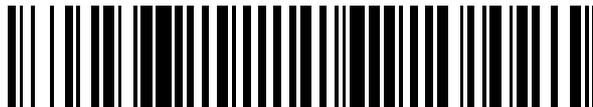


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 402 298**

51 Int. Cl.:

C07D 403/04 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 213/00 (2006.01)

C07D 209/00 (2006.01)

C07D 207/00 (2006.01)

C07D 403/04 (2006.01)

C07D 209/00 (2006.01)

C07D 207/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.01.2005 E 05701052 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2013 EP 1745037**

54 Título: **Derivados de indolilmaleimida como inhibidores del tratamiento de rechazo del injerto o enfermedades autoinmunes**

30 Prioridad:

19.01.2004 GB 0401089

19.01.2004 GB 0401090

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

30.04.2013

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)

LICHTSTRASSE 35

4056 BASEL, CH

72 Inventor/es:

VAN EIS, MAURICE;

VON MATT, PETER;

WAGNER, JÜRGEN;

EVENOU, JEAN-PIERRE y

SCHULER, WALTER

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 402 298 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 como inhibidores del tratamiento de rechazo del injerto o enfermedades autoinmunes

La presente invención se refiere a nuevos inhibidores de Proteína Quinasa C (PKC), que son selectivos de otras proteínas quinasas, especialmente selectivos para las isoformas α y β , y opcionalmente θ , de la PKC, sobre una o más de las otras isoformas PKC existentes, composiciones farmacéuticas con los nuevos inhibidores, combinaciones farmacéuticas que las comprenden, dichos compuestos para utilizar como un producto farmacéutico y el uso de tales inhibidores de PKC en la fabricación de un medicamento para inhibir el rechazo del injerto o enfermedades autoinmunes, todas como se definen en las reivindicaciones, las cuales se incorporan en este documento por referencia.

La Proteína Quinasa C (PKC) consiste de una familia de enzimas relacionadas estrechamente que funcionan como serina/treonina quinasas. En la actualidad existen al menos diez isoenzimas de PKC conocidas que difieren en su distribución tisular, selectividad enzimática, el requisito de Ca^{2+} , y regulación. Las PKCs juegan un papel importante en la señalización célula-célula, expresión génica y en el control de crecimiento y diferenciación celular. Un número de inhibidores de PKC ya se conocen. También se conoce que algunos demuestran selectividad de PKC de otras proteínas quinasas. Sin embargo, se sabe muy poco sobre la selectividad de la isoenzima. Debido a los importantes papeles en fisiología de las diferentes isoenzimas de PKC, existe la necesidad de desarrollar inhibidores selectivos de PKC, en particular inhibidores de PKC altamente selectivos sobre las otras proteínas quinasas, y/o para ciertas isoformas específicas de PKC. WO02/38561 revela derivados de indolilmaleimida tales como inhibidores de CDK que difieren estructuralmente de los compuestos de la presente invención.

Sorprendentemente los compuestos que son inhibidores selectivos de PKC se han identificado ahora, en lo sucesivo se denominaran como compuestos de la invención. Adicionalmente, se ha encontrado que estos inhibidores selectivos de PKC muestran interesantes propiedades terapéuticas, en particular en los trasplantes y para tratar o prevenir enfermedades autoinmunes.

En un aspecto, la presente invención provee un compuesto como se define en la reivindicación 1 y sus reivindicaciones dependientes, incorporadas en este documento por referencia, el cual es un inhibidor selectivo de proteína de la Proteína Quinasa C, por ejemplo un inhibidor selectivo de PKC sobre una o más de las otras proteínas quinasas, por ejemplo sobre una o más tirosina quinasas, por ejemplo sobre una o más tirosina quinasas no-receptor o receptor, por ejemplo sobre una o más de las proteínas PKA, PKB, Abl Met, Src, Ins-R, Flt-3, JAK-2, KDR y/o Ret. Los inhibidores selectivos de PKC de la invención, opcionalmente puede ser selectivos en una o más serina/treonina quinasas, por ejemplo una o más serina/treonina quinasas, las cuales no pertenecen a la familia CDK. Preferiblemente los compuestos de la invención muestran una selectividad de al menos 10 veces, más preferiblemente 20 veces, más preferiblemente 100 veces para la PKC sobre una o más proteínas quinasas, por ejemplo sobre una o más tirosina quinasas, por ejemplo sobre las proteínas Flt-3, JAK-2, KDR y/o Ret, o sobre una o más serina/treonina quinasas las cuales no pertenecen a la familia CDK.

En una modalidad de la invención, se provee un inhibidor de PKC, como se define en la reivindicación 1 y sus reivindicaciones dependientes, el cual es selectivo de PKC sobre las serina/treonina quinasas, las cuales no pertenecen a la familia CDK, por ejemplo serina/treonina quinasas que no son proteína CDK-1.

La selectividad de un inhibidor selectivo de PKC sobre otras proteínas quinasas se puede calcular como la relación de la IC_{50} medida para PKC en el ensayo descrito a continuación sobre la IC_{50} determinada para otra quinasa

En otra modalidad de la invención, se provee un inhibidor de PKC, como se define en la reivindicación 1 y sus reivindicaciones dependientes, para que la relación del valor de IC_{50} según se determina en un ensayo de Reacción Mixta de Linfocitos Alogénicos (MLR) con el valor de IC_{50} según se determina en un ensayo BM sea mayor de 5, 10, 20 o 30, preferiblemente mayor de 20 o 30.

Los ensayos MLR y BM se pueden realizar de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo ratón de ensayos de MLR y BM humano, preferiblemente como se revela de ahora en adelante.

En otro aspecto, la presente invención provee un inhibidor selectivo de Proteína Quinasa C (PKC), como se define en la reivindicación 1 y sus reivindicaciones dependientes, i.e. inhibidores selectivos de isoforma de PKC, en donde el compuesto posee selectividad de las isoformas α y β de la PKC sobre una o más de las otras isoformas de PKC.

Preferiblemente los compuestos de la invención son selectivos de las PKCs α y β sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo sobre una o más isoformas de PKC seleccionadas de δ , ϵ , η y θ , preferiblemente sobre las isoformas de PKC δ y ϵ , más preferiblemente sobre las isoformas de PKC δ , ϵ y η , y aún más preferiblemente sobre las isoformas de PKC δ , ϵ , η y θ .

En otra modalidad de la invención, los compuestos de la invención, como se define en la reivindicación 1 y sus reivindicaciones dependientes, son selectivos de las PKCs α , β y θ sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo sobre una o más isoformas de PKC seleccionadas de δ , ε y η , preferiblemente sobre las isoformas de PKC δ y ε , más preferiblemente sobre las isoformas de PKC δ , ε y η .

- 5 Los compuestos de la invención preferiblemente muestran una selectividad de al menos 10 veces, más preferiblemente 20 veces, más preferiblemente 100 veces para las PKCs α y β , y opcionalmente θ , sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo sobre una o más isoformas de PKC seleccionada de δ , ε , η y θ , preferiblemente sobre la isoforma de PKC δ , más preferiblemente sobre las isoformas de PKC ε y η , y incluso más preferiblemente sobre las isoformas de PKC δ , ε y η .
- 10 La selectividad de las isoformas α , β o θ de la PKC sobre una o más de las otras isoformas de PKC se puede determinar mediante la comparación de la IC_{50} del compuesto de la PKC α , β o θ con la IC_{50} del compuesto de las otras isoformas de PKC, por ejemplo δ , ε , η . Preferiblemente, la selectividad se puede determinar calculando la relación de IC_{50} del compuesto de las isoformas de PKC δ , ε o η con la IC_{50} del compuesto de la PKC α , β o θ .

