

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 369 212**

51 Int. Cl.:
C07D 403/04 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)
A61K 31/4725 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03720413 .8**
96 Fecha de presentación: **02.04.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1490355**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.12.2004**

54 Título: **DERIVADOS DE INDOLILMALEIMIDA.**

30 Prioridad:
03.04.2002 GB 0207729
13.02.2003 GB 0303323

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.11.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.11.2011

73 Titular/es:
NOVARTIS AG
LICHTSTRASSE 35
4056 BASEL, CH

72 Inventor/es:
EVENOU, Jean-Pierre;
VON MATT, Peter;
WAGNER, Jürgen y
ZENKE, Gerhard

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 369 212 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).

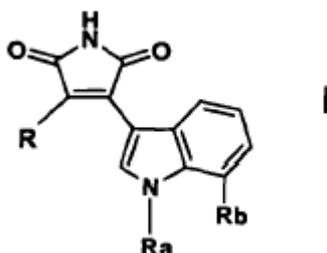
DESCRIPCIÓN

Derivados de Indolilmaleimida

La presente invención se relaciona con un derivado de indolilmaleimida, con el proceso para su producción y con composiciones farmacéuticas que los contienen.

5 La WO 02/10158 describe derivados de indolmaleimida sustituidos por un fenilo opcionalmente sustituido por una morfolina, N-pirrolidina o hidroxipiperidina, que inhiben la Glucógeno sintasa quinasa -3 β (GSK-3p), y el uso de tales compuestos. La WO 01/46178 describe derivados de bisindolmaleimida en donde uno del residuo indolilo se sustituye por ejemplo mediante un residuo heteroarilo o heterocíclico. Los compuestos descritos en este documento tienen una actividad antineoplásica.

10 Más particularmente la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula I

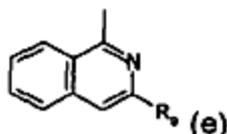


en donde

R_a es H; CH₃; o isopropilo,

R_b es H; halógeno; alcoxi C₁₋₆; o alquilo C₁₋₆, y

15 R es un radical de la fórmula (e)



en donde

R₉ es 4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo

una sal del mismo.

20 Los compuestos de la fórmula I pueden existir en forma libre o en forma de sal, por ejemplo sales de adición con por ejemplo ácidos orgánicos o inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido trifluoroacético.

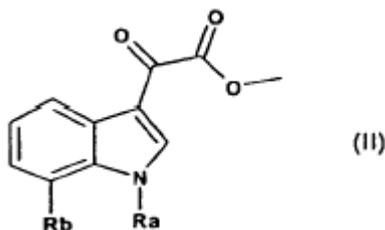
25 Se apreciará que los compuestos de la fórmula I pueden existir en la forma de isómeros ópticos, racematos o diastereoisómeros. Por ejemplo, un átomo de carbono en el anillo que lleva un sustituyente en la posición 3 del residuo piperazinilo es asimétrico y puede tener la configuración R- o S. Se sabe que la presente invención abarca todos los enantiómeros y sus mezclas. Se prefieren los enantiómeros sobre los racematos. Como se menciona las consideraciones similares aplican en relación con los materiales de partida que exhiben átomos de carbono asimétricos.

30 El alquilo o alcoxi puede ser recto o ramificado. El Fenil-alquilo C₁₋₄ es preferiblemente bencilo o fenitilo. En el alcoxi C₁₋₄- alquilo C₁₋₄ la unidad estructural alcoxi es preferiblemente metoxi o etoxi y la unidad estructural alquilo es preferiblemente metilo o etilo; un ejemplo adecuado es por ejemplo 2- metoxietilo. El halógeno puede ser F, Cl, Br o I. Preferiblemente F, Cl o Br. El halógeno-alquilo C₁₋₄ es alquilo en donde uno o más H se reemplazan por halógeno, por ejemplo Cl o F, por ejemplo CH₂Cl, CH₂F o CF₃

R es preferiblemente un radical de la fórmula (a), (c) o (e), preferiblemente (e).

35 En el radical de la fórmula (a) o (c), R₂ o R₁₅ está preferiblemente en la posición para, para R₁ o R₁₄, respectivamente. R₃ está preferiblemente en la posición meta para R₁. En el radical o la fórmula (e), R₉ es preferiblemente 4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo; cuando R₉ es piperazinilo sustituido en la posición 3, este tiene la configuración R o S.

La presente invención también incluye un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula I cuyo proceso comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II



en donde R_a y R_b son como se definieron anteriormente,

5 con un compuesto de la fórmula III



en donde R es como se definió anteriormente,

y, cuando se requiere, convertir el compuesto resultante de la fórmula I obtenido en forma libre a una forma de sal o viceversa, según sea apropiado.

10 Se puede efectuar convenientemente el proceso en la presencia de una base fuerte, por ejemplo t-BuOK, por ejemplo como se describe en la WO 02/38561, y como se ilustra en los Ejemplos.

Se pueden preparar los compuestos de la fórmula II y III de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo como se describe en la página 7, párrafo 2 a 4 de la WO 02/38861, el contenido de estos párrafos se incorpora aquí como referencia, y como se ilustra en los Ejemplos.

15 Por cuanto no se describe de forma particular la producción de los materiales de partida, se conocen los compuestos o se pueden preparar de forma análoga a los métodos conocidos en la técnica o como se describe adelante.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la invención sin ninguna limitación.

