,30 (s, 2H), 6,91 (d, 1 H), 7,01 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 7,25-7,35 (m, 5H), 8,14 (d, 1 H), 11,60 (s, 1H).
ESI (+) MS: m/z 364 (MH⁺).

10 **Ejemplo 29. DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(2-fluoro-etil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,92 (m, 1H), 2,15 (m, 1 H), 3,11 (m, 1H), 3,32 (m,1H), 3,52 (dd, 1H). 4,52 (t, 1H). 4,64 (t, 1H), 6,33 (s, 2H), 6,94 (d,1H). 7,04 (s, 1 H), 7,07 (s, 1H), 8,17 (d, 1 H), 11,68 (s, 1 H).

La mezcla racémica (7R.7S) se separó por cromatografía quiral en columna, según métodos convencionales, utilizando una columna CHIRALPACK OD® y eluyendo con *n*-hexano/etanol/metanol=60:35:5, para obtener así los enantiómeros (7R) y (7S) deseados, cuya estereoquímica absoluta no fue determinada:

15 **Ejemplo 30. Hidrocloruro de (R) y (S)-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(2-fluoro-etil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona**

Primer pico eluido) ee 99 %
Segundo pico eluido) ee 96 %

20 **Ejemplo 31. Hidrocloruro de DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(3,3,3-trifluoro-propil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona**

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,81 (m, 1H), 2,01 (m, 1 H), 2,27 (m, 1H), 2,41 (m, 1 H), 3,12 (m, 1 H), 3,42 (m, 2H), 7,30 (s, 1 H), 7,35 (d, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,97 (s, 2H), 8,24 (d, 1 H), 12,33 (ss 1H).
ESI (+) MS: m/z 326 (MH⁺).

25 La mezcla racémica (7R.7S) se separó por cromatografía quiral en columna, según métodos convencionales, utilizando una columna CHIRALPACK OD® y eluyendo con *n*-hexano/etanol =75:25, para obtener así los enantiómeros (7R) y (7S) deseados, cuya estereoquímica absoluta no fue determinada:

Ejemplo 32 Hidrocloruro de (R) y (S)-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(3,3,3-trifluoro-propil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona

30 Primer pico eluido) ee 99 %
Segundo pico eluido) ee 98 %

Ejemplo 33. Hidrocloruro de DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(3,3-difluoro-alil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona

35 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,32 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 3,11 (m, 1H), 3,58 (m, 2H), 4,55 (m, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,34 (d, 1 H), 7,51 (s, 1H), 8,01 (s, 2H), 8,24 (d, 1H), 12,34 (s, 1H).
ESI (+) MS: m/z 306 (MH⁺).

Ejemplo 34 DL-6-(3-amino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona

40 Se disolvió el éster *terc*-butílico del ácido DL-6-(3-benciloxycarbonilamino-propil)-4-oxo-2-piridin-4-il-1,4,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-5-carboxílico (0,4 g) en ciclohexano (10 mL) y EtOH absoluto (20 mL), se añadió Pd al 10 % sobre carbón (0,2 g) y se mantuvo la mezcla a reflujo durante 1,5 horas. Después de filtración a través de celita y evaporación del disolvente a presión reducida, se trató el compuesto con HCl 4 N en dioxano (20 mL) durante 2,5 horas a temperatura ambiente. Se concentró la solución y se trató el residuo con acetato de etilo. Se filtró el precipitado, se lavó con un poco de acetato de etilo y se secó. Se disolvió el residuo en HCl 4 M en dioxano y se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. Se concentró la solución y se obtuvo el compuesto del título, como dihidrocloruro, como un sólido amarillento (0,29 g, cuantitativo).