Los valores de IC_{50} se pueden obtener, por ejemplo, de acuerdo con el ensayo de PKC descrito a continuación.

- 15 En una modalidad preferida, los compuestos de la invención muestran un valor de IC_{50} de las PKCs α y β , y opcionalmente θ , de $1 \mu M$ o menos, preferiblemente $10 nM$ o menos en el ensayo mencionado de ahora en adelante.

- Preferiblemente, los compuestos de la invención muestran una selectividad sobre las isoformas de PKC α y β , y opcionalmente θ , así como una selectividad sobre una o más de las otras proteínas quinasas, por ejemplo en una o más tirosina quinasas, o en una o más serina/treonina quinasas, las cuales no pertenecen a la familia CDK, por ejemplo sobre una o más de las proteínas PKA, PKB, Abl, Met, Src, Ins-R, FIt-3, JAK-2, KDR y Ret, por ejemplo sobre una o más de las proteínas FIt-3, JAK-2, KDR y Ret.
- 20

- Los compuestos de la invención en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable son útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades o trastornos mediados por linfocitos T y/o PKC, por ejemplo mediados por PKCs α y β , y opcionalmente θ , por ejemplo rechazo agudo o crónico de alo- o xenoinjertos de órgano, tejido o células, enfermedades huésped contra injerto, enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades infecciosas, cáncer o enfermedades cardiovasculares, por ejemplo insuficiencia cardíaca. El término "trasplante" así como "células, tejido u órgano" abarca, por ejemplo, piel, ojos o porciones de los ojos (por ejemplo, córnea, retina, lente), médula ósea, músculo, corazón, pulmón, cardio-pulmonar, hígado, riñón, páncreas (por ejemplo, células de los islotes, células- β), paratiroides, intestino (por ejemplo, colon, intestino delgado, duodeno), tejido neuronal, hueso y vasculatura (por ejemplo, arteria, vena).
- 25
- 30

- Los inhibidores selectivos de PKC de la invención, por lo tanto, son útiles en el tratamiento y/o prevención de aterosclerosis, oclusión vascular debido a lesión vascular tal como angioplastia, restenosis, obesidad, síndrome X, tolerancia alterada a la glucosa, síndrome de ovario poliquístico, hipertensión, insuficiencia cardíaca, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedades del SNC tal como enfermedad de Alzheimer o esclerosis lateral amiotrófica, cáncer, enfermedades infecciosas tales como SIDA, shock séptico o síndrome de dificultad respiratoria en adultos, lesión por reperfusión/isquemia por ejemplo infarto del miocardio, accidente cerebrovascular, isquemia intestinal, falla renal o shock hemorrágico, o shock traumático, por ejemplo lesión cerebral traumática. Los inhibidores de la isozima selectivos de PKC de la invención también son útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades inflamatorias crónicas o agudas mediadas por la célula T o trastornos o enfermedades autoinmunes por ejemplo artritis reumatoide, osteoartritis, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia grave, diabetes tipo I o II y los trastornos asociados con los mismos, enfermedades respiratorias tales como asma o lesión pulmonar inflamatoria, lesión hepática inflamatoria, lesión glomerular inflamatoria, manifestaciones cutáneas de lesiones o trastornos mediados inmunológicamente, enfermedades hiperproliferativa e inflamatoria de la piel (tal como psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis alérgica de contacto, dermatitis irritante de contacto y además dermatitis eccematosa, dermatitis seborreica), enfermedades inflamatorias de los ojos, por ejemplo síndrome de Sjogren, queratoconjuntivitis o uveitis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa.
- 35
- 40
- 45

- Los inhibidores selectivos de PKC de la invención en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable muestran valiosas propiedades farmacológicas, por ejemplo como se indica por las siguientes pruebas in vitro e in vivo.
- 50

A. Pruebas in vitro

1. Determinación in vitro de la especificidad y selectividad de los inhibidores de PKC

Los compuestos de la invención se ensayaron por su actividad en las diferentes isoformas de PKC de acuerdo con el siguiente método. El ensayo se realiza en una placa de microtitulación de 384 pozos blanca con fondo transparente con superficie no vinculante. La mezcla de reacción (25 μ l) contiene 1.5 μ M de un sustrato aceptor tridecapéptido que mimetiza la secuencia pseudo sustrato de PKC α con el reemplazo Ala \rightarrow Ser, 33 P-ATP 10 μ M, Mg(NO₃)₂ 10 mM, CaCl₂ 0.2 mM, PKC en una concentración de proteína que varía de 25 a 400 ng/ml (dependiendo del isotipo utilizado), vesículas lipídicas (que contiene 30% molar de fosfatidilserina, 5% molar de DAG y 65% molar de fosfatidilcolina) a una concentración final de lípido de 0.5 mM, en solución reguladora Tris-HCl 20mM pH 7.4 + 0.1% de BSA. La incubación se realiza durante 60 min a temperatura ambiente. La reacción se detiene por la adición de 50 μ l de mezcla de parada (EDTA 100 mM, ATP 200 mM, 0.1% de Triton X-100, 0.375 mg/pozo perlas SPA recubiertas con estreptavidina en solución salina regulada de fosfato w/o Ca, Mg. Después de 10 min de incubación a temperatura ambiente, la suspensión se centrifuga durante 10 min a 300g. La radioactividad incorporada se mide en un contador Trilux durante 1 min. La medida de IC₅₀ se realiza sobre una base rutinaria por la incubación de una dilución en serie de inhibidor a concentraciones que varían entre 1-1000 μ M. Los valores de IC₅₀ se calculan a partir de la gráfica por ajuste de la curva con el software XL fit®.

15 2. Ensayo de Proteína Quinasa C α

La PKC α recombinante humana se obtiene de Oxford Biomedical Research y se utiliza bajo las condiciones de ensayo como se describe anteriormente en la Sección A.1. En este ensayo, los compuestos de la invención, por ejemplo los compuestos de fórmula I, inhiben PKC α con una IC₅₀ \leq 1 μ M, preferiblemente \leq 10 nM

3. Ensayo de Proteína Quinasa C β 1

20 La PKC β 1 recombinante humana se obtiene de Oxford Biomedical Research y se utiliza bajo las condiciones de ensayo como se describe anteriormente en la Sección A.1. En este ensayo, los compuestos de la invención, por ejemplo los compuestos de fórmula I, inhiben PKC β 1 con una IC₅₀ \leq 1 μ M, preferiblemente \leq 10 nM

4. Ensayo de Proteína Quinasa C δ

25 La PKC δ recombinante humana se obtiene de Oxford Biomedical Research y se utiliza bajo las condiciones de ensayo como se describe anteriormente en la Sección A.1. En este ensayo, los compuestos de la invención, por ejemplo los compuestos de fórmula I, inhiben PKC δ con una IC₅₀ \leq 1 μ M.

5. Ensayo de Proteína Quinasa C ϵ

30 La PKC ϵ recombinante humana se obtiene de Oxford Biomedical Research y se utiliza bajo las condiciones de ensayo como se describe anteriormente en la Sección A.1. En este ensayo, los compuestos de la invención, por ejemplo los compuestos de fórmula I, inhiben PKC ϵ con una IC₅₀ \leq 1 μ M.

6. Ensayo de Proteína Quinasa C η

La PKC η recombinante humana se obtiene de PanVera y se utiliza bajo las condiciones de ensayo como se describe anteriormente en la Sección A.1. En este ensayo, los compuestos de la invención, por ejemplo los compuestos de fórmula I, inhiben PKC η con una IC₅₀ \leq 1 μ M.