RT =temperatura ambiente

THF =tetrahidrofurano

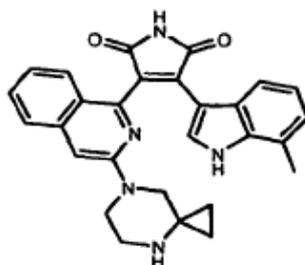
20 FCC =cromatografía de columna flash

TBAF =fluoruro de tetrabutil amonio

BINAP=2,2'-bis (difeni) fosfino)-1,1'- binaftilo

$Pd_2(dba)_3$ =Pd(O)-bis (dibencilidenacetona)

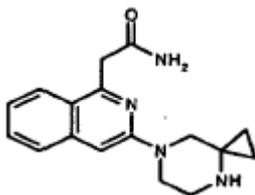
25 **Ejemplo 69: 3- [3-(4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo)- isoquinolin-1-ilo] -4-(7-metil-1H-indol-3-ilo)-pirrol-2,5-diona**



30 Se somete a azeotropización 2- [3-(4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo)- isoquinolin-1-ilo] -acetamida (4.95 g, 16.70 mmol) y éster de metilo de ácido (7-Metil-1H- indol-3- il)-oxo- acético (5.44 g, 25.05 mmol) dos veces con THF seco. Luego se agrega THF seco (100 ml), y bajo una atmósfera de argón se agrega en forma de gotas K₂CO₃ (1.0 M en THF, 50 ml, 50 mmol) durante 20 min. Después de 90 min adicionales, el análisis TLC indica conversión completa de los materiales de partida. La mezcla de reacción se diluye con H₂O y se extrae dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavan dos veces con solución de NH₄Cl acuosa saturada (se extrae de nuevo), se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran. La purificación mediante FCC (CH₂Cl₂/ MeOH 100:0 a 98:2 a 96:4 a 94: 6 a 92:8 a 90:10) produce el compuesto del título, que se convierte a su sal de acetato mediante concentración de una solución

de EtOH/ AcOH. ^1H RMN (DMSO, 400 MHz) δ 0.26 - 0.53 (br, 4 H), 1.89 (s, 3H, CH_3COOH), 2.36 (s, 3H), 2.80 (br m, 2 H), 3.15 - 3.48 (br m, 2H), 6.14 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.44 (dd, $J = 8.2/7.4$ Hz, 1H), 6.75 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 7.02 (dd, $J = 8.2 / 8.2$ Hz, 1H), 7.40 (dd, $J = 8.2/8.2$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 11.04 - 11.21 (br, 1H), 11.86 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H); ES-MS: 464 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

La 2- [3-(4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-i)- isoquinolin-1-ilo] -acetamida utilizada como material de partida se puede preparar como sigue:



10 a) Se disuelve 2- [3-(4-Bencil-4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo)- isoquinolin-1-ilo] -acetamida (490 mg, 1.27 mmol) en MeOH absoluto (5 ml). Se agrega Pd sobre carbón (140 mg), así como también formiato de amonio (200 mg, 3.17 mmol). Después de someter a reflujo durante 1 h ($T = 75^\circ\text{C}$), se agrega una carga adicional de formiato de amonio (200 mg, 3.17 mmol). 1 h después, el análisis TLC indica conversión completa del material de partida. Después de filtración y concentración, el residuo se pone en CH_2Cl_2 y se lava con agua (pH 10 mediante adición de NaOH 2 N). La capa orgánica se seca sobre Na_2SO_4 y se elimina el solvente. La purificación mediante FCC (EtOAc/AcOH/ H_2O 750:83:68 a 700:110:90 a 650:130: 120 a 600:150:150) proporciona el compuesto del título como su sal de bis-acetato. ^1H RMN (DMSO, 400 MHz) δ 0.46 - 0.52 (m, 4H), 2.88 (t, $J = 5.5$, 2H), 3.35 (s, 2H), 3.49 (t, $J = 5.5$, 2H), 3.94 (s, 2H), 6.77 (s, 1H), 7.00 (br s, 1H), 7.18 - 7.25 (m, 1H), 7.45 - 7.56 (m, 2H), 7.60 - 7.65 (m, 1H), 7.95 (d, $J = 9.9$, 1H). ES-MS: 297 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

20 b) Se disuelve éster de etilo de ácido [3-(4-Bencil- 4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7- il)- isoquinolin-1-ilo]- acético 2- [3-(4-Bencil-4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo)- isoquinolin-1-ilo] -acetamida (700 mg, 1.68 mmol) en DMF seco bajo una atmósfera de argón. Se agrega formamida (224 μl , 254 mg, 5.64 mmol), y la mezcla de reacción se calienta a 105°C . A esta temperatura, se agrega en forma de gotas NaOMe (312 μl de una solución 5.4 M en MeOH, 91 mg, 1.68 mmol) durante 20 minutos. Después de 30 minutos a 105°C , el análisis TLC indica conversión completa del material de partida. El enfriamiento de la mezcla de reacción a Temperatura Ambiente se sigue por la adición de agua y la extracción con EtOAc. Las capas orgánicas se lavan con H_2O (dos veces), se secan sobre Na_2SO_4 y se concentran. El residuo se purifica mediante FCC (hexanos/EtOAc 1:1 a 1:3 a 0:100 a EtOAc/MeOH 98:2) para proporcionar el compuesto del título. ^1H RMN (DMSO, 400 MHz) δ 0.68 - 0.70 (m, 2H), 0.82 - 0.88 (m, 2H), 3.08 (t, $J = 4.4$, 2H), 3.45 (s, 2H), 3.58 (t, $J = 4.4$, 2H), 3.96 (s, 2H), 4.27 (s, 2H), 5.3 - 5.5 (br, 1H), 6.55 - 6.7 (br, 1H), 6.72 (s, 1H), 7.26 - 7.36 (m, 6H), 7.51 (t, $J = 8.8$, 1H), 7.60 d, $J = 9.9$, 1H), 8.02 (d, $J = 9.9$, 1H); ESMS: 387 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

