

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 813 530**

51 Int. Cl.:

C07D 405/14	(2006.01)	A61K 31/4035	(2006.01)
C07D 413/14	(2006.01)	A61K 31/454	(2006.01)
C07D 403/02	(2006.01)	A61P 35/00	(2006.01)
C07D 403/04	(2006.01)		
C07D 403/14	(2006.01)		
C07D 405/04	(2006.01)		
C07D 407/14	(2006.01)		
C07D 409/14	(2006.01)		
C07D 413/06	(2006.01)		
C07D 209/46	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.10.2013 PCT/EP2013/072165**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.05.2014 WO14064149**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2013 E 13780358 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.05.2020 EP 2912032**

54 Título: **Derivados de 4-carboxamido-isoindolinona como inhibidores selectivos de PARP-1**

30 Prioridad:

26.10.2012 EP 12190130

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.03.2021

73 Titular/es:

**NERVIANO MEDICAL SCIENCES S.R.L. (100.0%)
Viale Pasteur, 10 P.O. Box 11
20014 Nerviano (MI), IT**

72 Inventor/es:

**PAPEO, GIANLUCA MARIANO ENRICO;
KRASAVIN, MIKHAIL YURIEVITCH;
ORSINI, PAOLO y
SCOLARO, ALESSANDRA**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 813 530 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de 4-carboxamido-isoindolinona como inhibidores selectivos de PARP-1

La presente invención se refiere a novedosos derivados sustituidos de 4-carboxamido-isoindolinona los cuales han demostrado ser inhibidores potentes y selectivos de poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1) con respecto a poli (ADP-ribosa) polimerasa-2 (PARP-2) y por tanto son útiles en la terapia contra el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, el daño en el sistema nervioso y la inflamación. La presente invención proporciona también métodos para la preparación de estos compuestos, composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos, y los métodos para el tratamiento de enfermedades utilizando composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos.

Las poli (ADP-ribosa) polimerasas pertenecen a una familia de 18 miembros que cataliza la adición de unidades ADP-ribosa a ADN o diferentes proteínas aceptoras, las cuales afectan a procesos celulares tan diversos como la replicación, la transcripción, la diferenciación, la regulación génica, la degradación de proteínas y el mantenimiento del huso. PARP-1 y PARP-2 son los únicos enzimas entre los PARPs que se activan por daño del ADN y están involucrados en la reparación del ADN.

PARP-1 es una proteína nuclear que consiste en tres dominios: el dominio de unión de ADN N-terminal que contiene dos dedos de cinc, el dominio de automodificación, y el dominio catalítico C-terminal. PARP-1 se une mediante el dominio dedo de cinc a las roturas de hebra sencilla de ADN (SSB, del inglés single strand breaks), separaciones de NAD⁺, y adhesión de múltiples unidades de ADP-ribosa para dirigir proteínas tales como histonas y varios enzimas de reparación de ADN. Esto da como resultado una diana cargada muy negativamente, la cual a su vez conduce a la liberación y reparación del ADN dañado mediante la ruta de reparación de la escisión de base. En modelos ratón knockout, la delección de PARP-1 afecta a la reparación de ADN pero no es embriogénicamente letal. Por el contrario, los ratones doble knockout PARP-1 y PARP-2 mueren durante la embriogénesis temprana, sugiriendo que los dos enzimas presentan funciones que no se superponen completamente. La expresión y/o actividad PARP-1 mejorada se ha mostrado en diferentes líneas celulares tumorales, incluyendo linfomas malignos, carcinoma hepatocelular, carcinoma cervical, carcinoma colorrectal, leucemia. Esto puede permitir que las células tumorales resistan el estrés genotóxico y aumente su resistencia a los agentes dañinos para el ADN. Como consecuencia, la inhibición de PARP-1 mediante moléculas pequeñas ha demostrado sensibilizar las células tumorales a la terapia citotóxica (p. ej. temozolomida, platinos, inhibidores de la topoisomerasa y radiación). Parece existir una ventana significativa entre la capacidad de un inhibidor de PARP de potenciar los beneficios terapéuticos y los efectos secundarios indeseables. Mientras que el uso terapéutico de los inhibidores de PARP en combinación con agentes perjudiciales para el ADN no es novedoso, el uso de estos agentes como monoterapia, en particular antecedentes genéticos tumorales deficientes en la reparación del ADN homólogo de recombinación, representa un nuevo enfoque. Los individuos con mutaciones de la línea germinal heterocigótica en los genes recombinantes homólogos de reparación BRCA-1 o BRCA-2 muestran elevado riesgo de por vida de desarrollar cánceres de mama y otros. Los tumores que surgen en los portadores de la mutación generalmente han perdido el alelo de tipo salvaje y no expresan las proteínas BRCA-1 y BRCA-2 funcionales.

Por consiguiente, la pérdida de estas dos proteínas conduce a una disfunción específica del tumor en la reparación de las roturas de la doble hebra por recombinación homóloga. Se sabe que cuando se inhibe PARP-1, se reduce la reparación de la escisión de la base y persisten las roturas de la hebra sencilla que se generan durante el ciclo celular normal. También se ha establecido que las horquillas de replicación que encuentran una rotura sin reparar pueden formar roturas de doble hebra que son reparadas normalmente por recombinación homóloga. Las células tumorales que son deficientes en la reparación por recombinación homóloga como los mutantes BRCA-1 o BRCA-2 son, por tanto, altamente sensibles a la inhibición de PARP, comparadas con las células de tipo salvaje. Esto está en línea con el concepto de letalidad sintética, en el cual los dos defectos de ruta son inocuos solos pero combinados se vuelven letales: los inhibidores de PARP pueden ser más eficaces en pacientes con tumores con defectos de reparación de ADN específicos sin afectar a los tejidos heterocigóticos normales. La población putativa de pacientes incluye, además de mutantes de BRCA que representan la mayoría de cáncer de mama y ovario hereditario, también una fracción sustancial de cánceres esporádicos con defectos en la reparación de la recombinación homóloga, un fenómeno denominado "BRCAness". Por ejemplo, la metilación de los promotores de los genes BRCA-1 o FANCF y la amplificación del gen EMSY, el cual codifica una proteína de interacción de BRCA-2. Extendiendo la lógica de la letalidad sintética de PARP y BRCA-1 y BRCA-2, es posible que las deficiencias en cualquier gen que no sea redundante en la reparación de roturas de la doble hebra deban ser sensibles a la inhibición de PARP. Por ejemplo, la deficiencia de ATM, encontrada en pacientes con leucemia prolinfocítica de células T y leucemia linfocítica crónica de células B y cáncer de mama y mutaciones de la línea germinal CHK2 identificadas en sarcoma, cáncer de mama, cáncer ovárico y tumores celulares, ha demostrado ser también sintéticamente letal en combinación con la deficiencia de PARP así como las deficiencias en otras proteínas conocidas de la ruta HR (incluyendo RAD51, DSS1, RAD54, RPA1, NBS1, ATR, CHK1, CHK2, FANCD2, FANCA, FANCC y pTEN). Las mutaciones en FANCC y FANCG se han mostrado en el cáncer pancreático. La metilación del promotor FANCF se ha encontrado en carcinomas ováricos, mamarios, cervicales y pulmonares. La primera evidencia clínica de que el cáncer con BRCA mutado puede ser sensible a la monoterapia de inhibidor de PARP procede del ensayo en fase I de Olaparib oral, una pequeña molécula inhibidora de PARP. En una población fase I enriquecida en portadores de la mutación BRCA, se observó un índice de respuesta objetivo del 47% en 19 pacientes con mutaciones BRCA y cáncer de mama, ovario y próstata. Otros inhibidores de PARP, como Rucaparib y Veliparib, se encuentran actualmente en ensayos clínicos fase II, bien en

combinación o como agente individual. Las indicaciones preliminares son que estas terapias muestran baja toxicidad como agente individual. De cualquier modo se espera que los compuestos con elevada selectividad en PARP-1 muestren incluso menor toxicidad, en vista de un programa de tratamiento crónico o combinados.

5 PARP-1 también se ha implicado en la angiogénesis. En particular, la inhibición de PARP-1 parece dar como resultado una reducción de la acumulación del factor 1 α de transcripción inducible por hipoxia, un regulador importante en la adaptación de la célula tumoral a la hipoxia.

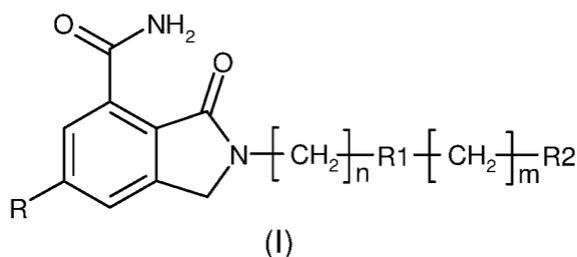
10 Los estímulos proinflamatorios desencadenan la liberación de mediadores proinflamatorios que inducen la producción de peroxinitrato y radicales hidroxilo, los cuales a su vez conducen a roturas de hebras sencillas de ADN con la posterior activación de PARP-1. La sobreactivación de PARP-1 tiene como resultado la depleción de NAD⁺ y los almacenes de energía, culminando en la disfunción celular y la necrosis. Este mecanismo de suicidio celular ha estado implicado en el patomecanismo del derrame cerebral, la isquemia miocárdica, la diabetes, la disfunción cardiovascular asociada a la diabetes, el shock, el daño traumático del sistema nervioso central, la artritis, la colitis, la encefalomiелitis alérgica y otras formas diversas de inflamación. Es de especial interés la mejora mediante PARP-1 de la transcripción del factor nuclear mediado por kB, el cual juega un papel central en la expresión de las citocinas inflamatorias, quimocinas y mediadores inflamatorios.

15 El documento WO 2007/047646 a nombre de Janssen Pharmaceutica describe dihidro-isoindolonas útiles para el tratamiento de trastornos de cinasa; Wender y col. en el documento US 7,232,842 reivindica análogos de isoindolona como inhibidores de cinasa. La solicitud de patente US 2008/0108659 de Gandhi y col. describe 3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindols como inhibidores de poli (ADP-ribosa) polimerasa, también presentada en: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, 20, 1023-1026. Los documentos WO 2011/006794 y WO 2011/006803, ambos a nombre de Nerviano Medical Sciences, describe 3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxamidas como inhibidores selectivos de PARP-1.

20 La presente invención proporciona novedosos derivados sustituidos de 4-carboxamido-isoindolinona según la reivindicación 1 los cuales han demostrado ser inhibidores de PARP-1 potentes y selectivos con respecto a PARP-2 y por tanto son útiles en la terapia contra el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, el daño en el sistema nervioso y la inflamación.

25 La presente invención proporciona también un método para la preparación de estos compuestos según la reivindicación 4, las composiciones farmacéuticas que componen estos compuestos según la reivindicación 9. La presente invención da a conocer también métodos de tratamiento de enfermedades utilizando composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos.

30 Correspondientemente, una primera revelación es un compuesto de fórmula (I):



en el que:

R es hidrógeno o flúor; y
n, m, R1 y R2 tienen los significados siguientes:

- 35 a) n es 0 y m es 0, 1, 2 o 3;
R1 es un cicloalquilo de 3 a 6 miembros o un heterociclilo de 4 a 6 miembros; y
R2 es un cicloalquilo de 3, 5 o 6 miembros, un heterociclilo de 4 a 6 miembros, arilo o heteroarilo;
- 40 b) n es 1 y m es 0;
R1 es un cicloalquilo de 3 a 6 miembros o arilo, cada uno de los cuales opcionalmente sustituido también con uno o varios alquilos (C₁-C₆) lineales o ramificados; y
R2 es nulo, cicloalquilo de 3 a 6 miembros, heterociclilo de 4 a 6 miembros, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales opcionalmente sustituido también con uno o varios alquilos (C₁-C₆) lineales o ramificados;
- 45 c) n es 2 o 3, y m es 0;
R1 es un cicloalquilo de 3 a 6 miembros, heterociclilo de 4 a 6 miembros, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales opcionalmente sustituido también con uno o varios alquilos (C₁-C₆) lineales o ramificados; y
R2 es nulo, cicloalquilo de 3 a 6 miembros, heterociclilo de 4 a 6 miembros, arilo o heteroarilo, cada uno de los

cuales opcionalmente sustituido también con uno o varios alquilos (C₁-C₆) lineales o ramificados;

o

d) n y m son independientemente entre sí 1, 2 o 3;

R1 y R2 son independientemente entre sí cicloalquilo de 3 a 6 miembros, heterociclilo de 4 a 6 miembros, arilo o heteroarilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Los compuestos de fórmula (I) como se define arriba son inhibidores de PARP-1 potentes y selectivos con respecto a PARP-2 y por tanto son útiles en la terapia contra el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, el daño en el sistema nervioso y la inflamación.

10 **La presente invención proporciona también un proceso de acuerdo con la reivindicación 4.**

La presente **revelación se refiere también a** métodos de síntesis de derivados de 4-carboxamido-isoindolinona de fórmula (I) como se define arriba, a través de un proceso consistente en transformaciones sintéticas estándar.

15 La presente **revelación se refiere también a** un método para el tratamiento de enfermedades mediadas por la proteína PARP-1 que comprende la administración a un mamífero necesitado del mismo, preferentemente un humano, de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), como se define arriba.

Un método preferido de la presente **revelación** es para tratar una enfermedad mediada por la proteína PARP-1 seleccionada del grupo consistente en cáncer, enfermedades cardiovasculares, daño en el sistema nervioso e inflamación.

20 Otra realización preferida de la presente **revelación** es para tratar tipos específicos de cáncer, incluyendo pero sin limitarse a: carcinomas, como cáncer de vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, esófago, vesícula, ovario, páncreas, estómago, cerviz, tiroides, próstata, y piel, incluyendo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoyéticos de linaje linfático, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas y linfoma de Burkitt; tumores hematopoyéticos de linaje mieloide, incluyendo 25 las leucemias mielogénicas aguda y crónica, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma, sarcoma de Ewing y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma, glioblastoma y schwannomas; y otros tumores, que incluyen melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratocantoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi.

30 Además, el método de la presente **revelación** proporciona también angiogénesis tumoral e inhibición de la metástasis.

Otro método preferido de la presente **revelación** es para tratar tipos específicos de enfermedades cardiovasculares incluyendo, pero sin limitarse a, daño miocárdico por reperfusión, cardiomiopatía y disfunción cardiovascular diabética.

Otro método preferido de la presente **revelación** es para tratar tipos específicos de daño del sistema nervioso central, incluyendo pero sin limitarse a: derrame cerebral, lesión cerebral y trastornos neurodegenerativos.

35 Otro método preferido de la presente **revelación** es para tratar tipos específicos de enfermedades inflamatorias, incluyendo pero sin limitarse a, colitis, artritis y uveítis.

La presente invención proporciona también un método *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 8.

40 La presente **revelación se refiere también a** un método *in vitro* para inhibir selectivamente la actividad de la proteína PARP-1 la cual comprende la puesta en contacto de dicha proteína con una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), como se define arriba.

La presente **revelación se refiere también a** un método para el tratamiento de enfermedades que comprenden un compuesto de fórmula (I), como se define arriba, en combinación con terapia de radiación o régimen de quimioterapia para el uso simultáneo, separado o secuencial en la terapia contra el cáncer.

45 **La presente invención proporciona también una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9.**

La presente **revelación se refiere también a** una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define arriba, y al menos un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

50 Además de un compuesto de fórmula (I), la composición farmacéutica de la presente **revelación** puede comprender uno o varios agentes quimioterapéuticos – p. ej. citostáticos o citotóxicos-, agentes tipo antibiótico, agentes alquilantes, agentes antimetabolito, agentes hormonales, agentes inmunológicos, agentes tipo interferón, inhibidores de la ciclooxigenasa (p. ej. inhibidores de COX-2), inhibidores de metaloproteasa matriz, inhibidores de la telomerasa, inhibidores de la tirosina cinasa, agentes receptores del factor anti-crecimiento, agentes anti-HER, agentes anti-EGFR,

agentes anti-angiogénesis (p. ej. inhibidores de la angiogénesis), inhibidores de farnesil transferasa, inhibidores de la ruta de transducción de señal ras-raf, inhibidores del ciclo celular, otros inhibidores de cdk's, agentes de unión a tubulina, inhibidores de la topoisomerasa I, inhibidores de la topoisomerasa II, y similares. Preferentemente, el agente quimioterapéutico es un agente alquilante. Incluso más preferentemente, el agente alquilante es temozolomida.

5 **La presente invención proporciona también un producto de acuerdo con la reivindicación 12.**

Adicionalmente, la **revelación se refiere también a** un producto que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define arriba, y uno o varios agentes quimioterapéuticos, como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en la terapia contra el cáncer. Preferentemente el agente quimioterapéutico es un agente alquilante. Incluso más preferentemente, el agente alquilante es temozolomida.

10 **La presente invención proporciona también un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso como un medicamento, de acuerdo con la reivindicación 5.**

Además, la **revelación se refiere también a** un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define arriba, para el uso como un medicamento, preferentemente como un medicamento con actividad anticancerígena.

15 **La presente invención proporciona también un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso en un método de tratamiento contra el cáncer, de acuerdo con la reivindicación 6.**

Aún en otro aspecto, la **revelación se refiere también a** un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define arriba, para el uso en un método de tratamiento contra el cáncer.

Finalmente, la **revelación se refiere también al** uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define arriba, en la fabricación de un medicamento con actividad anticancerígena.

Los compuestos de fórmula (I) pueden tener uno o varios centros asimétricos y por tanto pueden existir como isómeros ópticos individuales o mezclas racémicas o diastereoisómeros. Por consiguiente, todos los posibles isómeros y sus mezclas de los compuestos de fórmula (I) se encuentran dentro del alcance de la presente **revelación**. Como se indica arriba, las sales de los compuestos de fórmula (I) se encuentran también dentro del alcance de la presente **revelación**.

A menos que se especifique de otro modo, al referirse a los compuestos de fórmula (I) *per se* así como a cualquier composición farmacéutica de los mismos o a cualquier tratamiento terapéutico que los comprenda, la presente **revelación** incluye todos los isómeros, tautómeros, hidratos, solvatos, *N*-óxidos y sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta **revelación**.

Si un centro quiral u otra forma de un centro isomérico está presente en un compuesto de la presente **revelación**, todas las formas de dicho isómero o isómeros, incluyendo enantiómeros y diastereómeros, están destinadas a cubrirse aquí. Los compuestos que contienen un centro quiral se pueden usar como una mezcla racémica, una mezcla enriquecida enantioméricamente, o la mezcla racémica se puede separar usando técnicas bien conocidas y se puede usar un enantiómero individual solo. En los casos en los que los compuestos tienen enlaces dobles carbono-carbono insaturados, tanto los isómeros *cis* (Z) como los *trans* (E) se encuentran dentro del alcance de esta **revelación**.

En los casos en los que los compuestos pueden existir en formas tautoméricas, tales como tautómeros ceto-enol, cada forma tautomérica se contempla como si se incluyera en esta **revelación**, tanto si existe en equilibrio o está predominantemente en una forma. Con el término átomo de "halógeno" se indica un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

Con el término "alquilo (C₁-C₆) lineal o ramificado", se indica cualquiera de los grupos como, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *terc*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, y similares.

Con el término "cicloalquilo de 3 a 6 miembros" se indica, a menos que se especifique lo contrario, un anillo todo de carbono monocíclico de 3 a 6 miembros, el cual puede contener uno o varios enlaces dobles pero no tiene un sistema electrónico π completamente conjugado. Son ejemplos de grupos cicloalquilo, sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo y ciclohexadienilo.

Con el término "heterociclilo de 4 a 6 miembros" se indica un anillo carbocíclico saturado o parcialmente insaturado, de 4 a 6 miembros, donde uno o varios átomos de carbono se sustituyen por heteroátomos como nitrógeno, oxígeno y azufre; el anillo heterociclilo también puede estar opcionalmente fundido o unido a anillos carbocíclicos y heterocíclicos aromáticos y no aromáticos. Son ejemplos no limitantes de grupos heterociclilo, por ejemplo, piranilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, tiazolinilo, tiazolidinilo, dihidrofurano, tetrahydrofurano, 1,3-dioxolano, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo y similares.

El término "arilo" se refiere a un hidrocarburo mono-, bi- o poli-carbocíclico con sistemas de 1 a 4 anillos, opcionalmente también fundidos o unidos entre sí por enlaces sencillos, donde al menos uno de los anillos carbocíclicos es

“aromático”, donde el término “aromático” se refiere a un sistema electrónico π completamente conjugado. Son ejemplos no limitantes de dichos grupos arilo, fenilo, α - o β -naftilo o grupos bifenilo.

El término “heteroarilo” se refiere a anillos heterocíclicos aromáticos, típicamente heterociclos de 5 a 8 miembros con 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre N, O y S; el anillo heteroarilo opcionalmente también puede estar fundido o unido a anillos carbocíclicos y heterocíclicos aromáticos y no aromáticos. Son ejemplos no limitantes de dichos grupos heteroarilo, por ejemplo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolilo, imidazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, pirrolilo, fenil-pirrolilo, furilo, benzo-furilo, oxazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, tienilo, benzotienilo, isoindolinilo, benzoimidazolilo, indazolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, 1,2,3-triazolilo, 1-fenil-1,2,3-triazolilo, 2,3-dihidroindolilo, 2,3-dihidrobenzofuranilo, 2,3-dihidrobenzotiofenilo; benzopirano, 2,3-dihidrobenzoazinilo, 2,3-dihidroquinoxalino y similares.