35 7. Ensayo de Proteína Quinasa C θ

La PKC θ recombinante humana se utiliza bajo las condiciones de ensayo como se describe anteriormente. En este ensayo, los compuestos de la invención, por ejemplo los compuestos de fórmula I, inhiben PKC θ con una IC₅₀ \leq 1 μ M.

8. Ensayo de coestimulación de CD28

40 El ensayo se realiza con células Jurkat transfectadas con una construcción de gen indicador/promotor interleucina-2 humana como se describe por Baumann G et al. in Transplant. Proc. 1992;24:43-8, the β -galactosidase reporter gene being replaced by the luciferase gene (de Wet J., et al., Mol. Cell Biol. 1987, 7(2), 725-737). Las células se estimulan por anticuerpos acoplados de fase sólida o acetato de forbol miristato (PMA) y el ionoforo de Ca⁺⁺ ionomicina de la siguiente manera. Para la estimulación mediada de anticuerpos, placas de microtitulación Microlite TM1 (Dynatech) se cubren con 3 μ g/ml de anticuerpos Fc IgG de cabra anti-ratón (Jackson) en 55 μ l de solución salina regulada con fosfato (PBS) por pozo durante tres horas a RT. Las placas se bloquean después de eliminar los anticuerpos por incubación con albúmina de suero de bovino al 2% (BSA) en PBS (300 μ l por pozo) durante 2 horas a RT. Después de lavar tres veces con 300 μ l de PBS por pozo, se adicionan como anticuerpos estimulantes 10

ng/ml de anticuerpos receptor de anti-célula T (WT31, Becton & Dickinson) y 300 ng/ml de anticuerpos anti-CD28 (15E8) en 50 μ l de BSA/PBS al 2% y se incuban durante la noche a 4°C. Finalmente las placas se lavan tres veces con 300 μ l de PBS por pozo. Siete de tres diluciones en serie de los compuestos de prueba por duplicado en medio de ensayo (RPMI 1640/10% de suero fetal bovino (FCS) que contiene 2-mercaptoetanol 50 μ M, 100 unidades/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomina) se preparan en placas separadas, se mezclan con células Jurkat transfectadas (clone K22 290_H23) y se incuban durante 30 minutos a 37°C en 5% de CO₂. A continuación 100 μ l de esta mezcla que contiene 1X10⁵ células se transfectan a las placas de ensayo recubiertas con anticuerpo. En paralelo 100 μ l se incuban con 40 ng/ml de PMA e ionomicina 2 μ M. Después de la incubación durante 5.5 horas a 37°C en 5% de CO₂, el nivel de luciferasa se determina mediante la medición de la bioluminiscencia. Las placas se centrifugan durante 10 min a 500 g y el sobrenadante se elimina por parpadeo. Se adiciona la solución reguladora 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 Triton X-100 (20 μ l por pozo). Las placas se incuban a RT durante 10 minutos bajo agitación constante. La actividad de luciferasa se evalúa con un lector de bioluminiscencia (Labsystem, Helsinki, Finland) después de la adición automática de 50 μ l por pozo de solución reguladora de reacción de luciferasa que contiene Tricina 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 de retraso es 0.5 segundos, el tiempo de medición total es 1 o 2 segundos. Los valores de control bajo son unidades de luz de células receptor anti-célula T - o PMA-estimulada, los controles altos son de células receptor anti-célula T /anti-CD28- o PMA/ionomicina estimulada sin ninguna muestra de prueba. Los controles bajos se sustraen de todos los valores. La inhibición obtenida en la presencia de un compuesto de prueba se calcula como porcentaje de inhibición del control alto. La concentración de los compuestos de prueba que resulta en 50% de inhibición (IC₅₀) se determina a partir de las curvas dosis-respuesta. En este ensayo, los compuestos de fórmula I inhiben las células Jurkat anti-célula T receptor/anti-CD28 y PMA/ionomicina estimulada con una IC₅₀ \leq 1 μ M.

9. Ensayo proliferativo de Médula Ósea

Las células de médula ósea de ratones CBA (2.5 x 10⁴ células por pozo en placas de microtitulación de cultivo de tejido de fondo plano) se incuban en 100 μ l de medio RPMI que contiene 10% de FCS, 100 U/ml de penicilina, 100 μ g/ml de estreptomina (Gibco BRL, Basel, Switzerland), 2-mercaptoetanol 50 μ M (Fluka, Buchs, Switzerland), medio acondicionado WEHI-3 (7.5% v/v) y medio acondicionado L929 (3% v/v) como una fuente de factores de crecimiento y compuestos diluidos en serie. Se llevan a cabo siete de tres veces de las etapas de dilución por duplicado por compuesto de prueba. Después de cuatro días de incubación, se adiciona 1 μ Ci ³H-timidina. Las células se cultivan después de un periodo de incubación de cinco horas adicionales, y se incorporan ³H-timidina se determina de acuerdo con procedimientos estándar. Los medios acondicionados se preparan de la siguiente manera. Las células WEHI-3 (ATCC TIB68) y las células L929 (ATCC CCL 1) se cultivan en medio RPMI hasta la confluencia durante 4 días y una semana, respectivamente. Las células se cultivan, se resuspenden en los mismos matraces de cultivo en medio C que contiene 1% de FCS (Schreier and Tees 1981) para las células WEHI-3 y medio RPMI para las células L929 y se incuban durante 2 días (WEHI-3) o una semana (L929). El sobrenadante se recolecta, se filtra a través de 0.2 μ m y se almacena en alícuotas a -80°C. Los cultivos sin los compuestos de prueba y sin sobrenadantes de WEHI-3 y L929 se utilizan como valores de control bajo. Los valores de control bajo se sustraen de todos los valores. Los controles altos sin ninguna muestra se toman como 100% de proliferación. El porcentaje de inhibición por las muestras se calcula y se determinan las concentraciones necesarias para un 50% de inhibición (valores de IC₅₀).

10. Ensayo de Reacción Mixta de Linfocitos Alogénicos (MLR)

La MLR de dos vías se realiza 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 x 10⁵ células de cada cepa por pozo en placas de microtitulación de cultivo de tejido de fondo plano, 3.2 x 10⁵ en total) se incuban en medio RPMI que contiene 10% de FCS, 100 U/ml de penicilina, 100 μ g/ml de estreptomina (Gibco BRL, Basel, Switzerland), 2-mercaptoetanol 50 μ M (Fluka, Buchs, Switzerland) y los compuestos se diluyen en serie. Se llevan a cabo, siete de tres veces de etapas de dilución por duplicado por compuesto de prueba. Después de cuatro días de incubación se adiciona 1 μ Ci ³H-timidina. Las células se cultivan después de un periodo de incubación de cinco horas adicionales, y la ³H-timidina incorporada se determina de acuerdo con procedimientos estándar. Los valores 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 ninguna muestra se toman como 100% de proliferación. Se calcula el porcentaje de inhibición por las muestras, y se determinan las concentraciones requeridas para un 50% de inhibición (valores de IC₅₀). Preferiblemente, los compuestos de la invención muestran un valor de IC₅₀ según se determina mediante ensayo MLR inferior de 100 μ M, preferiblemente inferior de 10 μ M, más preferiblemente inferior de 1 μ M.

