

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 071**

51 Int. Cl.:  
**C07D 401/14** (2006.01)  
**C07D 403/14** (2006.01)  
**A61K 31/44** (2006.01)  
**A61K 31/40** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **09004073 .4**  
96 Fecha de presentación: **12.02.2004**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2075249**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **01.07.2009**

54 Título: **Derivados de indolilmaleimida**

30 Prioridad:  
**13.02.2003 GB 0303319**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**17.07.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**17.07.2012**

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

72 Inventor/es:  
**Von Matt, Peter y  
Wagner, Jürgen**

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

**ES 2 385 071 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).

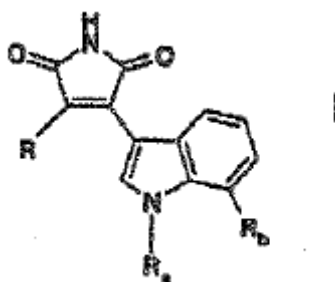
**DESCRIPCIÓN**

Derivados de indolilmaleimida

La presente invención se refiere a derivados de indolilmaleimida, un proceso para su producción y composiciones farmacéuticas que contienen los mismos.

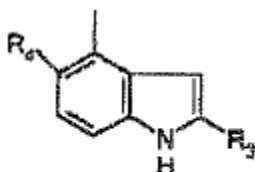
- 5 US 5.057.614 describe inhibidores de la proteína cinasa C con sustituyentes indolilo específicos que contienen sustituyentes específicos.

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula I



en donde

- 10 Ra es H; C<sub>1-4</sub> alquilo; o C<sub>1-4</sub> alquilo sustituido con OH, NH<sub>2</sub>, NHC<sub>1-4</sub> alquilo o N-(di-C<sub>1-4</sub> alquilo)<sub>2</sub>; R<sub>b</sub> es H; halógeno; C<sub>1-6</sub> alquilo; o C<sub>1-6</sub> alcoxi, y R es un radical de fórmula (b)



(b)

en donde

R<sub>3</sub> es un radical de fórmula α

- 15 
$$-X-R_c-Y \quad (\alpha)$$

en donde X es un enlace directo, O, S o NR<sub>11</sub> en donde R<sub>11</sub> es H o C<sub>1-4</sub> alquilo,

R<sub>c</sub> es C<sub>1-4</sub> alquileo o C<sub>1-4</sub> alquileo en donde un CH<sub>2</sub> está reemplazado por CR<sub>x</sub>R<sub>y</sub> en donde uno de R<sub>x</sub> y R<sub>y</sub> es H y el otro es CH<sub>3</sub>, cada uno de R<sub>x</sub> y R<sub>y</sub> es CH<sub>3</sub> o R<sub>x</sub> y R<sub>y</sub> forman juntos -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-,

- 20 e Y es -NR<sub>12</sub>R<sub>13</sub> en donde cada uno de R<sub>12</sub> y R<sub>13</sub>, independientemente, es H, C<sub>3-6</sub> cicloalquilo, C<sub>3-6</sub> cicloalquil-C<sub>1-4</sub> alquilo, fenilo, naftilo, (fenil- o naftil) -C<sub>1-4</sub> alquilo, (piridil- o pirimidinil) -C<sub>1-4</sub> alquilo, C<sub>2-6</sub> alqueno o C<sub>1-4</sub> alquilo sustituido opcionalmente en el átomo de carbono terminal con OH, halógeno, C<sub>1-4</sub> alcoxi o -NR<sub>14</sub>R<sub>15</sub> en donde cada uno de R<sub>14</sub> y R<sub>15</sub> es independientemente H, C<sub>1-4</sub> alquilo, C<sub>3-6</sub> cicloalquilo, C<sub>3-6</sub> cicloalquil-C<sub>1-4</sub> alquilo, (fenil- o naftil) C<sub>1-4</sub> alquilo, o R<sub>12</sub> y R<sub>13</sub> forman junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos 1,4-piperazinilo, 2-C<sub>1-4</sub> alquil- o -C<sub>3-6</sub> cicloalquil-1-piperazinilo; 3-C<sub>1-4</sub> alquil- o -C<sub>3-6</sub> cicloalquil-1-piperazinilo; 2,2- o 3,5- o 2,5- o 2,6-di(C<sub>1-4</sub> alquil)-1-piperazinilo; 3,4,5-tri(C<sub>1-4</sub> alquil)-1-piperazinilo; 4-N-(C<sub>1-4</sub> alquil)- o -(ω-hidroxi-C<sub>1-4</sub> alquil)- o -(ω-dimetilamino-C<sub>1-4</sub> alquil)-1-piperazinilo; 4-N-piridin-4-il-1-piperazinilo; 4-N-fenil- o -C<sub>3-6</sub> cicloalquil-1-piperazinilo; 4-N-(C<sub>1-4</sub> alquil)- o -(ω-hidroxi-C<sub>1-4</sub> alquil)-3-C<sub>1-4</sub> alquil- o 3,3-di(C<sub>1-4</sub> alquil)-1-piperazinilo; 4-N-(1-C<sub>1-4</sub> alquil-C<sub>3-6</sub> cicloalquil)-1-piperazinilo; 4-N-formil-1-piperazinilo; 4-N-pirimidin-2-il-1-piperazinilo; y
- 25

R<sub>4</sub> es H; halógeno; C<sub>1-4</sub> alquilo; C<sub>1-4</sub> alcoxi; CF<sub>3</sub>; nitrilo; nitro o amino,  
o una sal del mismo.

Cualquier alquilo o resto alquilo en v.g. alcoxi puede ser lineal o ramificado. Halógeno puede ser F, Cl, Br o I, preferiblemente F o Cl. Cualquier arilo es fenilo o naftilo, preferiblemente fenilo. Heteroarilo es piridilo o pirimidilo.

5 Y es piperazinilo, opcionalmente sustituido como se ha descrito previamente.

En el radical de la fórmula (b), R<sub>3</sub> es preferiblemente un residuo de fórmula (α) en donde X es un enlace directo y R<sub>c</sub> es -CH<sub>2</sub>-.

Cuando R<sub>a</sub> es C<sub>1-4</sub> alquilo sustituido, el sustituyente se encuentra preferiblemente en el átomo de carbono terminal.

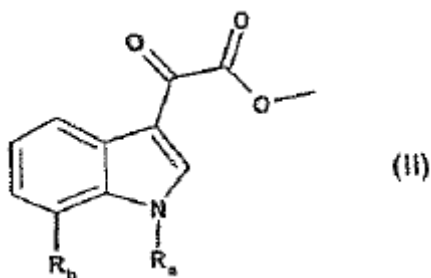
10 En los compuestos de fórmula I, se prefieren los significados siguientes individualmente o en cualquier sub-combinación:

1. R<sub>a</sub> es H, metilo, etilo, o isopropilo;
2. R<sub>b</sub> es H, Cl, metilo o etilo; o
3. R<sub>4</sub> es H; CH<sub>3</sub>; Cl, F; CF<sub>3</sub>; nitro o nitrilo.

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

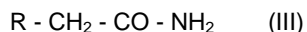
20 Se apreciará que los compuestos de fórmula I pueden existir en la forma de isómeros ópticos, racematos o diastereoisómeros. Por ejemplo, un átomo de carbono del anillo que lleva un sustituyente en la posición 3 del residuo piperazinilo es asimétrico y puede tener la configuración D o L. Debe entenderse que la presente invención abarca todos los enantiómeros y sus mezclas. Consideraciones similares son aplicables en relación con materiales de partida que exhiben átomos de carbono asimétricos como se ha mencionado.

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



en donde R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub> son como se define arriba,

25 con un compuesto de fórmula III



en donde R es como se define arriba,

y, en caso requerido, convertir el compuesto resultante de fórmula I obtenido en forma libre en una forma de sal o viceversa, según sea apropiado.

30 El proceso puede efectuarse convenientemente en presencia de una base fuerte, v.g. t-BuOK, v.g. como se describe en WO 02/38561 o WO 03/8259.

Los compuestos de fórmula (II) y (III) pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos, v.g. como se describe en WO 02/38561.

En cuanto a la producción de los materiales de partida que no se describen particularmente, los compuestos son conocidos o se pueden preparar análogamente a métodos conocidos en la técnica o como se describe más adelante en esta memoria.

Los ejemplos siguientes son ilustrativos de la invención.

5 TA = temperatura ambiente

DMF = dimetilformamida

THF = tetrahidrofurano

FCC = cromatografía flash en columna

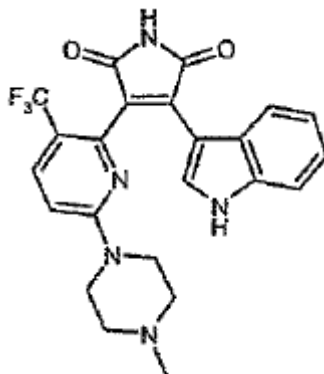
TLC = cromatografía en capa fina

10 DBU = 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno

EtOAc = acetato de etilo

### Ejemplo de Referencia 1:

#### 3-(1H-Indol-3-il)-4-[6-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-piridin-2-il]-pirrol-2,5-diona



15 2-[6-(4-Metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-piridin-2-il]acetamida (60 mg, 0,132 mmol) y éster metílico del ácido (1H-indol-3-il)-oxo-acético (40 mg, 0,199 mmol) se destilan azeotrópicamente dos veces con (sic) THF seco y se disuelven luego en THF seco (2 ml). Se añade gota a gota una solución de KOtBu 1,0 M en THF (0,73 ml) durante 2 minutos a TA. La mezcla de reacción se calienta a 50°C durante 1 hora, después de lo cual el análisis por TLC indica la conversión completa de los materiales de partida. La reacción se extingue por adición de agua (5 ml). La mezcla se diluye con EtOAc y se lava dos veces con NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado. Las capas acuosas se extraen de nuevo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas reunidas se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora el disolvente. El residuo se purifica por FCC (EtOAc/ACOH/H<sub>2</sub>O 800:55:45 a 750:83:68 hasta 700:110:90 a 600:150:150) para proporcionar el compuesto del título como su sal acetato. Después de separar azeotrópicamente con MeOH/tolueno, el producto se obtiene como su complejo acetato-metanol. <sup>1</sup>H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 2,10 (s, 3H), 2,10 - 2,22 (m, 4H), 3,47 - 3,52 (m, 4H), 6,58 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 6,73 - 6,76 (m, 1H), 7,02 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,04 - 7,08 (ni, 1H), 7,40 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 7,84 (d, J = 10,0, 1H), 8,03 (s, 1H); ES-MS: 456,5 [M+H]<sup>+</sup>.