10 De acuerdo con la presente **revelación** y a menos que se indique lo contrario, cuando cualquiera de los grupos mencionados anteriormente está sustituido opcionalmente, puede estar sustituido en cualquiera de sus posiciones libres, por uno o varios grupos alquilo (C_1 - C_6) lineales o ramificados.

15 El término “sal farmacéuticamente aceptable” de los compuestos de fórmula (I) se refiere a aquellas sales que mantienen la eficacia biológica y las propiedades del compuesto precursor, por consiguiente las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula (I) incluyen las sales de adición ácida con ácidos inorgánicos u orgánicos, p. ej. ácido nítrico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, perclórico, fosfórico, acético, trifluoroacético, propiónico, glicólico, (D) o (L) láctico, oxálico, ascórbico, fumárico, malónico, málico, maleico, tartárico, cítrico, benzoico, cinámico, mandélico, metanosulfónico, etanosulfónico, p-toluenosulfónico, isetiónico, succínico y salicílico.

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

25 En una primera realización preferida, la presente **revelación se refiere también a** compuestos de fórmula (I) como se define arriba caracterizados porque

R es hidrógeno o flúor; y

n, m, R1 y R2 tienen los significados siguientes:

a) n es 0 y m es 0 o 1;

R1 es un heterociclilo de 6 miembros; y

30 R2 es un cicloalquilo de 3 o 6 miembros, un heterociclilo de 6 miembros, arilo o heteroarilo;

o

b) n es 1 y m es 0;

R1 es arilo, opcionalmente sustituido también con uno o varios alquilos (C_1 - C_6) lineales o ramificados; y

R2 es nulo;

35 o

c) n es 2 o 3, y m es 0;

R1 es un heterociclilo de 6 miembros, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales opcionalmente sustituido también con uno o varios alquilos (C_1 - C_6) lineales o ramificados; y

R2 es nulo, un heterociclilo de 6 miembros o arilo;

40 o

d) n es 2 o 3, y m es 1;

R1 es un heterociclilo de 6 miembros; y

R2 es arilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

45 En una realización más preferida, la presente **revelación se refiere también a** compuestos de fórmula (I) como se define arriba caracterizados porque

R es hidrógeno o flúor; y

n, m, R1 y R2 tienen los significados siguientes:

a) n es 0 y m es 0 o 1;

R1 es un heterociclilo de 6 miembros; y

50 R2 es un cicloalquilo de 3 o 6 miembros, un heterociclilo de 6 miembros, arilo o heteroarilo;

o

c) n es 2 o 3, y m es 0;

R1 es un heterociclilo de 6 miembros, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales opcionalmente sustituido también con uno o varios alquilos (C_1 - C_6) lineales o ramificados; y

R2 es nulo, un heterociclilo de 6 miembros o arilo;

55 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Incluso más preferentemente, la presente **revelación se refiere también a** compuestos de fórmula (I) como se define

arriba caracterizados porque:

R es hidrógeno o flúor; y
n, m, R1 y R2 tienen los significados siguientes:

- 5 a) n es 0 y m es 0 o 1;
R1 es un heterociclilo de 6 miembros; y
R2 es un cicloalquilo de 3 o 6 miembros, un heterociclilo de 6 miembros, arilo o heteroarilo;
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Más preferentemente, la presente **revelación se refiere también a** compuestos de fórmula (I) como se define arriba caracterizados porque:

- 10 R es hidrógeno o flúor; y
n, m, R1 y R2 tienen los significados siguientes:
- a) n es 0 y m es 0 o 1;
cuando m es 0, R1 es un anillo piperidina y R2 es un anillo ciclohexilo;
cuando m es 1, R1 es un anillo piperidina y R2 es un anillo piridina;
- 15 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Los compuestos específicos preferidos (comp) de la presente **revelación** se listan abajo:

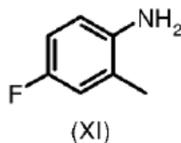
1. Amida del ácido 2-bencil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
2. Amida del ácido 3-oxo-2-fenetil-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
3. Amida del ácido 2-[2-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
- 20 4. Amida del ácido 3-oxo-2-(2-piperidin-1-il-etil)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
5. Amida del ácido 2-(2-morfolin-4-il-etil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
6. Amida del ácido 2-(3-morfolin-4-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
7. Amida del ácido 2-[2-(3,4-dihidro-2H-quinolin-1-il)-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
8. Amida del ácido 3-oxo-2-(1-piridin-4-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
- 25 9. Amida del ácido 3-oxo-2-(1-tiofen-2-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
10. Amida del ácido 3-oxo-2-(1-piridin-3-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
11. Amida del ácido 2-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
12. Amida del ácido 2-(1-furan-2-ilmetil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
13. Amida del ácido 3-oxo-2-(1-tiofen-3-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
- 30 14. Amida del ácido 2-(1-furan-3-ilmetil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
15. Amida del ácido 3-oxo-2-(1-piridin-2-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
16. Amida del ácido 3-oxo-2-[1-(1H-pirrol-2-ilmetil)-piperidin-4-il]-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
17. Amida del ácido 3-oxo-2-(3-fenil-propil)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
18. Amida del ácido 3-oxo-2-(2-piridin-2-il-etil)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
- 35 19. Amida del ácido 2-[3-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
20. Amida del ácido 2-[3-(3,4-dihidro-2H-quinolin-1-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
21. Amida del ácido 2-[3-(4-metil-piperazin-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
22. Amida del ácido 3-oxo-2-[3-(4-fenil-piperazin-il)-propil]-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
23. Amida del ácido 6-fluoro-2-(3-morfolin-4-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
- 40 24. Amida del ácido 2-(1-ciclopropilmetil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
25. Amida del ácido 3-oxo-2-(3-piperidin-1-il-propil)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
26. Amida del ácido 2-(3-[1,4']bipiperidinil-1'-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
27. Amida del ácido 2-[3-(2,6-dimetil-piperidin-1-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
28. Amida del ácido 3-oxo-2-[1-(tetrahidro-piran-4-il)-piperidin-4-il]-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
- 45 29. Amida del ácido 2-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-6-fluoro-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
30. Amida del ácido 2-(1-bencil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
31. Amida del ácido 2-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
32. Amida del ácido 2-[3-(4-bencil-piperidin-1-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
33. Amida del ácido 2-[1-(4,4-dimetil-ciclohexil)-piperidin-4-il]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
- 50 34. Amida del ácido 2-[1-(4,4-dimetil-ciclohexil)-piperidin-4-il]-6-fluoro-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
35. Amida del ácido 6-fluoro-3-oxo-2-(1-espiro[2.5]oct-6-il-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
36. Amida del ácido 3-oxo-2-(1-espiro[2.5]oct-6-il-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

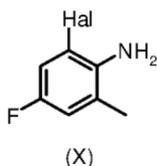
- 55 La presente **revelación se refiere también a** procesos para la preparación de compuestos de fórmula (I) como se define arriba. Correspondientemente, un proceso de la presente **revelación** comprende una de las siguientes secuencias de etapas:

SECUENCIA A (donde R es flúor, Esquema 1):
bien

Etapa a) halogenación de 4-fluoro-2-metil-fenilamina (XI):

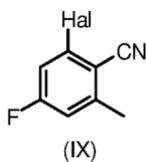


Etapa b) ciano-desaminación del compuesto resultante de fórmula (X):



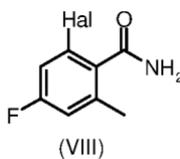
5 donde Hal es halógeno, como Cl, Br y I;

Etapa c) hidrólisis del compuesto resultante de fórmula (IX):



donde Hal es como se define arriba y

Etapa d) hidrólisis del compuesto resultante de fórmula (VIII):

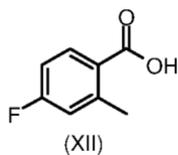


10

donde Hal es como se define arriba;

O

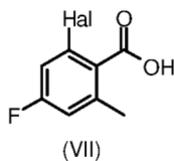
Etapa e) halogenación del ácido 4-fluoro-2-metil-benzoico (XII):



15

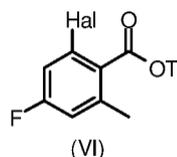
después:

Etapa f) esterificación del compuesto de fórmula (VII) obtenido en la etapa d) o e)

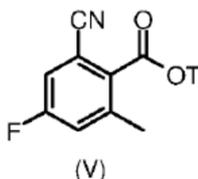


en el que Hal es como se define arriba;

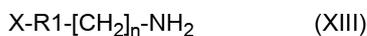
Etapa g) ciano-deshalogenación del compuesto resultante de fórmula (VI):



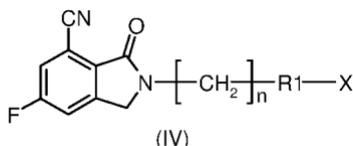
en el que T es un alquilo (C₁-C₆) o un aril-alquilo (C₁-C₆) y Hal es como se define arriba;
Etapa h) ciclación del compuesto resultante de fórmula (V):



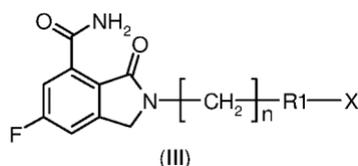
5 en el que T es como se define arriba, mediante reacción con una amina apropiada de fórmula (XIII)



en el que R1 y n son como se define arriba, y X es bien R2-[CH₂]_m-, en el que R2 y m son como se define arriba, o un grupo protector de nitrógeno apropiado, cuando R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno;
Etapa c') hidrólisis del compuesto resultante de fórmula (IV):

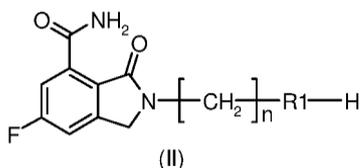


10 en el que R1, n y X son como se define arriba, de modo que se obtiene un compuesto de fórmula (I), como se define arriba, donde X es R2-[CH₂]_m-, en el que R2 y m son como se define arriba; o un compuesto de fórmula (III), cuando R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno y X es un grupo protector de nitrógeno apropiado,



15 en el que n es como se define arriba, R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno y X es un grupo protector de nitrógeno apropiado;

20 **Etapa i)** desprotección del compuesto de fórmula (III), como se define arriba, se manera que se obtiene bien un compuesto de fórmula (I), como se define arriba, o un compuesto de fórmula (II):



en el que R1 y n son como se define arriba;

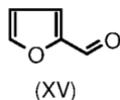
Etapa I) alquilación del compuesto resultante de fórmula (II), como se define arriba, con un agente alquilante apropiado de fórmula (XIV)

25 $R2-[CH_2]_{m-1}-Y \quad (XIV)$

en el que Y es bien un grupo formilo o, cuando m = 1, un átomo de oxígeno unido a R2 mediante un doble enlace (=O), de modo que se obtenga un compuesto de fórmula (I).

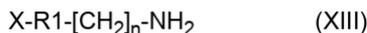
SECUENCIA B (donde R es hidrógeno, Esquema 2):

Etapa m) realización de una aminación reductiva en furan-2-carbaldehído (XV):



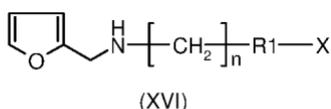
con una amina apropiada de fórmula (XIII)

5



en el que R1 y n son como se define arriba, y X es bien R2-[CH₂]_m-, en el que R2 y m son como se define arriba, o un grupo protector de nitrógeno apropiado, cuando R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno;

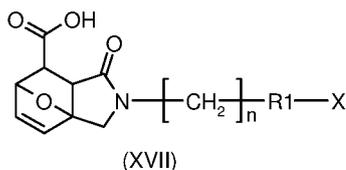
Etapa n) realización de una reacción Diels-Alder en el compuesto resultante de fórmula (XVI):



10

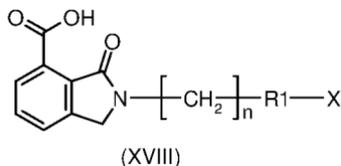
en el que R1, n y X son como se define arriba;

Etapa o) aromatización del compuesto resultante de fórmula (XVII):



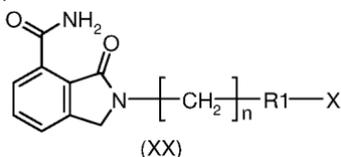
en el que R1, n y X son como se define arriba;

Etapa p) amidación del compuesto resultante de fórmula (XVIII):



15

en el que R1, n y X son como se define arriba, de manera que se obtiene un compuesto de fórmula (I), como se define arriba, cuando X es R2-[CH₂]_m-, en el que R2 y m son como se define arriba, o un compuesto de fórmula (XX), cuando R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno y X es un grupo protector de nitrógeno apropiado,

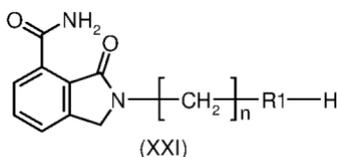


20

en el que n es como se define arriba, R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno y X es un grupo protector de nitrógeno apropiado;

Etapa i') desprotección de un compuesto de fórmula (XX) como se define arriba;

Etapa l') alquilación del compuesto resultante de fórmula (XXI):



25

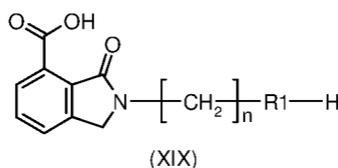
en el que R1 y n son como se define arriba, con un agente alquilante apropiado de fórmula (XIV)



en el que Y es bien un grupo formilo o, cuando $m = 1$, un átomo de oxígeno unido a R2 mediante un doble enlace (=O), de modo que se obtenga un compuesto de fórmula (I), como se define arriba.

- 5 En el caso que, durante la **Etapa o**, el compuesto resultante de la aromatización de un compuesto de fórmula (XVII) es un compuesto de fórmula (XIX), es decir, cuando X es un grupo protector del nitrógeno lábil, se lleva a cabo la **Etapa q** siguiente:

Etapa q) instalación de un grupo protector de nitrógeno apropiado en el compuesto resultante de fórmula (XIX):



- 10 en el que R1 y n son como se define arriba, para obtener un compuesto de fórmula (XVIII), en el que R1 y n son como se define arriba y X es un grupo protector de nitrógeno apropiado, el cual se somete después a la secuencia de reacciones p), i') y l') arriba descritas para obtener un compuesto de fórmula (I) como se define arriba.

Si es necesario o se desea, los procesos arriba descritos comprenden la conversión de un compuesto de fórmula (I) en un compuesto diferente de fórmula (I) mediante reacciones químicas; y/o, si se desea, la conversión de un

- 15 compuesto de fórmula (I) en una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o la conversión de una sal en un compuesto libre de fórmula (I).

Dichas reacciones químicas conocidas para posibles conversiones de compuestos en compuestos diferentes comprenden por ejemplo una aminación reductiva (**Cv1**).

- 20 Todos los procesos anteriores son procesos análogos que se pueden llevar a cabo de acuerdo con métodos bien conocidos y bajo otras condiciones apropiadas conocidas en la técnica.

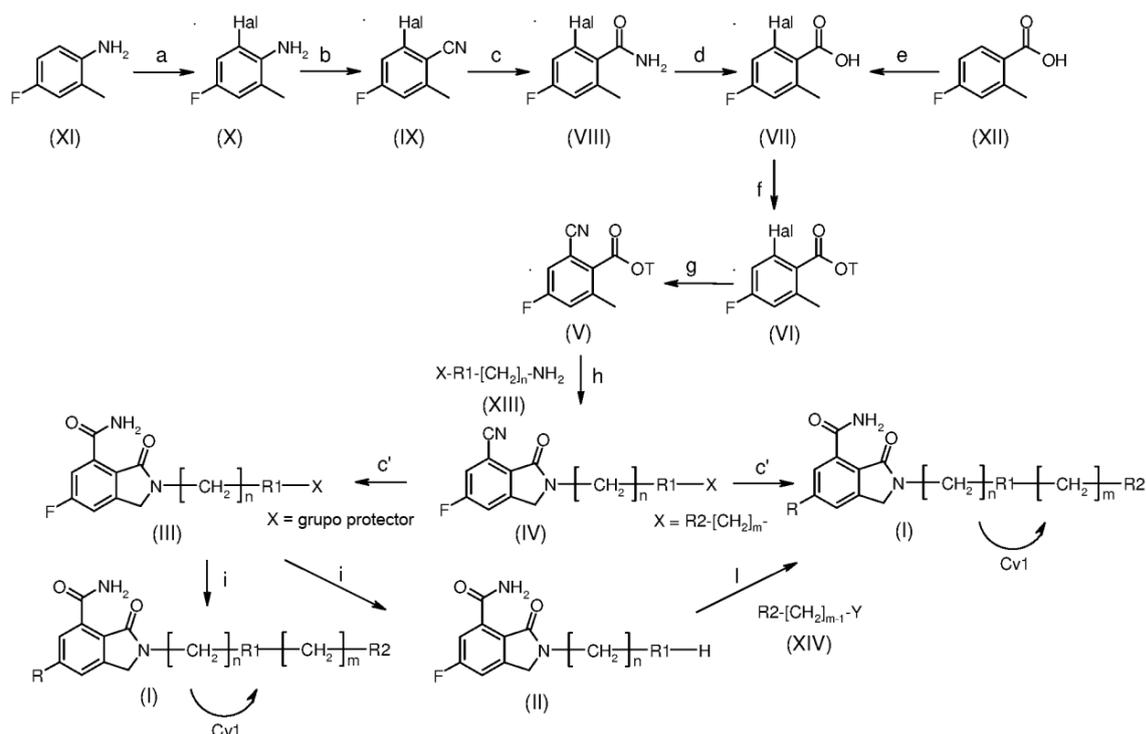
La síntesis de un compuesto de fórmula (I), de acuerdo con los procesos sintéticos descritos arriba, se puede llevar a cabo por etapas, de modo que cada intermedio se aísla y purifica mediante técnicas estándar de purificación, como por ejemplo, cromatografía en columna, antes de llevar a cabo la reacción siguiente. Alternativamente, dos o más etapas de la secuencia sintética se pueden llevar a cabo en un procedimiento denominado "one pot", como se conoce

- 25 en la técnica, de modo que sólo se aísla y purifica el compuesto resultante de dos o más etapas.

Los esquemas 1-2 inferiores muestran la preparación de un compuesto de fórmula (I) como se define arriba.

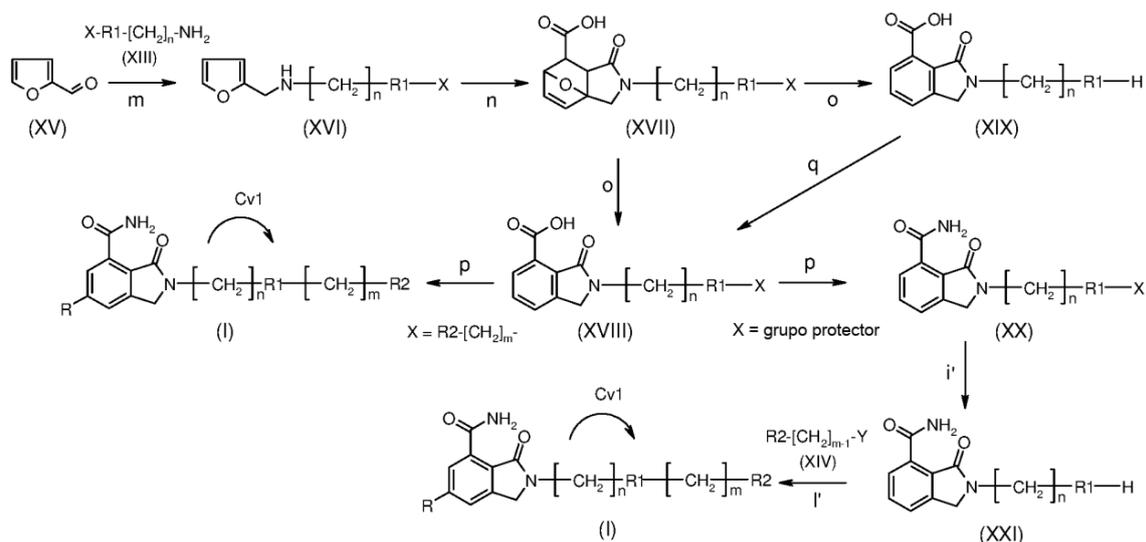
Esquema 1

SECUENCIA A



Esquema 2

SECUENCIA B



- 5 De acuerdo con la **etapa a)**, un compuesto de fórmula (X) se puede obtener por halogenación de 4-fluoro-2-metilfenilamina (XI) en una variedad de formas y condiciones experimentales conocidas en la técnica. Preferentemente, esta reacción se lleva a cabo en presencia de *N*-bromosuccinimida, *N*-yodosuccinimida, *N*-clorosuccinimida, bromo, yodo, ácido bromhídrico/peróxido de hidrógeno, en un disolvente apropiado, como acetonitrilo, *N,N*-dimetilformamida, dioxano, dimetilsulfóxido, ácido acético o agua, a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 96 horas.