B. In vivo

Trasplante de Corazón de Rata

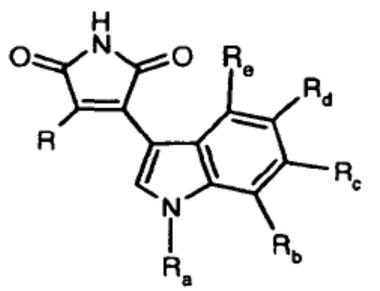
La combinación de la cepa utilizada: Male Lewis (haplotipo RT¹) y BN (haplotipo RT¹). Los animales se anestesian utilizando isoflurano por inhalación. Después de la heparinización de la rata donante a través de la vena cava inferior abdominal con desangramiento simultáneo vía la aorta, se abre el tórax y el corazón se enfría rápidamente. La aorta se liga y divide distal a la primera rama y el tronco branquiocefálico se divide en la primera bifurcación. La arteria pulmonar izquierda se liga y divide y el lado derecho se divide pero se deja abierto. Todos los otros vasos se diseccionan, ligan y dividen y el corazón donante se retira en solución salina helada.

El receptor se prepara por disección y sujeción cruzada de la aorta abdominal infra-renal y vena cava. El injerto se implanta con anastomosis de extremo a lado, utilizando sutura monofilamento 10/0, entre el tronco branquiocefálico donante y la aorta receptor y la arteria pulmonar derecha del donante con la vena cava del receptor. Las pinzas se retiran, el injerto atado retroabdominalmente, los contenidos abdominales se lavan con solución salina caliente y el animal se cierra y se deja recuperar bajo una lámpara de calentamiento. La supervivencia del injerto se monitoriza por palpación diaria del corazón del donante latiendo a través de la pared abdominal. El rechazo se considera que es completo cuando el latido del corazón se detiene. Los aumentos de supervivencia del injerto se obtienen en animales tratados con un compuesto de fórmula I administrado por vía oral a una dosis diaria de 1 a 150 mg/kg de bid, preferiblemente 1 a 30 mg/kg de bid o 10 a 100 mg/kg de bid.

Modelo Huésped v. Injerto

Las células de bazo (2×10^7) a partir de ratas Wistar/F se inyectan por vía subcutánea en la almohadilla de la pata trasera derecha de ratas híbridas (Wistar/F x Fischer 344)F1. La almohadilla de la pata izquierda se deja sin tratar. Los animales se tratan con los compuestos de prueba en 4 días consecutivos (0-3). Los ganglios linfáticos poplíteos se retiran en el día 7, y se determinan las diferencias en peso entre dos nódulos linfáticos correspondientes. Los resultados se expresan como la inhibición de ampliación de los nódulos linfáticos (dados en porcentaje) comparando las diferencias en peso de los nódulos linfáticos en los grupos experimentales con la diferencia en peso entre los nódulos linfáticos correspondientes de un grupo de animales dejados sin tratar con un compuesto de prueba.

Los compuestos que son inhibidores selectivos de PKC son derivados de indolilmaleimida de fórmula I



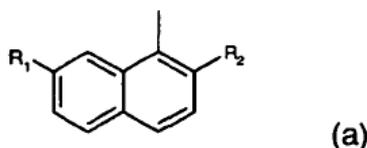
en donde

R_a es H; alquilo C₁₋₄; o alquilo C₁₋₄ sustituido por OH, NH₂, NHalquilo C₁₋₄ o N(di-alquiloC₁₋₄)₂;

uno de R_b, R_c, R_d y R_e es halógeno; alcoxi C₁₋₄; alquilo C₁₋₄; CF₃ o CN y los otros tres sustituyentes son cada uno H;

o R_b, R_c, R_d y R_e son todos H; y

R es un radical de fórmula (a),



en donde

R₁ es -(CH₂)_n-NR₃R₄,

en donde

cada uno de R₃ y R₄, independientemente, es H o alquilo C₁₋₄; o R₃ y R₄ forman junto con el átomo de nitrógeno al cual se unen un residuo heterocíclico;

n es 0, 1 o 2; y

- 5 R₂ es H; halógeno; alquilo C₁₋₄; CF₃; OH; SH; NH₂; alcoxi C₁₋₄; alquiltio C₁₋₄; NHalquilo C₁₋₄; N(di-alquilo C₁₋₄)₂, CN, alquino o NO₂;

Los compuestos de fórmula I son novedosos y por lo tanto una modalidad de la invención.

- 10 Será apreciado que los inhibidores selectivos de PKC de la isozima de la invención, es decir, los compuestos de 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 piperazinil es asimétrico y puede tener la configuración R- o S-. Se debe entender que la presente invención abarca todos los enantiómeros y sus mezclas. Se prefieren los enantiómeros sobre los racematos. Consideraciones similares se aplican en relación con materiales iniciales que muestran átomos de carbono asimétricos como se menciona.

Alquilo o alcoxi puede ser lineal o ramificado.

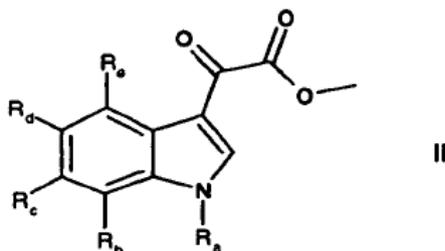
- 15 Halógeno puede ser F, Cl, Br o I, preferiblemente F, Cl o Br.

- 20 Cuando el sustituyente en un nitrógeno cíclico es un residuo heterocíclico, este es un anillo heterocíclico saturado, insaturado o aromático de cinco o seis miembros que comprende 1 o 2 heteroátomos, preferiblemente seleccionados de N, O y S. Ejemplos incluyen por ejemplo 3- o 4-piridil, piperidil, por ejemplo piperidin-1-il, 3- o 4-piperidil, homopiperidil, piperazinil, homopiperazinil, pirimidinil, morfolin-4-il, imidazolil, imidazolidinil, pirrolil o pirrolidinil.

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

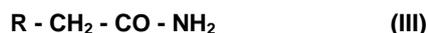
1. R_a es H o metilo;
2. uno de R_b, R_c, R_d y R_e es metilo o etilo y los otros tres sustituyentes son H; o R_b, R_c, R_d y R_e son todos H;
- 25 3. cada uno de R₂, R₂₀ y R_{20a}, independientemente, es H, Cl, NO₂, F, CF₃ o metilo; n es 0 o 1;
4. cada uno de R₃ y R₄, independientemente, es H, metilo, etilo o *i*-propilo; o R₃ y R₄ forman junto con el átomo de nitrógeno al cual se unen un residuo heterocíclico como se define en la reivindicación 1, por ejemplo un piperazinil o pirrolidinil opcionalmente sustituido; y
- 30 5. R₁ es un residuo heterocíclico como se define en la reivindicación 1, preferiblemente un piperazin-1-il opcionalmente sustituido por un CH₃ en la posición 3 y/o 4 o en la posición 3 por un etilo; -CH₂NR₇R₈, alcoxi C₁₋₄-alquilo C₁₋₄ o halógeno-alquilo C₁₋₄; aún más preferiblemente piperazin-1-il sustituido por un CH₃ en la posición 4.

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



- 35 en donde R_a a R_e son como se definen anteriormente,

con un compuesto de fórmula III



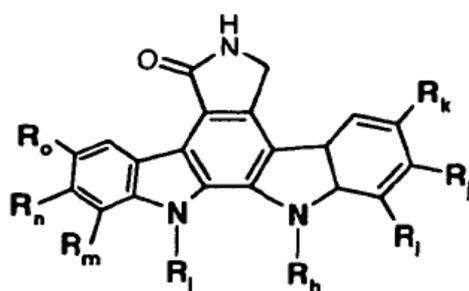
en donde R es como se define anteriormente,

y, cuando sea necesario, la conversión del compuesto resultante de fórmula I, obtenido en forma libre a una forma de sal o viceversa, según sea apropiado.