45 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,57 - 1,71 (m, 4 H) 2,71 - 2,77 (m, 1 H) 2,78 - 2,84 (m, 2 H) 3,05 - 3,11 (m, 1 H) 3,67 - 3,78 (m, 1 H) 7,35 (d, J=1,59 Hz, 1 H) 7,57 (d, J=2,32 Hz, 1 H) 7,85 (s, 3 H) 8,23 (d, J=7,07 Hz, 2 H) 8,70 (d, J=7,07 Hz, 2 H) 12,94 (s, 1 H).
ESI (+) MS: m/z 271 (MH⁺).

Trabajando de un modo análogo al del Ejemplo 34, se obtuvo también el siguiente compuesto del Ejemplo 35:

Ejemplo 35. DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(3-hidroxi-propil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,40 (m, 1H), 1,54 (m, 2H), 1,65 (m, 1H), 2,91 (m, 1 H), 3,18 (m, 1 H), 3,40 (m, 2H), 3,48 (m, 1 H), 4,44 (t, 1H), 6,30 (s, 2H), 6,91 (d, 1H), 6,99 (s, 1 H), 7,02 (s, 1H), 8,13 (d, 1H), 11,62 (s, 1 H).

5 ESI (+) MS: 288 m/z (MH⁺).

Ejemplo 36. DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(2-hidroxi-etil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,69 (m, 1H), 1,84 (m, 1H), 3,05 (m, 1H), 3,21 (m, 1 H), 3,51 (m, 1 H), 4,79 (t, 2H), 6,31 (s, 2H), 6,92 (d, 1 H), 7,01 (s, 1 H), 7,03 (s, 1H), 8,15 (d, 1H), 11,60 (s, 1 H).

ESI (+) MS: m/z 274 (MH⁺).

10 **Ejemplo 37. (R)-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-6-benciloximetil-1-(2,2,2-trifluoro-etil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona**

A una mezcla en agitación de (R)-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-6-benciloximetil-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona (73 mg, 0,21 mmol) en DMF seca (2 mL), se añadieron éter 18-corona-6 (110,5 mg, 0,42 mmol), K₂CO₃ (115,5 mg, 0,84 mmol) y CF₃CH₂OSO₂CF₃ (0,21 mmol). Se calentó la mezcla de reacción a 50 °C durante 7 horas, se trató después con agua y se extrajo con AcOEt. Se secó la fase orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó para dar un producto crudo que se purificó por cromatografía rápida (eluyente: DCM/MeOH 95:5) para obtener 64 mg del producto del título.

15 ¹H NMR (DMSO-d₆ / 400 MHz) δ ppm: 2,94 (dd, 1H), 3,08 (dd, 1H), 3,5 (m, 2H), 3,87 (m, 1 H), 4,51 (s, 2H), 5,75 (m, 1 H), 6,01 (m, 1 H) 6,64 (bs, 2H), 6,91 (d, 1 H, 7,10 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 7,3 (m, 5H), 8,14 (d, 1H).

20 [M+H]⁺ = 432

Ejemplo 38. Hidrocloruro de DL-6-hidroximetil-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona

Se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente, una solución de 50 mg de éster *terc*-butílico del ácido DL-6-(*terc*-butil-dimetil-silaniloximetil)-4-oxo-2-piridin-4-il-1,4,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-5-carboxílico en 5 mL de HCl 4 M en dioxano. Se concentró la solución y se obtuvo el compuesto del título.

25 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 2,92 (dd, J=16,83, 7,68 Hz 1 H) 3,03 (dd, J=16,95, 5,98 Hz, 1 H) 3,46 - 3,54 (m, 2 H) 3,65 - 3,71 (m, 1 H) 7,12 (s, 1 H) 7,57 (d, J=2,44 Hz, 1 H) 8,17 (d, J=6,95 Hz, 2 H) 8,70 (d, J=7,07 Hz, 2 H) 12,65 (bs, 1 H).