20

25

La 2-[6-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-piridin-2-il]-acetamida utilizada como material de partida se prepara como sigue:

30 a) Éster terc-butílico del ácido (6-cloro-3-trifluorometil-piridin-2-il)-acético y éster terc-butílico del ácido (6-cloro-5-trifluorometil-piridin-2-il)-acético

Se disuelve 1,1,1,3,3,3-hexametil-disilazano (33,4 ml, 154 mmol) en tolueno (180 ml). La solución se desgasifica por 3 ciclos de aplicación breve de un vacío elevado, y purga posterior con argón. Después de enfriar la solución a -78°C, se añade gota a gota n-BuLi (96 ml de una solución 1,6 M en hexano, 154 mmol) durante 20 minutos. La suspensión se agita durante 15 minutos a -78°C y durante 15 minutos a TA, después de lo cual se obtiene una solución de color amarillo claro. Se ponen complejo paladio(0)-dibencilidenoacetona (1,69 g, 1,85 mmol) y (2'-

35

5 diciclohexilfosfanil-bifenil-2-il)-dimetil-amina (1,53 g, 3,88 mmol) en atmósfera de argón en un segundo matraz. A TA, la solución toluénica de la hexametildisilazida de litio se introduce mediante una cánula en el matraz que contiene la mezcla complejo de paladio(0)-ligando y se agita a TA durante 10 minutos. Después de enfriar a -10°C, se añade gota a gota éster terc-butílico del ácido acético (19,0 ml, 142 mmol) durante 5 minutos. Después de agitar durante 10 minutos a -10°C, se añade en una sola porción 2,6-dicloro-3-trifluorometil-piridina (13,3 g, 61,58 mmol). Por aplicación de calentamiento suave, la mezcla de reacción se calienta a 20°C en el transcurso de 3 minutos después de la adición del material de partida. La temperatura de reacción se eleva luego gradualmente hasta aproximadamente 50°C. Después de 15 minutos, el análisis TLC indica el consumo completo de la 2,6-dicloro-3-trifluorometil-piridina de partida. La reacción se extingue por adición de agua (100 ml) y agitación durante 10 minutos. Se añade EtOAc (250 ml), y la suspensión turbia se filtra a través de un taco de Celita. La capa orgánica se lava dos veces con agua (se extrae de nuevo), se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra. La purificación por FCC (tolueno/EtOAc 100:0, 99:1, 98:2, 97:3, 96:4 y 8:2) proporciona 10,15 g (56%) de una mezcla 1:2,5 de éster terc-butílico del ácido (6-cloro-3-trifluorometil-piridin-2-il)-acético y éster terc-butílico del ácido (6-cloro-5-trifluorometil-piridin-2-il)-acético regioisómeros. Datos analíticos para el éster terc-butílico del ácido (6-cloro-3-trifluorometil-piridin-2-il)-acético: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1,56 (s, 9H), 3,89 (s, 2H), 7,47 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 8,04 (d, J = 8,9 Hz, 1H); ES-MS: 296,3 [M+H]<sup>+</sup>.

b) (Éster etílico del ácido (6-cloro-3-trifluorometil-piridin-2-il)-acético

20 Una mezcla 1:2,5 de éster terc-butílico del ácido (6-cloro-3-trifluorometil-piridin-2-il)-acético y éster terc-butílico del ácido (6-cloro-5-trifluorometil-piridin-2-il)-acético (semi-bruto; 10,15 g, 34,33 mmol) se disuelve en EtOH (100 ml) saturado previamente a 0°C con HCl gaseoso. La solución se calienta a 90°C. Después de 30 minutos a 90°C, el análisis TLC indica la conversión completa del material de partida. El disolvente se evapora completamente. El producto bruto de la reacción se disuelve en EtOAc, se lava una sola vez con NaHCO<sub>3</sub> acuoso concentrado y una vez con agua (se extrae nuevamente con EtOAc). La capa orgánica se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra. La purificación cuidadosa por FCC (hexanos/EtOAc 100:0, 97:3, 95:5, 9:1, 85:15, 8:2 a 7:3) separa los dos compuestos regioisómeros, éster terc-butílico del ácido (6-cloro-3-trifluorometil-piridin-2-il)-acético y éster etílico del ácido (6-cloro-5-trifluorometil-piridin-2-il)-acético. Datos analíticos para el éster etílico del ácido (6-cloro-3-trifluorometil-piridin-2-il)-acético: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1,28 (t, J = 6,7 Hz, 3H), 3,95 (s, 2H), 4,12 (q, J = 6,7 Hz, 2H), 7,32 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 7,85 (d, J = 8,9 Hz, 1H); ES-MS: 268,2 [M+H]<sup>+</sup>.

c) Éster etílico del ácido [6-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-piridin-2-il]acético

30 Se añaden éster etílico del ácido (6-cloro-3-trifluorometil-piridin-2-il)-acético (700 mg, 2,62 mmol), acetato de paladio(II) (47 mg, 0,21 mmol) y rac-2,2'-bis-difenilfosfanil-[1,1']binaftaleno (65 mg, 0,10 mmol) se añade a terc-butóxido de sodio, que se ha secado durante 15 minutos a 60°C a alto vacío (277 mg, 2,88 mmol). Esta mezcla se suspende en dioxano (9 ml, desgasificado 3 veces a alto vacío y purgado con argón), y se añade N-metil-piperazina (288 mg, 2,88 mmol). El matraz que contiene esta suspensión se sumerge en un baño de aceite precalentado (85°C). Después de 15 minutos a 85°C, el análisis TLC indica el consumo completo de los materiales de partida. La mezcla de reacción se enfría a TA y se vierte con agitación en una mezcla de NH<sub>4</sub>Cl acuoso concentrado (100 ml) y EtOAc (100 ml). La capa acuosa se extrae con EtOAc. La capa orgánica se lava luego una sola vez con NH<sub>4</sub>Cl acuoso concentrado, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra. La purificación por FCC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100:0 a 98:2 a 97:3 a 96:4 a 95:5 a 8:2) proporciona el compuesto del título. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1,30 (1, J = 7,8 Hz, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,50 - 2,57 (m, 4H), 3,32 - 3,39 (m, 4H), 3,76 (s, 2H), 4,20 (q, J = 7,8 Hz, 2H), 6,90 (d, J = 8,9 Hz, 1 H), 7,79 (d, J = 8,9 Hz, 1 H); ES-MS: 332,5 [M+H]<sup>+</sup>.

45 d) Éster etílico del ácido [6-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluorometil-piridin-2-il]-acético (493 mg, 1,49 mmol) y formamida (224 mg, 4,98 mmol) se disuelven en una atmósfera de argón en DMF (2,5 ml). La solución se calienta a 105°C, y se añade gota a gota NaOMe (0,28 ml de una solución 5,4 M en MeOH, 1,49 mmol) durante 30 minutos. Después de 10 minutos adicionales a 105°C, el análisis TLC indica el consumo completo de los materiales de partida. La mezcla de reacción se enfría a TA, se diluye con agua y se extrae con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Las capas orgánicas se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La eliminación del disolvente y el secado a alto vacío proporciona un producto bruto, que se purifica por FCC (EtOAc/AcOH/H<sub>2</sub>O 700:110:90 a 650:130:120 a 600:150:150 a 500:200:200) para proporcionar el compuesto del título como su sal acetato. <sup>1</sup>H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 2,20 (s, 3H), 2,34 - 2,38 (m, 4H), 3,55 (s, 2H), 3,55 3,58 (m, 4H), 8,78 (d, J = 10,6 Hz, 1H), 6,92 (br s, 1H), 7,32 (br s, 1H), 7,71 (d, J = 10,6 Hz, 1H); ES-MS: 303,5 [M+H]<sup>+</sup>.

50 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo de Referencia 1, pero utilizando los materiales de partida apropiados, pueden obtenerse los compuestos de fórmula A en donde R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>5</sub> a R<sub>7</sub> son como se indica en la Tabla 1 siguiente.