- 5 El proceso se puede realizar convenientemente en la presencia de una base fuerte, por ejemplo t-BuOK, por ejemplo como se revela en WO02/3856 o WO 03/08259, y como se ilustra en los Ejemplos.

Los compuestos de fórmula II y III se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo como se revela en WO02/38561 o WO 03/08259, y como se ilustra en los Ejemplos.

- 10 Otros ejemplos de inhibidores selectivos de PKC proporcionados en la presente divulgación son por ejemplo, los compuestos de fórmula Ib.



Ib

en donde cada uno de R_i , R_j , R_k , R_l , R_m , R_n y R_o , independientemente, es H o un alquilo C_{1-10} ; R_h es $(\text{CH}_2)_{n'}\text{-CN}$, y n' es 0 a 5.

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

1- R_i , R_j , R_k , R_l , R_m , R_n y R_o son todos H;

2- R_l es CH_3 ; y

3- R_h es $(\text{CH}_2)_2\text{-CN}$.

- 20 El compuesto de fórmula Ib, en donde R_i , R_j , R_k , R_m , R_n y R_o son todos H, R_l es CH_3 y R_h es $(\text{CH}_2)_2\text{-CN}$ es bien conocido en la técnica, y se revela por ejemplo en Martin-Baron et al., The Journal of Biological Chemistry (1993), 268 (13), pp 9194-9197, el contenido de este se incorpora por referencia.

Los compuestos de fórmula Ib, en particular el compuesto de fórmula Ib, en donde R_i , R_j , R_k , R_m , R_n y R_o son todos H, R_l es CH_3 y R_h es $(\text{CH}_2)_2\text{-CN}$, pueden ser inhibidores selectivos de PKC, por ejemplo inhibidores selectivos de las isoformas α y β de la PKC sobre las otras isoformas existentes de PKC.

- 25 Los compuestos de la invención, es decir, los compuestos de fórmula I, pueden existir en forma libre o en forma de sal, por ejemplo sales con por ejemplo ácidos orgánicos o inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido trifluoroacético.

- 30 En la medida en que la producción de los materiales iniciales no se describe particularmente, los compuestos se conocen o se pueden preparar de manera análoga a métodos conocidos en la técnica o como se describe más adelante.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la invención.

AcOH = ácido acético

DDQ = 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona

DMF = dimetilformamida

EtOAc = acetato de etilo

MeOH = metanol

$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ = Pd(0)-bis(dibencilidenacetona)

5 TBAF = fluoruro de tetrabutilamonio

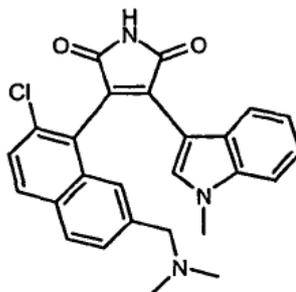
THF = tetrahidrofurano

FCC = cromatografía de columna instantánea

TLC = cromatografía de capa fina.

RT = temperatura ambiente

10 **Ejemplo 1: 3-(2-Cloro-7-dimetilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona**



Se adiciona tamiz molecular activado 3A (2.0 g) a una solución de 2-(2-Cloro-7-dimetilaminometil-naftalen- 1-il)-acetamida (1.0 g, 3.61 mmol) y ácido (1-Metil-1H-indol-3-il)- oxo- acético metil éster (1.02 g, 4.69 mmol) en THF seco (50 ml) bajo una atmósfera de argón. Una solución de KOtBu 1.0 M en THF (10.9 ml, 10.9 mmol) luego se
15 adiciona en una porción a RT. Después de 1 h a RT, el análisis TLC indica la conversión completa de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NH_4Cl . La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na_2SO_4 , y el solvente orgánico se evapora. El residuo se purifica por FCC (EtOAc / AcOH / H_2O 600:150:150) para proporcionar el compuesto base, que se disuelve en AcOH glacial y se liofiliza. El compuesto base se obtiene como la sal bis-acetato soluble en agua. ^1H NMR (d_6 -DMSO, 400
20 MHz): δ 1.80 (s, 6H), 3.20 - 3.42 (m, 2H), 6.10 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 6.44 (t, J = 9.0 Hz, 1H), 6.94 (t, J = 9.0 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.63 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 11.0 - 11.3 (br, 1H). ES^+ -MS: 444, 446 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Preparación de la 2-(2-Cloro-7-dimetilaminometil-naftalen-1-il)- acetamida

Ácido (2-cloro-7-dimetilaminometil-naftalen-1-il)- acético etil éster (2.70 g, 8.82 mmol) y formamida (1.17 ml, 29.57
25 mmol) se disuelven bajo una atmósfera de argón en DMF seco (25 ml). La solución se calienta a 105 °C, y se adiciona gota a gota NaOMe (1.64 ml de una solución 5.4 M en MeOH, 8.82 mmol) durante 10 minutos. Después de 1 hora a 105°C, el análisis TLC indica el consumo completo del material inicial. La mezcla de reacción se enfría a RT, se diluye con agua, y se ajusta a un pH de 6 - 7, mediante la adición de solución 1M de NaHSO_4 . La mezcla se concentra y purifica por FCC (CH_2Cl_2 / EtOH / NH_3 conc. 90:9:1) para producir el compuesto base. ^1H NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz): δ 2.01 (s, 6H), 3.48 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 6.9 - 7.0 (br, 1H), 7.41 - 7.47 (m, 2H); 7.47 - 7.85 (br,
30 1H), 7.75 - 7.88 (m, 2H), 7.80 (d, J = 12.1 Hz, 1H). ES^+ -MS: 277.3, 279.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Preparación del ácido (2-cloro-7-dimetilaminometil-naftalen-1-il)- acético etil éster

Se adiciona dimetilamina (solución 5.6 M en EtOH, 4.2 ml, 23.20 mmol) bajo una atmósfera de argón a una solución
35 de ácido (2-Cloro-7-formil-naftalen-1-il)- acético etil éster (4.28 g, 15.46 mmol) en THF (80 ml). La mezcla se agita a RT durante 18 h, antes se adicionan una solución de cianoborohidruro de sodio (1.16 g, 18.56 mmol) en MeOH (20 ml) y ácido acético glacial (4.4 ml, 77.33 mmol). Después de agitar a RT durante 2 h, el análisis TLC indica consumo completo del material inicial. La mezcla de reacción se diluye con agua y se ajusta a pH 8 - 9, mediante la adición

de solución acuosa, concentrada de NaHCO_3 . La extracción con EtOAc, el lavado con salmuera, el secado sobre Na_2SO_4 y la eliminación del solvente produce el producto de reacción crudo. Purificación por FCC (EtOAc, luego EtOAc / MeOH 4:1) produce el compuesto base. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 1.26 (t, J = 8.8 Hz, 3H), 2.28 (s, 6H), 3.62 (s, 3H), 4.18 (q, J = 8.8 Hz, 2H), 4.32 (s, 3H), 7.48 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 7.80 - 7.84 (m, 2H). $\text{ES}^+\text{-MS}$: 306.3, 308.2 [M + H] $^+$.