- 10 De acuerdo con la **etapa b)**, un compuesto de fórmula (IX) se puede obtener mediante una secuencia de reacción de dos etapas a partir de un compuesto de fórmula (X) en una variedad de formas y condiciones experimentales conocidas en la técnica. La primera etapa se lleva a cabo preferentemente en presencia de nitrato sódico/ácido clorhídrico o *tert*-butilnitrato en un disolvente apropiado como tetrahidrofurano, dimetoxietano, dimetilsulfóxido, ácido acético o agua, a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente -20°C hasta temperatura ambiente y durante un periodo de

- tiempo en el intervalo entre 10 minutos hasta aproximadamente 24 horas. La segunda etapa se lleva a cabo preferentemente en presencia de cianuro de sodio, cobre o potasio, a menudo en presencia de un aditivo como cloruro de potasio o cobre, en un disolvente apropiado, como tetrahidrofurano, dimetoxietano, dimetilsulfóxido, ácido acético, tolueno o agua, a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente -20°C hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 10 minutos hasta aproximadamente 96 horas.
- De acuerdo con la **etapa c)**, la hidrólisis de un compuesto de fórmula (IX) para rendir un compuesto de fórmula (VIII) se puede llevar a cabo de formas diferentes, de acuerdo con métodos convencionales para la transformación de un grupo ciano en amida. Preferentemente esta reacción se lleva a cabo en un disolvente apropiado como, por ejemplo, metanol, etanol, butanol, 1,4-dioxano, tolueno, agua, o una mezcla de estos, en presencia de un ácido o base apropiados, como por ejemplo, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido clorhídrico, ácido trifluoroacético, hidróxido sódico, carbonato sódico, o un reactivo apropiado como peróxido de hidrógeno, perborato sódico o sales de indio(III) en presencia de acetaldoxima. Típicamente, la reacción se lleva a cabo a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 96 horas.
- De acuerdo con la **etapa d)**, un compuesto de fórmula (VIII) se puede transformar en un compuesto de fórmula (VII) de acuerdo con métodos convencionales. Preferentemente la reacción se lleva a cabo en presencia de agua mediante el tratamiento con una base como carbonato potásico o sódico, hidróxido potásico o sódico, en un disolvente apropiado, como por ejemplo, metanol, etanol, a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente temperatura ambiente hasta reflujo, durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 30 minutos hasta aproximadamente 96 horas. Alternativamente esta reacción se puede llevar a cabo en presencia de nitrito sódico/ácido acético, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, a una temperatura en el intervalo entre temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 96 horas.
- De acuerdo con la **etapa e)**, la halogenación del ácido 4-fluoro-2-metil-benzoico (XII) en un compuesto de fórmula (VII) se puede llevar a cabo de diferentes formas, de acuerdo con los métodos convencionales para las reacciones de halogenación. Preferentemente, esta reacción se lleva a cabo con bromuro y/o yoduro de tetrabutilamonio en presencia de bis(trifluoroacetato) de fenilyodo(III) o diacetato de fenilyodo(III) como fuente de halógeno en un disolvente apropiado, como por ejemplo N,N-dimetilformamida o dicloroetano, a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 48 horas. El catalizador es normalmente un metal, más a menudo un derivado de paladio como por ejemplo, cloruro de paladio(II) o acetato de paladio(II).
- De acuerdo con la **etapa f)** un compuesto de fórmula (VII) se puede transformar en un compuesto de fórmula (VI) de acuerdo con métodos convencionales. Preferentemente esta reacción se lleva a cabo en presencia de ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o ácido acético usando como disolvente metanol, etanol, agua, o una mezcla de estos, a una temperatura en el intervalo entre temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 96 horas. Alternativamente, esta reacción se puede llevar a cabo con yoduro, bromuro o toluenosulfonato de alquilo en presencia de una base apropiada, como carbonato sódico o potásico, hidróxido de sodio, litio o potasio, a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 96 horas.
- De acuerdo con la **etapa g)**, la transformación de un compuesto de fórmula (VI) en un compuesto de fórmula (V) se puede llevar a cabo de diferentes formas, de acuerdo con los métodos convencionales para las reacciones de cianación. Preferentemente, esta reacción se lleva a cabo en presencia de cianuro de cobre (I) o hexacianoferrato de potasio (II) como fuente de ciano en un disolvente apropiado como, por ejemplo, metanol, etanol, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, tolueno, xileno, *N*-metil-2-pirrolidona, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida o una mezcla de los mismos, a una temperatura en el intervalo entre temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 96 horas. Si es necesario un catalizador, es normalmente un metal, más a menudo un derivado de paladio como, por ejemplo, tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0), cloruro de paladio (II) o acetato de paladio (II) en presencia de una base apropiada como, por ejemplo, carbonato de sodio, potasio o cesio, o fluoruro de cesio.
- De acuerdo con la **etapa h)**, un compuesto de fórmula (IV) se puede obtener mediante una secuencia de reacción de dos etapas a partir de un compuesto de fórmula (V) en presencia de un compuesto de fórmula (XIII) en una variedad de formas y condiciones experimentales conocidas en la técnica. La primera reacción se lleva a cabo preferentemente en presencia de *N*-bromosuccinimida con un iniciador radical como peróxido de benzoilo o azobisisobutironitrilo en un disolvente apropiado, como tetracloruro de carbono, cloroformo, diclorometano o pivalato de metilo, a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre 10 minutos hasta aproximadamente 24 horas. La segunda reacción se puede llevar a cabo tanto en condiciones básicas como ácidas, como en presencia de carbonato sódico o potásico, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno, trietilamina, diisopropiletilamina, piridina o ácido acético, ácido clorhídrico, en un disolvente apropiado, como tetrahidrofurano, dimetoxietano, 1,4-dioxano o tolueno, a una temperatura en el intervalo entre temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 96 horas.

De acuerdo con la **etapa c'**), la hidrólisis de un compuesto de fórmula (IV) para rendir un compuesto de fórmula (I) o un compuesto de fórmula (III) se puede llevar a cabo en una variedad de formas y diferentes condiciones experimentales. Preferentemente se lleva a cabo de una forma análoga a la presentada en la etapa c).

De acuerdo con la **etapa i)**, cuando en un compuesto de fórmula (III), X es un grupo protector de nitrógeno como *terc*-butoxicarbonilo, 4-metoxibencilo, 2,4-dimetoxibencilo y grupos protectores trifenilmetilo, bien un compuesto de fórmula (I) o un compuesto de fórmula (II) se pueden obtener por eliminación de estos grupos protectores bajo condiciones ácidas, preferentemente en presencia de un ácido orgánico o inorgánico como ácido clorhídrico, trifluoroacético o metanosulfónico, tribromuro de boro o tricloruro de aluminio, en un disolvente apropiado, como diclorometano, dicloroetano, dioxano o un alcohol de bajo peso molecular, como metanol o etanol, a una temperatura entre temperatura ambiente hasta reflujo. Cuando, en un compuesto de fórmula (III), X es un grupo protector de nitrógeno como benciloxicarbonilo y similares, un compuesto de fórmula (I) o bien un compuesto de fórmula (II) se pueden obtener por eliminación de estos grupos protectores bajo condiciones reductoras, como por ejemplo, en presencia de hidrógeno y un catalizador de hidrogenación en un disolvente apropiado, como etanol, metanol, acetato de etilo o una mezcla de estos. El catalizador es normalmente un metal, más a menudo un derivado de paladio como, por ejemplo, paladio sobre carbono, hidróxido de paladio o negro de paladio. Cuando, en un compuesto de fórmula (III), X es un grupo protector de nitrógeno como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo y similares, un compuesto de fórmula (I) o un compuesto de fórmula (II) se pueden obtener mediante eliminación de estos grupos protectores bajo condiciones básicas como, por ejemplo, carbonato de sodio, cesio o potasio o hidróxido de bario, hidrazina, piperidina, morfolina y similares, en un disolvente apropiado como metanol, etanol, agua, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida y similares, a una temperatura en el intervalo entre temperatura ambiente y reflujo.

De acuerdo con la **etapa l)**, la alquilación reductiva de un compuesto de fórmula (II), en presencia de un compuesto de fórmula (XIV), para rendir un compuesto de fórmula (I), se puede llevar a cabo en una variedad de formas, de acuerdo con métodos convencionales para realizar la aminación reductiva. Preferentemente, esta reacción se lleva a cabo en un disolvente apropiado como, por ejemplo, metanol, N,N-dimetilformamida, diclorometano, tetrahidrofurano, benceno, tolueno, o una mezcla de estos, en presencia de un agente reductor apropiado, como por ejemplo, borohidruro sódico, borohidruro de tetraalquilamonio, ciano borohidruro sódico, triacetoxiborohidruro sódico, triacetoxi borohidruro de tetraalquilamonio y en la presencia de un catalizador ácido o básico, como por ejemplo, ácido acético, ácido trifluoroacético, cloruro de cinc, bromuro de cinc, cloruro de estaño (IV), cloruro de titanio (IV), trifluoruro de boro o trietilamina, diisopropiltilamina o piridina, a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente 0°C hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 96 horas.

De acuerdo con la **etapa m)**, un compuesto de fórmula (XVI) se puede obtener a partir de furan-2-carbaldehído (XV) mediante aminación reductiva en presencia de un compuesto de fórmula (XIII). Preferentemente, esta reacción se lleva a cabo en un disolvente apropiado como por ejemplo, metanol, N,N-dimetilformamida, diclorometano, tetrahidrofurano, benceno, tolueno, o una mezcla de estos, en presencia de un agente reductor apropiado como, por ejemplo, borohidruro sódico, borohidruro de tetraalquilamonio, ciano borohidruro sódico, triacetoxiborohidruro sódico o triacetoxi borohidruro de tetrametilamonio y en la presencia de un catalizador ácido o básico, como por ejemplo, ácido acético, ácido trifluoroacético, cloruro de cinc, bromuro de cinc, cloruro de estaño (IV), cloruro de titanio (IV), trifluoruro de boro o trietilamina, diisopropiltilamina o piridina, a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente 0°C hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 96 horas.

De acuerdo con la **etapa n)**, la reacción de Diels-Alder, realizada en un compuesto de fórmula (XVI) para rendir un compuesto de fórmula (XVII), se puede realizar en una variedad de formas, de acuerdo con métodos convencionales para llevar a cabo estas reacciones. Preferentemente, esta reacción se lleva a cabo en un disolvente apropiado como por ejemplo, tetrahidrofurano, benceno, tolueno u o-xileno, en presencia de anhídrido maleico a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 96 horas.

De acuerdo con la **etapa o)**, la transformación de un compuesto de fórmula (XVII) en un compuesto de fórmula (XVIII) o un compuesto de fórmula (XIX) se puede realizar en una variedad de formas, de acuerdo con métodos convencionales. Preferentemente, esta reacción se lleva a cabo en un disolvente apropiado como por ejemplo, tetrahidrofurano, tolueno o agua, en presencia de ácido clorhídrico, ácido p-toluensulfónico o ácido fosfórico, a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 24 horas.

De acuerdo con la **etapa p)**, un compuesto de fórmula (XVIII) puede reaccionar bien para rendir un compuesto de fórmula (I) o un compuesto de fórmula (XX) en una variedad de formas y condiciones experimentales, las cuales son ampliamente conocidas en la técnica de las reacciones de condensación. Preferentemente, un compuesto de fórmula (XVIII) reacciona con amoníaco o una fuente de amonio como sales de amonio, en presencia de un agente de activación como carbonildiimidazol, hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetilamino)fosfonio, tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de (O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio, dicitclohexil carbodiimida, diisopropil carbodiimida, sal de ácido clorhídrico de 1-etil-3-(3'-dimetilamino) carbodiimida, opcionalmente en presencia de hidroxibenzotriazol. Preferentemente, esta reacción se

lleva a cabo en un disolvente apropiado, por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, tetrahidrofurano, diclorometano, 1,4-dioxano, y en presencia de un secuestrante de protones como por ejemplo, piridina, trietilamina o diisopropiletilamina, a una temperatura en el intervalo entre temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 30 minutos hasta aproximadamente 96 horas.

- 5 De acuerdo con la **etapa i')** la desprotección de un compuesto de fórmula (XX) para rendir un compuesto de fórmula (XXI) se puede llevar a cabo en una variedad de formas y condiciones experimentales. Preferentemente, se lleva a cabo de una forma análoga a la descrita para la etapa i).

De acuerdo con la **etapa l')** la alquilación reductiva de un compuesto de fórmula (XXI), en presencia de un compuesto de fórmula (XIV), para rendir un compuesto de fórmula (I), se puede llevar a cabo en una variedad de formas y condiciones experimentales. Preferentemente, se lleva a cabo de una forma análoga a la descrita para la etapa l).

De acuerdo con la **etapa q)**, la protección de un compuesto de fórmula (XIX) para rendir un compuesto de fórmula (XVIII), donde X es un grupo protector de nitrógeno apropiado, se puede llevar a cabo en una variedad de formas y condiciones experimentales. Preferentemente, cuando el grupo protector es *terc*-butoxicarbonilo, la reacción se puede llevar a cabo en presencia de dicarbonato de di-*terc*-butilo en una variedad de disolventes como metanol, etanol, acetonitrilo, tetrahidrofurano o diclorometano, en presencia de una base, como piridina, *N,N*-dimetilaminopiridina, trietilamina, diisopropiletilamina, carbonato sódico o potásico, a una temperatura en el intervalo entre aproximadamente temperatura ambiente hasta reflujo y durante un periodo de tiempo en el intervalo entre aproximadamente 1 hora hasta aproximadamente 96 horas.

De acuerdo con la **conversión 1 (Cv1)**, la alquilación reductiva de un compuesto de fórmula (I) para rendir un compuesto de fórmula (I) se puede llevar a cabo en una variedad de formas y condiciones experimentales. Preferentemente, se lleva a cabo de una forma análoga a la descrita para la etapa l).

Los derivados de isoindolinona sustituidos se pueden preparar usando procedimientos estándar en síntesis orgánica como se indica, por ejemplo, en Smith, Michael – March's Advanced Organic Chemistry: reactions mechanisms and structure – 6ª edición, Michael B. Smith y Jerry March, John Wiley & Sons Inc., Nueva York (NY), 2007. Es conocido por los expertos en la materia que la que la transformación de una función química en otra puede requerir que uno o varios centros reactivos del compuesto que contiene la función se protejan para evitar reacciones secundarias no deseadas. La protección de estos centros reactivos y su posterior desprotección al final de las transformaciones sintéticas, se pueden conseguir siguiendo procedimientos estándar descritos, por ejemplo, en: Green, Theodora W. y Wuts, Peter G.M. – Protective Groups in Organic Synthesis, tercera edición, John Wiley & Sons Inc., Nueva York (NY), 1999.

En los casos en que un compuesto de fórmula (I) contiene uno o varios centros asimétricos, dicho compuesto se puede separar en sus isómeros mediante procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. Estos procedimientos comprenden técnicas cromatográficas estándar, incluyendo cromatografía utilizando una fase estacionaria quiral, o cristalización. Se describen métodos generales para la separación de compuestos que contienen uno o varios centros asimétricos, por ejemplo, en Jacques, Jean; Collet, André; Wilen, Samuel H., - Enantiomers, Racemates, and Resolutions, John Wiley & Sons Inc., Nueva York (NY), 1981.

Un compuesto de fórmula (I) se puede transformar también en una sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con procedimientos estándar conocidos por los expertos en la técnica. Alternativamente, un compuesto de fórmula (I) que se obtiene como una sal se puede convertir en su correspondiente base o ácido libre de acuerdo con procedimientos estándar conocidos por los expertos.

Los materiales de partida del proceso de la presente **revelación**, p. ej. 4-fluoro-2-metil-fenilamina (XI), ácido 4-fluoro-2-metilbenzoico (XII), furan-2-carbaldehído (XV) y compuestos de fórmula (XIII) y (XIV) que están disponibles comercialmente o se pueden preparar utilizando métodos ampliamente conocidos.

FARMACOLOGÍA

45 PARP-1 es una polimerasa inducida por daños en el ADN que cataliza la hidrólisis de NAD⁺ en nicotinamida y ADP-ribosa y a continuación utiliza esta última para sintetizar ácidos nucleicos ramificados en forma de polímeros poli(ADP-ribosa). *In vivo*, la proteína poli(ADP-ribosilada) más abundante es la propia PARP-1, seguida de las histonas. PARP-1 es responsable del 90% de esta actividad inducida por el daño en el ADN, mientras que el 10% restante se debe a PARP-2.

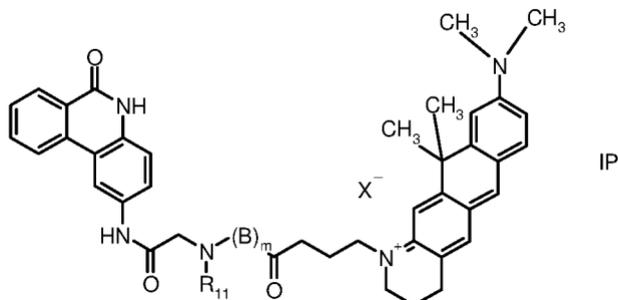
50 Ensayo bioquímico

La evaluación de la afinidad de los compuestos ensayados y su selectividad respecto a las diferentes isoformas de interés de PARP se valoró en un ensayo de desplazamiento.

La identificación de compuestos capaces de unir varias proteínas PARP se ha llevado a cabo mediante un método de cribado que incluye las siguientes etapas:

a) proporcionar una mezcla de reacción que contiene:

la isoforma de la proteína PARP bajo investigación,
un compuesto de fórmula (IP):



5 donde R_{11} es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, B es un grupo $(CH_2)_n-NH$ donde n va de 2 a 6; m es 0 o 1 y X^- es un contraión, y diluciones en serie del compuesto de ensayo;

b) comparar la señal de polarización generada en ausencia del compuesto de ensayo con la generada en presencia de diferentes concentraciones del compuesto de ensayo, y
10 c) evaluar la capacidad del compuesto de ensayo de desplazar el compuesto de fórmula (IP), tal y como se define arriba, indicado por una disminución del nivel de polarización de fluorescencia.

Preferentemente, para el método de cribado citado anteriormente, se prefiere que tanto la proteína PARP como la sonda derivada de 5H-fenantridin-6-ona de fórmula (IP) estén mezclados previamente, o bien, que la proteína PARP y el compuesto de ensayo estén mezclados previamente. En un método de cribado especialmente preferido, las proteínas PARP son PARP-1, PARP-2 y PARP-3. El término "proteína PARP" incluye las proteínas nativas de longitud completa así como fragmentos de estas. Más preferentemente, R_{11} es hidrógeno o metilo, m es 0 o 1; si m es 1, n es 3 o 6, X^- es trifluoroacetato. La sonda derivada de 5H-fenantridin-6-ona (IP) se seleccionó por su capacidad para unirse a las proteínas PARP, incluyendo tanto a las proteínas nativas de longitud completa como a fragmentos de estas.

20 La señal de polarización se puede medir, p. ej. mediante un lector de placas como el Sapphire2 (Tecan). El análisis de datos se realizó, p. ej. usando el software Dynafit. Los datos de desplazamiento se ajustaron también, p. ej. usando una hoja de cálculo Excel (Microsoft Inc. Seattle, EEUU) a un modelo logístico de cuatro parámetros (4PL), o modelo de Hill-Scope. El ensayo se usó para la evaluación de los compuestos de la presente **revelación**. La capacidad de desplazamiento de los compuestos de estudio de fórmula (I) está en correlación con la afinidad de los compuestos por el bolsillo NAD del enzima. Las sondas específicas de fórmula (IP) usadas en el ensayo son:

25 P1. Trifluoroacetato de 9-dimetilamino-11,11-dimetil-1-(3-{metil-[(6-oxo-5,6-dihidro-fenantridin-2-ilcarbamoil)-metil]-carbamoil}-propil)-2,3,4,11-tetrahidro-nafto[2,3-g]quinolinio;
P2. Trifluoroacetato de 9-dimetilamino-11,11-dimetil-1-[3-(3-[[[6-oxo-5,6-dihidro-fenantridin-2-ilcarbamoil)-metil]-amino]-propilcarbamoil]-propil)-2,3,4,11-tetrahidro-nafto[2,3-g]quinolinio;
30 P3. Trifluoroacetato de 9-dimetilamino-11,11-dimetil-1-[3-(6-[[[6-oxo-5,6-dihidro-fenantridin-2-ilcarbamoil)-metil]-amino]-hexilcarbamoil)-propil]-2,3,4,11-tetrahidro-nafto[2,3-g]quinolinio.

Un compuesto de fórmula (IP) como se define arriba se puede preparar como se describe en el documento WO 2010/133647.

35 El ensayo se basa en el uso de una sonda de fórmula (IP) que se une al bolsillo de unión NAD^+ y aprovecha el cambio significativo en la señal de polarización observada tras la unión de la sonda a PARP-1, PARP-2 y PARP-3. LA capacidad de la sonda de fórmula (IP) de unirse a PARP-1, PARP-2 y PARP-3 de cadena completa se ha informado previamente en el documento (WO 2010/133647). El ensayo se ha validado como se describe en el documento WO 2010/133647.

40 Las constantes de afinidad de unión (Kd) y los DC_{50s} (la concentración del compuesto a la cual la señal de polarización disminuye al 50% comparada con controles sin tratar) de los compuestos de estudio se puede determinar como se explica en el documento WO 2010/133647. El ensayo, usando la sonda P1 como la sonda P3, se usó para evaluar la potencia bioquímica de los compuestos de fórmula (I), como se indica en la Tabla 1.