30 c) Se mezclan éster de etilo de ácido [3-(4-Bencil -4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo)- isoquinolin-1-ilo]- acético, éster de etilo de ácido (3-Cloro-isoquinolin-1-ilo)- acético (2.50 g, 10.01 mmol), 4-bencil- 4,7- diaza- espiro [2.5] octano (2.23 g, 11.01 mmol), NaOtBu (1.06 g, 11.01 mmol), BINAP (249 mg, 0.40 mmol) y acetato de paladio (II) (180 mg, 0.80 mmol) bajo argón. Después de adición de dioxano desgasificado, seco (36 ml), la suspensión se calienta a 85°C . Después de 25 minutos a 85°C , el análisis HPLC indica una conversión de 71%. La mezcla se enfría a Temperatura Ambiente, se diluye con EtOAc, y se lava con H_2O y NH_4Cl ac. saturado (se extrae de nuevo). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na_2SO_4 , el solvente se elimina y el residuo se purifica por FCC (hexano/EtOAc 100:0 a 96:4 a 93:7 a 90:10 a 85:15) para proporcionar el compuesto del título. ^1H RMN (DMSO, 400 MHz) δ 0.58 - 0.61 (m, 2H), 0.70 - 0.73 (m, 2H), 1.18 (t, $J = 8.8$, 3H), 2.98 (t, $J = 5.5$, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.49 (t, $J = 5.5$, 2H), 3.86 (s, 2H), 4.12 (s, 2H), 4.12 (q, $J = 8.8$, 2H), 5.59 (s, 1H), 7.14 -7.19 (m, 6H), 7.39 (t, $J = 8.8$, 1H), 7.51 (d, $J = 9.9$, 1H), 7.78 (d, $J = 9.9$, 1H); ES-MS: 417 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

45 d) Se disuelven 1,1,1,3,3,3-Hexametil -disilazano éster de etilo de ácido (3-Cloro -isoquinolin-1-ilo)- acético (27.4 ml, 20.37 g, 126.2 mmol) en tolueno seco (150 ml). Después de enfriar a -78°C , se agrega lentamente n-BuLi (79 ml de una solución 1.6 M en hexanos, 126.2 mmol) durante 20 minutos. La suspensión blanca se agita a -78°C durante 15 minutos y a Temperatura Ambiente durante 15 minutos, después de cuyo tiempo se obtiene una solución amarilla brillante clara. Esta solución se canula en un segundo matraz de dos cuellos, que contiene $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (1.39 g, 1.51 mmol) y (2'- Diciclohexilfosfanil-bifenil-2-ilo) -dimetilamina (1.25 g, 3.18 mmol).

Después de agitación a Temperatura Ambiente durante 10 minutos, la solución de color rojo oscuro clara se enfría a -10°C . Se agrega éster de terc- butilo de ácido acético (15.7 ml, 13.5 g, 116.1 mmol) durante 5 min. Después de 10 minutos a -10°C , se agrega 1,3-Dicloro- isoquinolina (10.0 g, 50.49 mmol) en una porción. La solución de color rojo oscuro se deja calentar a Temperatura Ambiente. Después de 30 minutos a Temperatura Ambiente, el análisis TLC indica conversión completa del material de partida. La mezcla de reacción se filtra a través de un lecho de sílice de 2 cm, que se enjuaga con EtOAc/MeOH 98:2. Después de concentración, el residuo se purifica mediante FCC (tolueno/ CH_2Cl_2 2:1 a tolueno/ EtOAc 100:0 a 99:1 a 98:2 a 97:3 a 96:4 a 94:6 a 90:10) para dar éster de terc- butilo de ácido (3-Cloro-isoquinolin-1-ilo)- acético. Este compuesto se disuelve en una solución etanólica saturada de HCl

(200 ml) y se somete a reflujo durante 15 minutos. La concentración proporciona el compuesto del título en rendimiento cuantitativo. ^1H RMN (DMSO, 400 MHz) δ 1.17 (t, J = 8.8, 3H), 4.11 (q, J = 8.8, 2H), 4.28 (s, 2H), 7.51 - 7.57 (m, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.61-7.66 (m, 1H), 7.72 (d, J = 8.8, 1H), 7.98 (d, J = 8.8, 1H); ES-MS: 250 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

- 5 Mediante el siguiente procedimiento del Ejemplo 69 pero utilizando los materiales de partida apropiados, se pueden obtener los compuestos de la fórmula I en donde R es el residuo de la fórmula (e), como se indica en la Tabla 5 adelante.

TABLA 5

Ejemplo	R _g	R _a	R _b	Datos M.S.
70	-(4,7- diaza- espiro[2.5]oct-7-ilo)	CH ₃	H	MH+ 465
72	-(4,7- diaza- espiro[2.5]oct-7-ilo)	H	H	MH+ 451
81	4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo	H	F	MH+ 479
83	4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo	H	CH(CH ₃) ₂	MH+ 495
84	4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo	H	OCH ₃	MH+ 471
85	4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo	CH ₃	CH ₂ -CH ₃	MH+ 451
86	4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo	H	CH ₂ -CH ₃	MH+ 465
87	4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo	CH(CH ₃) ₂	H	MH+ 451
88	4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo	CH ₃	CH ₃	MH+ 479
89	4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo	CH ₃	Cl	MH+ 499
90	4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo	H	Cl	MH+ 485

- 10 Los compuestos de la fórmula I en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable exhiben propiedades farmacológicas valiosas, por ejemplo la inhibición de la actividad de la Proteína Quinasa C (PKC), por ejemplo las isoformas PKC como α , β , δ , ϵ , η o θ , la inhibición de la activación y proliferación de célula T, por ejemplo al inhibir la producción mediante células T o citoquinas, por ejemplo, IL-2, al inhibir la respuesta proliferativa de las células T para las citoquinas, por ejemplo IL-2, por ejemplo como se indica en pruebas in vitro e in vivo y por lo tanto son indicados para terapia.