Preparación del ácido (2-cloro-7-formil-naftalen-1-il)- acético etil éster

Se disuelve ácido (2-cloro-7-ciano-naftalen-1-il)- acético etil éster (5.53 g, 20.20 mmol) en una mezcla de agua (70 ml), piridina (130 ml) y ácido acético glacial (70 ml). Se adicionan a RT hipofosfito de sodio (17.13 g, 161.62 mmol) y níquel Raney (13 g). La mezcla de reacción se calienta a 100°C, durante 1 h. El análisis TLC indica el consumo completo del material inicial. La mezcla de reacción se enfría a RT, se filtra a través de Celite y se concentra en un rotavapor. El residuo se recoge en HCl acuoso 2M. La extracción con EtOAc, la eliminación del solvente y la purificación por FCC (hexano / EtOAc 5:1) produce el compuesto base. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 1.28 (t, J = 8.8 Hz, 3H), 4.22 (q, J = 8.8 Hz, 2H), 4.39 (s, 2H), 7.68 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 7.95 - 8.03 (m, 2H), 8.48 (s, 1H), 10.2 (s, 1H). $\text{ES}^+\text{-MS}$: 275.3, 277.3 [M + H] $^+$.

Preparación del ácido (2-cloro-7-ciano-naftalen-1-il)- acético etil éster

El ácido (2-cloro-7-trifluorometanosulfoniloxinaftalen-1-il)- acético etil éster (9.30 g, 23.43 mmol) se disuelve en DMF (80 ml) bajo una atmósfera de argón. Se adicionan paladio(0) tetrakis(trifenilfosfano) (1.08 g, 0.9375 mmol) y cianuro de zinc(II) (5.50 g, 46.87 mmol). La mezcla de reacción se calienta a 125 °C. Después de 1 h, el análisis por TLC indica el consumo completo del material inicial. La suspensión se enfría a RT y se vierte sobre agua. Después de agitar durante 15 minutos, la filtración y concentración produce el producto de reacción crudo. La purificación por FCC (hexano / EtOAc 4:1) produce el compuesto base. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 1.26 (t, J = 8.8 Hz, 3H), 4.19 (q, J = 8.8 Hz, 2H), 4.28 (s, 2H), 7.62 - 7.66 (m, 2H), 7.79 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H). $\text{ES}^+\text{-MS}$: 274.2 [M + H] $^+$.

Preparación del Ácido (2-cloro-7-trifluorometanosulfoniloxinaftalen-1-il)- acético etil éster

El ácido (2-cloro-7-hidroxi-naftalen-1-il)- acético etil éster (8.03 g, 30.33 mmol) se disuelve bajo una atmósfera de argón en piridina (60 ml). Después de enfriar a 0°C, se adiciona gota a gota ácido trifluorometanosulfónico anhídrido (5.50 ml, 33.36 mmol) durante 15 minutos. Después de agitar a 0°C, durante 15 minutos y a RT durante 1 h, el análisis por TLC indica el consumo completo del material inicial. La mezcla de reacción se vierte en solución acuosa NaHCO_3 1M. Después la extracción con EtOAc, el lavado con salmuera y el secado de la capa orgánica sobre Na_2SO_4 , la concentración produce el producto de reacción crudo. La purificación por FCC (hexano/EtOAc 4:1) produce el compuesto base. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 1.13 (t, J = 9.4 Hz, 3H), 4.08 (q, J = 9.4 Hz, 2H), 4.15 (s, 2H), 7.28 - 7.30 (m, 1H), 7.48 (d, J = 11 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 11 Hz, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.82 (d, J = 11 Hz, 1H). $\text{ES}^+\text{-MS}$: 414.2, 416.0, 397.1 [M + H] $^+$.

Preparación del Ácido (2-cloro-7-hidroxi-naftalen-1-il)- acético etil éster

El ácido (2-cloro-7-metoxi-naftalen-1-il)- acético etil éster (12.0 g, 43.10 mmol) y el tetrabutilamonio yoduro (20.7 g, 56.04 mmol) se disuelven bajo una atmósfera de argón en CH_2Cl_2 (240 ml). La mezcla de reacción se enfría a -78 °C y se adiciona una solución 1M de BBr_3 en CH_2Cl_2 (108 ml, 107.77 mmol) durante 30 minutos. Después de agitar a -78 °C, durante 15 minutos y a RT durante 1 h, el análisis por TLC indica el consumo completo del material inicial. Una solución saturada acuosa de NaHCO_3 (8 ml) se adiciona con cuidado. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na_2SO_4 y se concentra. La purificación por FCC (hexano /EtOAc 4:1 a 3:2) produce el compuesto base. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 1.51 (t, J = 9.9 Hz, 3H), 4.43 (q, J = 9.9 Hz, 2H), 4.48 (s, 2H), 6.28 - 6.36 (br, 1H), 7.29 - 7.32 (m, 1H), 7.48 - 7.49 (m, 1H), 7.58 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 10 Hz, 1H). $\text{ES}^+\text{-MS}$: 265.2, 267.2 [M + H] $^+$.

Preparación del Ácido (2-cloro-7-metoxi-naftalen-1-il)- acético etil éster

Una mezcla del ácido [2-cloro-7-metoxi-3,4-dihidro-2H-naftalen-(1E/Z)-ilideno]- acético etil éster y del ácido (2-cloro-7-metoxi-3,4-dihidro-naftalen-1-il)- acético etil éster (26.82 g, 95.52 mmol) se disuelve bajo una atmósfera de argón en dioxano (280 ml). Se adiciona 2,3-dicloro-5,6-diciano-p-benzoquinona (DDQ, 47.70 g, 210.16 mmol), y la mezcla de reacción se somete a reflujo durante 2 h. El análisis por TLC indica la conversión completa del material inicial. Después de enfriar a RT, la adición de MeOH hace la mezcla de reacción homogénea. Se adiciona sílica gel (250 g), y el solvente se elimina por evaporación rotatoria. La purificación por FCC (hexano/EtOAc 9:1) produce el compuesto base. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 1.24 (t, J = 8.8 Hz, 3H), 3.95 (s, 3H), 4.19 (q, J = 8.8 Hz, 2H), 4.28 (s, 2H), 7.16 - 7.19 (m, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.38 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 10 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 10 Hz, 1H). $\text{ES}^+\text{-MS}$: 279.2, 281.2 [M + H] $^+$.

Preparación del Ácido (2-cloro-7-metoxi-3,4-dihidro-naftalen-1-il)- acético etil éster

El ácido (2-cloro-1-hidroxi-7-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il)- acético etil éster (42.7 g, 142.9 mmol) se disuelve bajo una atmósfera de argón en piridina (250 ml). Se adiciona ácido trifluorometanosulfónico anhídrido (30.7 ml, 185.8 mmol) durante 30 minutos, mientras se mantiene la temperatura a 25 °C con enfriamiento ocasional con un baño de agua. Después de que la adición se completa, la mezcla de reacción se calienta a 50 °C, durante 2 h. El análisis por TLC indica la conversión completa del material inicial. Se adiciona HCl acuoso 2M (100 ml) con cuidado, y luego la mezcla de reacción se concentra a sequedad en el rotavapor. El residuo se recoge en HCl acuoso 2M (100 ml) y se extrae con EtOAc. La capa orgánica se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra. La purificación por FCC (EtOAc) produce el compuesto base. ES⁺-MS: 281.2, 283.2 [M + H]⁺.