ES 2 813 530 T3

Tabla 1

Compuesto	PARP-1 (DC ₅₀ μM)	PARP-1 (Kd μM)	PARP-2 (DC ₅₀ μM)	PARP-2 (Kd μM)	PARP-3 (DC ₅₀ μM)	PARP-3 (Kd μM)
(2)	<0,25†	<0,03†	0,34	0,18	-	-
(3)	<0,25	<0,03	7,1	5,8	-	-
(4)	0,39	-	1,92	-	-	-
(5)	0,33	-	1,64	-	-	-
(6)	<0,25	0,04	7,44	5,87	-	-
(7)	<0,25	0,06	0,76	0,42	-	-
(8)	<0,25	0,05	>10	-	-	-
(9)	<0,25	<0,03	4,94	1,44	-	-
(10)	<0,25	0,07	8,4	6,8	-	-
(11)	<0,25	<0,01*†	2,53	1,4	2,06	-
(12)	<0,25	<0,03	3,37	1,7	-	-
(13)	<0,25	<0,03	5,08	-	-	-
(14)	<0,25	<0,03	1,25	0,58	-	-
(15)	<0,25	0,04	>10	-	0,9	-
(16)	<0,25	<0,03	2,88	0,98	-	-
(17)	<0,25	<0,03	0,63	0,29	-	-
(19)	<0,25	<0,03	2,76	1,39	-	-
(20)	<0,25	<0,03	0,58	0,19	-	-
(21)	0,28	-	>10	-	-	-
(22)	<0,25	<0,03	2,12	-	-	-
(23)	<0,25	<0,03	2,00	-	-	-
(24)	<0,25	<0,03	0,83	0,44	-	-
(25)	<0,25	-	5,57	-	-	-
(26)	3,33	-	>10	-	-	-
(27)	1,05	-	>10	-	-	-
(28)	<0,25	<0,03	1,81	-	5,48	-
(29)	<0,25	<0,01*†	2,92	-	1,00	-
(30)	<0,25	-	>10	-	0,35	-
(31)	<0,25	-	>10	-	-	-
(32)	<0,25	0,048	1,88	0,66	-	-

*Ensayo realizado con el compuesto P3 como sonda. En todos los otros casos se usó el compuesto P1 como sonda.
†Límites del ensayo de sensibilidad basados en un error de ajuste < 50%.

A partir de los datos anteriores, resulta claro para un experto en la materia que los compuestos de fórmula (I) de la presente **revelación** son muy potentes como inhibidores de PARP-1 y extremadamente selectivos frente a PARP-2 y

PARP-3 (compárense los valores DC₅₀ y Kd de PARP-1, PARP-2 y PARP-3 en la Tabla 1 anterior).

Ensayos celulares

Ensayo PAR

5 La actividad celular de los inhibidores de PARP-1 se evaluó mediante la medición de la inhibición de la formación de PAR inducida por peróxido de hidrógeno en células HeLa (ECACC). Los niveles celulares de PAR se midieron mediante inmunocitoquímica, y se cuantificaron utilizando un instrumento ArrayScan vTi (Cellomics Thermo Scientific).

10 Los estudios se realizaron como sigue: se sembraron 6000 células/pocillo en placas de 96 pocillos (Perkin Elmer) en MEM/10% FCS y se incubaron durante 24 horas a 37°C, con un 5% de dióxido de carbono. Se añadieron los compuestos a evaluar a la concentración requerida durante 30 min. Se indujo daño en el ADN mediante la adición de peróxido de hidrógeno a una concentración de 0,1 mM durante 15 min. Las curvas de concentración se prepararon en MEM/10% FCS a partir de stocks del compuesto en DMSO, y la concentración final de DMSO fue 0,002% (v/v). Se prepararon pocillos duplicados para cada punto de concentración con la concentración más alta típica del compuesto de 20 µM y una dilución en serie de 1:3. Se secaron las placas y se fijaron añadiendo una solución de metanol-acetona (70:30) fría durante 15 min a temperatura ambiente, se aspiró la solución fijadora y se secaron los pocillos con aire durante 5 min y a continuación se deshidrataron en PBS. Los sitios de unión no específicos se bloquearon mediante la incubación de los pocillos durante 30 min en PBS conteniendo FBS 5% (p/v) y Tween20 0,05%. Después se incubaron los pocillos durante 1 hora a temperatura ambiente en PBS conteniendo anticuerpo monoclonal de ratón anti-PAR (Anti-PAR, ratón mAb 10H, Tulip Cat N° 1020) diluido 1:200 en solución bloqueante. Después de 3 lavados con PBS, se incubaron los pocillos en PBS FBS 5% (p/v) y Tween20 0,05% conteniendo 2 µg/ml de anticuerpo secundario Cy2-conjugado de cabra anti-ratón (Amersham Pharmacia Biotech cat. N° PA 42002) (Absorción máxima a 489 nm fluorescencia máxima a 506 nm) y 1 µg/ml de DAPI (Absorción máxima a 359 nm fluorescencia máxima a 461 nm) (dilactato de 4',6-diamidino-2-fenilindol) (Sigma cat. N° D9564), un colorante de alta sensibilidad para la tinción de ácidos nucleicos. Después de 3 lavados adicionales con PBS, se comprobó la inmunoreactividad celular PAR utilizando el instrumento ArrayScan vTi, con un objetivo Zeiss 10X 0,5 N.A., y aplicando el algoritmo Cytotoxicity.V3 (Cellomics/ThermoFisher) con un filtro XF100. Al menos 10 campos, correspondientes al menos a 900 células, se leyeron para cada pocillo. Los valores de IC₅₀ representan la concentración del compuesto a la cual la señal celular PAR disminuye un 50% comparada con los controles sin tratamiento.

Se utilizó la siguiente fórmula:

$$IC_{50} = Fondo + (Pico-Fondo)/(1+10^{((LogEC_{50}-X))});$$

30 X es el logaritmo de la concentración, IC₅₀ es la respuesta; IC₅₀ comienza en el fondo y llega hasta el pico con una forma sigmoidal.

Según los ensayos anteriores, los compuestos de fórmula (I) de la presente **revelación** inhibieron la formación de PAR con valores de IC₅₀ más bajos de 5 µM, tal y como se representa en la Tabla 2.

Tabla 2

Compuesto	Ensayo PAR (IC ₅₀ µM)	Compuesto	Ensayo PAR (IC ₅₀ µM)
(3)	2,25	(20)	0,83
(6)	2,15	(21)	0,60
(9)	1,40	(22)	0,40
(11)	0,02	(23)	0,40
(12)	3,9	(24)	0,11
(13)	0,98	(25)	0,20
(14)	0,011	(28)	0,56
(15)	0,1	(29)	0,5
(16)	0,02	(31)	0,2
(17)	1,51	(32)	0,17
(19)	0,33		

Ensayo de formación de colonias

5 Células MDA-MB-436 de cáncer de mama mutadas en BRCA-1 se hicieron crecer hasta la densidad de 600 células/cm² en medio RPMI suplementado con Suero Fetal Bovino al 10%. 24 horas más tarde se añadieron por duplicado dosis diferentes de los compuestos partiendo de la concentración 10 µM. Diez días después, las células se fijaron y se tiñeron con Violeta Cristal. Las colonias se contaron usando un escáner de infrarrojos (Odyssey Li-Cor). Se calculó el IC₅₀ antiproliferativo usando Prism.

Farmacocinética

10 El perfil farmacocinético y la biodisponibilidad oral de los compuestos han sido investigados en el ratón (Balb, Nu/Nu, Harlan, Italia) en estudios farmacocinéticos *ad hoc*. Se formularon los compuestos en tween80/dextrosa al 10% para la administración de bolo intravenoso, mientras que las administraciones orales se realizaron utilizando los compuestos formulados en metilcelulosa al 0,5%. Se proporcionó una sola administración con una dosificación de 10 mg/kg y se utilizaron tres animales macho para cada ruta. Todas las muestras de sangre se tomaron de la vena retro-orbital a los 5 min, 30 min, 1 h, 3 h, 6 h, 24 h tras la administración intravenosa y 15 min, 30 min, 1 h, 3 h, 6 h, 24 h tras la administración oral. Las muestras de plasma se prepararon mediante la precipitación de las proteínas plasmáticas añadiendo 200 µL de acetonitrilo a 20 µL plasma en una placa de 96 pocillos. Después de tapar y mezclar en vórtex, se centrifugó la placa durante 15 min a 4000 rpm. Se consideró el sobrenadante como extracto final y se inyectó en el sistema LC-MS-MS (sistema UPLC: Waters Acquity usando la columna analítica BEH C18 50*2,1mm 1,7 µm; Instrumento MS: Waters TQD equipado con fuente de electroespray operando en modo de ion positivo). El límite inferior de cuantificación es 5,0 ng/ml, el límite superior de cuantificación es 5000 ng/ml. Se utilizó el método no-compartimentado (regla de trapezoide lineal y análisis de regresión lineal de datos de las concentraciones de plasma transformadas mediante logaritmo natural vs tiempo). La biodisponibilidad absoluta (F) se calculó a partir de la relación de los valores promedio orales respecto a IV (intravenosos) de las AUC (área bajo la curva) de plasma normalizado con respecto a la dosis.

Las abreviaturas usadas aquí tienen el significado siguiente:

- 25 AUC (área bajo la curva de concentración de plasma vs tiempo hasta la última concentración detectable)
 CI (aclaramiento plasmático)
 Cmax (máxima concentración de plasma)
 T 1/2 (vida media terminal)
 Vdss (volumen de distribución en estado estacionario)

30 Se evaluaron los parámetros farmacocinéticos de varios compuestos representativos de fórmula (I) tal y como se indica en la Tabla 3 como valor medio.

Tabla 3

Compuesto	CI (bolo IV) ml/min/kg	Vdss (bolo IV) L/Kg	AUC (oral) µM·h	Cmax (oral) µM	T1/2 (oral) h	F en AUC %
(3)	63,1	1,54	2,51	3,06	0,68	30
(11)	41,3	4,47	20,4	3,87	2,72	100
(14)	81,8	2,68	3,22	2,29	0,89	57
(15)	16,9	0,79	19,2	8,73	1,01	68
(16)	79,3	2,51	2,13	2,97	0,63	37

A partir de lo anterior, resulta evidente para el experto en la materia que los compuestos de fórmula (I) poseen unos perfiles farmacocinéticos y una biodisponibilidad oral de buenos a excelentes.

35 Estudios de eficacia *in vivo*

40 Ratones macho Balb, Nu/Nu atímicos de Harlan (Italia), se mantuvieron - de acuerdo con la Directiva del Consejo de las Comunidades Europeas nº. 86/609/EEC respecto a la protección de animales para su uso experimental u otros propósitos científicos - en jaulas cubiertas con papel de filtro, con comida, agua acidulada y lecho esterilizado. Se implantaron de forma subcutánea fragmentos de tumores cancerígenos pancreáticos humanos Capan-1. Se seleccionaron los ratones poseedores de un tumor palpable (100-200 mm³) y se aleatorizaron entre los grupos de control y de tratamiento. Cada grupo incluyó siete animales. Se comenzó el tratamiento un día después de la aleatorización. Se administró el compuesto de fórmula (I) por vía oral en forma de suspensión de metocel a los tiempos y dosis indicados. Se midió regularmente la dimensión del tumor con calibradores durante el experimento y se calculó la masa del tumor como se describe en Simeoni M. y col., Cancer Res 64, 1094-1101 (2004). Se calculó la inhibición

del crecimiento del tumor (TGI, %) de acuerdo con la ecuación: $\%TGI = 100 - (\text{peso promedio del tumor del grupo tratado} / \text{peso promedio del tumor del grupo de control}) * 100$.

5 Se evaluó la actividad antitumoral como agente individual de varios compuestos representativos de fórmula (I) en el modelo de ratón mutado con Capan-1 BRCA-2 y los resultados se presentan en la Tabla 4. La toxicidad se evaluó basándose en la reducción del peso corporal (no se observó reducción del peso corporal en los 7 ratones tratados).

Tabla 4

Compuestos	Dosis	Plan	Máx. TGI (%)	Toxicidad
(11)	75 mg/kg	1-8 al día	42%	0/7
(15)	75 mg/kg	1-10 al día	54%	0/7

10 Se evaluó la actividad antitumoral de compuestos representativos de fórmula (I) en el modelo de ratón mutado con Capan-1 BRCA-2 en combinación con temozolomida. Los compuestos de fórmula (I) y la temozolomida se administraron por vía oral. El crecimiento del tumor se midió mediante calibrador. Los dos diámetros se registraron y el peso del tumor se calculó de acuerdo con la fórmula siguiente: longitud (mm) x anchura² / 2. El efecto del tratamiento antitumoral se evaluó como el retraso en el inicio de un crecimiento exponencial del tumor (véase para referencias Anticancer drugs 7:437-60, 1996). Este retraso (valor T-C) se definió como la diferencia de tiempo (en días) necesario para los tumores del grupo de tratamiento (T) y el grupo de control (C) para alcanzar un tamaño predeterminado (1 g).
15 Se evaluó la toxicidad basándose en la relación de la reducción del peso corporal y la supervivencia del animal. El T-C observado cuando los compuestos de fórmula (I) se combinaron con temozolomida fue superior al esperado por la simple adición de T-C obtenido mediante tratamientos individuales, indicando de este modo una fuerte sinergia.

Por consiguiente, la presente **revelación se refiere a** compuestos de fórmula (I) útiles en terapia.

20 Los compuestos de fórmula (I) de la presente **revelación**, apropiados para la administración a un mamífero, p. ej. a humanos, se pueden administrar mediante las vías usuales y con niveles de dosificación dependiendo de la edad, el peso, las condiciones del paciente y la vía de administración.

25 Por ejemplo, una dosificación apropiada adoptada para la administración oral de un compuesto de fórmula (I) puede oscilar entre aproximadamente 1 hasta aproximadamente 1000 mg por dosis, desde 1 a 5 veces al día. Los compuestos de la **revelación** pueden ser administrados en una variedad de formas de dosificación, p. ej. oralmente, en forma de comprimidos, cápsulas, grajeas o comprimidos recubiertos con película, soluciones líquidas o suspensiones; rectalmente en forma de supositorios; parenteralmente, p. ej. intramuscularmente, o vía intravenosa y/o por inyecciones o infusiones intratecales o intraespinales.

Tal y como se mencionó anteriormente, la presente **revelación** también incluye composiciones farmacéuticas comprendiendo un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en asociación con un excipiente farmacéuticamente aceptable que puede ser un portador o un diluyente.

30 Las composiciones farmacéuticas conteniendo los compuestos de la **revelación** se preparan normalmente siguiendo los métodos convencionales y son administradas en una forma farmacéuticamente apropiada. Por ejemplo, las formas orales sólidas pueden contener, junto con el principio activo, diluyentes, p. ej., lactosa, dextrosa, sacarosa, sucrosa, celulosa, almidón de maíz o almidón de patata; lubricantes, p. ej., sílice, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o calcio, y/o polietilenglicoles; agentes aglutinantes, p. ej., almidones, goma arábiga, gelatina de metilcelulosa,
35 carboximetilcelulosa o polivinil pirrolidona; agentes desintegrantes, p. ej., almidón, ácido algínico, alginatos o almidón glicolato de sodio; mezclas efervescentes; colorantes; edulcorantes; agentes humectantes como la lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos; y en general, sustancias no-tóxicas y farmacológicamente inactivas utilizadas en formulaciones farmacéuticas. Estas preparaciones farmacéuticas pueden prepararse de forma conocida, por ejemplo, mediante procesos de mezcla, granulación, compresión, grajeado o recubrimiento de película.

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

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

Las soluciones para inyecciones o infusiones intravenosas pueden contener, como portador, agua estéril o preferentemente pueden estar en la forma de soluciones salinas, isotónicas, acuosas, estériles o pueden contener propilenglicol como portador.

50 Los supositorios pueden contener, junto con el principio activo, un portador farmacéuticamente aceptable, p. ej.,

manteca de cacao, polietilenglicol, un surfactante de polioxietilen sorbitano de éster de ácido graso o lecitina.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

5 Para una referencia a cualquier compuesto específico de fórmula (I) de la **revelación**, opcionalmente en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, véase la sección experimental y las reivindicaciones. En referencia a los ejemplos que siguen, los compuestos de la presente **revelación** se sintetizaron usando los métodos descritos aquí, u otros métodos, los cuales son bien conocidos en la técnica.

Las formas cortas y las abreviaturas usadas aquí tienen el significado siguiente:

amu (unidad de masa atómica)
 calc. (calculado)
 10 μ M (micromolar)
 μ L (microlitro)
 μ m (micrómetro)
 mol (moles)
 mM (milimolar)
 15 mmol (milimoles)
 nm (nanómetros)
 g (gramos)
 mg (miligramos)
 ng (nanogramos)
 20 h (hora/s)
 min (minuto/s)
 DC₅₀ (la mitad de la concentración de desplazamiento máxima)
 IC₅₀ (la mitad de la concentración inhibitoria máxima)
 PAR (poli (ADP-ribosa))
 25 MEM (Medio esencial mínimo)
 FCS (suero de ternera fetal)
 FBS (suero bovino fetal)
 PBS (fosfato salino tamponado)
 LC-MS (cromatografía líquida-espectrometría de masas)
 30 HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia)
 TLC (cromatografía de capa fina)
 RMN (resonancia magnética nuclear)
 MHz (megahercio)
 Hz (hercio)
 35 DMSO-*d*₆ (dimetilsulfóxido deuterado)
 CDCl₃ (cloroformo deuterado)

ESI (ionización por electroespray)

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

40 Como se emplean aquí, los símbolos y convenciones usadas en los procesos, esquemas y ejemplo son consistentes con aquellos empleados en la bibliografía científica contemporánea, por ejemplo, el *Journal of the American Chemical Society* o el *Journal of Biological Chemistry*.

A menos que se indique lo contrario, todos los materiales se obtuvieron de proveedores comerciales, del mejor grado y usados sin purificación adicional. El disolvente anhidro, como *N,N*-dimetilformamida, tetrahidrofurano, diclorometano y tolueno se obtuvo de Aldrich Chemical Company. Todas las reacciones que involucran compuestos sensibles al aire o la humedad se llevaron a cabo bajo atmósfera de nitrógeno o argón.

Métodos analíticos y de purificación generales

La cromatografía flash se llevó a cabo en gel de sílice (Merck grado 9395, 60Å). El HPLC se llevó a cabo en columna Waters X Terra RP 18 (4,6 x 50 mm, 3,5 μ m) usando un sistema HPLC Waters 2790 equipado con un detector PDA 50 2996 y un espectrómetro de masas de cuadrupolo simple Micromass modelo ZQ, equipado con una fuente de iones por electroespray (ESI). La fase móvil A fue tampón acetato amónico 5 mM (pH 5,5 con ácido acético-acetonitrilo 95:5), y la fase móvil B fue agua-acetonitrilo (5:95). Gradiente de 0 a 90 % de B en 8 minutos, manteniendo 90% de B 2 minutos. Detección UV a 220 nm y 254 nm. Velocidad de flujo 1 ml/min. Volumen de inyección 10 μ L. Full scan, intervalo de masas entre 100 y 800 amu. El voltaje capilar fue 2,5 kV; la fuente de temperatura 120°C; el cono fue 10V. 55 Los tiempos de retención (tr HPLC) se indican en min a 220 nm o a 254 nm. Las masas se indican como relación m/z.

Quando fue necesario, los compuestos se purificaron mediante HPLC preparativa en una columna Waters Symmetry C18 (19 x 50 mm, 5 μ m) o una columna Waters X Terra RP 18 (30 x 150 mm, 5 μ m) usando un sistema preparativo

de Waters HPLC 600 equipado con un detector PDA 996 y un espectrómetro de masas de cuadrupolo simple Micromass mod. ZMD, con ionización por electrospray, modo positivo. La fase móvil A fue agua-ácido trifluoroacético al 0,01%, y la fase móvil B fue acetonitrilo. Gradiente de 10 a 90% B en 8 min, manteniendo 90% B 2 min. Velocidad de flujo 20 ml/min. Alternativamente, la fase móvil A fue agua-hidróxido amónico al 0,1% y la fase móvil B fue acetonitrilo. Gradiente de 10 a 100% de B en 8 min, manteniendo 100% de B 2 min. Velocidad de flujo 20 ml/min.

Los espectros ^1H -RMN se realizaron en DMSO- d_6 o CDCl_3 en un Varian Inova 400 operando a 400,5 MHz y en un Varian Mercury 300 operando a 300,0 MHz. Los espectros ^{13}C RMN se realizaron en DMSO- d_6 a 75,0 MHz.

La señal del disolvente residual se usó como referencia ($\delta=2,50$ o $7,27$ ppm). Los desplazamientos químicos (δ) se indican en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en Hz. Las abreviaturas siguientes se usan para las multiplicidades: s = singulete; br. s. = señal ancha; d = doblete; t = triplete; m = multiplete; dd = doblete de dobletes.

Los espectros de masas de alta resolución ESI(+) (HRMS) se obtuvieron en un espectrómetro de masas Q-ToF Ultima (Waters, Manchester, UK) conectado directamente a un sistema micro-HPLC 1100 (Agilent, Palo Alto, USA) como se describió anteriormente (Colombo M., Sirtori F. R. y Rizzo V. (2004). Un método completamente automático para la determinación precisa de la masa usando cromatografía líquida de alta resolución con un espectrómetro de masas de aceleración de tiempo de vuelo con cuadrupolo/ortogonal. Rapid Commun. Mass Spectrom. 18, 511-517).