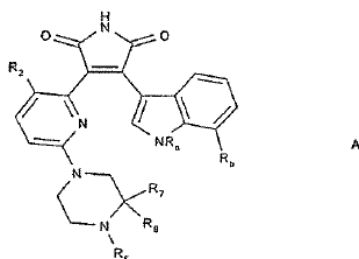
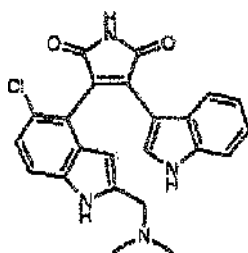


Tabla 1

Ejemplo de Referencia	R <sub>a</sub>	R <sub>b</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	Datos M.S.
2	H	CH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 470
3	H	Cl	CF <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 490
4	H	H	CF <sub>3</sub>	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		MH <sup>+</sup> 468
5	H	CH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		MH <sup>+</sup> 482
6	H	CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -		MH <sup>+</sup> 496
7	H	CH <sub>3</sub>	F	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 420
8	H	H	F	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 406
9	H	CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	F	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 434
10	H	H	Cl	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 422
11	H	CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	Cl	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 450
12	H	CH <sub>3</sub>	Cl	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 436
13	CH <sub>3</sub>	H	F	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 420
14	H	Cl	F	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 440
15	H	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 402
16	H	H	H	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 388
17	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 416
18	H	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 402
19	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 416
20	H	CH <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 447
21	CH <sub>3</sub>	H	NO <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 447
22	H	H	NO <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 433
23	CH <sub>3</sub>	H	NH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 417

24	H	CH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 417
25	H	H	NH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 403
26	H	H	CN	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 413
27	H	CH <sub>3</sub>	CN	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 427
28	CH <sub>3</sub>	H	CN	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 427

**Ejemplo 29: 3-(5-Cloro-2-dimetilaminometil-1H-indol-4-il)-4-(1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona**



5 2-(5-Cloro-2-dimetilaminometil-1H-indol-4-il)-acetamida (50 mg, 0,19 mmol) y éster metílico del ácido (1H-indol-3-il)-oxo-acético (57 mg, 0,28 mmol) se disuelven en atmósfera de argón en 3 ml de THF seco. Se añaden tamices moleculares (3 Å, 100 mg). Se añade gota a gota una solución de KOtBu 1,0 M en THF (0,57 ml) a TA durante un periodo de 1 minuto. Después de una hora, el análisis TLC indica el consumo completo de los materiales de partida. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó dos veces con NH<sub>4</sub> acuoso saturado y una sola vez con NaCl acuoso saturado. Las capas acuosas se extraen una vez más con EtOAc. Las capas orgánicas reunidas se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el disolvente se evapora para dar un rendimiento cuantitativo de 4-(5-cloro-2-dimetilaminometil-1H-indol-4-il)-3-hidroxi-3-(1H-indol-3-il)-piridina-2,5-diona bruta. Este producto se disuelve en DMF seca (4 ml) en atmósfera de argón, y se añade DBU (141 µl, 0,94 mmol) a TA. El matraz de reacción se sumerge luego en un baño de aceite precalentado a 120°C durante 10 minutos. El análisis TLC indica la conversión completa del material de partida. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se lava con NaCl acuoso saturado. La capa orgánica se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora el disolvente. El residuo se purifica por FCC (EtOAc/AcOH/H<sub>2</sub>O 700:110:90 para proporcionar el compuesto del título como su sal acetato. <sup>1</sup>H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 1,96 (s, 6H), 3,30 - 3,42 (m, 2H), 5,86 (s, 1H), 6,38 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,51 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 6,94 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,32 (d, 8,4 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,98 (s, 1H), 11,3 (s, 1H), 12,0 (br s, 2H); ES-MS: 419,1 [M+H]<sup>+</sup>.

20 La 2-(5-cloro-2-dimetilaminometil-1H-indol-4-il)-acetamida utilizada como material de partida puede prepararse como sigue:

a) 5-Cloro-2-metil-4-nitro-1H-indol

25 Se disuelve 4-cloro-3-nitroanilina (10,0 g, 57,9 mmol) en DMSO (130 ml). Se añaden acetona (8,52 ml, 115,9 mmol) y terc-butilato de potasio (13,0 g, 115,9 mmol). La temperatura se mantiene por debajo de 30°C utilizando un baño de hielo. Después de 90 minutos a TA, el análisis TLC indicó la conversión completa del material de partida. La mezcla de reacción se vierte en agua, se acidifica con HCl acuoso 2 M, y se extrae luego con EtOAc. La capa orgánica se lava con solución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra. La purificación por FCC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) proporciona un sólido de color ligeramente pardusco que, por análisis <sup>1</sup>H-NMR es una mezcla aproximadamente 1:1 del compuesto deseado del título y el derivado desclorado correspondiente. La purificación cuidadosa por HPLC preparativa proporciona el compuesto del título. <sup>1</sup>H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 2,50 (s, 3H), 6,40 (s, 1H), 7,26 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,61 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 11,8 (s, 1H); ES-MS: 209 [M-H]<sup>-</sup>.

b) Ester metílico del ácido 5-cloro-2-metil-4-nitro-indol-1-carboxílico

35 Se disuelve 5-cloro-2-metil-4-nitro-1H-indol (1,62 g, 7,69 mmol) en atmósfera de argón en DMF seca (30 ml). Después de adición de una suspensión de NaH (60% en aceite mineral, 369 mg, 9,22 mmol) la mezcla se agita durante 1 hora a TA. Se añade lentamente cloroformato de metilo (0,72 ml, 9,22 mmol) durante 10 minutos, y la mezcla de reacción se agita a TA durante 1 hora para formar una suspensión amarillenta. Después de filtración y secado, se obtiene el compuesto del título en forma pura. <sup>1</sup>H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 2,53 (s, 3H), 4,06 (s, 3H), 6,71 (s, 1H), 7,57 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 8,30 (d, J = 9,0 Hz, 1H); ES-MS: 268 [M+H]<sup>+</sup>.

c) Ester metílico del ácido 4-amino-5-cloro-2-metil-indol-1-carboxílico

40 Se disuelve éster metílico del ácido 5-cloro-2-metil-4-nitro-indol-1-carboxílico (2,1 g, 7,89 mmol) en etanol (40 ml) y ácido acético glacial (40 ml). Se añade hierro en polvo (1,74 g, 31,26 mmol, activado previamente con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. y

lavado luego con agua), y la mezcla de reacción se calienta a 85°C durante 90 minutos. Se vierte la mezcla de reacción en agua y se agita a TA durante 30 minutos, después de lo cual se forma un precipitado de color ligeramente pardusco que se separa por filtración. Después de lavado con agua y secado, se obtiene el compuesto del título en forma pura. <sup>1</sup>H NMR (DMSO, 400 MHz, 120 °C) δ 2,51 (s, 3H), 4,05 (s, 3H), 5,0 - 5,2 (br s, 2H), 6,66 (s, 1H), 7,05 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,31 (d, J = 9 Hz, 1H); ES-MS: 238 [M+H]<sup>+</sup>.

d) Ester metílico del ácido 4-bromo-5-cloro-2-metil-indol-1-carboxílico

Se suspende éster metílico del ácido 4-amino-5-cloro-2-metil-indol-1-carboxílico (2,04 g, 8,54 mmol) en una solución al 4,8% de HBr en agua (75 ml). Después de enfriar a 0°C, se añade lentamente una solución de nitrito de sodio (1,23 g, 17,94 mmol) en agua (30 ml) durante 20 minutos. Después de 30 minutos a 0°C, se añade la misma lentamente a una solución de bromuro de cobre(I) (25,1 g, 175 mmol) en 48% HBr/H<sub>2</sub>O (75 ml), mientras se mantiene la temperatura por debajo de 5°C. Una vez completada la adición, la suspensión se agita a TA durante 2 horas y luego a 85°C durante 5 minutos. Después de enfriar a TA, se extrae la mezcla con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (95:5, 800 ml). La capa orgánica se lava con solución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra. La purificación por FCC (hexano/EtOAc 4:1) proporciona el compuesto del título. <sup>1</sup>H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 2,61 (s, 3H), 4,03 (s, 3H), 6,56 (s, 3H), 7,46 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,05 (d, J = 9 Hz, 1H); ES-MS: 303 [M+H]<sup>+</sup>.

e) Ester metílico del ácido 5-cloro-4-etoxicarbonilmetil-2-metil-indol-1-carboxílico

Se disuelven éster metílico del ácido 4-bromo-5-cloro-2-metil-indol-1-carboxílico (1,99 g, 6,57 mmol) y éster etílico del ácido tributilestannanil-acético (3,22 g, 8,55 mmol) en DMF seca (55 ml) en atmósfera de argón. Se añaden bromuro de cinc(II) (1,92 g, 8,55 mmol) y diclorobis(tri-*o*-tolilfosfin)-paladio(0) (1,03 g, 1,31 mmol). La mezcla de reacción se calienta a 80°C durante 18 horas. El análisis TLC indica el consumo completo del material de partida. La mezcla de reacción se enfría a TA y se vierte en una solución acuosa saturada de NH<sub>4</sub>Cl. Después de adición de EtOAc (30 ml), la mezcla se filtra a través de un taco de Celita. La capa orgánica se lava con solución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra. El residuo se purifica por FCC (hexano/EtOAc 4:1) para dar el compuesto del título, todavía contaminado con residuos de estaño. La mezcla se disuelve en una mezcla 1:1 de NaOH 1M/EtOAc (200 ml en total) y se agita a TA durante 18 horas. Se separa la capa orgánica, se lava una sola vez con solución acuosa concentrada de NaCl, y se seca luego sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La concentración proporciona un residuo sólido que se purifica por FCC (hexano/EtOAc 4:1) para proporcionar el compuesto deseado, ligeramente contaminado todavía. Una cuarta tanda de purificación con un sistema automático de HPLC preparativa (Gilson HPLC, Xterra 5 micrómetros, gradiente 10% a 100% MeCN en H<sub>2</sub>O, 30 min) proporciona el compuesto del título puro. <sup>1</sup>H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 1,20 (t, J = 6,6 Hz, 3H), 2,59 (s, 3H), 4,01 (s, 2H), 4,03 (s, 3H), 4,11 (q, J = 6,6 Hz, 2H), 6,68 (s, 1H), 7,32 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,96 (d, J = 9 Hz, 1H); ES-MS: 332,1 [M+Na]<sup>+</sup>.