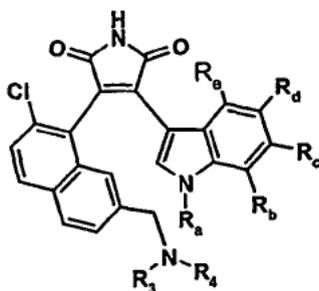
10 *Preparación del Ácido (2-cloro-1-hidroxi-7-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il)- acético etil éster*

Una solución de EtOAc (16.1 ml, 164.48 mmol) en THF (250 ml) se adiciona lentamente bajo una atmósfera de argón a -78 °C a una solución de diisopropilamina de litio (preparada a partir de 23.3 ml de diisopropilamina (164.48 mmol) y 102.8 ml de n-BuLi 1.6 M en hexano (164.48 mmol) en THF (250 ml). Después de agitar a -78 °C, durante 30 minutos, una solución de 2-cloro-7-metoxi-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (31.5 g, 149.53 mmol) en THF (250 ml) se adiciona lentamente durante 30 minutos. La mezcla de reacción se agita a -78 °C, durante 1 h. El análisis por TLC indica la conversión completa del material inicial. Una solución saturada acuosa de NH₄Cl (250 ml) se adiciona con cuidado a la mezcla de reacción a -78 °C. La mezcla se calienta a RT. La capa orgánica se separa, se diluye con EtOAc y se lava con salmuera. Después del secado sobre Na₂SO₄, el solvente se elimina. La purificación por FCC (hexano / EtOAc 4:1) produce el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.27 (t, J = 9.4 Hz, 3H), 2.32 - 2.48 (m, 2H), 2.78 - 2.88 (m, 1H), 2.86 - 3.02 (m, 2H), 3.05 - 3.14 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 4.18 (q, J = 9.4 Hz, 2H), 5.02 - 5.08 (m, 1H), 6.81 - 6.84 (m, 1H), 7.03 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 7.18 - 7.19 (m, 1H). ES⁺-MS: 281.3, 283.3 [M + H - H₂O]⁺.

Preparación de 2-Cloro-7-metoxi-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona

Se adiciona lentamente una solución de 7-Metoxi-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (25.6 g, 145.28 mmol) en THF (300 ml) bajo una atmósfera de argón a -78 °C a una solución de diisopropilamina de litio en THF (300 ml; preparada a partir de 22.6 ml de diisopropilamina (160 mmol) y 100 ml de n-BuLi 1.6 M en hexano (160 mmol)). Después de 30 minutos a -78 °C, una solución de para-tolilsulfonil cloruro (30.5 g, 159.8 mmol) en THF (300 ml) se adiciona durante 20 minutos. El baño de enfriamiento de hielo seco se elimina, y la mezcla de reacción se deja alcanzar a RT. Después de 1 h, el análisis TLC indica el consumo completo del material inicial. Una solución saturada acuosa de NH₄Cl (100 ml) se adiciona, y la mezcla se agita a RT durante 15 minutos. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra. La purificación por FCC (hexano/EtOAc 3:1) produce el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 2.32 - 2.52 (m, 2H), 2.82 - 2.90 (m, 2H), 3.10 - 3.18 (m, 2H), 3.78 (s, 1H), 4.52 - 4.58 (m, 1H), 7.01 - 7.05 (m, 1H), 7.11 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.47 - 7.48 (m, 1H). ES⁺-MS: 211.3, 213.3 [M + H]⁺.

35 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1, pero utilizando los materiales iniciales apropiados, se pueden obtener los compuestos de fórmula A en donde R_a, R_b, R_c, R_d, R₃ y R₄ son como se indica en la Tabla 2, a continuación y R_e es H.

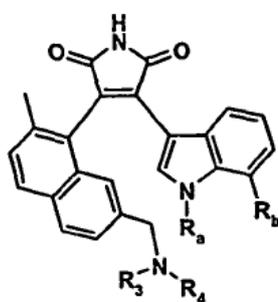


A

Tabla 1

	R ₃	R ₄	R _a	R _b	R _c	R _d	MS
2.	H	H	CH ₃	H	H	H	MH ⁺ 417
3.	H	CH ₃	H	H	H	H	MH ⁺ 417
4.	H	CH ₃	CH ₃	H	H	H	MH ⁺ 431
5.	H	CH ₃	H	CH ₃	H	H	MH ⁺ 431
6.	H	CH ₃	H	H	CH ₃	H	MH ⁺ 431
7.	H	CH ₃	H	H	H	CH ₃	MH ⁺ 445
8.	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	H	H	MH ⁺ 444
9.	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	MH ⁺ 431
10.	CH ₃	CH ₃	H	H	CH ₃	H	MH ⁺ 445
11.	CH ₃	CH ₃	H	H	H	CH ₃	MH ⁺ 445
12.	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₃	H	H	H	MH ⁺ 459
13.	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₃	H	H	H	MH ⁺ 473
14.	H	CH ₂ CH ₃	CH ₃	H	H	H	MH ⁺ 445
15.	H	i-propilo	CH ₃	H	H	H	MH ⁺ 459
16.	-CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃)-CH ₂ -CH ₂ -		H ₃	H	H	H	MH ⁺ 500
17.	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -		CH ₃	H	H	H	MH ⁺ 471

5 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1, pero utilizando los materiales iniciales apropiados, se pueden obtener los compuestos de fórmula B en donde R_c, R_d y R_e son H; y R_a, R_b, R₃ y R₄ son como se indica en la Tabla 2, a continuación.



B

Tabla 2

	R ₃	R ₄	R _a	R _b	MS
18.	H	H	CH ₃	CH ₃	MH ⁺ 410
19.	H	H	H	CH ₃	MH ⁺ 396
20.	H	H	H	H	MH ⁺ 382
21.	H	H	CH ₃	H	MH ⁺ 396

5 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1, pero utilizando los materiales iniciales apropiados, se pueden obtener los compuestos de fórmula B, en donde R_b, R_c, R_d y R_e son H; y R_a, R₃ y R₄ son como se indica en la Tabla 3, a continuación.

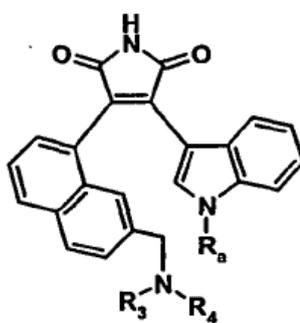
**B**

Tabla 3

	R ₃	R ₄	R _a	MS
22.	H	H	H	MH ⁺ 368
23.	H	H	CH ₃	MH ⁺ 382

10 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1, pero utilizando los materiales iniciales apropiados, se pueden obtener los compuestos de fórmula C, en donde R_b, R_c, R_d y R_e son H; y R_a, R₃ y R₄ son como se indica en la Tabla 4, a continuación.

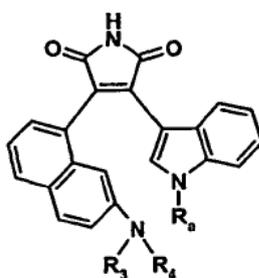
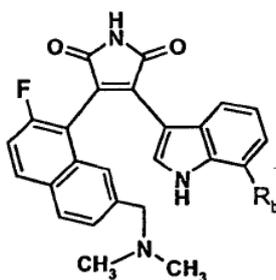
**C**

Tabla 4

	R ₃	R ₄	R _a	MS
24.	H	H	CH ₃	MH ⁺ 368
25.	H	H	H	MH ⁺ 354

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1, pero utilizando los materiales iniciales apropiados, se pueden obtener los compuestos de fórmula D, en donde R_b es como se indica en la Tabla 5, a continuación.