Ejemplo 1

Etapa a

2-bromo-4-fluoro-6-metil-fenilamina (X) [Hal = Br]

Una solución de *N*-bromosuccinimida (18,7 g, 0,105 mol) en 70 ml de *N,N*-dimetilformamida se añadió gota a gota a una solución de 4-fluoro-2-metil-fenilamina (XI) (12,5 g, 0,1 mol) en 70 ml del mismo disolvente a 20°C. La mezcla de reacción se agitó durante la noche. La solución oscura se vertió en una mezcla de agua (1000 ml), salmuera (50 ml) y acetato de etilo (300 ml). La mezcla se transfirió a un embudo separador, se agitó y se separó. La fase se extrajo con acetato de etilo (4 x 150 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (5 x 100 ml), salmuera (2 x 100 ml), se secó con Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El producto se purificó por cromatografía flash (eluyente acetato de etilo : *n*-hexano = 1 : 8). Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron para rendir 14,9 g de producto. Las fracciones impuras se combinaron, se concentraron, se redisolviaron en éter dietílico (30 ml) y se extrajeron con ácido clorhídrico al 5 % (5 x 10 ml). La fase ácida se basificó con hidróxido potásico acuoso y se extrajo con éter dietílico para proporcionar otros 0,8 g del compuesto del título. El rendimiento total fue de 15,7 g (77%).

^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,16 (s, 3H), 4,83 (br. s, 2H), 6,91 (dd, $J_{\text{H-F}} = 9,3$ Hz, $J_{\text{H-H}} = 2,9$ Hz, 1H), 7,16 (dd, $J_{\text{H-F}} = 8,3$ Hz, $J_{\text{H-H}} = 2,9$ Hz, 1H).

Etapa b

2-Bromo-4-fluoro-6-metil-benzonitrilo (IX) [Hal = Br]

Una solución de cianuro potásico (16,25 g, 0,25 mol) en 20 ml de agua se añadió a una suspensión de cloruro de cobre (I) acabado de preparar (9,5 g, 0,096 mol) en 40 ml de agua. Después se añadió tolueno (30 ml) y la mezcla se enfrió a 0°C. Se añadió 2-bromo-4-fluoro-6-metil-fenilamina (X) (15,7 g, 0,077 mol) a una mezcla de 16,5 ml de ácido clorhídrico acuoso al 36% y 40 ml de agua. La suspensión resultante se calentó hasta que se formó una solución. La solución se enfrió a 2°C y precipitó el clorhidrato de amina. Se añadió lentamente una solución de nitrito sódico (5,34 g, 0,078 mol) en 15 ml de agua, manteniendo la temperatura de la mezcla de reacción por debajo de 5°C. Se añadió carbonato sódico decahidrato en polvo en pequeñas porciones para ajustar el pH de la mezcla de reacción hasta aproximadamente 7. La solución resultante de la sal de diazonio se añadió lentamente al reactivo cianocuprato preparado previamente, manteniendo de nuevo la temperatura de reacción por debajo de 5°C. Se formó un precipitado rojo-naranja brillante. Se dejó enfriar la mezcla de reacción a 20°C y se mantuvo a esta temperatura durante la noche. Después se enfrió lentamente hasta 70°C durante 1 h. El precipitado se disolvió casi completamente. La mezcla de reacción se dejó enfriar hasta 20°C y se filtró. La fase orgánica se separó, y la fase acuosa se extrajo con tolueno (3 x 70 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 10 ml), salmuera (2 x 100 ml), se secaron con Na_2SO_4 , se filtraron y concentraron. El nitrilo crudo (IX) (13,9 g, 84%) se usó sin purificación adicional.

^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,52 (s, 3H), 7,44 (dd, $J_{\text{H-F}} = 9,4$ Hz, $J_{\text{H-H}} = 2,1$ Hz, 1H), 7,73 (dd, $J_{\text{H-F}} = 8,2$ Hz, $J_{\text{H-H}} = 2,1$ Hz, 1H).

^{13}C RMN (75,0 MHz, DMSO- d_6) δ 115,8, 112,7 (d, $J_{\text{C-F}} = 3$ Hz), 117,0 (d, $J_{\text{C-F}} = 23$ Hz), 118,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 27$ Hz), 126,1 (d, $J_{\text{C-F}} = 11$ Hz), 147,8 (d, $J_{\text{C-F}} = 11$ Hz), 163,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 257$ Hz).

Etapa c

2-Bromo-4-fluoro-6-metil-benzamide (VIII) [Hal = Br]

2-Bromo-4-fluoro-6-metil-benzonitrilo (IX) (0,428 g, 2 mmol) se calentó en ácido sulfúrico acuoso al 70% (2 ml) durante la noche a 150 °C. La mezcla de reacción se vertió en hielo y se extrajo con acetato de etilo (4 x 2 ml). La fase orgánica

se lavó con agua (4 x 2 ml), salmuera (2 x 2 ml), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró para rendir 300 mg de crudo 2-bromo-4-fluoro-6-metil-benzamida (VIII). La muestra pura se obtuvo por recristalización a partir de benceno.
¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,31 (s, 3H), 7,17 (dd, J_{H-F} = 9,8 Hz, J_{H-H} = 2,2 Hz, 1H), 7,41 (dd, J_{H-F} = 8,6 Hz, J_{H-H} = 2,2 Hz, 1H), 7,89 (br. s, 1H), 7,65 (br. s, 1H).

5 Etapa d

Ácido 2-Bromo-4-fluoro-6-metil-benzoico (VII) [Hal = Br]

2-Bromo-4-fluoro-6-metil-benzamida (VIII) (0,9 g, 3,9 mmol) se disolvió en ácido sulfúrico acuoso al 75% (4 ml) a 80°C. Se añadió cuidadosamente nitrito sódico (0,5 g, 7,2 mmol) en pequeñas porciones durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió a 20 °C y se añadió agua fría (15 ml) a la mezcla de reacción. El producto se extrajo con acetato de etilo (6 x 2 ml). La fase orgánica se lavó con agua (4 x 2 ml), salmuera (2 x 2 ml), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró para rendir 0,879 g (97%) de ácido puro (VII).

¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,31 (s, 1H), 7,22 (dd, J_{H-F} = 9,6 Hz, J_{H-H} = 2,2 Hz, 1H), 7,47 (dd, J_{H-F} = 8,5 Hz, J_{H-H} = 2,4 Hz, 1H), 13,7 (br. s, 1H).

¹³C RMN (75,0 MHz, DMSO-*d*₆ + CCl₄) δ ppm 19,5, 116,0 (d, J_{C-F} = 22 Hz), 116,8 (d, J_{C-F} = 24 Hz), 118,3 (d, J_{C-F} = 10 Hz), 134,0 (d, J_{C-F} = 3 Hz), 138,4 (d, J_{C-F} = 8 Hz), 163,0 (d, J_{C-F} = 250 Hz), 168,0.

15 Etapa f

Éster metílico del ácido 2-bromo-4-fluoro-6-metil-benzoico (VI) [Hal = Br; T = metilo]

Una mezcla de ácido 2-bromo-4-fluoro-6-metil-benzoico (VII) (1,94 g, 8,33 mmol), carbonato potásico anhidro (1,72 g, 12,5 mmol), yoduro de metilo (2,36 g, 17 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (15 ml) se agitó vigorosamente durante 23 h a 20 °C. La suspensión se vertió en 70 ml de agua. Se separó un aceite denso. El producto se extrajo con acetato de etilo (4 x 25 ml). La fase orgánica se lavó con agua (5 x 20 ml), salmuera (2 x 20 ml), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró para rendir 2,07 g (rendimiento cuantitativo) de éster metílico del ácido 2-bromo-4-fluoro-6-metil-benzoico (VI).

¹H RMN (400,5 MHz, CDCl₃) δ ppm 2,35 (s, 3H), 3,96 (s, 3H), 6,91 (dd, J_{H-F} = 9,0 Hz, J_{H-H} = 2,2 Hz, 1H), 7,18 (dd, J_{H-F} = 8,1 Hz, J_{H-H} = 2,4 Hz, 1H).

25 Etapa g

Éster metílico del ácido 2-ciano-4-fluoro-6-metil-benzoico (V) [T = metilo]

Una mezcla de éster metílico del ácido 2-bromo-4-fluoro-6-metil-benzoico (VI) (275 mg, 1,12 mmol), hexacianoferrato potásico (II) (206 mg, 0,56 mmol), carbonato sódico anhidro (237 mg, 2,24 mmol) y acetato de paladio (II) (5 mg, 0,0224 mmol) en 3 ml de *N*-metilpirrolidona se calentó a 120°C en un tubo sellado bajo atmósfera de argón durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se filtró a través de un lecho de Celite. La fase orgánica se lavó con agua (13 x 6 ml), salmuera (2 x 6 ml), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró. La cromatografía de columna (n-hexano/acetato de etilo : 7/3) rindió éster metílico del ácido 2-ciano-4-fluoro-6-metil-benzoico (76 mg, 35%).

¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,42 (s, 3H), 3,93 (s, 3H), 7,65 (dd, J_{H-F} = 9,6 Hz, J_{H-H} = 2,6 Hz, 1H), 7,85 (dd, J_{H-F} = 8,3 Hz, J_{H-H} = 2,6 Hz, 1H).

35 Etapa h

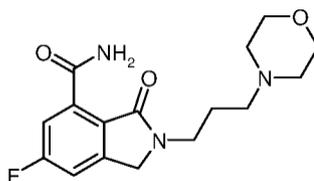
6-Fluoro-2-(3-morfolin-4-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carbonitrilo (IV) [n = 3; R1 = morfolin-4-ilo; X = nulo, siendo m = 0 y R2 = nulo]

A una solución de éster metílico del ácido 2-ciano-4-fluoro-6-metil-benzoico (V) (208 mg, 1,07 mmol) en pivalato de metilo (2 ml), se le añadieron *N*-bromosuccinimida (310 mg, 1,74 mmol) y peróxido de benzoilo (20 mg, 0,097 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 85°C bajo atmósfera de nitrógeno durante 3 h. El crudo se filtró en Gooch y se lavó con tolueno. Los volátiles se evaporaron y el residuo se disolvió en acetonitrilo (3 ml). Se añadieron trietilamina (0,41 ml, 2,9 mmol) y 3-morfolin-4-il-propilamina (XIII) (140 mg, 0,97 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 90°C durante 3 h. El crudo se diluyó con diclorometano y se lavó con hidróxido amónico al 15%. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró. La cromatografía de columna (gradiente de cloroformo/metanol: 96/4 hasta cloroformo/metanol: 94/6) rindió 6-fluoro-2-(3-morfolin-4-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carbonitrilo (IV) (130 mg, rendimiento 40%).

¹H RMN (400,5 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,87 (quinteto, J = 7,1 Hz, 2H), 2,34 – 2,49 (m, 6H), 3,62 – 3,74 (m, 6H), 4,45 (s, 2H), 7,42 (dd, J_{H-F} = 7,3 Hz, J_{H-H} = 2,0 Hz, 1H), 7,47 (dd, J_{H-F} = 8,3 Hz, J_{H-H} = 2,0 Hz, 1H).

50 Etapa c'

Amida del ácido 6-fluoro-2-(3-morfolin-4-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 23 [R = F; n = 3; R1 = morpholin-4-ilo; m = 0; R2 = nulo]



Una solución de 6-fluoro-2-(3-morfolin-4-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carbonitrilo (IV) (100 mg, 0,33 mmol) en 1,5 ml de ácido clorhídrico al 36% se calentó a 50°C durante 10 h. Todos los materiales volátiles se evaporaron y el residuo se disolvió en 2 ml de agua fría. La solución se neutralizó con carbonato potásico sólido. El sólido precipitado se disolvió en diclorometano y la fase orgánica se lavó con carbonato sódico acuoso saturado (2 x 1 ml), salmuera (2 x 1 ml), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró para rendir 73 mg (73 %) de amida del ácido 6-fluoro-2-(3-morfolin-4-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I).

¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,79 (quinteto, J = 7,1 Hz, 2 H), 2,28 – 2,35 (m, 6 H), 3,47 – 3,52 (m, 4 H), 3,59 (l, J = 7,1 Hz, 2 H), 4,58 (s, 2 H), 7,68 (dd, J_{HF} = 7,8, J_{HH} = 2,6 Hz, 1 H), 7,83 (br. s., 1 H), 7,89 (dd, J_{HF} = 10,9, J_{HH} = 2,6 Hz, 1 H), 10,81 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para C₁₆H₂₁FN₃O₃ [M + H]⁺ 322,1562; encontrado 322,1565

Ejemplo 2

Etapa e

Ácido 4-fluoro-2-yodo-6-metil-benzoico (VII) [Hal = I]

Una mezcla de ácido 4-fluoro-2-metil-benzoico (XII) (20,00 g, 0,130 mol), diacetato de yodobenceno (50,15 g, 0,156 mol), yodo (39,52 g, 0,156 mol) y acetato de paladio (II) (1,46 g, 0,006 mol) en N,N-dimetilformamida (360 ml) se desgasificó mediante ciclo de vacío y nitrógeno tres veces y después se calentó durante 18 h a 100°C de temperatura interna bajo argón. La mezcla oscura resultante se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con metil-terc-butil éter (200 ml) y se trató con una solución de metabisulfito sódico (250 g) en agua (500 ml) bajo agitación eficaz. Después, esta mezcla de color amarillo se acidificó mediante la adición lenta de ácido clorhídrico concentrado (130 ml). Después se separó la capa acuosa y se extrajo dos veces con metil-terc-butil éter (100 ml x 2). Los extractos combinados se trataron con una solución de pellets de hidróxido sódico (80 g) en agua (300 ml) bajo agitación. Se descargó la capa orgánica conteniendo solo yodobenceno, mientras se añadía la capa acuosa con cloruro sódico, enfriada a la temperatura del hielo y llevada a un pH muy bajo con ácido clorhídrico concentrado (130 ml). A partir de este medio acuoso se extrajo el producto con metil-terc-butil éter (100 ml x 3) y los extractos combinados se secaron con Na₂SO₄ y finalmente se concentraron bajo presión reducida rindiendo 30,5 g (84%) de ácido 4-fluoro-2-yodo-6-metil-benzoico como sólido marrón. Esta materia prima se usó en la etapa siguiente sin purificación.

¹H RMN (300,0 MHz, CDCl₃) δ ppm 2,46 (s, 3 H), 6,96 (dd, J_{HF} = 9,1, J_{HH} = 2,6 Hz, 1 H), 7,45 (dd, J_{HF} = 7,9, 2,3 Hz, 1 H).

Etapa f

Éster metílico del ácido 4-fluoro-2-yodo-6-metil-benzoico (VI) [Hal = I; T = metilo]

A una solución de ácido 4-fluoro-2-yodo-6-metil-benzoico (VII) (30,05 g, 0,109 mol) en N,N-dimetilformamida (300 ml) se le añadió carbonato potásico anhidro (22,0 g, 0,16 mol) bajo agitación magnética eficaz. Tras 15 min se añadió p-toluensulfonato de metilo (30,7 g, 0,16 mol). La suspensión marrón se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después se añadió acetato potásico (12,4 g, 0,13 mol) para destruir p-toluensulfonato de metilo no reaccionado y la mezcla se agitó durante la noche. La mezcla de reacción espesa se diluyó con metil-terc-butil éter (100 ml) y se lavó con agua (600 ml); la capa acuosa se separó y se extrajo dos veces con metil-terc-butil éter (70 ml x 2). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron con Na₂SO₄ y se concentraron bajo presión reducida hasta un residuo sólido. Este material se purificó por cromatografía (eluyente n-hexano/acetato de etilo 9:1), rindiendo 26,2 g (81%) de producto como aceite incoloro.

¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,27 (s, 3 H), 3,86 (s, 3 H), 7,25 (dd, J_{HF} = 9,6, J_{HH} = 2,4 Hz, 1 H), 7,63 (dd, J_{HF} = 8,2, J_{HH} = 2,4 Hz, 1 H).

Etapa g

Éster metílico del ácido 2-ciano-4-fluoro-6-metil-benzoico (V) [T = metilo]

Una solución de éster metílico del ácido 4-fluoro-2-yodo-6-metil-benzoico (VI) (26,02 g, 88,48 mmol) en 260 ml de N,N-dimetilformamida se trató con cianuro de cobre (I) (12,18 g; 0,136 mol) y se agitó a 110°C durante 5 h. La mezcla oscura se dejó enfriar hasta aproximadamente 60°C, se trató con 105 g de Celite® 560 coarse (Fluka) bajo agitación eficaz y se diluyó con acetato de etilo (250 ml). Tras enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se vertió lentamente en hidróxido sódico acuoso 0,25N (500 ml) y después se filtró. El vaso de reacción y el panel se lavaron con acetato de etilo (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo dos veces con acetato de etilo (250 ml + 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (200 ml), se secaron con Na₂SO₄ y se concentraron bajo presión

reducida para rendir 22,00 g de producto crudo como sólido amarillo. Este material se cristalizó con n-hexano (40 ml): tras enfriar a temperatura ambiente se recogió el sólido por filtración y se concentraron los licores madre bajo presión reducida. El residuo sólido así obtenido se cristalizó con n-hexano (20 ml) rindiendo, tras la filtración de los sólidos, una segunda cosecha del producto. Las cosechas combinadas (14,15 g) se purificaron finalmente mediante cromatografía eluyendo en gradiente de n-hexano / metil-terc-butil éter 9:1 a n-hexano / acetato de etilo 9:1. Tras la evaporación de las fracciones se obtuvieron 12,0 g (70%) de éster metílico del ácido 2-ciano-4-fluoro-6-metil-benzoico (V).

^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,42 (s, 3H), 3,93 (s, 3H), 7,65 (dd, $J_{\text{HF}} = 9,6$, $J_{\text{HH}} = 2,6$ Hz, 1H), 7,85 (dd, $J_{\text{HF}} = 8,3$, 2,6 Hz, 1H).

10 Etapa h

2-(1-Ciclohexil-piperidin-4-il)-6-fluoro-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carbonitrilo (IV) [R = F; n = m = 0; R1 = piperidin-4-ilo; R2 = 1-ciclohexilo]

A una solución de éster metílico del ácido 2-ciano-4-fluoro-6-metil-benzoico (V) (208 mg, 1,07 mmol) en pivalato de metilo (2 ml) se añadieron *N*-bromosuccinimida (310 mg, 1,74 mmol) y peróxido de benzoilo (20 mg, 0,097 mmol). Después la mezcla de reacción se agitó a 85°C bajo atmósfera de nitrógeno durante 3 h. El crudo se filtró y se lavó con tolueno. Los volátiles se evaporaron y el residuo se disolvió en acetonitrilo (3 ml). Se añadieron carbonato potásico (670 mg, 4,85 mmol) y diclorhidrato monohidrato de 1-ciclohexil-piperidin-4-ilamina (XIII) (265 mg, 0,97 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 90°C durante 3 h. El crudo se diluyó con diclorometano y se lavó con hidróxido amónico al 15%. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó. La cromatografía de columna (diclorometano/metanol/solución de amoníaco, 7N en metanol: 97/2/1) rindió 2-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-6-fluoro-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carbonitrilo (IV) (100 mg, 30%).

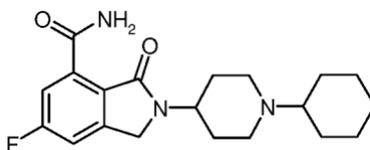
^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,02 - 1,13 (m, 1H), 1,16 - 1,27 (m, 4 H), 1,55 - 1,62 (m, 1 H), 1,68 - 1,80 (br. s., 8 H), 2,23 - 2,39 (m, 3 H), 2,87 - 2,97 (m, 2 H), 3,95 (br. s., 1 H), 4,52 (s, 2 H), 7,86 (dd, $J_{\text{HF}} = 8,3$, $J_{\text{HH}} = 2,2$ Hz, 1 H), 7,98 (dd, $J_{\text{HF}} = 9,3$, $J_{\text{HH}} = 2,2$ Hz, 1 H).

25 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{FN}_3\text{O}$ [M + H] $^+$ 342,1976; encontrado 342,1988

Etapa c'

Amida del ácido 2-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-6-fluoro-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 29

[R = F; n = m = 0; R1 = piperidin-4-ilo; R2 = 1-ciclohexilo]



30 A una solución agitada de 2-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-6-fluoro-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carbonitrilo (IV) (100 mg, 0,3 mmol) en ácido acético (5 ml), se le añadió ácido sulfúrico concentrado (2,7 ml) gota a gota durante 30 min. Después se calentó la reacción a 80 °C durante 9 h, se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en agua fría (10 ml). La fase acuosa se basificó después mediante la adición de amoníaco acuoso concentrado y se extrajo con diclorometano (3 x 10 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con hidróxido sódico acuoso 2N (2 X 12 ml) y salmuera, se secó con Na_2SO_4 y se evaporó a sequedad al vacío. El compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (43 mg, 40%) tras la purificación mediante columna cromatográfica (diclorometano/metanol/solución de amoníaco, 7N in metanol: 97/2/1).