f) Ester metílico del ácido 5-cloro-4-etoxicarbonilmetil-2-formil-indol-1-carboxílico

Se disuelve éster metílico del ácido 5-cloro-4-etoxicarbonilmetil-2-metil-indol-1-carboxílico (398 mg, 1,28 mmol) en atmósfera de argón en dioxano (18 ml). Se añade ácido selenioso (331 mg, 2,56 mmol), y la mezcla de reacción se calienta a 100°C durante 18 horas. El análisis TLC indica la conversión completa del material de partida. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en agua. Se lava la capa orgánica con solución acuosa saturada de NaCl, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra. El residuo sólido se purifica por FCC (hexano/EtOAc 2:1) para proporcionar el compuesto del título. <sup>1</sup>H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 1,20 (t, J = 6,6 Hz, 3H), 4,09 (s, 3H), 4,12 (q, J = 6,6 Hz, 2H), 4,19 (s, 2H), 7,64 (d, J = 10,8, 1H), 8,09 (d, J = 10,8, 1H), 10,32 (s, 1H); ES-MS: 346,1,1 [M+Na]<sup>+</sup>.

g) Ester etílico del ácido (5-cloro-2-dimetilaminometil-1H-indol-4-il)-acético

Se disuelve el éster metílico del ácido 5-cloro-4-etoxicarbonilmetil-2-formil-indol-1-carboxílico (350 mg, 1,08 mmol) en THF seco (10 ml) en atmósfera de argón, y se añade dimetilamina (290 µlitros de una solución 5,6M en EtOH, 1,62 mmol) a TA. La mezcla de reacción se agita a TA durante 18 horas. Se añade luego una solución de cianoborohidruro de sodio (82 mg, 1,29 mmol) en metanol (3 ml) y ácido acético (310 µlitros, 5,40 mmol). Se continúa la agitación durante 3 horas a TA. El análisis por TLC indica la conversión completa del material de partida. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en agua. El pH se alcaliniza por la adición de una solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La capa acuosa se extrae con EtOAc, y las capas orgánicas reunidas se lavan una sola vez con solución acuosa concentrada de NaCl. Después de secado sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se elimina el disolvente y el residuo se purifica por FCC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH/NH<sub>3</sub> acuoso 90:9:1) para dar el compuesto del título. <sup>1</sup>H NMR (DMSO, 400 MHz) δ 1,19 (t, J = 6,6 Hz, 3H), 2,20 (s, 6H), 3,55 (s, 2H), 3,97 (s, 2H), 4,11 (q, J = 6,6 Hz, 2H), 6,38 (s, 1H), 7,08 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,26 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 11,2 (br s, 1H); ES-MS: 293,2 [M+H]<sup>+</sup>.

h) Se disuelven éster etílico del ácido (5-cloro-2-dimetilaminometil-1H-indol-4-il)-acético (187 mg, 0,63 mmol) y formamida (84 µlitros, 2,12 mmol) en atmósfera de argón en DMF seca (1,5 ml). La solución se calienta a 105°C, y se añade gota a gota NaOMe (118 µlitros de una solución 5,4M en MeOH, 0,63 mmol) durante 10 minutos. Después de 1 hora a 105°C, el análisis por TLC indica el consumo completo del material de partida. La mezcla de reacción se



enfria a TA, se diluye con agua y se ajusta el valor de pH a 7 por adición de NaHSO<sub>4</sub> acuoso 1M. Se concentra la mezcla, y el residuo sólido se purifica por FCC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH/NH<sub>3</sub> acuoso 70:27:3) para proporcionar el compuesto del título. ES-MS: 266,7 [M+H]<sup>+</sup>.

5 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 29, pero utilizando los materiales de partida apropiados, pueden prepararse los compuestos de fórmula B, en donde R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub> y R<sub>4</sub> son como se indica en la Tabla 2.

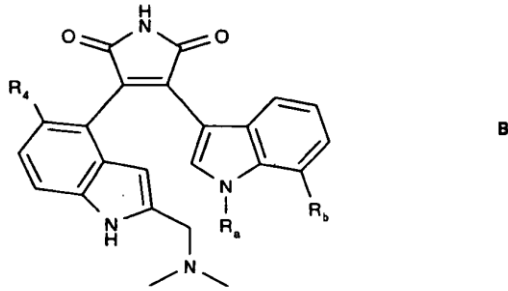


Tabla 2

Ejemplo	R <sub>a</sub>	R <sub>b</sub>	R <sub>4</sub>	Datos M.S.
30	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Cl	MH <sup>+</sup> 447
31	i-Pr	H	Cl	MH <sup>+</sup> 461
32	CH <sub>3</sub>	H	Cl	MH <sup>+</sup> 433
33	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	MH <sup>+</sup> 427
34	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	MH <sup>+</sup> 413
35	H	H	CH <sub>3</sub>	MH <sup>+</sup> 399
36	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	MH <sup>+</sup> 413
37	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	MH <sup>+</sup> 413
38	H	CH <sub>3</sub>	H	MH <sup>+</sup> 399
39	CH <sub>3</sub>	H	H	MH <sup>+</sup> 399
40	H	H	H	MH <sup>+</sup> 385
41	H	CH <sub>3</sub>	Cl	MH <sup>+</sup> 434
42	H	CH <sub>3</sub>	F	MH <sup>+</sup> 417
43	H	H	F	MH <sup>+</sup> 403
44	CH <sub>3</sub>	H	F	MH <sup>+</sup> 417

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 29, pero utilizando los materiales de partida apropiados, pueden prepararse los compuestos de fórmula C, en donde R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>8</sub> son como se indica en la Tabla 3.

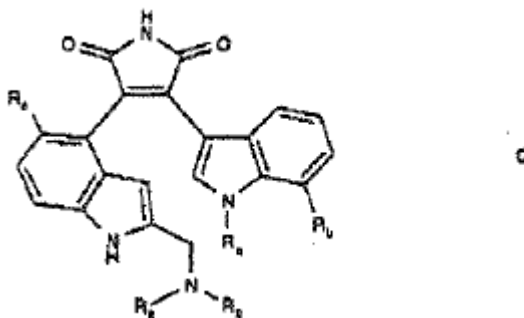


Tabla 3

Ejemplo	R <sub>a</sub>	R <sub>b</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>9</sub>	Datos M.S.
45	H	H	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -cyclopropil	MH <sup>+</sup> 446
46	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -cyclopropil	MH <sup>+</sup> 460
47	H	H	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -cyclopropil	MH <sup>+</sup> 460
48	H	CH <sub>3</sub>	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -cyclopropil	MH <sup>+</sup> 474
49	CH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -cyclopropil	MH <sup>+</sup> 426
50	H	H	H	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -cyclopropil	MH <sup>+</sup> 411
51	CH <sub>3</sub>	H	H	H	-CH <sub>2</sub> -cyclopropil	MH <sup>+</sup> 411
52	H	H	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> F	MH <sup>+</sup> 438
53	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> F	MH <sup>+</sup> 452
54	H	H	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OCH <sub>3</sub>	MH <sup>+</sup> 450
55	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OCH <sub>3</sub>	MH <sup>+</sup> 464
56	H	H	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OCH <sub>3</sub>	MH <sup>+</sup> 464
57	H	CH <sub>3</sub>	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OCH <sub>3</sub>	MH <sup>+</sup> 478
58	H	H	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>	MH <sup>+</sup> 432
59	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>	MH <sup>+</sup> 446
60	H	H	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>	MH <sup>+</sup> 460
61	H	CH <sub>3</sub>	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>	MH <sup>+</sup> 474
62	H	H	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	MH <sup>+</sup> 463
63	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	MH <sup>+</sup> 477
64	CH <sub>3</sub>	H	H	H	fenil	MH <sup>+</sup> 462
65	CH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	fenil	MH <sup>+</sup> 476
66	H	CH <sub>3</sub>	Cl		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	MH <sup>+</sup> 489
67	CH <sub>3</sub>	H	Cl		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	MH <sup>+</sup> 489
68	H	H	Cl		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	MH <sup>+</sup> 475

Los compuestos de la Fórmula I en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable exhiben propiedades farmacológicas valiosas, v.g. inhibición de la actividad de la proteína-quinasa C (PKC), v.g. isoformas PKC como  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$  o  $\theta$ , inhibición de la activación y proliferación de las células T, v.g. por inhibición de la producción por las células T o citoquinas, v.g. IL-2, por inhibición de la respuesta proliferativa de células T a las citoquinas, v.g. IL-2, v.g. como se indica en tests in vitro e in vivo, y están indicados por tanto para terapia.