15 A. In vitro

1. Ensayo de Proteína quinasa C

- 20 Se prueban los compuestos de la fórmula I para su actividad sobre diferentes isoformas PKC de acuerdo con un método publicado (D. Geiges et al. Biochem. Pharmacol. 1997; 53:865-875). Se realiza el ensayo en una microplaca de polipropileno de 96 pozos (Costar 3794) que previamente se ha siliconizado con Sigmacote (Sigma SL-2). La mezcla de reacción (50 μl) contiene 10 μl de la isozima PKC relevante junto con 25 μl del compuesto de prueba y 15 μl de una solución de mezcla que contiene 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de sulfato de protamina, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 10 mM, ATP 10 μM (Boehringer 519987) y 3750 Bq de ^{33}P -ATP (Hartmann Analytic SFC301, 110TBq/mmol) en regulador Tris 20 mM pH 7.4 + 0.1% de BSA. Se realiza la incubación durante 15 min a 32° C en una incubadora de agitación con placa de microtítulo (Biolabo Scientific Instruments). Se detiene la reacción al agregar 10 μl de Na_2EDTA 0.5 M, pH 7.4. Se suministran por pipeta 50 μl de mezcla sobre un papel de fosfo celulosa prehumedecido (Whatmann 3698-915) bajo presión gentil. El ATP no incorporado se lava por fuera con 100 μl de H_2O bi-dist. El papel se lava dos veces en 0.5% de H_3PO_4 durante 15 min seguido por 5 min en EtOH. Después de eso el papel se seca y se coloca en un Omnifilter (Packard 6005219), y se superpone con 10 μl /pozo de Microscint-O (Packard 6013611) antes de conteo en un contador de radioactividad Topcount (Packard). Se realiza la medición IC_{50} sobre una base de rutina al incubar una dilución en serie del inhibidor a concentraciones que varían entre 1-1000 μM de acuerdo con el método descrito anteriormente. Se calculan los valores IC_{50} a partir de la gráfica mediante ajuste de la curva sigmoidal.

2. Ensayo de Proteína Quinasa C θ

- 35 Se utiliza PKC θ humano recombinante bajo las condiciones de ensayo como se describió anteriormente. En este ensayo, los compuestos de la fórmula I inhiben el PKC θ con un $\text{IC}_{50} \leq 1 \mu\text{M}$. El compuesto del Ejemplo 69 inhibe el PKC θ en este ensayo con un IC_{50} 12.1 nM.

3. Ensayo de Proteína quinasa C α

Se obtiene PKC α humano recombinante de Oxford Biomedical Research y se utiliza bajo las condiciones de ensayo como se describe de conformidad con la Sección A.1 anterior. En este ensayo, los compuestos de la fórmula I inhiben el PKC θ con un IC₅₀ \leq 1 μ M.

5 4. Ensayo de Proteína quinasa C β 1

Se obtiene PKC β 1 humano recombinante de Oxford Biomedical Research y se utiliza bajo las condiciones de ensayo como se describe de conformidad con la Sección A.1 anterior. En este ensayo, los compuestos de la fórmula I inhiben el PKC θ con un IC₅₀ \leq 1 μ M.

5. Ensayo de Proteína quinasa C δ

10 Se obtiene PKC δ humano recombinante de Oxford Biomedical Research y se utiliza bajo las condiciones de ensayo como se describe de conformidad con la Sección A.1 anterior. En este ensayo, los compuestos de la fórmula I inhiben el PKC θ con un IC₅₀ \leq 1 μ M.

6. Ensayo de Proteína quinasa C ϵ

15 Se obtiene PKC ϵ humano recombinante de Oxford Biomedical Research y se utiliza bajo las condiciones de ensayo como se describe de conformidad con la Sección A.1 anterior. En este ensayo, los compuestos de la fórmula I inhiben el PKC θ con un IC₅₀ \leq 1 μ M. El compuesto del Ejemplo 69 inhibe PKC ϵ en este ensayo con un IC₅₀ de 18 nM.

7. Ensayo de Proteína quinasa C η

20 Se obtiene PKC η humano recombinante de PanVera y se utiliza bajo las condiciones de ensayo como se describe de conformidad con la Sección A.1 anterior. En este ensayo, los compuestos de la fórmula I inhiben el PKC θ con un IC₅₀ \leq 1 μ M.