^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,00 - 1,14 (m, 1 H), 1,14 - 1,28 (m, 4 H), 1,53 - 1,61 (m, 1 H), 1,67 - 1,80 (m, 8 H), 2,25 - 2,36 (m, 3 H), 2,88 - 2,95 (m, 2 H), 3,94 - 4,03 (m, 1 H), 4,55 (s, 2 H), 7,66 (dd, $J_{\text{HF}} = 7,7$, $J_{\text{HH}} = 2,6$ Hz, 1 H), 7,85 (br. s., 1 H), 7,89 (dd, $J_{\text{HF}} = 10,9$, $J_{\text{HH}} = 2,6$ Hz, 1 H), 10,78 (br. s., 1 H).

40 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{FN}_3\text{O}_2$ [M + H] $^+$ 360,2082; encontrado 360,2098

Ejemplo 3

Etapa m

45 Éster *terc*-butílico del ácido 4-[(furan-2-ilmetil)-amino]-piperidin-1-carboxílico (XVI) [n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; X = *terc*-butoxicarbonilo]

A una solución equimolar de furan-2-carbaldehído (XV) (250 mg, 2,6 mmol) y éster *terc*-butílico del ácido 4-amino-piperidin-1-carboxílico (XIII) (473 mg, 2,6 mmol) en diclorometano (14 ml) se añadieron cloruro de titanio(IV) en diclorometano (1,3 ml, 1,3 mmol) y trietilamina (0,32 ml, 2,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó bajo atmósfera de nitrógeno durante 2 días. Después se añadió cianoborohidruro sódico (493 mg, 7,8 mmol) en metanol (7 ml) gota a gota con agitación y la solución se dejó enfriar durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió hidróxido sódico al 35% y el producto se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánicas se separó, se lavó con salmuera, se secó con

Na₂SO₄ y se evaporó a sequedad al vacío. El crudo se purificó por cromatografía flash (diclorometano/metanol 95:5) para rendir el compuesto del título como un aceite rojo (406 mg, 56%).
HRMS (ESI+): calc. para C₁₅H₂₅N₂O₃ [M + H]⁺ 281,1860; encontrado 281,1867.

Operando de forma análoga, pero empleando el material de partida (XIII) sustituido apropiadamente, se obtuvieron los compuestos siguientes:

5

Bencil-furan-2-ilmetil-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₂H₁₄NO [M + H]⁺ 188,1070; encontrado 188,1075

Furan-2-ilmetil-fenetil-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₃H₁₆NO [M + H]⁺ 202,1226; encontrado 202,1230

10 [2-(3,4-Dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-etil]-furan-2-ilmetil-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₆H₂₁N₂O [M + H]⁺ 257,1648; encontrado 257,1642

Furan-2-ilmetil-(2-piperidin-1-il-etil)-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₂H₂₁N₂O [M + H]⁺ 209,1648; encontrado 209,1650

15 Furan-2-ilmetil-(2-morfolin-4-il-etil)-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₁H₁₉N₂O₂ [M + H]⁺ 211,1441; encontrado 211,1446

Furan-2-ilmetil-(3-morfolin-4-il-propil)-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₂H₂₁N₂O₂ [M + H]⁺ 225,1598; encontrado 225,1590

20 [2-(3,4-Dihidro-2H-quinolin-1-il)-etil]-furan-2-ilmetil-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₆H₂₁N₂O [M + H]⁺ 257,1648; encontrado 257,1652

Furan-2-ilmetil-(3-fenil-propil)-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₄H₁₈NO [M + H]⁺ 216,1383; encontrado 216,1387

Furan-2-ilmetil-(2-piridin-2-il-etil)-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₂H₁₅N₂O [M + H]⁺ 203,1179; encontrado 203,1181

25 [3-(3,4-Dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-propil]-furan-2-ilmetil-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₇H₂₃N₂O [M + H]⁺ 271,1805; encontrado 271,1799

[3-(3,4-Dihidro-2H-quinolin-1-il)-propil]-furan-2-ilmetil-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₇H₂₃N₂O [M + H]⁺ 271,1805; encontrado 271,1811

Furan-2-ilmetil-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propil]-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₃H₂₄N₃O [M + H]⁺ 238,1914; encontrado 238,1912

30 Furan-2-ilmetil-[3-(4-fenil-piperazin-1-il)-propil]-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₈H₂₆N₃O [M + H]⁺ 300,2070; encontrado 300,2077

Furan-2-ilmetil-(3-piperidin-1-il-propil)-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₃H₂₃N₂O [M + H]⁺ 223,1805; encontrado 223,1802

35 (3-[1,4]Bipiperidinil-1'-il-propil)-furan-2-ilmetil-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₈H₃₂N₃O [M + H]⁺ 306,2540; encontrado 306,2544

[3-(2,6-Dimetil-piperidin-1-il)-propil]-furan-2-ilmetil-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₅H₂₇N₂O [M + H]⁺ 251,2118; encontrado 251,2120

Furan-2-ilmetil-[1-(tetrahidro-piran-4-il)-piperidin-4-il]-amina (XVI)

40 HRMS (ESI+): calc. para C₁₅H₂₅N₂O₂ [M + H]⁺ 265,1911; encontrado 265,1919

(1-Bencil-piperidin-4-il)-furan-2-ilmetil-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₇H₂₃N₂O [M + H]⁺ 271,1805; encontrado 271,1807

[2-(1-Bencil-piperidin-4-il)-etil]-furan-2-ilmetil-amina (XVI)

HRMS (ESI+): calc. para C₁₉H₂₇N₂O [M + H]⁺ 299,2118; encontrado 299,21222

[3-(4-Bencil-piperidin-1-il)-propil]-furan-2-ilmetil-amina (XVI)

45 HRMS (ESI+): calc. para C₂₀H₂₉N₂O [M + H]⁺ 313,2274; encontrado 313,2280

(1-Ciclohexil-piperidin-4-il)-furan-2-ilmetil-amina (XVI)

Una solución equimolar de furan-2-carbaldehído (XV) (1,3 g, 13,5 mmol) y 1-ciclohexil-piperidin-4-ilamina (XIII) (2,46 g, 13,5 mmol) en tolueno (140 ml) se calentó a reflujo durante 8 h empleando un aparato Dean-Stark. La mezcla de reacción se concentró al vacío y se lavó con etanol (50 ml). Se añadió triacetoxiborohidruro sódico (3,8 g, 17,93 mmol) y la mezcla se dejó durante la noche a temperatura ambiente. Después se basificó con amoníaco acuoso (8%) y la capa acuosa se separó y se extrajo con éter dietílico. La fase orgánica se secó con sulfato sódico anhidro y se concentró bajo presión reducida para rendir el compuesto del título como un aceite amarillo empleado en la etapa siguiente sin purificación adicional.

50

HRMS (ESI+): calc. para C₁₆H₂₇N₂O [M + H]⁺ 263,2118; encontrado 263,2120

55 Etapa n

Ácido 3-(1-*terc*-butoxicarbonil-piperidin-4-il)-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII) [n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; X = *terc*-butoxicarbonilo]

A una solución de éster *terc*-butílico del ácido 4-[(furan-2-ilmetil)-amino]-piperidin-1-carboxílico (XVI) (5,6 g, 21 mmol) en tolueno (300 ml) se añadió anhídrido maleico (2,1 g, 21 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 6 h y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El sólido precipitado obtenido se filtró, se lavó con éter dietílico y se secó para rendir el compuesto deseado (6,5g, 82%) como un sólido blanco.

60

¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,40 (s, 9 H), 1,40 -1,63 (m, 4 H), 2,45 (d, J = 9,3 Hz, 1 H), 2,75 (br. s., 2 H), 2,76 (d, J = 9,3 Hz, 1 H), 3,59 (d, J = 11,6 Hz, 1 H), 3,88 (d, J = 11,60 Hz, 1 H), 3,90 (m, 1H), 3,96 – 4,06 (m, 2 H), 4,95 (d, J = 1,6 Hz, 1 H), 6,42 (dd, J = 5,6, 1,7 Hz, 1 H), 6,55 (d, J = 5,6 Hz, 1 H), 12,03 (br. s., 1 H).
HRMS (ESI+): calc. para C₁₉H₂₇N₂O₆ [M + H]⁺ 379,1864; encontrado 379,1876

5 Operando de forma análoga, pero empleando el material de partida (XVI) sustituido apropiadamente, se obtuvieron los compuestos siguientes:

- Ácido 3-bencil-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₁₆H₁₆NO₄ [M + H]⁺ 286,1074; encontrado 286,1078
- 10 Ácido 4-oxo-3-fenil-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₁₇H₁₈NO₄ [M + H]⁺ 300,1230; encontrado 300,1237
- Ácido 3-[2-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-etil]-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₂₀H₂₃N₂O₄ [M + H]⁺ 355,1652; encontrado 355,1657
- 15 Ácido 4-oxo-3-(2-piperidin-1-il-etil)-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₁₆H₂₃N₂O₄ [M + H]⁺ 307,1652; encontrado 307,1660
- Ácido 3-(2-morfolin-4-il-etil)-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₁₅H₂₁N₂O₅ [M + H]⁺ 309,1445; encontrado 309,1446
- 20 Ácido 3-(3-morfolin-4-il-propil)-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₁₆H₂₃N₂O₅ [M + H]⁺ 323,1601; encontrado 323,1609
- Ácido 3-[2-(3,4-dihidro-2H-quinolin-1-il)-etil]-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₂₀H₂₃N₂O₄ [M + H]⁺ 355,1652; encontrado 355,1660
- 25 Ácido 4-oxo-3-(3-fenil-propil)-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₁₈H₂₀NO₄ [M + H]⁺ 314,1387; encontrado 314,1392
- Ácido 4-oxo-3-(2-piridin-2-il-etil)-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₁₆H₁₇N₂O₄ [M + H]⁺ 301,1183; encontrado 301,1179
- 30 Ácido 3-[3-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-propil]-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₂₁H₂₅N₂O₄ [M + H]⁺ 369,1809; encontrado 369,1811
- Ácido 3-[3-(3,4-dihidro-2H-quinolin-1-il)-propil]-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₂₁H₂₅N₂O₄ [M + H]⁺ 369,1809; encontrado 369,1801
- 35 Ácido 3-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propil]-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₁₇H₂₆N₃O₄ [M + H]⁺ 336,1918; encontrado 336,1920
- Ácido 4-oxo-3-[3-(4-fenil-piperazin-1-il)-propil]-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₂₂H₂₈N₃O₄ [M + H]⁺ 398,2074; encontrado 398,2079
- 40 Ácido 4-oxo-3-(3-piperidin-1-il-propil)-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₁₇H₂₅N₂O₄ [M + H]⁺ 321,1809; encontrado 321,1812
- Ácido 3-(3-[1,4'bipiperidinil-1'-il-propil]-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₂₂H₃₄N₃O₄ [M + H]⁺ 404,2544; encontrado 404,2540
- 45 Ácido 3-[3-(2,6-dimetil-piperidin-1-il)-propil]-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₁₉H₂₉N₂O₄ [M + H]⁺ 349,2122; encontrado 349,2119
- Ácido 4-oxo-3-[1-(tetrahydro-piran-4-il)-piperidin-4-il]-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₁₉H₂₇N₂O₅ [M + H]⁺ 363,1914; encontrado 363,1920
- 50 Ácido 3-(1-bencil-piperidin-4-il)-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₂₁H₂₅N₂O₄ [M + H]⁺ 369,1809; encontrado 369,1799
- Ácido 3-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etil]-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₂₃H₂₉N₂O₄ [M + H]⁺ 397,2122; encontrado 397,2127
- 55 Ácido 3-[3-(4-bencil-piperidin-1-il)-propil]-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
HRMS (ESI+): calc. para C₂₄H₃₁N₂O₄ [M + H]⁺ 411,2278; encontrado 411,2283
- Ácido 3-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII)
¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11,98 (br.s., 1 H), 6,58 (d, J = 5,6 Hz, 1 H), 6,44 (dd, J = 5,6, 1,6 Hz, 1 H), 4,97 (d, J = 1,6 Hz, 1 H), 4,00 – 4,11 (m, 1 H), 3,96 (d, J = 11,0 Hz, 1 H), 3,55 (d, J = 11,0 Hz 1 H), 3,38 – 3,48 (m, 2H), 3,04 – 3,2 (m, 3 H), 2,79 (d, J = 9,1 Hz, 1 H), 2,48 (d, J = 9,1 Hz, 1 H), 1,55 – 2,01 (m, 8 H), 1,04 -1,44 (m, 6 H).
HRMS (ESI+): calc. para C₂₀H₂₉N₂O₄ [M + H]⁺ 361,2122; encontrado 361,2129

Etapa o

Clorhidrato del ácido 3-oxo-2-piperidin-4-il-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XIX) [n = 0; R1 = piperidin-4-ilo]

- 60 Ácido 3-(1-*terc*-butoxicarbonil-piperidin-4-il)-4-oxo-10-oxa-3-aza-triciclo[5.2.1.0*1,5*]dec-8-en-6-carboxílico (XVII) (6,35 g, 16,8 mmol) se disolvió en ácido clorhídrico al 37% (80 ml) y la solución resultante se calentó a reflujo durante 3 h. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el residuo se diluyó con metanol y se decantó para obtener el producto deseado (XIX) como un sólido blanco (4,06 g, 82%).

^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,95 – 2,12 (m, 4 H), 3,01 – 3,18 (m, 2 H), 3,36 – 3,45 (m, 2 H), 4,36 – 4,46 (m, 1 H), 4,72 (s, 2 H), 7,85 (dd, $J = 7,7, 7,5$ Hz, 1 H), 7,95 (dd, $J = 7,5, 0,8$ Hz, 1 H), 8,17 (dd, $J = 7,7, 0,8$ Hz, 1 H), 8,53 (br. s., 1 H), 8,79 (br. s., 1 H), 15,86 (s, 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 261,1234; encontrado 261,1222

- 5 Operando de forma análoga, pero empleando el material de partida (XVII) sustituido apropiadamente, se obtuvieron los compuestos siguientes:

Ácido 2-bencil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{NO}_3$ [M + H] $^+$ 268,0968; encontrado 268,0972

Ácido 3-oxo-2-fenetil-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

- 10 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{NO}_3$ [M + H] $^+$ 282,1125; encontrado 282,1131

Ácido 2-[2-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 337,1547; encontrado 337,1541

Ácido 3-oxo-2-(2-piperidin-1-il-etil)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

- 15 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 288,1547; encontrado 288,1552

Ácido 2-(2-morfolin-4-il-etil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_4$ [M + H] $^+$ 291,1339; encontrado 291,1335

Ácido 2-(3-morfolin-4-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_4$ [M + H] $^+$ 305,1496; encontrado 305,1492

Ácido 2-[2-(3,4-dihidro-2H-quinolin-1-il)-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

- 20 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 337,1547; encontrado 337,1549

Ácido 3-oxo-2-(3-fenil-propil)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{NO}_3$ [M + H] $^+$ 296,1281; encontrado 296,1290

Ácido 3-oxo-2-(2-piridin-2-il-etil)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

- 25 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 283,1077; encontrado 283,1080

Ácido 2-[3-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 351,1703; encontrado 351,1706

Ácido 2-[3-(3,4-dihidro-2H-quinolin-1-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 351,1703; encontrado 351,1699

Ácido 2-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

- 30 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 318,1812; encontrado 318,1820

Ácido 3-oxo-2-[3-(4-fenil-piperazin-1-il)-propil]-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 380,1969; encontrado 380,1971

Ácido 3-oxo-2-(3-piperidin-1-il-propil)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 303,1703; encontrado 303,1702

- 35 Ácido 2-(3-[1,4]bipiperidinil-1'-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 386,2438; encontrado 386,2442

Ácido 2-[3-(2,6-dimetil-piperidin-1-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 331,2016; encontrado 331,2011

Ácido 3-oxo-2-[1-(tetrahidro-piran-4-il)-piperidin-4-il]-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

- 40 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4$ [M + H] $^+$ 345,1809; encontrado 345,1816

Ácido 2-(1-bencil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 351,1703; encontrado 351,1708

Ácido 2-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 379,2016; encontrado 379,2020

- 45 Ácido 2-[3-(4-bencil-piperidin-1-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 393,2173; encontrado 393,2177

Ácido 2-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII)

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 343,2016; encontrado 343,2019

Etapa q

- 50 Ácido 2-(1-*terc*-butoxicarbonil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII) [n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; X = *terc*-butoxicarbonilo]

A una solución de ácido 3-oxo-2-piperidin-4-il-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (3,9 g, 13,2 mmol) en piridina (15 ml) se añadieron sucesivamente carbonato potásico (3,6 g, 26,5 mmol) y metanol (40 ml). Después se añadió di-*terc*-butil dicarbonato (3,16 g, 14,5 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h hasta que los análisis por HPLC revelaron la desaparición del material de partida. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el residuo se disolvió en diclorometano. La solución se lavó dos veces con hidrogeno sulfato potásico al 5% y la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El crudo así obtenido se diluyó con éter dietílico y se decantó para obtener el compuesto del título (3,7 g, 78%) como un sólido blanco.

- 60 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,42 (s, 9 H), 1,04 – 1,74 (m, 2 H), 1,80 – 1,88 (m, 2 H), 2,89 (br. s., 2 H), 4,04 – 4,12 (m, 2 H), 4,23 – 4,32 (m, 1 H), 4,73 (s, 2 H), 7,83 (dd, $J = 7,5, 0,8$ Hz, 1 H), 7,91 (dd, $J = 7,5, 0,8$ Hz, 1H), 8,17 (dd, $J = 7,7, 0,8$ Hz, 1 H), 16,03 (br. s., 1 H).

Etapa p

Éster *tert*-butilico del ácido 4-(7-carbamoil-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il)-piperidin-1-carboxílico (XX) [n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; X = *tert*-butoxicarbonilo]

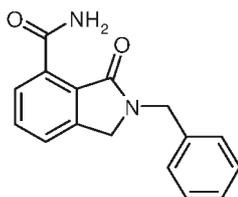
5 **Método A:** a una solución de ácido 2-(1-*tert*-butoxicarbonil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII) (3,7 g, 10,3 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (60 ml), se añadieron sal amónica de hidroxibenzotriazol (3,15 g, 20,7 mmol), sal ácida clorhidrato de 1-etil-3-(3'-dimetilamino)carbodiimida (3,34 g, 20,7 mmol) y diisopropiletilamina (5,3 ml, 30,9 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el residuo se disolvió en acetato de etilo. La solución se lavó dos veces con solución acuosa de carbonato sódico saturado, y la fase orgánica se secó con sulfato sódico anhidro y se concentró al vacío. El crudo se purificó por cromatografía flash (diclorometano/metanol 97:3) para rendir el compuesto del título (2,74 g, 74%) como un sólido blanco.

10 **Método B:** una solución de ácido 2-(1-*tert*-butoxicarbonil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XVIII) (5,5 g, 15,3 mmol) y carbonildiimidazol (3,7 g, 22,8 mmol) en tetrahidrofurano seco (80 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Después se añadió amoniaco acuoso concentrado (25 ml) y la mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente hasta la desaparición del material de partida (3 h). El disolvente se evaporó bajo presión reducida y el crudo resultante de amina primaria (1,1 g, 20%) se empleó sin purificación adicional.

HRMS (ESI+): calc. para C₁₉H₂₆N₃O₄ [M + H]⁺ 360,1918; encontrado 360,1921

20 Operando de acuerdo con el método A, pero empleando el material de partida sustituido apropiadamente, se obtuvieron los compuestos siguientes:

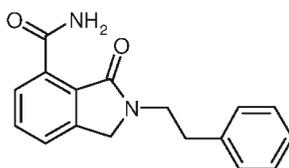
Amida del ácido 2-bencil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 1
[R = H; n = 1; R1 = fenilo; m = 0; R2 = nulo]



25 ¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,72 – 1,88 (m, 4 H), 2,04 – 2,13 (m, 2 H), 2,88 - 2,96 (m, 2 H), 3,51 (s, 2 H), 4,00 – 4,11 (m, 1 H), 4,56 (s, 2 H), 7,20 – 7,30 (m, 1 H), 7,31 – 7,37 (m, 4 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,71 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,76 (dd, J = 7,6, 1,5 Hz, 1 H), 8,20 (dd, J = 7,4, 1,5 Hz, 1 H), 10,72 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para C₁₆H₁₅N₂O₂ [M + H]⁺ 267,1128; encontrado 267,1120

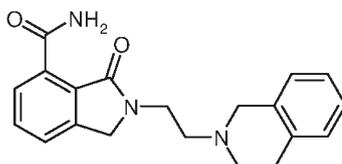
Amida del ácido 3-oxo-2-fenetil-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 2
[R = H; n = 2; R1 = fenilo; m = 0; R2 = nulo]



30 ¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,97 (t, J = 7,6 Hz, 2 H), 3,82 (t, J = 7,6 Hz, 2 H), 4,49 (s, 2 H), 7,17 – 7,24 (m, 1 H), 7,24 – 7,32 (m, 4 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,70 (dd, J = 7,5, 7,3 Hz, 1 H), 7,74 (dd, J = 7,5, 1,5 Hz, 1 H), 8,19 (dd, J = 7,3, 1,5 Hz, 1 H), 10,68 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para C₁₇H₁₇N₂O₂ [M + H]⁺ 281,1285; encontrado 281,1295

35 Amida del ácido 2-[2-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 3
[R = H; n = 2; R1 = 3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-ilo; m = 0; R2 = nulo]

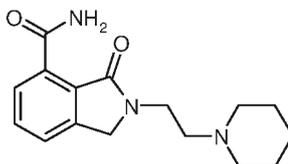


ES 2 813 530 T3

^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,73 – 2,84 (m, 6 H), 3,65 (s, 2 H), 3,81 (t, J= 6,2 Hz, 2 H), 4,65 (s, 2 H), 7,00 - 7,12 (m, 4 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,69 (dd, J= 7,6, 7,7 Hz, 1 H), 7,76 (dd, J= 7,6, 1,2 Hz, 1 H), 8,19 (dd, J= 7,7, 1,2 Hz, 1 H), 10,75 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 336,1707; encontrado 336,1722

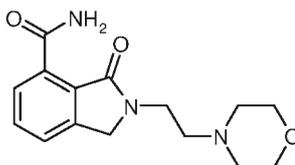
5 Amida del ácido 3-oxo-2-(2-piperidin-1-il-etil)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 4
[R = H; n = 2; R1 = piperidin-1-ilo; m = 0; R2 = nulo]



^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,33 -1,40 (m, 2 H), 1,43 – 1,50 (m, 4 H), 2,35 - 2,43 (m, 4 H), 2,54 (t, J = 6,3 Hz, 2 H), 3,68 (t, J = 6,3 Hz, 2 H), 4,63 (s, 2 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, J = 7,7, 7,4 Hz, 1 H), 7,78 (dd, J = 7,4, 1,2 Hz, 1 H), 8,20 (dd, J = 7,7, 1,2 Hz, 1 H), 10,75 (br. s., 1 H).