Ejemplo 39. DL-6-(3-bencilamino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona y DL-6-(3-dibencilamino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona

30 A una solución de éster *terc*-butílico del ácido DL-6-(3-amino-propil)-4-oxo-2-piridin-4-il-1,4,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-5-carboxílico (0,1 g, 0,296 mmol) en DMF anhidra (3 mL), bajo argón y enfriamiento a 0 °C, se añadieron ácido trifluoroacético (0,25 mL, 3,2 mmol) y benzaldehído recientemente destilado (0,055 mL, 0,539 mmol). Se añadió triacetoxi borohidruro de sodio (0,17 g, 0,81 mmol) y la solución límpida de color amarillo se agitó a temperatura ambiente durante 60 horas. Se vertió la mezcla de reacción en agua, se extrajo con acetato de etilo, se secó y se cargó sobre gel de sílice rápida, eluyendo primero con DCM/metanol 15:1 para recoger el éster *terc*-butílico del ácido DL-6-(3-dibencilamino-propil)-oxo-2-piridin-4-il-1,4,6,7-teirahidro-pirrol[3,2-c]piridin-5-carboxílico (0,035 g, 0,063 mmol, 21 %) y después con DCM/metanol/amoníaco acuoso al 30 % 15:10:0,2, para recoger el éster *terc*-butílico del ácido DL-6-(3-bencilamino-propil)-4-oxo-2-piridin-4-il-1,4,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-5-carboxílico (0,03 g, 0,065 mmol, 22 %). Los dos compuestos se disolvieron por separado en metanol (2 mL) y se trataron con HCl 4 N en dioxano (2 mL) durante 2,5 horas a temperatura ambiente. Se concentró la solución y se trató el residuo con acetato de etilo. Se filtró el precipitado, se lavó con un poco de acetato de etilo y se secó. Se obtuvo la DL-6-(3-dibencilamino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona, como el dihidrocloruro, y la DL-6-(3-benciloamino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona, como el dihidrocloruro.

45 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,43 - 1,55 (m, 2 H) 1,77 - 2,06 (m, 2 H) 2,64 - 3,10 (m, 4 H) 3,60 - 3,73 (m, 1 H) 4,34 (s, 4 H) 7,33 (s, 1 H) 7,41 - 7,67 (m, 10 H) 8,23 (d, J=6,83 Hz, 2 H) 8,70 (d, J=6,95 Hz, 2 H) 12,88 (s, 1 H).

ESI (+) MS: m/z 451 (MH⁺).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 1,56 - 1,82 (m, 4 H) 2,78 (dd, J=16,71, 8,54 Hz, 1 H) 2,87 - 2,97 (m, 2 H) 3,06 (dd, J=16,34, 5,49 Hz, 1 H) 3,67 - 3,77 (m, 1 H) 4,14 (t, J=5,61 Hz, 2 H) 7,34 (s, 1 H) 7,39 - 7,59 (m, J=48,90 Hz, 5 H) 8,22 (d, J=6,83 Hz 1 2 H) 8,70 (d, J=7,07 Hz, 2 H) 9,11 (s, 2 H).

50 ESI (+) MS; m/z 361 (MH⁺).

Ejemplo 40. DL-6-(3-isobutilamino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona

A una solución de éster *terc*-butílico del ácido DL-6-(3-amino-propil)-4-oxo-2-piridin-4-il-1,4,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-5-carboxílico (0,1 g, 0,296 mmol) en metanol (3 mL), se añadieron 2-metil-propionaldehído (0,023 mL, 0,25 mmol) y cianoborohidruro de sodio (0,03 g, 0,49 mmol) y se agitó la solución a temperatura ambiente durante 4 horas. Se separó el disolvente, se añadió agua, se extrajo el producto crudo dos veces con acetato de etilo y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Se purificó el residuo por cromatografía rápida eluyendo con DCM/metanol 15:2 y después con DCM/metanol/amoníaco acuoso al 30 % 15:2:0,1. El compuesto protegido (0,045 g, 0,097 mmol, 40 %) se disolvió en metanol (2,5 mL) y se trató con HCl 4 N en dioxano (1 mL) durante 2,5 horas a temperatura ambiente. Se concentró la solución y se trató el residuo con acetato de etilo. Se filtró el precipitado amarillo del compuesto del título, como el dihidrocloruro, se lavó con un poco de acetato de etilo y se secó.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 0,97 (d, J=6,71 Hz, 6 H) 1,56 - 1,68 (m, 2 H) 1,69 - 1,81 (m, 2 H) 1,90 - 2,05 (m, 1 H) 2,70 - 2,81 (m, 4 H) 2,84 - 2,97 (ms 2 H) 3,07 (dd, J=16,58, 5,61 Hz, 2 H) 3,67 - 3,79 (m, 1 H) 7,35 (s, 1 H) 7,57 (d, J=2,32 Hz, 1 H) 8,21 (d, J=5,49 Hz, 2 H) 8,69 (d, J=6,95 Hz, 2 H) 12,89 (s, 1 H).
ESI (+) MS: m/z 327(MH⁺).

Trabajando de un modo análogo al del Ejemplo 40, usando 4 equivalentes de 2-metil-propionaldehído y un tiempo de reacción de 18 horas, se obtuvo también el siguiente compuesto del Ejemplo 41, como el dihidrocloruro, con 63 % de rendimiento:

Ejemplo 41. DL-6-(3-diisobutilamino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona

¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ ppm 0,97 - 1,04 (m, 12 H) 2,48 - 2,55 (m, 14 H) 3,70 - 3,80 (m, 1 H) 7,38 (s, 1 H) 7,54 - 7,57 (m, 1 H) 8,22 (d, J=6,58 Hz, 2 H) 8,70 (d, J=6,95 Hz, 2 H) 12,93 (s, 1 H).
ESI (+) MS: m/z 383 (MH⁺).

Ejemplo 42. Éster *terc*-butílico del ácido (4-oxo-2-piridin-4-il-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilmetil)-carbámico

Se añadió una solución de Me₃P en THF (1 M, 0,15 mmol, 0,150 mL) a una mezcla en agitación de 6-azidometil-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona (0,075 mmol, 20 mg) en THF (1 mL) y NaOH (1 M, 0,165 mmol, 0,165 mL) a temperatura ambiente; se añadió entonces una solución de Boc₂O (0,165 mmol, 36 mg) en THF/H₂O (1 mL). Después de 2 días se sofocó la mezcla por adición de una solución tampón de fosfato (pH 7). Por extracción con CH₂Cl₂, secado de los extractos orgánicos, separación del disolvente y titulación con CH₂Cl₂/hexano se obtuvo el compuesto del título, 16 mg.

¹H NMR (DMSO-d₆ / 400 MHz) δ ppm: 1,41 (9H), 2,74 (dd, 1H), 2,91 (dd, 1H), 3,13 (m, 2H), 3,68 (m, 1H), 6,93 (s, 1 H), 7,01 (2H), 7,62 (d, 2H) 5 8,49 (br, 2H), 11,90 (s br, 1H).
[M+H]⁺ = 343

Ejemplo 43. Bis-trifluoroacetato de 6-aminometil-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona.

A una mezcla en agitación de éster *terc*-butílico del ácido (4-oxo-2-piridin-4-il-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilmetil)-carbámico (0,046 mmol, 16 mg) en CH₂Cl₂ (1 mL), se añadió TFA (1 mL). Después de 2 h se separó el disolvente para dar el compuesto del título (14 mg).