8. Ensayo de coestimulación CD28

25 Se realiza el ensayo con células Jurkat transfectadas con una construcción de gen promotor/ indicador de interleuquina-2 humana como se describe por Baumann G et al. in Transplant.Proc. 1992; 24:43-8, el gen indicador de β -galactosidasa que se reemplaza por el gen luciferasa (de Wet J., et al., Mol. Cell Biol. 1987, 7(2), 725-737). Se estimulan las células por anticuerpos acoplados de fase sólida o miristato acetato de forbol (PMA) y la ionomicina ionóforo Ca⁺⁺ como sigue. Para la estimulación mediada por anticuerpo se recubren placas de microtítulo Microlite TM1 (Dynatech) con 3 μ g/ml de anticuerpos IgG FC anti-ratón de cabra (Jackson) en 55 μ l de solución salina regulada con fosfato (PBS) por pozo durante tres horas a Temperatura Ambiente. Se bloquean las placas después de eliminar los anticuerpos mediante incubación con 2% de albúmina de suero bovina (BSA) en PBS (300 μ l por pozo) durante 2 horas a Temperatura Ambiente. Después de lavar tres veces con 300 μ l de PBS por pozo, se agregan 10 ng/ml de anticuerpos de receptor anti- célula T (WT31, Becton & Dickinson) y 300 ng/ml de anticuerpos anti-CD28 (15E8) en 50 μ l de 2% de BSA/PBS como anticuerpos de estimulación y se incuban durante la noche a 4° C. Finalmente las placas se lavan tres veces con 300 μ l de PBS por pozo. Se preparan siete diluciones en serie de de tres veces los compuestos de prueba en duplicados en medio de ensayo (RPMI 1640/10% de suero bovino fetal (FCS) que contiene 2-mercaptoetanol 50 μ M, 100 unidades/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomina) en placas separadas, se mezclan con células Jurkat transfectadas (clon K22 290_H23) y se incuban durante 30 minutos a 37° C en 5% de CO₂. Luego se transfieren 100 μ l de esta mezcla que contiene 1 x 10⁵ células a las placas de ensayo recubiertas con anticuerpo. En paralelo se incuban 100 μ l con 40 ng/ml de PMA e ionomicina 2 μ M. Después de incubación durante 5.5 horas a 37° C en 5% de CO₂, se determina el nivel de luciferasa mediante medición de bioluminescencia. Las placas se centrifugan durante 10 min a 500 g y el sobrenadante se elimina al dar un golpecito. Se agrega el regulador de lisis que contiene Tris-fosfato 25 mM, pH 7.8, DTT 2 mM, ácido 1.2-diaminociclohexano - N,N,N',N'-tetraacético 2 mM, 10% (v/v) de glicerol y 1 % (v/v) de Tritón X-100 (20 μ l por pozo). Las placas se incuban a Temperatura Ambiente durante 10 minutos bajo constante agitación. Se evalúa la actividad de luciferasa con un lector de bioluminescencia (Labsystem, Helsinki, Finlandia) después de adición automática de 50 μ l de regulador de reacción de luciferasa por pozo que contiene Tricita 20 mM, (MgCO₃)₄Mg(OH)₂x5H₂O 1.07 mM, MgSO₄ 2.67 mM, EDTA 0.1 mM, DTT 33.3 mM, coenzima A 270 μ M, luciferina 470 μ M (Chemie Brunschwig AG), ATP 530 μ M, pH 7.8. El tiempo demora es 0.5 segundos, el tiempo medido total es 1 o 2 segundos. Los valores de control inferiores son unidades de luz de células estimuladas con PMA o receptor anti-célula T, los controles altos son de células estimuladas con PMA/ionomicina o receptor anti-célula T/ anti-CD28 sin ninguna muestra de prueba. Se sustraen los controles bajos de todos los valores. La inhibición obtenida en la presencia de un compuesto de prueba se calcula como el porcentaje de inhibición del control alto. Se determina la concentración de los compuestos de prueba que resulta en 50% de inhibición (IC₅₀) a partir de las curvas de respuesta de dosis. En este ensayo, los compuestos de la fórmula I inhiben las células Jurkat estimuladas con PMA/ionomicina y receptor de anti- célula T /anti-CD28 con un IC₅₀ \leq 1 μ M. El compuesto del Ejemplo 29 tiene un IC₅₀ de 20 nM en este ensayo.

9. Reacción de Linfocito Mezclado Alogénico (MLR)

Se realiza la MLR de dos vías de acuerdo con procedimientos estándar (J. Immunol. Methods, 1973, 2, 279 and Meo T. et al., Immunological Methods, New York, Academic Press, 1979, 227-39). En resumen, las células de bazo de ratones CBA y BALB/c (1.6×10^5 de células de cada cepa por pozo en placas de microtítulo de cultivo de tejido de fondo plano, 3.2×10^5 en total) se incuban en medio RPMI que contiene 10% de FCS, 100 U/ml de penicilina, 100 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomina (Gibco BRL, Basilea, Suiza), 2-mercaptoetanol 50 μM (Fluka, Buchs, Suiza) y los compuestos se diluyen en serie. Se realizan siete etapas de dilución de tres veces con duplicados por compuesto de prueba. Después de cuatro días de incubación se agrega 1 μCi de ^3H -timidina. Se cosechan las células después de un periodo de incubación de cinco horas adicional, y se determina la ^3H -timidina incorporada de acuerdo con los procedimientos estándar. Los valores antecedentes (bajo control) de la MLR son la proliferación de células de BALB/solas. Los controles bajos sustraen todos los valores. Los controles altos sin ninguna muestra se toman como el 100% de proliferación. Se calcula el porcentaje de inhibición mediante las muestras, y se determinan las concentraciones requeridas para el 50% de inhibición (valores IC_{50}). En este ensayo, el Compuesto del Ejemplo 29 tiene un IC_{50} de 28 nM. Los compuestos de la fórmula I también exhiben valores IC_{50} en el rango nM cuando se prueba en la MLR humana.

10. Inhibición de GSK-3 β

Se realiza el ensayo de unión GSK-3 β en reacciones de 50 μl en placa de polipropileno de 96 pozos, cada reacción que contiene cloruro de magnesio 20 mM, ATP 40 μM , DTT 2mM, sustrato de péptido con CREB biotinilado o fosforilado 88.5 μM (biotina- KRREILSRP(PO₄)YR-OH; Q. M. Wang et al., J. Biol. Chem. 269, 14566-14574, 1994), [γ - ^{33}P]ATP (1 μCi) y 2 μl del compuesto que se va a probar en DMSO (diversas concentraciones). Se agrega 15 μl de GSK-3 β (diversas concentraciones) y la mezcla se incuba a 30° C durante 1 hora. Se detiene la reacción al transferir 25 μl de la mezcla a una placa fosfocelulosa que contiene 130 μl de 1.85% ácido fosfórico. El radionucleótido libre en la membrana se lava bajo vacío con 1.85% de ácido fosfórico (5 veces). Después del último lavado, se transfiere la placa a una placa de adaptador y se agrega 50 μl de cóctel de centelleo (Microscint-20, Packard, cat. #20-133) a cada pozo y se cuenta la cantidad de radioactividad en un contador top. Los compuestos de la fórmula I están activos en este ensayo. También se pueden probar los compuestos de la fórmula I en otros ensayos de unión de GSK-3 β estándar utilizando otros sustratos, por ejemplo cuando están comercialmente disponibles.