10 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 288,1707; encontrado 288,1712

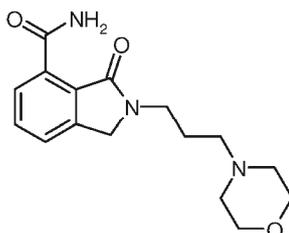
Amida del ácido 2-(2-morfolin-4-il-etil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 5
[R = H; n = 2; R1 = morfolin-4-ilo; m = 0; R2 = nulo]



^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,41- 2,46 (m, 4 H), 2,59 (t, J= 6,3 Hz, 2 H), 3,52 – 3,57 (m, 4 H), 3,71 (t, J = 6,3 Hz, 2 H), 4,64 (s, 2 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, J = 7,7, 7,6 Hz, 1 H), 7,78 (dd, J = 7,6, 1,3 Hz, 1 H), 8,20 (dd, J = 7,7, 1,3 Hz, 1 H), 10,73 (br. s., 1 H).

15 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 290,1499; encontrado 290,1507

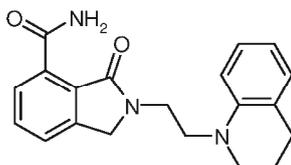
20 Amida del ácido 2-(3-morfolin-4-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 6
[R = H; n = 3; R1 = morfolin-4-ilo; m = 0; R2 = nulo]



^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,80 (quinteto, J = 7,1 Hz, 2 H), 2,28 – 2,38 (m, 6 H), 3,47 – 3,54 (m, 4 H), 3,61 (t, J = 7,1 Hz, 2 H), 4,58 (s, 2 H), 7,65 (br. s., 1 H), 7,71 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,77 (dd, J = 7,4, 1,2 Hz, 1 H), 8,20 (dd, J = 7,6, 1,2 Hz, 1 H), 10,76 (br. s., 1 H).

25 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 304,1656; encontrado 304,1664

Amida del ácido 2-[2-(3,4-dihidro-2H-quinolin-1-il)-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 7
[R = H; n = 2; R1 = 3,4-dihidro-2H-quinolin-1-ilo; m = 0; R2 = nulo]



^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,79 -1,89 (m, 2 H), 2,64 – 2,70 (m, 2 H), 3,27 – 3,31 (m, 2 H), 3,56 (t, J = 7,1 Hz, 2 H), 3,76 (t, J= 7,1 Hz, 2 H), 4,65 (s, 2 H), 6,44 – 6,49 (m, 1 H), 6,70 – 6,75 (m, 1 H), 6,85 – 6,89 (m, 1 H),

30

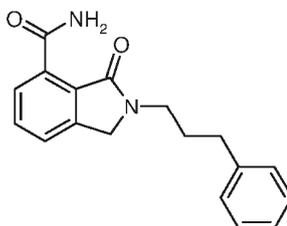
ES 2 813 530 T3

6,92 -6,97 (m, 1 H), 7,69 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, J = 7,6, 7,6 Hz, 1 H), 7,77 (dd, J = 7,6, 1,3 Hz 1 H), 8,20 (dd, J = 7,6, 1,3 Hz, 1 H), 10,68 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para C₂₀H₂₂N₃O₂ [M + H]⁺ 336,1707; encontrado 336,1692

Amida del ácido 3-oxo-2-(3-fenil-propil)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 17

5 [R = H; n = 3; R1 = fenilo; m = 0; R2 = nulo]

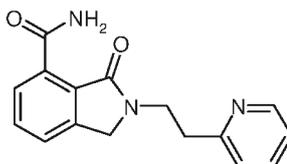


¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,97 (quinteto, J = 7,9 Hz, 2 H), 2,64 (t, J = 7,9 Hz 2 H), 3,61 (t, J = 7,9 Hz, 2 H), 4,59 (s, 2 H), 7,15 – 7,20 (m, 1 H), 7,23 – 7,31 (m, 4 H), 7,67 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,77 (dd, J = 7,6, 1,5 Hz, 1 H), 8,21 (dd, J = 7,4, 1,5 Hz, 1 H), 10,74 (br. s., 1 H).

10 HRMS (ESI+): calc. para C₁₈H₁₉N₂O₂ [M + H]⁺ 295,1441; encontrado 295,1433

Amida del ácido 3-oxo-2-(2-piridin-2-il-etil)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 18

[R = H; n = 2; R1 = pirid-2-ilo; m = 0; R2 = nulo]

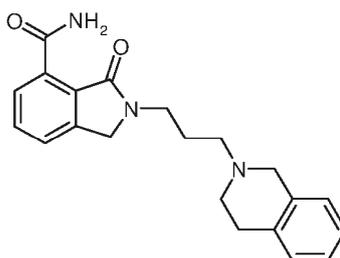


15 ¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,12 (t, J = 7,3 Hz, 2 H), 3,96 (t, J = 7,3 Hz, 2 H), 4,52 (s, 2 H), 7,23 (ddd, J = 7,5, 4,9, 1,2 Hz, 1 H), 7,32 (ddd, J = 7,8, 1,2, 0,8 Hz, 1 H), 7,65 (br. s., 1 H), 7,71 (m, 1 H), 7,70 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,75 (dd, J = 7,6, 1,3 Hz, 1 H), 8,19 (dd, J = 7,4, 1,3 Hz, 1 H), 8,48 (ddd, J = 4,9, 1,8, 0,8 Hz, 1 H), 10,66 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para C₁₆H₁₆N₃O₂ [M + H]⁺ 282,1237; encontrado 282,1243

Amida del ácido 2-[3-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 19

20 [R = H; n = 3; R1 = 3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-ilo; m = 0; R2 = nulo]

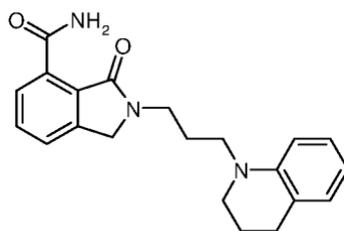


25 ¹H RMN (400,5 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,92 (quinteto, J = 7,3 Hz, 2 H), 2,52 (t, J = 7,3 Hz, 2 H), 2,64 – 2,70 (m, 2 H), 2,76 - 2,82 (m, 2 H), 3,57 (s, 2 H), 3,64 (t, J = 7,3 Hz, 2 H), 4,60 (s, 2 H), 7,00 – 7,70 (m, 4 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,70 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,75 (dd, J = 7,4, 1,3 Hz, 1 H), 8,19 (dd, J = 7,6, 1,3 Hz, 1 H), 10,76 (br. s., 1 H).

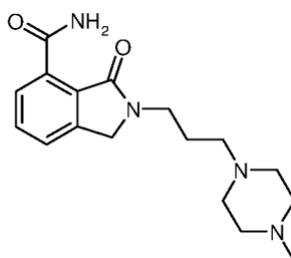
HRMS (ESI+): calc. para C₂₁H₂₄N₃O₂ [M + H]⁺ 350,1863; encontrado 350,1866

Amida del ácido 2-[3-(3,4-dihidro-2H-quinolin-1-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 20

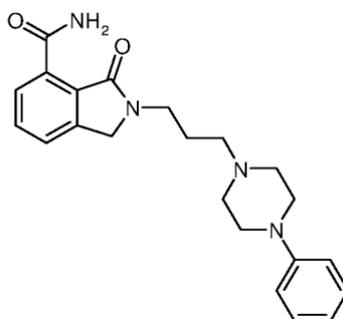
[R = H; n = 3; R1 = 3,4-dihidro-2H-quinolin-1-ilo; m = 0; R2 = nulo]



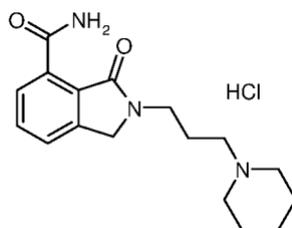
- 5 $^1\text{H RMN}$ (400,5 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 1,80 – 1,87 (m, 2 H), 1,90 (quinteto, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 2,65 (t, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 3,22 – 3,26 (m, 2 H), 3,27 - 3,30 (m superpuesto por la señal de agua, 2 H), 3,64 (t, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 4,59 (s, 2 H), 6,42 – 6,47 (m, 1 H), 6,54 - 6,58 (m, 1 H), 6,83 - 6,87 (m, 1 H), 6,89 – 6,94 (m, 1 H), 7,67 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, $J = 7,6, 7,6$ Hz, 1 H), 7,77 (dd, $J = 7,6, 1,3$ Hz, 1 H), 8,20 (dd, $J = 7,6, 1,3$ Hz, 1 H), 10,72 (br. s., 1 H).
 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 350,1863; encontrado 350,1868
 Amida del ácido 2-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 21
 [R = H; n = 3; R1 = 4-metil-piperazin-1-ilo; m = 0; R2 = nulo]



- 10 $^1\text{H RMN}$ (400,5 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 1,80 (quinteto, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 2,11 (s, 3 H), 2,15 – 2,43 (br. s., 8 H), 2,33 (t, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 3,60 (t, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 4,58 (s, 2 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, $J = 7,6, 7,4$ Hz, 1 H), 7,77 (dd, $J = 7,6, 1,3$ Hz, 1 H), 8,21 (dd, $J = 7,4, 1,3$ Hz, 1 H), 10,79 (br. s., 1 H).
 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 317,1972; encontrado 317,1975
 Amida del ácido 3-oxo-2-[3-(4-fenil-piperazin-1-il)-propil]-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 22
 [R = H; n = 3; R1 = piperazin-1-ilo; m = 0; R2 = 4-fenilo]



- 20 $^1\text{H RMN}$ (400,5 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 1,85 (quinteto, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 2,39 (t, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 3,02 – 3,10 (m, 4 H), 3,63 (t, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 4,60 (s, 2 H), 6,75 (t, $J = 7,3$ Hz, 1 H), 6,89 (d, $J = 7,9$ Hz, 2 H), 7,19 (dd, $J = 7,9, 7,3$ Hz, 2 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,70 (dd, $J = 7,7, 7,4$ Hz, 1 H), 7,76 (dd, $J = 7,4, 1,2$ Hz, 1 H), 8,20 (dd, $J = 7,7, 1,2$ Hz, 1 H), 10,78 (br. s., 1 H).
 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 379,2129; encontrado 379,2145
 Clorhidrato de la amida del ácido 3-oxo-2-(3-piperidin-1-il-propil)-2,3-dihidro-1H-isoindole-4-carboxílico (I), comp. 25
 [R = H; n = 3; R1 = piperidin-1-ilo; m = 0; R2 = nulo]

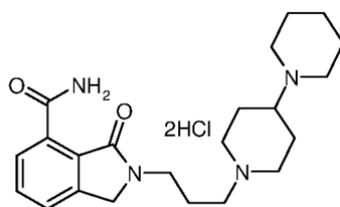


5 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,29 (m, 1 H), 1,50 -1,73 (m, 3 H), 1,75 – 1,85 (m, 2 H), 2,00 – 2,09 (m, 2 H), 2,79 – 2,92 (m, 2 H), 3,03 – 3,14 (m, 2 H), 3,40 – 3,50 (m, 2 H), 3,66 (t, J = 6,6 Hz, 2 H), 4,59 (s, 2 H), 7,71 (br. s., 1H), 7,74 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,80 (dd, J = 7,4, 1,1 Hz, 1 H), 8,21 (dd, J = 7,6, 1,1 Hz, 1 H), 8,93 (br. s., 1 H), 10,58 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_2$ [M + H] $^+$ 302,1863; encontrado 302,1865

Diclorhidrato de la amida del ácido 2-(3-[1,4']bipiperidinil-1'-il-propil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 26

[R = H; n = 3; R1 = piperidin-1-ilo; m = 0; R2 = 4-piperidin-1-ilo]

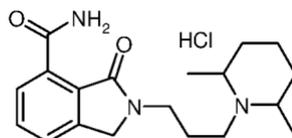


10 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,33 - 1,49 (m, 1 H), 1,57 – 1,74 (m, 3 H), 1,74 – 1,94 (m, 4H), 1,95 - 2,13 (m, 2 H), 2,16 - 2,30 (m, 2 H), 2,87 – 3,72 (m, 11 H), 3,66 (t, J = 6,5 Hz, 2 H), 4,59 (s, 2 H), 7,72 (br. s., 1 H), 7,75 (dd, J = 7,6, 6,7 Hz, 1 H), 7,80 (d, J = 6,7 Hz, 1 H), 8,21 (dd, J = 7,6, 1,2 Hz, 1 H), 9,38 (br. s., 2 H), 10,58 (br. s., 1 H).

15 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_2$ [M + H] $^+$ 385,2598; encontrado 385,2611

Clorhidrato de la amida del ácido 2-[3-(2,6-dimetil-piperidin-1-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 27

[R = H; n = 3; R1 = 2,6-dimetil-piperidin-1-ilo; m = 0; R2 = nulo]

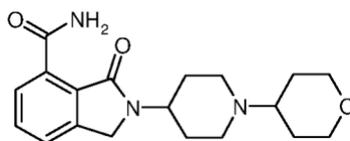


20 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,25 (d, J = 6,3 Hz, 6 H), 1,40 – 1,55 (m, 3 H), 1,80 – 1,91 (m, 2 H), 1,95 - 2,05 (m, 2 H), 3,02 - 3,46 (m, 4 H), 3,68 (m, 2 H), 4,63 (s, 2 H), 7,70 (br. s., 1 H), 7,74 (dd, J = 7,6, 7,6 Hz, 1 H), 7,80 (dd, J = 7,6, 1,2 Hz, 1 H), 8,21 (dd, J = 7,6, 1,2 Hz, 1 H), 8,72 (br. s., 1 H), 10,58 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_2$ [M + H] $^+$ 330,2176; encontrado 330,2176

Amida del ácido 3-oxo-2-[1-(tetrahidro-piran-4-il)-piperidin-4-il]-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 28

25 [R = H; n = m = 0; R1 = piperidin-4-ilo; R2 = 1-(tetrahidro-piran-4-ilo)]

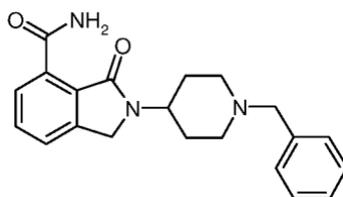


30 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,38 – 1,50 (m, 2 H), 1,65 – 1,72 (m, 2 H), 1,73 – 1,81 (m, 4 H), 2,18 – 2,28 (m, 2 H), 2,43 – 2,47 (m, 1 H), 2,97 – 3,04 (m, 2 H), 3,30 (m superpuesto por la señal de agua, 2 H), 3,89 (dd, J = 11,1, 3,9 Hz, 2 H), 4,02 (m, 1 H), 4,55 (s, 2 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,71 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,76 (dd, J = 7,4, 1,5 Hz, 1 H), 8,20 (dd, J = 7,6, 1,5 Hz, 1 H), 10,74 (br. s., 1 H).

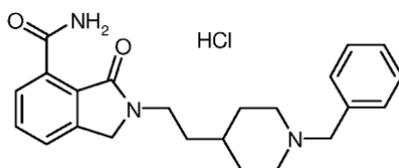
HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 344,1969; encontrado 344,1962

Amida del ácido 2-(1-bencil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 30

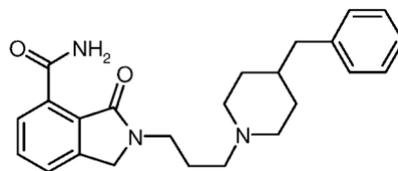
[R = H; n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; m = 1; R2 = fenilo]



- 5 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,70 -1,88 (m, 4 H), 1,99 – 2,13 (m, 2 H), 2,89 – 2,96 (m, 2 H), 3,51 (s, 2 H), 4,00 – 4,11 (m, 1 H), 4,56 (s, 2 H), 7,20 – 7,30 (m, 1 H), 7,30 - 7,36 (m, 4 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,71 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,76 (dd, J = 7,6, 1,5 Hz, 1 H), 8,20 (dd, J = 7,4, 1,5 Hz, 1 H), 10,72 (br. s., 1 H).
HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_2$ [M + H] $^+$ 350,1863; encontrado 350,1874
Clorhidrato de la amida del ácido 2-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 31
[R = H; n = 2; R1 = piperidin-4-ilo; m = 1; R2 = fenilo]



- 10 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,29 – 1,41 (m, 2 H), 1,43 - 1,54 (m, 1 H), 1,56 -1,64 (m, 2 H), 1,92 - 2,00 (m, 2 H), 2,83 – 2,96 (m, 2 H), 3,30 (m superpuesto por la señal de agua, 2 H), 3,61 (t, J = 6,8 Hz, 2 H), 4,25 (d, J = 5,1 Hz, 2 H), 4,57 (s, 2 H), 7,47 (s, 5 H), 7,69 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,77 (dd, J = 7,4, 1,3 Hz, 1 H), 8,20 (dd, J = 7,6, 1,3 Hz, 1 H), 9,22 (br. s., 1 H), 10,68 (br. s., 1 H).
HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_2$ [M + H] $^+$ 378,2176; encontrado 378,2178
15 Amida del ácido 2-[3-(4-bencil-piperidin-1-il)-propil]-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (II), comp. 32
[R = H; n = 3; R1 = piperidin-1-ilo; m = 1; R2 = fenilo]



- 20 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,93 – 1,12 (m, 2 H), 1,34 – 1,53 (m, 3 H), 1,68 – 1,82 (m, 4 H), 2,22 – 2,33 (m, 2 H), 2,41 (d, J = 6,8 Hz, 2 H), 2,75 – 2,85 (m, 2 H), 3,59 (t, J = 6,9 Hz, 2 H), 4,56 (s, 2 H), 7,09 – 7,14 (m, 2 H), 7,14 – 7,19 (m, 1 H), 7,23 - 7,29 (m, 2 H), 7,65 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, J = 7,4, 7,4 Hz, 1 H), 7,77 (dd, J = 7,4, 1,3 Hz, 1 H), 8,21 (dd, J = 7,4, 1,3 Hz, 1 H), 10,78 (br. s., 1 H).
HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_2$ [M + H] $^+$ 392,2333; encontrado 392,2346

Etapa I'

Clorhidrato de la amida del ácido 3-oxo-2-piperidin-4-il-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (XXI)

- 25 [n = 0; R1 = piperidin-4-ilo]

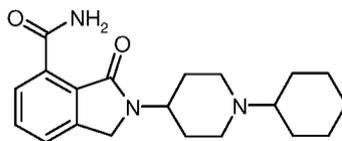
Una solución de éster *terc*-butílico del ácido 4-(7-carbamoil-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il)-piperidin-1-carboxílico (XX) (2,7 g, 7,5 mmol) en ácido clorhídrico 4M en dioxano (18 ml, 75 mmol) se agitó a 50°C durante 2 h hasta que el análisis por HPLC reveló la desaparición del material de partida. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el producto se disolvió en éter dietílico y se filtró para obtener el compuesto del título (2,09 g, 95%) como su clorhidrato.

- 30 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,93 – 2,09 (m, 4 H), 3,03 – 3,17 (m, 2 H), 3,35 – 3,48 (m superpuesto por la señal de agua, 2 H), 4,32 – 4,45 (m, 1 H), 4,56 (s, 2 H), 7,71 (br. s., 1 H), 7,75 (dd, J = 7,5, 7,5 Hz, 1 H), 7,82 (dd, J = 7,5, 1,1 Hz, 1 H), 8,21 (dd, J = 7,5, 1,1 Hz, 1 H), 8,59 (br.s., 1 H), 8,82 (br. s., 1 H), 10,58 (br. s., 1 H).
HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_2$ [M + H] $^+$ 260,1394; encontrado 260,1398

Etapa I'

- 35 Amida del ácido 2-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 11

[R = H; n = m = 0; R1 = piperidin-4-ilo; R2 = 1-ciclohexilo]



Método A: a una suspensión de clorhidrato de la amida del ácido 3-oxo-2-piperidin-4-il-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (56 mg, 0,19 mmol) en diclorometano (2 ml), se añadieron ciclohexanona (XIV) (27,5 mg, 0,28 mmol), acetato de sodio (32 mg, 0,38 mmol) y metanol (0,3 ml). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. Después se añadió cianoborohidruro sódico (13 mg, 0,21 mmol) y la mezcla se agitó durante la noche. Los disolventes se eliminaron bajo presión reducida y el residuo se disolvió en diclorometano y se lavó dos veces con agua. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 y se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía flash (diclorometano/metanol 95:5) para rendir 27 mg (40%) de amida del ácido 2-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico.