#### A. In vitro

##### 1. Ensayo de la Proteína-Quinasa C

Los compuestos de fórmula I se testan respecto a su actividad sobre diferentes isoformas de PKC de acuerdo con un método publicado (D. Geiges et al., Biochem. Pharmacol. 1997; 53: 865-875). El ensayo se realiza en una placa de microtitulación de polipropileno con 96 pocillos (Costar 3794) que se ha siliconizado previamente con Sigmacote (Sigma SL-2). La mezcla de reacción (50  $\mu$ l) contiene 10  $\mu$ l de la isoforma PKC relevante junto con 25  $\mu$ l del compuesto de test y 15  $\mu$ l de una solución de mezcla que contiene 200  $\mu$ g/ml de sulfato de protamina, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 10 mM, ATP 10  $\mu$ M (Boehringer 519987) y 3750 Bq de <sup>33</sup>P-ATP (Hartmann Analytic SFC301, 110TBq/mmol) en tampón Tris 20 mM de pH 7,4 + 0,1% de BSA. Se realiza una incubación durante 15 min a 32°C en una incubadora de sacudidas de placas de microtitulación (Biolabo Scientific Instruments). La reacción se para por adición de 10  $\mu$ l de Na<sub>2</sub>EDTA 0,5M, pH 7,4. Se pipetea 50  $\mu$ l de la mezcla sobre un papel de fosfo celulosa pre-humedecido (Whatman 3698-915) bajo una presión suave. El ATP no incorporado se elimina por lavado con 100  $\mu$ l de agua bidestilada. El papel se lava dos veces en H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 0,5% durante 15 min, seguido por 5 min en EtOH. Después de ello, se seca el papel y se pone en un Omnifilter (Packard 6005219), y se recubre con 10  $\mu$ l/pocillo de Microscint-O (Packard

6013611) antes de someterlo a recuento en un contador de radiactividad Topcount (Packard). La medida de  $CI_{50}$  se realiza sobre una base rutinaria por incubación de una dilución en serie del inhibidor a concentraciones comprendidas entre 1 y 1000  $\mu M$  de acuerdo con el método descrito arriba. Se calculan los valores  $CI_{50}$  a partir de la gráfica por ajuste sigmoidal de curvas.

5 2. Ensayo de la Proteína-Quinasa C  $\theta$

Se utiliza PKC $\theta$  humana recombinante en las condiciones de ensayo que se han descrito arriba. En este ensayo, los compuestos de fórmula I inhiben la PKC  $\theta$  con un valor  $CI_{50} \leq 1 \mu M$ . Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo de Referencia 1 inhibe la PKC  $\theta$  con un valor  $CI_{50}$  de 5,4 nM, el compuesto del Ejemplo de Referencia 10 con un  $CI_{50}$  de 5,8 nM y el compuesto del Ejemplo 41 inhibe la PKC  $\theta$  con un valor  $CI_{50}$  de 9,3 nM.

10 3. Ensayo de la Proteína-Quinasa C $\alpha$

Se obtuvo PKC $\alpha$  humana recombinante de Oxford Biomedical Research y se utiliza en las condiciones de ensayo que se han descrito en la Sección A.1 anterior. En este ensayo, los compuestos de fórmula I inhiben la PKC $\alpha$  con una  $CI_{50} \leq 1 \mu M$ . En este ensayo, el compuesto del Ejemplo de Referencia 1 inhibe la PKC $\alpha$  con una  $CI_{50}$  de 2,9 nM, el compuesto del Ejemplo 39 inhibe la PKC $\alpha$  con una  $CI_{50}$  de 6,3 nM y el compuesto del Ejemplo 41 inhibe la PKC $\alpha$  con una  $CI_{50}$  de 7,5 nM.

15

4. Ensayo de la Proteína-Quinasa C $\beta$ 1

Se obtuvo PKC $\beta$ 1 humana recombinante de Oxford Biomedical Search y se utiliza en las condiciones de ensayo descritas en la Sección A.1 anterior. En este ensayo, los compuestos de fórmula I inhiben la PKC $\beta$ 1 con una  $CI_{50} \leq 1 \mu M$ . Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo de Referencia 1 inhibe la PKC $\beta$ 1 con una  $CI_{50}$  de 5,9 nM, el compuesto del Ejemplo 39 inhibe la PKC $\beta$ 1 con una  $CI_{50}$  de 13,2 nM y el compuesto del Ejemplo 41 inhibe la PKC $\beta$ 1 con una  $CI_{50}$  de 14,9 nM.

20

5. Ensayo de la Proteína-Quinasa C $\delta$

Se obtuvo PKC $\delta$  humana recombinante de Oxford Biomedical Search y se utiliza en las condiciones de ensayo descritas en la Sección A.1 anterior. En este ensayo, los compuestos de fórmula I inhiben la PKC $\delta$  con una  $CI_{50} \leq 1 \mu M$ . Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo de Referencia 1 inhibe la PKC $\delta$  con una  $CI_{50}$  de 21,0 nM y el compuesto del Ejemplo 41 inhibe la PKC $\delta$  con una  $CI_{50}$  de 29,5 nM.

25

6. Ensayo de la Proteína-Quinasa C $\epsilon$

Se obtuvo PKC $\epsilon$  humana recombinante de Oxford Biomedical Search y se utiliza en las condiciones de ensayo descritas en la Sección A.1 anterior. En este ensayo, los compuestos de fórmula I inhiben la PKC $\epsilon$  con una  $CI_{50} \leq 1 \mu M$ . Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo de Referencia 1 inhibe la PKC $\delta$  (sic) con una  $CI_{50}$  de 14,7 nM y el compuesto del Ejemplo 41 inhibe la PKC $\delta$  (sic) con una  $CI_{50}$  de 7,6 nM.

30

7. Ensayo de la Proteína-Quinasa C $\eta$

Se obtuvo PKC $\eta$  humana recombinante de PanVera y se utiliza en las condiciones de ensayo descritas en la Sección A.1 anterior. En este ensayo, los compuestos de fórmula I inhiben la PKC $\eta$  con una  $CI_{50} \leq 1 \mu M$ . Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo de Referencia 1 inhibe la PKC $\eta$  con una  $CI_{50}$  de 15,3 nM y el compuesto del Ejemplo 41 inhibe la PKC $\eta$  con una  $CI_{50}$  de 15,0 nM.

35

8. Ensayo de coestimulación de CD28

El ensayo se realiza con células Jurkat transfectadas con un constructo génico promotor/informador de interleuquina-2 humana como ha sido descrito por Baumann G et al. en Transplant. Proc. 1992; 24: 43-8, reemplazándose el gen informador de  $\beta$ -galactosidasa por el gen de luciferasa (de Wet J., et al., Mol. Cell. Biol. 1987, 7(2), 725-737). Las células se estimulan por anticuerpos acoplados en fase o miristato-acetato de forbol (PMA) y el ionóforo de  $Ca^{++}$  ionomicona como sigue. Para la estimulación mediada por anticuerpos, se recubren placas de microtitulación Microlite TM1 (Dynatech) con 3  $\mu g/ml$  de anticuerpos IgG Fc anti-ratón de cabra (Jackson) en 55  $\mu l$  de solución salina tamponada con fosfato (PBS) por pocillo durante 3 horas a TA. Las placas se bloquean después de la separación de los anticuerpos por incubación con sero-albúmina bovina (BSA) al 2% en PBS (300  $\mu l$  por pocillo) durante 2 horas a TA. Después de lavado 3 veces con 300  $\mu l$  de PBS por pocillo, se añaden 10 ng/ml de anticuerpos anti-receptores de células T (WT31, Becton & Dickinson) y 300 ng/ml de anticuerpos anti-CD28 (15E8) en 50  $\mu l$  de BSA/PBS al 2% como anticuerpos estimulantes, y se incuba durante una noche a 4°C. Finalmente, se lavan las placas tres veces con 300  $\mu l$  de PBS por pocillo. Se preparan siete diluciones seriadas al triple de los compuestos de

40

45

test por duplicado en medio de ensayo (RPMI 1640/suero de ternero fetal (FCS) al 10% que contiene 2-mercaptoetanol 50  $\mu\text{M}$ , 100 unidades/ml de penicilina y 100  $\mu\text{g/ml}$  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  $\text{CO}_2$ . Se transfieren luego 100  $\mu\text{l}$  de esta mezcla que contiene  $1 \times 10^5$  células a las placas de ensayo recubiertas con anticuerpo. En paralelo, se incuban 100  $\mu\text{l}$  con 40 ng/ml de PMA y ionomicina 2  $\mu\text{M}$ . Después de incubación durante 5,5 horas a 37°C en 5% de  $\text{CO}_2$ , se determina el nivel de luciferasa por medida de bioluminiscencia. Las placas se centrifugan durante 10 min a 500 g y el sobrenadante se separa por decantación. Se añade tampón de lisis que contiene Tris-fosfato 25 mM, pH 7,8, DTT 2 mM, ácido 1,2-diaminociclohexano-N,N',N'-tetraacético 2 mM, 10% (v/v) de glicerol y 1% (v/v) de Triton X-100 (20  $\mu\text{l}$  por pocillo). Se incuban las placas a TA durante 10 minutos bajo sacudida constante. Se evalúa la actividad de luciferasa con un lector de bioluminiscencia (LabSystem, Helsinki, Finlandia) después de adición automática de 50  $\mu\text{l}$  por pocillo de tampón de reacción de luciferasa que contiene Tricina 20 mM,  $(\text{MgCO}_3)_4\text{Mg}(\text{OH}_2)\text{x}5\text{H}_2\text{O}$  1,07 mM,  $\text{MgSO}_4$  2,67 mM, EDTA 0,1 mM, DTT 33,3 mM, coenzima A 270 mM, luciferina 470  $\mu\text{M}$  (Chemie Brunschwig AG), ATP 530  $\mu\text{M}$ , pH 7,8. El tiempo de retardo es 0,5 segundos, y el tiempo total de medición es 1 ó 2 segundos. Los valores de control bajo son unidades de luz de células estimuladas con receptor anti-células T o con PMA, y los controles altos corresponden a células estimuladas con anti-receptor de células T/anti-CD28 o con PMA/ionomicina, sin muestra de test alguna. Los controles bajos se sustraen de todos los valores. La inhibición obtenida en presencia de un compuesto de test se calcula como porcentaje de inhibición del control alto. La concentración de compuestos de test que da como resultado 50% de inhibición ( $\text{CI}_{50}$ ) se determina a partir de las curvas dosis-respuesta. En este ensayo, los compuestos de fórmula I inhiben las células Jurkat estimuladas con anti-receptor de células T/anti-CD28 y con PMA/ionomicina con un valor  $\text{CI}_{50} \leq 1 \mu\text{M}$ .

Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo de Referencia 1 tiene una  $\text{CI}_{50}$  de 13,0 nM, el compuesto del Ejemplo 39 tiene una  $\text{CI}_{50}$  de 46,7 nM y el compuesto del Ejemplo 41 tiene una  $\text{CI}_{50}$  de 28,3 nM.

#### 9. Reacción de los Linfocitos Alogénicos Mixtos (MLR)

La MLR de dos vías se realiza de acuerdo con procedimientos estándar (J. Immunol. Methods, 1973, 2, 279 y Meo T. et al., Immunological Methods, Nueva York, Academic Press, 1979, 227-39). Resumidamente, células de bazo de ratones CBA y BALB/c ( $1,6 \times 10^5$  células de cada variedad por pocillo en placas de microtitulación de cultivo de tejidos con fondo plano,  $3,2 \times 10^5$  en total) se incuban en medio RPMI que contiene 10% FCS, 100 U/ml penicilina, 100  $\mu\text{g/ml}$  estreptomina (Gibco BRL, Basilea, Suiza), 50  $\mu\text{M}$  2-mercaptoetanol (Fluka, Buchs, Suiza) y compuestos diluidos en serie. Se realizan 7 pasos de dilución al triple por duplicado para cada compuesto de ensayo. Después de 4 días de incubación se añade 1  $\mu\text{Ci}$   $^3\text{H}$ -timidina. Las células se cosechan después de un periodo de incubación adicional de 5 horas, y la  $^3\text{H}$ -timidina incorporada se determina de acuerdo con procedimientos estándar. Los valores de ruido de fondo (control bajo) de la MLR son la proliferación de células BALB/c solas. Los controles bajos se sustraen de todos los valores. Los controles altos sin muestra alguna se toman como 100% de proliferación. Se calcula la inhibición porcentual por las muestras, y se determinan las concentraciones requeridas para 50% de inhibición (valores  $\text{CI}_{50}$ ). Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo de Referencia 1 tiene una  $\text{CI}_{50}$  de 28,8 nM, el compuesto del Ejemplo 39 tiene una  $\text{CI}_{50}$  de 285 nM, y el compuesto del Ejemplo 41 tiene una  $\text{CI}_{50}$  de 32,5 nM.

#### 10. Inhibición de GSK-3 $\beta$

El ensayo de fijación de GSK-3 $\beta$  se realiza en reacciones de 50  $\mu\text{l}$  en placas de polipropileno de 96 pocillos, conteniendo cada reacción 20 mM cloruro de magnesio, 40  $\mu\text{M}$  ATP, 2 mM DTT, 88,5  $\mu\text{M}$  sustrato CREB-péptido biotinilado y fosforilado ((biotin-KRREILSRPS( $\text{PO}_4$ ))YOH; Q. M. Wang et al., J. Biol. Chem. 269, 14566-14574, 1994),  $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{ATP}$  (1  $\mu\text{Ci}$ ) y 2  $\mu\text{l}$  del compuesto a testar en DMSO (diversas concentraciones). Se añaden 15  $\mu\text{l}$  de GSK-3 $\beta$  (diversas concentraciones) y la mezcla se incuba a 30°C durante 1 hora. La reacción se para por transferencia de 25  $\mu\text{l}$  de la mezcla a una placa de fosfoceulosa que contiene 130  $\mu\text{l}$  del ácido fosfórico al 1,85%. Los radionucleótidos libres en la membrana se separan por lavado a vacío con ácido fosfórico al 1,85% (5 veces). Después del último lavado, la placa se transfiere a una placa adaptadora, se añaden 50  $\mu\text{l}$  de cóctel de centelleo (Microscint-20, Packard, Cat. #20-133) a cada pocillo y se somete a recuento la radiactividad en un Topcounter. Los compuestos de fórmula I son activos en este ensayo.

Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo de Referencia 1 tiene una  $\text{CI}_{50}$  de 18 mM, y el compuesto del Ejemplo 41 una  $\text{CI}_{50}$  de 25 mM.

#### 50 B. In vivo

##### Trasplante de corazón de la rata

Combinación de variedades utilizada: Lewis macho (haplotipo  $\text{RT}^1$ ) y BN (haplotipo  $\text{RT}^1$ ). Los animales se anestesian utilizando isofluorano por inhalación. Después de heparinización de la rata donante a través de la vena cava inferior abdominal con desangramiento simultáneo a través de la aorta, se abre el tórax y se enfría rápidamente el corazón. Se liga la aorta y se divide en posición distal a la primera rama y el tronco braquiocéfálico se divide en la

primera bifurcación. La arteria pulmonar izquierda se liga y se divide y el lado derecho se divide pero se deja abierto. Todos los vasos restantes se liberan por disección, se ligan y se dividen, y el corazón donante se aparta en solución salina enfriada con hielo.

5 Se prepara el receptor por disección y pinzamiento cruzado de la aorta y la vena cava abdominal infra-renal. El injerto se implanta con anastomosis terminolateral utilizando sutura monofilamento 10/0, 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 retiran las pinzas, se liga el injerto retroabdominalmente, se lavan los contenidos del abdomen con solución salina templada y se cierra el animal, dejando que se recupere bajo una lámpara calefactora. La supervivencia del injerto se monitoriza por palpación diaria del corazón latiente del donante a través de la pared abdominal. Se considera que el rechazo es completo cuando cesan los latidos cardíacos. Se obtienen aumentos de la supervivencia del injerto en los animales tratados con un compuesto de fórmula I administrado por vía oral a una dosis diaria de 1 a 30 mg/kg, dos veces al día.

#### Modelo de Injerto versus Hospedador

15 Se inyectan subcutáneamente células de bazo ( $2 \times 10^7$ ) de ratas Wistar/F en la planta del pie posterior derecha de ratas híbridas (Wistar/F x Fischer 344) F1. Se deja sin tratar la planta del pie izquierda. Los animales se tratan con los compuestos de test durante 4 días consecutivos (0-3). Los ganglios linfáticos poplíteos se extirpan el día 7, y se determinan las diferencias de peso entre 2 ganglios linfáticos correspondientes. Los resultados se expresan como la inhibición del engrosamiento de los ganglios linfáticos (dado en porcentaje) comparando las diferencias de peso de los ganglios linfáticos en los grupos experimentales con la diferencia de peso entre los ganglios linfáticos correspondiente de un grupo de animales que se han dejado sin tratar con un compuesto de test. En este ensayo, se obtiene una inhibición de 100% con el compuesto de los Ejemplos de Referencia 1 ó 10 cuando se administra a una dosis de 30 ó 10 mg/kg dos veces al día, respectivamente.

25 Los compuestos de fórmula I son, por tanto, útiles en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos mediados por los linfocitos T y/o PKC, v.g. rechazo agudo o crónico de alo- o xenoinjertos de órganos o tejidos, enfermedades de rechazo inverso, aterosclerosis, oclusión vascular debida a lesión vascular tal como angioplastia, restenosis, obesidad, síndrome X, tolerancia deteriorada a la glucosa, síndrome de ovario poliquístico, hipertensión, insuficiencia cardíaca, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedades del CNS tales como enfermedad de Alzheimer o esclerosis amiotrófica lateral, cáncer, enfermedades infecciosas tales como SIDA, choque séptico o síndrome de dificultad respiratoria de los adultos, lesión de isquemia/reperfusión, v.g. infarto de miocardio, derrame cerebral, isquemia intestinal, insuficiencia renal o choque hemorrágico, o choque traumático, v.g. lesión traumática cerebral. Los compuestos de fórmula I son útiles también en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos inflamatorios agudos o crónicos mediados por las células T o enfermedades autoinmunes, v.g. artritis reumatoide, osteoartritis, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia grave, diabetes tipo I o II y los trastornos asociados con ellos, enfermedades respiratorias tales como asma o lesión inflamatoria pulmonar, lesión inflamatoria hepática, lesión inflamatoria glomerular, manifestaciones cutáneas de trastornos o enfermedades mediados inmunológicamente, enfermedades inflamatorias e hiperproliferativas de la piel (tales como psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis alérgica por contacto, dermatitis irritante por contacto y dermatitis eccematosas adicionales, dermatitis seborreica), enfermedades inflamatorias oftálmicas, v.g. síndrome de Sjogren, queratoconjuntivitis o uveítis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa. Para los usos anteriores, la dosis requerida variará por supuesto dependiendo del modo de administración, la afección particular a tratar y el efecto deseado. En general, se indica que se obtienen resultados satisfactorios sistémicamente para dosis diarias comprendidas entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal. Una dosis diaria indicada en los mamíferos de mayor tamaño, v.g. los humanos está comprendida en el intervalo de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 2000 mg, administrados convenientemente, por ejemplo, en dosis divididas hasta 4 veces al día o en forma retardada.