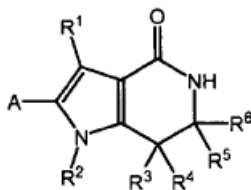
¹H NMR (DMSO-d₆ / 400 MHz) δ ppm: 2,9 (dd, 1H), 3,08 (dd, 1H), 3,95 (m, 1H), 7,25 (s, 1 H), 7,38 (s, 1 H), 7,90 (2H), 7,94 (d, 2H), 8,64 (d, 2H), 12,38 (s br, 1 H).
[M+H]⁺ = 471

Los siguientes compuestos fueron preparados por los procedimientos descritos anteriormente en esta memoria:

- 6-(isopropilamino-metil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona;
- 6-[(diisopropilamino)-metil]-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona;
- 6-(3-amino-propil)-2-(3-fluoro-piridin-4-il)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona;
- 2-(3-fluoro-piridin-4-il)-7-(3,3,3-trifluoro-propil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona;
- 7-(2-fluoro-etil)-2-(3-fluoro-piridin-4-il)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona;
- 6-benciloximetil-2-(3-fluoro-piridin-4-il)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona;
- 2-(2-amino-pirimidin-4-il)-1-etil-7-(2-fluoro-etil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona;
- 2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(2-fluoro-etil)-1-(2,2,2-trifluoro-etil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona;
- 2-(2-amino-pirimidin-4-il)-1-etil-7-(3,3,3-trifluoro-propil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona;
- 2-(2-amino-pirimidin-4-il)-1-(2,2,2-trifluoro-etil)-7-(3,3,3-trifluoro-propil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona; y
- 2-(2-amino-pirimidiri-4-il)-6-azidometil-1,5,6,7-tetrahidro-pirrolo[3,2-c]piridin-4-ona.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula (I)



(I)

en la que

- 5 A se selecciona del grupo que consiste en piridin-4-ilo, 3-fluoro-piridin-4-ilo, y 2-amino-pirimidin-4-ilo;
- R¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno y alquilo (C₁-C₆);
- R² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), alqueno (C₁-C₆), alquino (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₆), haloalquilo (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₆) polifluorado, heterociclilo, arilo, heteroarilo, cicloalquil (C₃-C₆)-alquilo (C₁-C₆), heterociclil-alquilo (C₁-C₆), aril- alquilo (C₁-C₆), heteroaril-alquilo (C₁-C₆), hidroxialquilo (C₁-C₈), alcoxi (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), ariloxi-alquilo (C₁-C₈), heteroariloxi-alquilo (C₁-C₈), aminoalquilo (C₁-C₈), alquilamino (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), dialquilamino (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), carbamoil-alquilo (C₁-C₈), y alcocarbonilo, donde cada uno de dichos restos arilo, heteroarilo, heterociclilo, ariloxi, y heteroariloxi puede estar sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes, siendo seleccionado cada sustituyente independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo, -OCF₃, -OC(O)alquilo, -OC(O)arilo, -CF₃, heteroarilo, aralquilo, alquilarilo, heteroaralquilo, alquilheteroarilo, hidroxi, hidroxialquilo, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, acilo, arilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, nitro, ciano, carboxi, alcocarbonilo, ariloxicarbonilo, aralcoxicarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, heteroarilsulfonilo, alquiltio, ariltio, heteroariltio, aralquiltio, heteroaralquiltio, cicloalquilo, heterociclilo, heterociclenilo, -NH(alquil), -NH(cicloalquil), y -N(alquil)₂;
- 10 R³, R⁴, R⁵ y R⁶ se selecciona cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, haloalquilo (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₆) polifluorado, haloalqueno (C₁-C₆), alqueno (C₁-C₆) polifluorado, hidroxialquilo (C₁-C₈), alcoxi (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), ariloxi-alquilo (C₁-C₈), heteroariloxi-alquilo (C₁-C₈), aril-alcoxi (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), grupo azidoalquilo (C₁-C₈), aminoalquilo (C₁-C₈), alquilamino (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), dialquilamino (C₁-C₈)-alquilo (C₁-C₈), y alquil (C₁-C₈)-OC(O)-aminoalquilo (C₁-C₈), con la condición de que al menos uno de: R³, R⁴, R⁵ o R⁶ es diferente de hidrógeno;
- 15 o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.
- 20 2. El compuesto según la reivindicación 1, en el que ambos R³ y R⁴ son átomos de hidrógeno.
3. El compuesto según la reivindicación 1, en el que ambos R⁵ y R⁶ son átomos de hidrógeno.
4. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R¹, R⁴, R⁵ y R⁶ son átomos de hidrógeno.
5. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R¹, R³, R⁴ y R⁶ son átomos de hidrógeno.
- 30 6. Un compuesto según la reivindicación 1, para uso en un método para tratar un trastorno o enfermedad de la proliferación celular en un mamífero que comprende administrarlo a un mamífero que necesite dicho tratamiento.
7. Un compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque es para uso en un método para tratar un trastorno o enfermedad en un mamífero, en el que la actividad antagonista hacia la Cdk2 o Cdc7 es necesaria en dicho mamífero, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad de un compuesto de la reivindicación 1 que es eficaz para antagonizar la actividad hacia la Cdk2 o Cdc7.
- 35 8. Un compuesto según la reivindicación 1, para uso en un método para tratar un trastorno o enfermedad seleccionado del grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, incluyendo el cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de esófago, cáncer de vesícula, cáncer de ovarios, cáncer pancreático, cáncer de estómago, cáncer de cuello uterino, cáncer de tiroides, cáncer de próstata, y cáncer de piel, incluyendo carcinoma de células escamosas, tumores hematopoyéticos de linaje linfóide, 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 peludas, linfoma de Burkitt, tumores