Método B: a una solución de clorhidrato de la amida del ácido 2-piperidin-4-il-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (4,4 g, 14,8 mmol) y ciclohexanona (2,2 g, 22,45 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (100 ml), se añadieron ácido acético glacial (4,5 ml) y triacetoxiborohidruro de tetrametilamonio (11,8 g, 44,85 mmol). La solución resultante se dejó agitar durante la noche a temperatura ambiente.

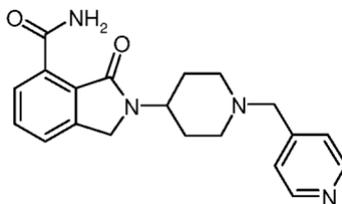
El disolvente se evaporó después bajo presión reducida y el residuo resultante se diluyó con solución acuosa de amoníaco al 8% y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con sulfato sódico anhidro y se concentró. El crudo se purificó por cromatografía flash (diclorometano/metanol 95:5) y posteriormente se disolvió en una pequeña cantidad de metanol y se precipitó con éster dietílico. El precipitado se filtró y se lavó con éster dietílico para rendir 1,77 g del producto deseado como un sólido blanco (35%).

^1H RMN (400,5 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,00 – 1,14 (m, 1 H), 1,14 – 1,32 (m, 4 H), 1,55 – 1,62 (m, 1 H), 1,70 – 1,80 (m, 8 H), 2,25 – 2,37 (m, 3 H), 2,88 – 2,98 (m, 2 H), 3,95 – 4,06 (m, 1 H), 4,55 (s, 2 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,71 (dd, $J = 7,6, 7,6$ Hz, 1 H), 7,76 (dd, $J = 7,6, 1,5$ Hz, 1 H), 8,20 (dd, $J = 7,6, 1,5$ Hz, 1 H), 10,74 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 342,2176; encontrado 342,2175

Operando de acuerdo con el método A, pero empleando el material de partida (XIV) sustituido apropiadamente, se obtuvieron los compuestos siguientes:

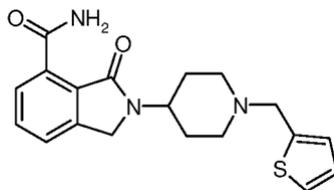
Amida del ácido 3-oxo-2-(1-piridin-4-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 8
[R = H; n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; m = 1; R2 = pirid-4-ilo]



^1H RMN (400,5 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,75 -1,92 (m, 4 H), 2,11 – 2,22 (m, 2 H), 2,88 – 2,95 (m, 2 H), 3,56 (s, 2 H), 4,02 – 4,14 (m, 1 H), 4,58 (s, 2 H), 7,33 – 7,38 (m, 2 H), 7,68 (br. s., 1 H), 7,73 (dd, $J = 7,6, 7,6$ Hz, 1 H), 7,78 (dd, $J = 7,6, 1,5$ Hz, 1 H), 8,21 (dd, $J = 7,6, 1,4$ Hz, 1 H), 8,51 – 8,55 (m, 2 H), 10,72 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 351,1816; encontrado 351,1817

Amida del ácido 3-oxo-2-(1-tiofen-2-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 9
[R = H; n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; m = 1; R2 = tiofen-2-ilo]

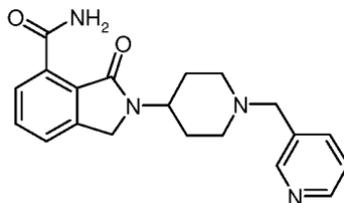


^1H RMN (400,5 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,73 -1,88 (m, 4 H), 2,06 – 2,20 (m, 2 H), 2,94 – 3,03 (m, 2 H), 3,73 (s, 2 H), 4,01 – 4,11 (m, 1 H), 4,58 (s, 2 H), 6,96 – 7,00 (m, 2 H), 7,42 – 7,46 (m, 1 H), 7,67 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, $J = 7,6, 7,4$ Hz, 1 H), 7,77 (dd, $J = 7,6, 1,5$ Hz, 1 H), 8,21 (dd, $J = 7,4, 1,5$ Hz, 1 H), 10,72 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 356,1427; encontrado 356,1430

Amida del ácido 3-oxo-2-(1-piridin-3-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 10

[R = H; n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; m = 1; R2 = pirid-3-ilo]

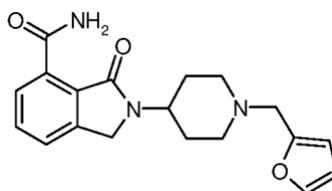


5 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,70 - 1,80 (m, 4 H), 2,08 - 2,18 (m, 2 H), 2,87 - 2,96 (m, 2 H), 3,55 (s, 2 H), 4,01 - 4,12 (m, 1 H), 4,56 (s, 2 H), 7,37 (dd, J = 7,7, 4,8 Hz 1 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,71 (t, J = 7,7, 7,4 Hz, 1 H), 7,73 (señal superpuesta por otras, 1 H), 7,76 (dd, J = 7,7, 1,3 Hz, 1 H), 8,20 (dd, J = 7,4, 1,3 Hz, 1 H), 8,48 (d, J = 4,8 Hz, 1 H), 8,52 (s, 1 H), 10,71 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ [M + H] $^+$ 351,1816; encontrado 351,1822

Amida del ácido 2-(1-furan-2-ilmetil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 12

[R = H; n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; m = 1; R2 = fur-2-ilo]

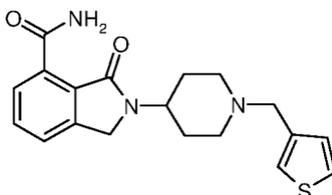


10 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,70 - 1,87 (m, 4 H), 2,07 - 2,16 (m, 2 H), 2,90 - 2,97 (m, 1 H), 3,53 (s, 2 H), 3,98 - 4,06 (m, 1 H), 4,55 (s, 2 H), 6,30 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 6,41 (dd, J = 2,4, 1,8 Hz, 1 H), 7,59 (br. s., 1 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,71 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,76 (dd, J = 7,4, 1,3 Hz, 1 H), 8,19 (dd, J = 7,6, 1,3 Hz, 1 H), 10,71 (br. s., 1 H).

15 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 340,1656; encontrado 340,1651

Amida del ácido 3-oxo-2-(1-tiofen-3-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 13

[R = H; n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; m = 1; R2 = tiofen-3-ilo]

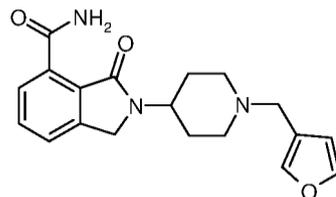


20 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,72 - 1,90 (m, 4 H), 2,00 - 2,12 (m, 2 H), 2,90 - 2,99 (m, 2 H), 3,53 (s, 2 H), 4,00 - 4,09 (m, 1 H), 4,57 (s, 2 H), 7,8 (d, J = 4,6 Hz, 1 H), 7,33 (br. s., 1 H), 7,49 (dd, J = 4,6, 2,8 Hz, 1 H), 7,67 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,75 (dd, J = 7,6, 1,3, 1 H), 8,21 (dd, J = 7,4, 1,3 Hz, 1 H), 10,73 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ [M + H] $^+$ 356,1427; encontrado 356,1432

Amida del ácido 2-(1-furan-3-ilmetil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 14

25 [R = H; n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; m = 1; R2 = fur-3-ilo]



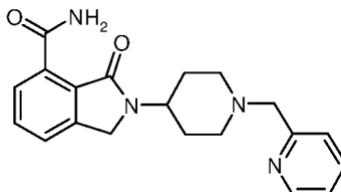
30 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,72 - 1,89 (m, 4 H), 2,02 - 2,12 (m, 2 H), 2,90 - 3,02 (m, 2 H), 3,37 (s, 2 H), 4,00 - 4,10 (m, 1 H), 4,56 (s, 2 H), 6,45 (s, 1 H), 7,58 (s, 1 H), 7,62 (s, 1 H), 7,67 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,76 (dd, J = 7,4, 1,5 Hz, 1 H), 8,21 (dd, J = 7,6, 1,5 Hz, 1 H), 10,73 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_3$ [M + H] $^+$ 340,1656; encontrado 340,1649

Amida del ácido 3-oxo-2-(1-piridin-2-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 15

ES 2 813 530 T3

[R = H; n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; m = 1; R2 = pirid-2-ilo]

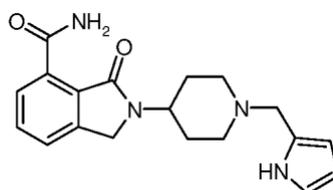


5 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,74 -1,93 (m, 4 H), 2,12 - 2,28 (m, 2 H), 2,91 - 3,00 (m, 2 H), 3,65 (s, 2 H), 4,02 - 4,13 (m, 1 H), 4,58 (s, 2 H), 7,28 (dd, J = 6,8, 4,8 Hz, 1 H), 7,47 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,67 (br. s., 1 H), 7,73 (dd, J = 7,4, 7,4 Hz, 1 H), 7,76 - 7,83 (m, 2 H), 8,21 (dd, J = 7,4, 1,3 Hz, 1 H), 8,51 (d, J = 4,8 Hz, 1 H), 10,73 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_2$ [M + H] $^+$ 351,1816; encontrado 351,1815

Amida del ácido 3-oxo-2-[1-(1H-pirrol-2-ilmetil)-piperidin-4-il]-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 16

[R = H; n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; m = 1; R2 = 1H-pirrol-2-ilo]

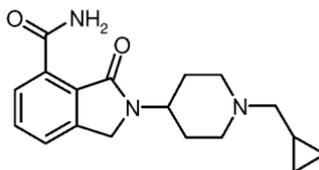


10 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,70 -1,88 (m, 4 H), 1,96 - 2,09 (m, 2 H), 2,88 - 2,99 (m, 2 H), 3,44 (s, 2 H), 3,94 - 4,09 (m, 1 H), 4,55 (s, 2 H), 5,89 (br. s., 1 H), 5,94 (br. s., 1 H), 6,65 (br. s., 1 H), 7,67 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, J = 7,6, 7,4 Hz, 1 H), 7,77 (dd, J = 7,6, 1,3 Hz, 1 H), 8,20 (dd, J = 7,4, 1,3 Hz, 1 H), 10,65 (br. s., 1 H), 10,73 (br. s., 1 H).

15 HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_2$ [M + H] $^+$ 339,1816; encontrado 339,1812

Amida del ácido 2-(1-ciclopropilmetil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico (I), comp. 24

[R = H; n = 0; R1 = piperidin-4-ilo; m = 1; R2 = ciclopropilo]

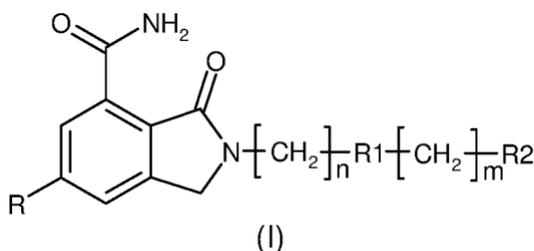


20 ^1H RMN (400,5 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,06 - 0,12 (m, 2 H), 0,44 - 0,50 (m, 2 H), 0,80 - 0,89 (m, 1 H), 1,72 -1,88 (m, 4 H), 2,00 - 2,11 (m, 2 H), 2,21 (d, J = 6,3 Hz, 2 H), 3,04 - 3,13 (m, 2 H), 3,98 - 4,09 (m, 1 H), 4,56 (s, 2 H), 7,66 (br. s., 1 H), 7,72 (dd, J = 7,6, 7,6 Hz, 1 H), 7,77 (dd, J = 7,6, 1,2 Hz, 1 H), 8,20 (dd, J = 7,6, 1,2 Hz, 1 H), 10,73 (br. s., 1 H).

HRMS (ESI+): calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_2$ [M + H] $^+$ 314,1863; encontrado 314,1860

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



en el que:

- 5 R es hidrógeno o flúor; y
 n, m, R1 y R2 tienen los significados siguientes:
 a) n es 0 y m es 0, 1, 2 o 3;
 R1 es un heterociclilo de 6 miembros; y
 R2 es un cicloalquilo no sustituido de 3 o 6 miembros, un heterociclilo no sustituido de 4 a 6 miembros, o un heteroarilo monocíclico no sustituido seleccionado entre el grupo consistente en piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, tiazolilo, isotiazolilo, pirrolilo, furilo, oxazolilo, tienilo y 1,2,3-triazolilo;
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto de fórmula (I), de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque:

- 15 a) n es 0 y m es 0 o 1;
 cuando m es 0, R1 es piperidina y R2 es un anillo ciclohexilo; y
 cuando m es 1, R1 es un anillo piperidina y R2 es un grupo piridina.

3. Un compuesto de fórmula (I), de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado del grupo consistente en:

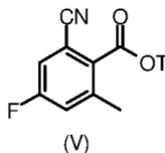
- 20 amida del ácido 3-oxo-2-(1-piridin-4-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
 amida del ácido 3-oxo-2-(1-tiofen-2-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
 amida del ácido 3-oxo-2-(1-piridin-3-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
 amida del ácido 2-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
 amida del ácido 2-(1-furan-2-ilmetil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
 amida del ácido 3-oxo-2-(1-tiofen-3-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
 amida del ácido 2-(1-furan-3-ilmetil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
 25 amida del ácido 3-oxo-2-(1-piridin-2-ilmetil-piperidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
 amida del ácido 3-oxo-2-[1-(1H-pirrol-2-ilmetil)-piperidin-4-il]-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
 amida del ácido 2-(1-ciclopropilmetil-piperidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
 amida del ácido 3-oxo-2-[1-(tetrahidro-piran-4-il)-piperidin-4-il]-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;
 amida del ácido 2-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-6-fluoro-3-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-carboxílico;

30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

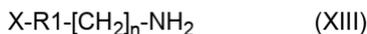
4. Un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (I), de acuerdo con la reivindicación 1, el cual comprende una de las secuencias siguientes de etapas:

SECUENCIA A:

Etapla h) ciclación del compuesto resultante de fórmula (V):



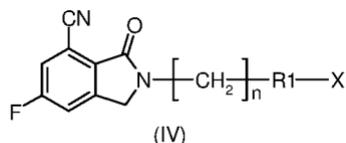
- 35 en el que T es un alquilo (C₁-C₆) o un aril- alquilo (C₁-C₆), mediante reacción con una amina apropiada de fórmula (XIII)



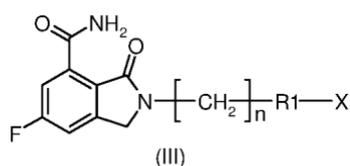
en el que R1 y n son como se define en la reivindicación 1, y X es bien R2-[CH₂]_m-, en el que R2 y m son como

se define en la reivindicación 1, o un grupo protector de nitrógeno apropiado, cuando R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno;

Etapa c') hidrólisis del compuesto resultante de fórmula (IV):

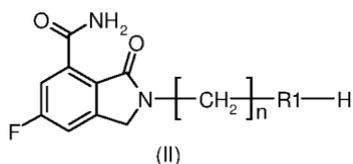


- 5 en el que R1, n y X son como se define arriba, de modo que se obtiene un compuesto de fórmula (I), como se define en la reivindicación 1, donde X es R2-[CH2]_m-, en el que R2 y m son como se define en la reivindicación 1; o un compuesto de fórmula (III), cuando R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno y X es un grupo protector de nitrógeno apropiado,



- 10 en el que n es como se define arriba, R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno y X es un grupo protector de nitrógeno apropiado;

- 15 **Etapa i)** desprotección del compuesto de fórmula (III), como se define arriba, se manera que se obtiene bien un compuesto de fórmula (I), como se define arriba, o un compuesto de fórmula (II):



en el que R1 y n son como se define arriba;

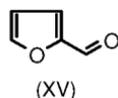
Etapa l) alquilación del compuesto resultante de fórmula (II), como se define arriba, con un agente alquilante apropiado de fórmula (XIV)



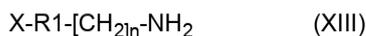
en el que Y es bien un grupo formilo o, cuando m = 1, es un átomo de oxígeno unido a R2 mediante un doble enlace (=O), de modo que se obtenga un compuesto de fórmula (I); o

SECUENCIA B:

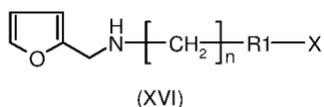
Etapa m) realización de una aminación reductiva en furan-2-carbaldehído (XV):



- 25 con una amina apropiada de fórmula (XIII)

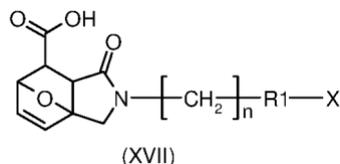


- 30 en el que R1 y n son como se define arriba, y X es bien R2-[CH2]_m-, en el que R2 y m son como se define arriba, o un grupo protector de nitrógeno apropiado, cuando R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno;
- Etapa n)** realización de una reacción Diels-Alder en el compuesto resultante de fórmula (XVI):



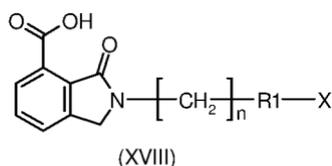
en el que R1, n y X son como se define arriba;

Etapa o) aromatización del compuesto resultante de fórmula (XVII):

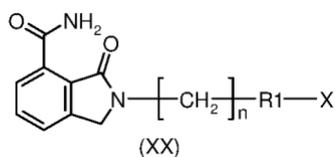


5 en el que R1, n y X son como se define arriba;

Etapa p) amidación del compuesto resultante de fórmula (XVIII):



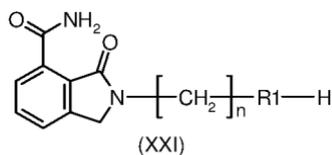
10 en el que R1, n y X son como se define arriba, de manera que se obtiene un compuesto de fórmula (I), como se define arriba, cuando X es R2-[CH2]_m, en el que R2 y m son como se define arriba, o un compuesto de fórmula (XX), cuando R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno y X es un grupo protector de nitrógeno apropiado,



15 en el que n es como se define arriba, R1 es un heterociclilo que contiene nitrógeno y X es un grupo protector de nitrógeno apropiado;

Etapa i') desprotección de un compuesto de fórmula (XX) como se define arriba;

Etapa l') alquilación del compuesto resultante de fórmula (XXI):



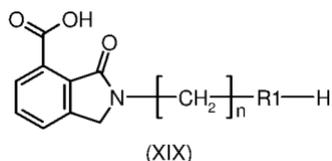
en el que R1 y n son como se define arriba, con un agente alquilante apropiado de fórmula (XIV)



20 en el que Y es bien un grupo formilo o, cuando m = 1, es un átomo de oxígeno unido a R2 mediante un doble enlace (=O), de modo que se obtenga un compuesto de fórmula (I), como se define arriba; también, en el caso que, durante la **Etapa o)**, el compuesto resultante de la aromatización de un compuesto de fórmula (XVII) es un compuesto de fórmula (XIX), es decir, cuando X es un grupo protector del nitrógeno lábil,

25 se lleva a cabo la **Etapa q)** siguiente:

Etapa q) instalación de un grupo protector de nitrógeno apropiado en el compuesto resultante de fórmula (XIX):



en el que R1 y n son como se define arriba, para obtener un compuesto de fórmula (XVIII), en el que R1 y n son como se define arriba y X es un grupo protector de nitrógeno apropiado, el cual se somete después a la secuencia de reacciones p), i') y l') arriba descritas para obtener un compuesto de fórmula (I) como se define arriba.

- 5
5. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en la reivindicación 1, para el uso como un medicamento.
6. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en la reivindicación 1, para el uso en un método de tratamiento contra el cáncer.
- 10
7. Un compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el cáncer se selecciona del grupo consistente en: carcinomas, como cáncer de vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, esófago, vesícula, ovario, páncreas, estómago, cerviz, tiroides, próstata, y piel, incluyendo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoyéticos de linaje linfático, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas y linfoma de Burkitt; tumores hematopoyéticos de linaje mielóide, incluyendo las leucemias mielogénicas aguda y crónica, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma, sarcoma de Ewing y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma, glioblastoma y schwannomas; y otros tumores, que incluyen melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratocarcinoma, cáncer folicular de tiroides y sarcoma de Kaposi.
- 15
8. Un método *in vitro* para la inhibición selectiva de la actividad de la proteína PARP-1, la cual comprende la puesta en contacto de dicha proteína con una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), como se define en la reivindicación 1.
- 20
9. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en la reivindicación 1, y al menos un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 25
10. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9, que comprende además uno o varios agentes quimioterapéuticos.
- 30
11. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, en la que el agente quimioterapéutico es un agente alquilante, que es temozolomida.
12. Un producto que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en la reivindicación 1, y uno o varios agentes quimioterapéuticos, como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en la terapia contra el cáncer.
- 35
13. Un producto para el uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el agente quimioterapéutico es un agente alquilante, que es temozolomida.