B. In vivo

30 Trasplante de Corazón de Rata

La combinación de cepa utilizada: Lewis macho (RT' haplotipo) y BN (RT1 haplotipo). Se anestesian los animales utilizando isoflurano inhalado. Luego de heparinización de la rata donante a través de la vena cava abdominal inferior con desangrado simultáneo a través de la aorta, se abre el pecho y se enfría rápidamente el corazón. Se liga la aorta y se divide distal a la primera rama y se divide el tronco braquiocefálico en la primera bifurcación. La arteria pulmonar izquierda se liga y divide y el lado derecho pero el izquierdo se abre. Todos los otros vasos se disectan libres, se ligan y se dividen y el corazón donante se retira y se coloca en solución salina enfriada con hielo.

El receptor se prepara mediante disección y pinzamiento de la aorta abdominal infra-renal y la vena cava. Se implanta el injerto con anastomosis terminolateral, utilizando 10/0 de sutura de monofilamento, entre el tronco braquiocefálico del donante y la aorta del receptor y la arteria pulmonar derecha del donante a la vena cava del receptor. Se eliminan las pinzas, el injerto amarrado retroabdominalmente y los contenidos abdominales se lavan con solución salina caliente y se cierra el animal y se deja recuperar bajo una lámpara de calor. Se monitorea el injerto sobreviviente diariamente mediante palpación del corazón palpitante del donante a la pared abdominal. Se considera que es completo el rechazo cuando se detiene el latido del corazón. Los aumentos de la supervivencia se obtienen en los animales tratados con un compuesto de la fórmula I administrados oralmente en una dosis diaria de 1 a 30 mg/kg dos veces al día.

Modelo de Injerto v.s Anfitrón

Se inyectan las células de bazo (2×10^7) de ratas Wistar/F subcutáneamente en la pata trasera derecha de ratas híbridas F₁ (Wistar/F x Fischer 344). La pata izquierda se deja sin tratar. Se tratan los animales con los compuestos de prueba en 4 días consecutivos (0-3). Se eliminan los ganglios linfáticos poplíteos en el día 7, y se determinan las diferencias de peso entre dos ganglios linfáticos correspondientes. Se expresan los resultados como la inhibición de la inflamación de los ganglios linfáticos (dados en porcentaje) que comparan las diferencias de peso de los ganglios linfáticos en los grupos experimentales con la diferencia de peso entre los ganglios linfáticos correspondientes de un grupo de animales que se dejan sin tratar con un compuesto de prueba. En este ensayo, se obtiene una inhibición de 100% con el compuesto del Ejemplo 29 cuando se administra en una dosis de 30 mg/kg/día dos veces al día.

Los compuestos de la fórmula I por lo tanto, son útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades o trastornos mediados por los linfocitos T y/o PKC, por ejemplo rechazo agudo o crónico de alo o xenoinjerto de órgano o tejido, enfermedades del injerto contra el anfitrión, aterosclerosis, oclusión vascular debido a lesión vascular tal como angioplastia, reestenosis, obesidad, síndrome del cromosoma X, tolerancia deteriorada a la

5 glucosa, síndrome de ovario poliquístico, hipertensión, falla cardíaca, enfermedad obstructiva pulmonar crónica, enfermedades del SNC tales como enfermedad de Alzheimer o esclerosis lateral amiotrófica, cáncer, enfermedades infecciosas tales como sida, choque séptico o síndrome de dificultad respiratoria aguda, lesión por isquemia/reperusión por ejemplo infarto del miocardio, apoplejía, isquemia intestinal, falla renal o choque hemorrágico, o choque traumático, por ejemplo lesión de cerebro traumática. Los compuestos de la fórmula I también son útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades o trastornos inflamatorios agudos o crónicos mediados por célula T o enfermedades autoinmunes por ejemplo artritis reumatoide, osteoartritis, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis de Hashimoto, esclerosos múltiple, miastenia grave, diabetes tipo I o II y los trastornos asociados con ellos, por ejemplo angiopatía, retinopatía proliferativa diabética, edema macular diabético, nefropatía, neuropatía y fenómeno del amanecer, enfermedades respiratorias tales como asma o lesión inflamatoria de pulmón, lesión inflamatoria de hígado, lesión inflamatoria glomerular, manifestaciones cutáneas de trastornos o enfermedades mediadas inmunológicamente, enfermedades de la piel inflamatorias e hiperproliferativas (tales como soriasis, dermatitis atópicas, dermatitis por contacto alérgica, dermatitis por contacto irritante y adicionalmente dermatitis eczematosa, dermatitis seborreica), enfermedades inflamatorias de los ojos, por ejemplo síndrome de Sjogren, queratoconjuntivitis o uveítis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa. Para los usos anteriores la dosificación requerida por supuesto variará dependiendo del modo de administración, la afección particular que se va a tratar y el efecto deseado. En general, se indican los resultados satisfactorios que se van a obtener sistémicamente en dosificaciones diarias de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal. Una dosificación diaria indicada en los mamíferos superiores, por ejemplo humanos, está en el rango de aproximadamente 0.5 mg a aproximadamente 2000 mg, administrada de forma conveniente, por ejemplo, en dosis divididas hasta cuatro veces al día o en forma retardada.

Se pueden administrar los compuestos de la fórmula I mediante cualquier ruta convencional, en particular enteralmente, por ejemplo oralmente, por ejemplo en la forma de comprimidos o cápsulas, o parenteralmente, por ejemplo en la forma de soluciones inyectables o suspensiones, tópicamente, por ejemplo en la forma de lociones, geles, ungüentos o cremas, o en una forma nasal o de supositorio. Se pueden fabricar las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula I en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con por lo menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable en una forma convencional al mezclar con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Las formas de dosificación unitaria para la administración oral contienen, por ejemplo, de aproximadamente 0.1 mg a aproximadamente 500 mg de sustancia activa.