50 Los compuestos de fórmula I pueden administrarse por cualquier ruta convencional, en particular por vía enteral, v.g. oralmente, v.g. en la forma de tabletas o cápsulas, o por vía parenteral, v.g. en forma de soluciones o suspensiones inyectables, tópicamente, v.g. en forma de lociones, geles, ungüentos o cremas, o en forma nasal o de supositorio. Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula I en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con al menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable pueden fabricarse de manera convencional por mezcla con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Las formas unitarias de dosificación para administración oral contienen, por ejemplo, desde aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 500 mg de sustancia activa.

La administración tópica se aplica v.g. a la piel. Una forma adicional de administración tópica es al ojo.

55 Los compuestos de fórmula I pueden administrarse en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, v.g. como se ha indicado arriba. Dichas sales pueden prepararse de manera convencional y exhiben el mismo orden de actividad que los compuestos libres.

De acuerdo con lo que antecede, la presente descripción proporciona adicionalmente:

- 5 1.1 Un método para prevención o tratamiento de trastornos o enfermedades mediados por linfocitos T y/o PKC o GSK-3 $\beta$ , v.g. como se ha indicado arriba, en un individuo que precisa dicho tratamiento, método que comprende administrar a dicho individuo una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 1.2 Un método para prevención o tratamiento del rechazo agudo o crónico de trasplantes o enfermedades inflamatorias o autoinmunes mediadas por las células T, v.g. como se ha indicado arriba, en un individuo que precisa dicho tratamiento, método que comprende administrar a dicho individuo una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10 2. (A modo de realización de la invención) un compuesto de fórmula I, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable para uso como producto farmacéutico, v.g. en cualquiera de los métodos indicados anteriormente en 1.1 y 1.2.
- 15 3. (A modo de realización de la invención) una composición farmacéutica, v.g. para uso en cualquiera de los métodos anteriores de acuerdo con 1.1 y 1.2, que comprende un compuesto de fórmula I en forma libre o forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable del mismo.
4. (A modo de realización de la invención) un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la preparación de una composición farmacéutica para uso en cualquiera de los métodos anteriores como en 1.1 y 1.2.
- 20 Los compuestos de fórmula I pueden administrarse como el único ingrediente activo o junto con otros fármacos en regímenes de inmunomodulación u otros agentes anti-inflamatorios, v.g. para el tratamiento o la prevención del rechazo agudo o crónico de halo- o xenoinjertos o trastornos inflamatorios o autoinmunes. Por ejemplo, los mismos pueden utilizarse en combinación con ciclosporinas, o ascomicinas o sus análogos o derivados inmunosupresores, v.g. ciclosporina A, ISA Tx247, FK-506, ABT-281, ASM 981; un inhibidor de mTOR, v.g. rapamicina, 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina, CCI779, ABT578, o un rapalogo, v.g. AP23573, AP23464, AP23675, AP23841, TAFA-93, biolimus 7 o biolimus 9 etc.; corticosteroides; ciclofosfamida; azatiopreno; metotrexato; un agonista de los receptores EDG que tiene propiedades de aceleración del retorno de los linfocitos, v.g. FTY 720 o un análogo del mismo; leflunomida o análogos de la misma; mizorribina; ácido micofenólico, micofenolato-mofetil; 15-desoxiespergualina o análogos de la misma; anticuerpos monoclonales inmunosupresores, v.g., anticuerpos monoclonales para receptores de leucocitos, v.g. 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, v.g. CD154; u otros compuestos inmunomoduladores, v.g. una molécula recombinante de fijación que tiene al menos una porción del dominio extracelular de CTLA4 o un mutante de la misma, v.g. una porción al menos extracelular de CTLA4 o un mutante de la misma unido a una secuencia de proteína distinta de CTLA4, v.g. CTLA4Ig (por ejemplo, la designada ATCC68629) o un mutante de la misma, v.g. LEA29Y, u otros inhibidores de moléculas de adhesión, v.g. mAbs o inhibidores de bajo peso molecular que incluyen antagonistas de LFA-1, antagonistas de Selectina y antagonistas de VLA-4. Los compuestos de fórmula I pueden administrarse también junto con un fármaco antiproliferativo, v.g. un fármaco quimioterapéutico, v.g. como los utilizados en el tratamiento del cáncer, con inclusión, pero sin carácter limitante, de inhibidores de las aromatasas, antiestrógenos, inhibidores de la topoisomerasa I, inhibidores de la topoisomerasa II, agentes activos de los microtúbulos, agentes alquilantes, inhibidores de la histona-desacetilasa, inhibidores de la farnesil-transferasa, inhibidores COX-2, inhibidores MMP, inhibidores mTOR, antimetabolitos antineoplásicos, compuestos de platino, compuestos que reducen la actividad de proteína-quinasas y compuestos anti-angiogénicos adicionales, agonistas de gonadorrelina, anti-andrógenos, bengamidas, bisfosfonatos, anticuerpos antiproliferativos y temozolomida, o con un fármaco anti-diabético, un secretagogo de insulina o intensificador de la secreción de insulina, v.g. una sulfonil-urea, v.g. tolbutamida, clorpropamida, tolazamida, acetohexamida, 4-cloro-N-[(1-pirrolidinilamino)-carbonil]-bencenosulfonamida (glicopiramida), glibenclamida (gliburida), glicazida, 1-butil-3-metanililurea, carbutamida, glibonurida, glipizida, gliquidona, glisoxepid, glibutiazol, glibuzol, glihexamida, glimidina, glipinamida, fenbutamida o tolliciclamida, un derivado de agente insulínico oral, v.g. un intensificador de la insulina de acción breve, v.g. meglitinida, repaglinida, un derivado del ácido fenilacético, v.g. nateglinida, un inhibidor de DPP IV, v.g. 1-{2-[(5-cianopiridin-2-il)amino]etilamino}acetil-(2S)-ciano-pirrolidina dihidro-cloruro, LAF237, GLP-1 o un análogo agonista de GLP-1, o un sensibilizador de insulina, v.g. un  $\gamma$ -agonista de los receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR $\gamma$ ), v.g. una glitazona, un tipo no-glitazona tal como un análogo de N-(2-benzoilfenil)-L-tirosina, v.g. GI-262570, o una oxolidenodiona, v.g. JTT501, un agonista dual PPAR $\gamma$ /PPAR $\alpha$ , v.g. DRF-554158, NC-2100 o NN-622, un agonista de los receptores del retinoide X, o un retinoide, v.g. ácido 2-[1-(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)-ciclopropil]-piridina-5-carboxílico, ácido 4-[(3,5,5,8,8-pentametil-5,6,7,8-tetrahidro-2-naftil)-2-carbonil]-benzoico, ácido 9-cis-retinoico o un análogo, derivado o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la terapia de la diabetes.

De acuerdo con lo anterior, la presente descripción proporciona en otro aspecto adicional:

5. Un método como se ha definido arriba que comprende co-administración, v.g. de modo concomitante o en secuencia, de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de GSK-3 $\beta$ , PKC o de la activación y proliferación de las células T, v.g. un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y una segunda sustancia fármaco, siendo dicha segunda sustancia fármaco un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, anti-inflamatorio, antiproliferativo o antidiabético, v.g. como se ha indicado arriba.

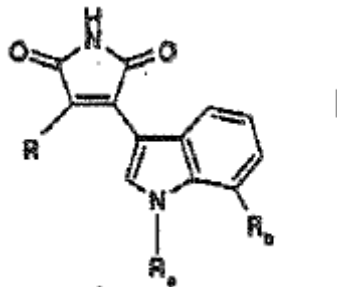
6. (A modo de realización de la invención) una combinación terapéutica, v.g. un kit, que comprende a) un inhibidor de GSK-3 $\beta$ , PKC o de la activación y proliferación de las células T, v.g. un compuesto de fórmula I en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y b) al menos un segundo agente seleccionado de un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, anti-inflamatorio, antiproliferativo y antidiabético. El componente a) y el componente b) pueden utilizarse concomitantemente o en secuencia. El kit puede comprender instrucciones para su administración.

En los casos en que se administra un inhibidor de GSK-3 $\beta$ , PKC o de la activación y proliferación de las células T, v.g. un compuesto de fórmula I, en asociación con otra terapia inmunosupresora/inmunomoduladora, anti-inflamatoria, antiproliferativa o antidiabética, v.g. para la prevención o el tratamiento de trastornos agudos o crónicos de rechazo de injertos o trastornos inflamatorios o autoinmunes como se han especificado anteriormente en esta memoria, las dosis del compuesto inmunosupresor, inmunomodulador, anti-inflamatorio, antiproliferativo o antidiabético co-administrado variarán por supuesto dependiendo del tipo de co-fármaco empleado, v.g. si se trata de un esteroide o una ciclosporina, del fármaco específico empleado, de la condición a tratar, etcétera.