- hematopoyéticos de linaje mielóide, incluyendo leucemias mielógenas agudas y crónicas, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimático, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; otros tumores, incluyendo melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentosum, queratocantoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi, en un mamífero, que comprende administrar a dicho mamífero que necesite dicho tratamiento una cantidad de un compuesto según la reivindicación 1 que es eficaz para tratar dicha enfermedad o trastorno.
- 5 9. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad del compuesto según la reivindicación 1, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 10 10. Un compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:
- (R)-6-benciloximetil-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
DL-7-(2-fluoro-etil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
hidrocloruro de (R) y (S)-7-(2-fluoro-etil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
6-azidometil-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
- 15 (R)-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-6-benciloximetil-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(2-benciloxipropil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(2-fluoro-etil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
hidrocloruro de DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(3,3,3-trifluoro-propil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
hidrocloruro de DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(3,3-difluoro-alil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
- 20 DL-6-(3-amino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(3-hidroxi-propil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
(R)-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(2-benciloximetil)-1-(2,2,2-trifluoro-etil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
hidrocloruro de DL-6-hidroximetil-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
- 25 DL-6-(3-bencilamino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona y
DL-6-(3-dibencilamino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
DL-6-(3-isobutilamino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
DL-6-(3-diisobutilamino-propil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
éster *tert*-butílico del ácido (4-oxo-2-piridin-4-il-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirrol[3,2-c]piridin-6-ilmetil)-carbámico;
- 30 bis-trifluoroacetato de 6-aminometil-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
6-(isopropilamino-metil)-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
6-[(diisopropilamino)-metil]-2-piridin-4-il-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
6-(3-amino-propil)-2-(3-fluoro-piridin-4-il)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
2-(3-fluoro-piridin-4-il)-7-(3,3,3-trifluoro-propil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
7-(2-fluoro-etil)-2-(3-fluoro-piridin-4-il)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
- 35 5-(2-benciloxi-etil)-piperidin-2,4-diona;
DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(2-hidroxi-etil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
DL-2-(2-amino-pirimidin-4-il)-7-(2-hidroxi-propil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona;
6-benciloximetil-2-(3-fluoro-piridin-4-il)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona; y
2-(2-amino-pirimidin-4-il)-1-etil-7-(2-fluoro-etil)-1,5,6,7-tetrahidro-pirrol[3,2-c]piridin-4-ona.
- 40 11. Un compuesto según la reivindicación 1, para uso terapéutico.