La administración tópica es por ejemplo para la piel. Una forma adicional de administración tópica es para los ojos.

Se pueden administrar los compuestos de la fórmula I en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable por ejemplo como se indicó anteriormente. Se pueden preparar tales sales en la forma convencional y exhiben el mismo orden de actividad como los compuestos libres.

De acuerdo con lo anterior la presente invención proporciona adicionalmente:

1.1 Un método para evitar o tratar trastornos o enfermedades mediadas por linfocitos T y/o PKC o GSK-3 β , por ejemplo tal como se indicó anteriormente, en un sujeto en necesidad de tal tratamiento, cuyo método comprende administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

1.2 Un método para evitar o tratar el rechazo de trasplante agudo o crónico o enfermedades inflamatorias o autoinmunes de célula T, por ejemplo como se indicó anteriormente, en un sujeto en necesidad de tal tratamiento, cuyo método comprende administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

2. Un compuesto de la fórmula I, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable para uso como un producto farmacéutico, por ejemplo en cualquiera de los métodos como se indica bajo 1.1 y 1.2 anterior.

3. Una composición farmacéutica, por ejemplo para uso en cualquiera de los métodos como en 1.1 y 1.2 anterior que comprende un compuesto de la fórmula I en forma libre o forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con un diluyente farmacéuticamente aceptable o portador del mismo.

4. Un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la preparación de una composición farmacéutica para uso en cualquier método como en 1.1 y 1.2 anterior.

Se pueden administrar los compuestos de la fórmula I como el único ingrediente activo o junto con otros fármacos en los regímenes de inmunomodulación u otros agentes anti- inflamatorios por ejemplo para el tratamiento o prevención de rechazo agudo o crónico de alo o xenoinjerto o trastornos inflamatorios o autoinmunes. Por ejemplo, ellos se pueden utilizar en combinación con ciclosporinas, o ascomicinas o sus análogos o derivados inmunosupresores, por ejemplo ciclosporina A, ISA Tx247, FK- 506, ABT-281, ASM 981; un inhibidor mTOR, por ejemplo rapamicina, 40-O-(2-hidroxi)etil-rapamicina, CCI779, ABT578 o un rapálogo, por ejemplo AP23573 etc.; corticosteroides; ciclofosfamida; azatiopreno; metotrexato; un agonista del receptor EDG que tiene propiedades de anidamiento de linfocito aceleradas, por ejemplo FTY 720 o un análogo del mismo; leflunomida o análogos de los mismos;

5 mizoribina; ácido micofenólico; micofenolato mofetilo; 15-desoxispergualina o análogos de los mismos; anticuerpos monoclonales inmunosupresores, por ejemplo, anticuerpos monoclonales para receptores de leucocito, por ejemplo, MHC, CD2, CD3, CD4, CD 11a/CD18, CD7, CD25, CD 27, B7, CD40, CD45, CD58, CD 137, ICOS, CD150 (SLAM), OX40, 4-1 BB o sus ligandos, por ejemplo CD154; u otros compuestos inmunomoduladores, por ejemplo una molécula de unión recombinante que tiene por lo menos una porción del dominio extracelular de CTLA4 o un mutante del mismo, por ejemplo por lo menos una porción extracelular de CTLA4 o un mutante del mismo unido a una secuencia de proteína sin - CTLA4, por ejemplo CTLA4Ig (por ejemplo ATCC diseñado 68629) o un mutante del mismo, por ejemplo LEA29Y, u otros inhibidores de molécula de adhesión, por ejemplo mAbs o inhibidores de bajo peso molecular que incluyen antagonistas LFA-1, antagonistas de Selectina y antagonistas de VLA-4. También se pueden administrar los compuestos de la fórmula I junto con un fármaco antiproliferativo, por ejemplo un fármaco quimioterapéutico, por ejemplo cuando se utiliza en el tratamiento del cáncer, que incluye pero no se limita a inhibidores de aromataza, antiestrógenos, inhibidores de topoisomerasa I, inhibidores de topoisomerasa II, agentes activos de microtúbulo, agentes de alquilación, inhibidores de histona desacetilasa, inhibidores de farnesil transferasa, inhibidores de COX-2, inhibidores de MMP, inhibidores de mTOR, antimetabolitos antineoplásicos, compuestos de platino, compuestos que reducen la actividad de proteína quinasa y adicionalmente compuestos anti-angiogénicos, agonistas de gonadorelina, anti-andrógenos, bengamidas, bisfosfonatos, anticuerpos antiproliferativos y temozolomida, o con un fármaco anti- diabético, un secretagogo de insulina o mejorador de secreción de insulina, por ejemplo una sulfonil urea, por ejemplo tolbutamida, clorpropamida, tolazamida, acetohexamida, 4-cloro-N- [(1-pirolidinilamino) carbonil] -bencensulfonamida (glucopiramida), glibenclamida (gluburida), gliclazida, 1-butil-3-metanililurea, carbutamida, glibonurida, glipizida, gliquidona, glisoxepid, glibutiazol, glibuzol, glihexamida, glimidina, glipinamida, fenbutamida o toliliclamida, un derivado de agente insulínico oral, por ejemplo un mejorador de insulina de corta duración, por ejemplo meglitinida, repaglinida, un derivado de ácido fenil acético, por ejemplo nateglinida, un inhibidor de DPP IV, por ejemplo diclorhidrato de 1-{2- [(5-cianopiridin-2-ilo) amino]etilamino} acetil-(2S)- cianopirrolidina, LAF237, GLP-1 o un análogo de agonista GLP-1, o un sensitizador de insulina por ejemplo un agonista y receptor activado de proliferador de peroxisoma (PPAR γ), por ejemplo una glitazona, un tipo diferente de glitazona tal como un análogo de N-(2-benzoifenil) -L-tirosina, por ejemplo GI-262570, o una oxolidinadiona, por ejemplo JTT501, un agonista PPAR γ /PPAR α dual, por ejemplo DRF-554158, NC-2100 o NN-622, un agonista del receptor X retinoide o un retinoide, por ejemplo ácido 2- [1-(3,5,5,8,8-pentametil -5,6,7,8-tetrahidro-2- naftilo)-ciclopropil] -piridina-5- carboxílico, ácido 4- [(3,5,5,8,8-pentametil -5,6,7,8-tetrahidro-2-naftilo) -2-carbonil]- benzoico, ácido 9-cis retinoico o un análogo, derivado o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en terapia para diabetes,