20

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I

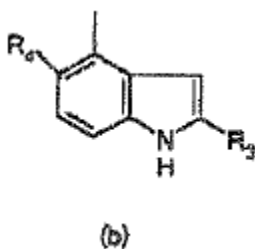


en donde

5 R<sub>a</sub> es H; C<sub>1-4</sub>alquilo; o C<sub>1-4</sub>alquilo sustituido con OH, NH<sub>2</sub>, NHC<sub>1-4</sub>alquilo o N (di-C<sub>1-4</sub>alquilo)<sub>2</sub>;

R<sub>b</sub> es H; halógeno; C<sub>1-6</sub>alquilo; o C<sub>1-6</sub>alcoxi, y

R es un radical de fórmula (b)



en donde

10 R<sub>3</sub> es un radical de fórmula α



en donde X es un enlace directo, O, S o NR<sub>11</sub> en donde R<sub>11</sub> es H o C<sub>1-4</sub> alquilo,

R<sub>c</sub> es C<sub>1-4</sub> alquilenilo o C<sub>1-4</sub> alquilenilo en donde un CH<sub>2</sub> está reemplazado por CR<sub>x</sub>R<sub>y</sub> en donde uno de R<sub>x</sub> y R<sub>y</sub> es H y el otro es CH<sub>3</sub>, cada uno de R<sub>x</sub> y R<sub>y</sub> es CH<sub>3</sub> o R<sub>x</sub> y R<sub>y</sub> forman juntos -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-,

15 e Y es -NR<sub>12</sub>R<sub>13</sub> en donde cada uno de R<sub>12</sub> y R<sub>13</sub>, independientemente, es H, C<sub>3-6</sub> cicloalquilo, C<sub>3-6</sub> cicloalquil-C<sub>1-4</sub> alquilo, fenilo, naftilo, (fenil- o naftil) -C<sub>1-4</sub> alquilo, (piridil- o pirimidinil) -C<sub>1-4</sub> alquilo, C<sub>2-6</sub> alquilenilo o C<sub>1-4</sub> alquilo sustituido opcionalmente en el átomo de carbono terminal con OH, halógeno, C<sub>1-4</sub> alcoxi o -NR<sub>14</sub>R<sub>15</sub> en donde cada uno de R<sub>14</sub> y R<sub>15</sub> es independientemente H, C<sub>1-4</sub> alquilo, C<sub>3-6</sub> cicloalquilo, C<sub>3-6</sub> cicloalquil-C<sub>1-4</sub> alquilo, (fenil- o naftil) C<sub>1-4</sub> alquilo, o R<sub>12</sub> y R<sub>13</sub> forman junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos 1,4-piperazinilo, 2-C<sub>1-4</sub> alquil- o -C<sub>3-6</sub> cicloalquil-1-piperazinilo; 3-C<sub>1-4</sub> alquil- o -C<sub>3-6</sub> cicloalquil-1-piperazinilo; 2,2- o 3,5- o 2,5- o 2,6-di(C<sub>1-4</sub> alquil)-1-piperazinilo; 3,4,5-tri(C<sub>1-4</sub> alquil)-1-piperazinilo; 4-N-(C<sub>1-4</sub> alquil)- o -(ω-hidroxi-C<sub>1-4</sub> alquil)- o -(ω-dimetilamino-C<sub>1-4</sub> alquil)-1-piperazinilo; 4-N-piridin-4-il-1-piperazinilo; 4-N-fenil- o -C<sub>3-6</sub> cicloalquil-1-piperazinilo; 4-N-(C<sub>1-4</sub> alquil)- o -(ω-hidroxi-C<sub>1-4</sub> alquil)-3-C<sub>1-4</sub> alquil- o 3,3-di(C<sub>1-4</sub> alquil)-1-piperazinilo; 4-N-(1-C<sub>1-4</sub> alquil-C<sub>3-6</sub> cicloalquil)-1-piperazinilo; 4-N-formil-1-piperazinilo; 4-N-pirimidin-2-il-1-piperazinilo; y

25 R<sub>4</sub> es H; halógeno; C<sub>1-4</sub>alquilo; C<sub>1-4</sub>alcoxi; CF<sub>3</sub>; nitrilo; nitro o amino,

o una sal del mismo.

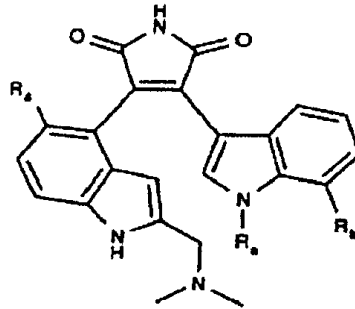
2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde R<sub>a</sub> es H, metilo, etilo, o isopropilo, o una sal del mismo.



3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde R<sub>b</sub> es H, Cl, metilo o etilo, o una sal del mismo.

4. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado del grupo constituido por 3-(5-cloro-2-dimetilaminometil-1H-indol-4-il)-4-(1H-indol-3-il)pirrol-2,5-diona,

un compuesto de fórmula B,

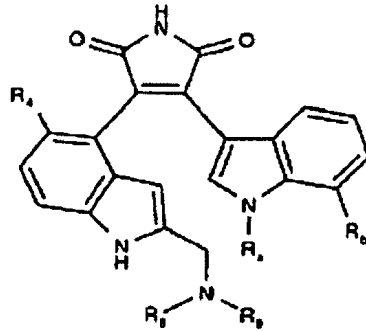


5

en donde R<sub>4</sub>, R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub> son como se indica en la siguiente tabla:

Compuesto	R <sub>a</sub>	R <sub>b</sub>	R <sub>4</sub>
30	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Cl
31	i-Pr	H	Cl
32	CH <sub>3</sub>	H	Cl
33	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
34	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
35	H	H	CH <sub>3</sub>
36	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
37	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H
38	H	CH <sub>3</sub>	H
39	CH <sub>3</sub>	H	H
40	H	H	H
41	H	CH <sub>3</sub>	Cl
42	H	CH <sub>3</sub>	F
43	H	H	F
44	CH <sub>3</sub>	H	F

y un compuesto de fórmula C,



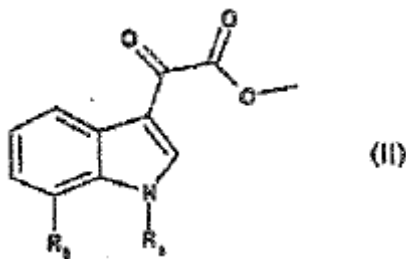
c

en donde  $R_a$ ,  $R_b$ ,  $R_4$ ,  $R_8$  y  $R_9$  son como se indica en la siguiente tabla:

Compuesto	$R_a$	$R_b$	$R_4$	$R_8$	$R_9$
45	H	H	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -ciclopropil
46	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -ciclopropil
47	H	H	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -ciclopropil
48	H	CH <sub>3</sub>	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -ciclopropil
49	CH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -ciclopropil
50	H	H	H	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -ciclopropil
51	CH <sub>3</sub>	H	H	H	-CH <sub>2</sub> -ciclopropil
52	H	H	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> F
53	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> F
54	H	H	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OCH <sub>3</sub>
55	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OCH <sub>3</sub>
56	H	H	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OCH <sub>3</sub>
57	H	CH <sub>3</sub>	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OCH <sub>3</sub>
58	H	H	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>
59	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>
60	H	H	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>
61	H	CH <sub>3</sub>	Cl	CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>
62	H	H	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
63	H	CH <sub>3</sub>	Cl	H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
64	CH <sub>3</sub>	H	H	H	fenil
65	CH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	fenil
66	H	CH <sub>3</sub>	Cl		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
67	CH <sub>3</sub>	H	Cl		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
68	H	H	Cl		-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -

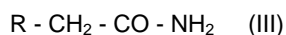
5. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde  $R_4$  es H; Cl; F; CF<sub>3</sub>; nitrilo; nitro o amino, o una sal del mismo.

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



en donde R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub> son como se define en la reivindicación 1,

5 con un compuesto de fórmula III



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

y, en caso requerido, convertir el compuesto resultante de fórmula I obtenido en forma libre en una forma de sal o viceversa, según sea apropiado.

10 7. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable para uso como producto farmacéutico.

8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, es asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para el mismo.

15 9. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la preparación de una composición farmacéutica para uso en el tratamiento o la prevención de enfermedades o trastornos mediados por linfocitos T y/o PKC o GSK-3 $\beta$ , estando dichas enfermedades o trastornos seleccionados del grupo constituido por rechazo agudo o crónico de alo- o xenoinjertos de órganos o tejidos, enfermedades de rechazo inverso, aterosclerosis, oclusión vascular debida a lesión vascular, restenosis, obesidad, síndrome X, tolerancia deteriorada a la glucosa, síndrome de ovario poliquístico, hipertensión, insuficiencia cardíaca, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedades del CNS, cáncer, enfermedades infecciosas, choque séptico o síndrome de dificultad respiratoria de los adultos, lesión de isquemia/reperfusión, derrame cerebral, isquemia intestinal, insuficiencia renal, choque hemorrágico, choque traumático, enfermedades o trastornos inflamatorios agudos o crónicos mediados por las células T o enfermedades autoinmunes.

25 10. Uso de un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de trastornos o enfermedades mediados por linfocitos T y/o PKC o GSK-3 $\beta$ , estando dichas enfermedades o trastornos seleccionados del grupo constituido por rechazo agudo o crónico de alo- o xenoinjertos de órganos o tejidos, enfermedades de rechazo inverso, aterosclerosis, oclusión vascular debida a lesión vascular, restenosis, obesidad, síndrome X, tolerancia deteriorada a la glucosa, síndrome de ovario poliquístico, hipertensión, insuficiencia cardíaca, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedades del CNS, cáncer, enfermedades infecciosas, choque séptico o síndrome de dificultad respiratoria de los adultos, lesión de isquemia/reperfusión, derrame cerebral, isquemia intestinal, insuficiencia renal, choque hemorrágico, choque traumático, enfermedades o trastornos inflamatorios agudos o crónicos mediados por las células T o enfermedades autoinmunes.

30 11. Una combinación terapéutica que comprende a) un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable y b) al menos un segundo agente seleccionado de un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, anti-inflamatorio, antiproliferativo y antidiabético.