De acuerdo con lo anterior la presente invención se proporciona en todavía un aspecto adicional:

5 5. Un método como se define anteriormente que comprende co- administrar, por ejemplo concomitantemente o en secuencia, una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de GSK-3 β , PKC o de activación y proliferación de célula T, por ejemplo un compuesto de la fórmula I en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y una segunda sustancia de fármaco, dicha segunda sustancia de fármaco que es un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, anti-inflamatorio, antiproliferativo o anti-diabético, por ejemplo como se indicó anteriormente.

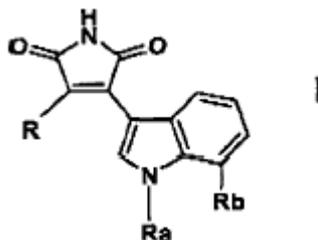
6. Una combinación terapéutica, por ejemplo un equipo, que comprende a) un inhibidor de GSK-3 β , PKC o de activación y proliferación de célula T, por ejemplo un compuesto de la fórmula I en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y b) por lo menos un segundo agente seleccionado de un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, anti- inflamatorio, antiproliferativo y anti-diabético. Se puede suministrar el Componente a) y componente b) concomitantemente o en secuencia. El equipo puede comprender instrucciones para su administración.

45 Cuando se administra un inhibidor de GSK-3 β , PKC o de activación y proliferación de célula T, por ejemplo un compuesto de la fórmula I, en conjunto con otra terapia inmunosupresora/inmunomoduladora, anti-inflamatoria, antiproliferativa o anti-diabética, por ejemplo para evitar o tratar rechazo de injerto agudo o crónico o trastornos inflamatorios o autoinmunes como se especificó anteriormente, las dosificaciones del compuesto inmunosupresor, inmunomodulador, antiinflamatorio, antiproliferativo o anti-diabético co- administrado por supuesto variarán dependiendo del tipo de co- fármaco empleado, por ejemplo ya sea que este sea un esteroide o una ciclosporina, sobre el fármaco específico empleado, sobre la afección que se va a tratar y así sucesivamente.

Los compuestos de la fórmula I tienen un interesante perfil farmacocinético e interesantes actividades in vitro e in vivo.

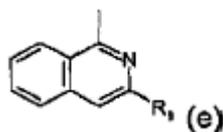
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula I



en donde

- 5 R_a es H; CH₃; o isopropilo,
 R_b es H; halógeno; alcoxi C₁₋₆; o alquilo C₁₋₆, y
 R es un radical de la fórmula (e)



en donde

- 10 R₉ es 4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo;
 o una sal del mismo.

2. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 que se selecciona de los siguientes compuestos:

3- [3-(4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo)- isoquinolin- 1-ilo] -4-(7-metil-1H-indol-3-ilo) -pirrol-2,5- diona o un compuesto de la fórmula I en donde los sustituyentes se definen como sigue:

R ₉	R _a	R _b
4,7- diaza- espiro [2.5]oct-7- ilo	CH ₃	H
4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7- ilo	H	H
4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7- ilo	H	F
4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7- ilo	H	CH(CH ₃) ₂
4,7-diaza- espiro [2.5] oct-7- ilo	H	OCH ₃
4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7- ilo	CH ₃	CH ₂ -CH ₃
4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7- ilo	H	CH ₂ -CH ₃
4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7- ilo	CH(CH ₃) ₂	H
4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7- ilo	CH ₃	CH ₃
4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7- ilo	CH ₃	Cl
4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7- ilo	H	Cl

- 15 o una sal del mismo.

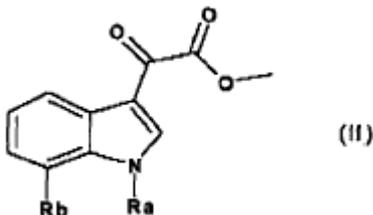
3. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 que es 3- [3-(4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo) isoquinolin-1-ilo] -4-(7-metil- 1H-indol-3-ilo) -pirrol-2,5- diona o una sal del mismo.

- 20 4. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable para uso como un producto farmacéutico.

5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en asociación con un diluyente farmacéuticamente aceptable o portador del mismo.

5 6. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la preparación de una composición farmacéutica para uso en el tratamiento o prevención de rechazo agudo o crónico de aloinjertos de órgano o tejido o enfermedades del injerto contra el anfitrión.

7. Un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, cuyo proceso comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II



10 en donde R_a y R_b son como se define en la reivindicación 1,

con un compuesto de la fórmula III



en donde R es como se define en la reivindicación 1,

15 y, cuando se requiere, convertir el compuesto resultante de la fórmula I obtenida en forma libre a una forma de sal o viceversa, según sea apropiado.

20 8. Una combinación que comprende a) 3- [3-(4,7- diaza- espiro [2.5] oct-7-ilo)- isoquinolin-1-ilo] -4-(7-metil-1H-indol-3-ilo)-pirrol- 2,5- diona en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y b) por lo menos un segundo agente seleccionado de un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, anti-inflamatorio, antiproliferativo y anti-diabético.

9. Uso de un compuesto de la fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, en combinación con por lo menos una segunda sustancia de fármaco seleccionada de un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, anti-inflamatorio, antiproliferativo, quimioterapéutico y anti- diabético, en la preparación de un medicamento para terapia.