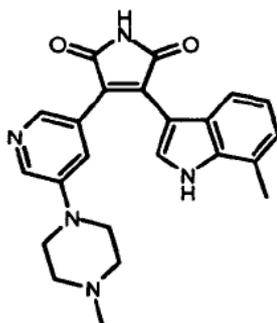
D

5

Tabla 5

	R _b	MS
26.	CH ₃	MH ⁺ 428
27.	H	MH ⁺ 414

Ejemplo-Referencia 28: 3-(7-Metil-1H-indol-3-il)- 4-[5-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-3-il]-pirrol-2,5-diona



- 10 La 2-[5-(4-Metil-piperazin-1-il)- piridin-3-il]-acetamida (150 mg, 0.64 mmol) y el ácido (7-metil-1H-indol-3-il)- oxa
acético metil éster (209 mg, 0.96 mmol) se disuelven bajo una atmósfera de argón en una mezcla de DMF seco (2
ml) y THF seco (2 ml). Luego se adiciona una solución de KOtBu 1.0 M en THF (1.9 ml, 1.9 mmol) a RT. Después de
1 h a 50 °C, el análisis por TLC indicó la conversión completa de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se
diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NH₄Cl. La capa orgánica se separa, se lava con
15 salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, y el solvente orgánico se evapora. El residuo se purifica por FCC (EtOAc / AcOH /
H₂O 600:115:150) para proporcionar el compuesto base. ¹H NMR (d₆-DMSO 400 MHz): δ 2.15 (s, 3H), 2.28 - 2.32
(m, 2H), 2.92 - 3.00 (m, 2H), 3.15 (s, 3H), 6.21 (d, J = 9 Hz, 1H), 6.64 (t, J = 9 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 9 Hz, 1H), 7.22 (s,
1H), 7.98 (br s, 1H), 8.20 - 8.22 (m, 1H). ES⁺-MS: 402.6 [M + H]⁺.

Preparación de la 2-[5-(4-Metil-piperin-1-il)- piridin-3-il]-acetamida

5 El Ácido [5-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-3-il]- acético (1.57 g, 5.78 mmol) y carbonil diimidazol (1.03 g, 6.36 mmol) se disuelven bajo una atmósfera de argón en DMF (16 ml). Después de agitar a RT durante 1 h, se adiciona NH₄OH acuoso (25%, 16 ml), y la agitación a RT se continúa durante 15 minutos. El análisis por TLC indicó el consumo completo del material inicial. La capa acuosa se satura con NaCl y se extrajo repetidamente con CH₂Cl₂. Las capas orgánicas se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran. La purificación por FCC (CH₂Cl₂ : MeOH 95:5 a 90:10 a 80:20 a 70:30 a 50:50 a 25:75 a 0:100) produce el compuesto base. ¹H NMR (d₆-DMSO 400 MHz): δ 2.76 (s, 3H), 3.12 - 3.42 (m, 8H), 3.34 (s, 2H), 6.86 - 6.96 (br s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 8.21 (s, 1H). ES⁺-MS: 235.4 [M + H]⁺.

Preparación del Ácido [5-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-3-il]- acético

10 El ácido [5-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-3-il]- acético ter-butil éster (1.68 g, 5.77 mmol) se disuelve en HCl 4 M en dioxano (28 ml). Después de 1 h a 60 °C, el análisis por TLC indicó el consumo completo del material inicial. La mezcla de reacción se enfría a RT y se diluye con Et₂O. El precipitado se filtra y se lava con Et₂O para producir el compuesto base, que se utiliza en la siguiente reacción sin purificación adicional. ¹H NMR (d₆-DMSO 400 MHz): δ 2.79 (s, 3H), 3.05 - 4.10 (br m, 8 H), 3.81 (s, 2H), 8.04 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.45 (s, 1H). ES⁺-MS: 236.4 [M + H]⁺.

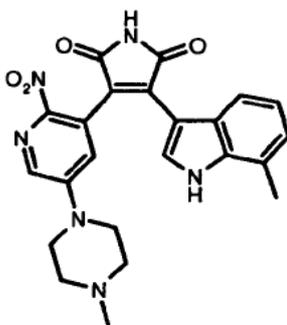
15 *Preparación del 2-[5-(4-Metil-piperazin-1-il)- piridin-3-il]-acetamida ácido [5-(4-Metil-piperazin-1-il)- piridin-3-il]- acético ter-butil éster*

20 El fosfato de potasio (4.08 g, 19.21 mmol) se seca con alto vacío a 100 °C, durante 90 minutos. Después de enfriar a RT y de aireación con argón, se adicionan Pd₂(dba)₃ (70 mg, 0.077 mmol), dicitclohexil-(2',4',6'-trisiopropil-bifenil-2-il)- fosfano (183 mg, 0.38 mmol), una mezcla desgacificada de tolueno / ter-butanol (9:1, 20 ml) y N-metil piperazina (1.15 g, 11.53 mmol). La mezcla de reacción se sumerge en un baño de aceite pre-calentado (100 °C). Después de 2 h a 100 °C, se adicionan más Pd₂(dba)₃ (70 mg, 0.077 mmol) y dicitclohexil-(2',4',6'-trisiopropil-bifenil-2-il)- fosfano (183 mg, 0.38 mmol). Después de otras 2 h a 100°C, el análisis por TLC indicó la conversión completa del material inicial. La mezcla de reacción se enfría a RT, se diluye con agua y se extrae con CH₂Cl₂. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran. La purificación por FCC (CH₂Cl₂ : MeOH 95:5 a 92:8 a 88:12 a 80:20) produce el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.57 (s, 9H), 2.48 (s, 3H), 2.68 - 2.72 (m, 4H), 3.35 - 3.40 (m, 4H), 3.60 (s, 2H), 7.24 - 7.27 (m, 1H), 8.10 (br s, 1H), 8.32 - 8.33 (m, 1H). ES⁺-MS: 292.4 [M + H]⁺.

Preparación del Ácido (5-cloro-piridin-3-il)- acético ter-butil éster

30 Se adicionan Pd₂(dba)₃ (928 mg, 1.01 mmol) y (2'-dicitclohexilfosfanil-bifenil-2-il)- dimetilamina (838 mg, 2.13 mmol) a RT bajo una atmósfera de argón a una solución de litio hexametil disilazida en tolueno (preparada mediante la adición de n-BuLi (1.6 M en hexano, 24.3 ml, 38.85 mmol) a hexametil disilazano (6.27 g, 38.85 mmol) en tolueno (100 ml) a - 78 °C). La mezcla se agita a RT durante 10 minutos, luego se enfría a -10 °C. El ácido acético ter-butil éster (4.12 g, 35.48 mmol) se adiciona durante 10 minutos. Esta mezcla se cánula en una solución fría (- 10 °C) de 1,3-dicloropiridina (5.00 g, 33.79 mmol) en tolueno (40 ml). La mezcla se calienta a RT y se agita durante 2 h. El análisis por TLC indicó la conversión sustancial del material inicial. Se adicionó agua, la suspensión resultante se filtra, y el filtrado se extrae con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran. La purificación por FCC (hexano / EtOAc 100:0 a 92:8 a 85:15) produce el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.39 (s, 9H), 3.47 (s, 2H), 7.58 - 7.60 (m, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.41 - 8.42 (m, 1H). ES⁺-MS: 228.3 [M + H]⁺.

Ejemplo-Referencia 29: 3-(7-Metil-1H-indol-3-il)- 4-[2-metil-5-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-3-il]-pirrol-2,5-diona



40 A una solución de 2-[5-(4-Metil-piperazin-1-il)- 2-nitro-piridin-3-il]-acetamida (96 mg, 0.34 mmol) y ácido (7-Metil-1H-indol-3-il)- oxo- acético metil éster (127 mg, 0.58 mmol) en THF seco (8.0 mL) se le adiciona a 0°C bajo una atmósfera de argón, una solución de KOtBu 1.0 M en THF (1.7 ml, 1.7 mmol). Después de agitar durante 2 h a 0 °C, el análisis por TLC indicó el consumo completo de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se diluye con

EtOAc y se lava con salmuera. La fase acuosa se extrae con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavan con salmuera, se secan sobre Na₂SO₄, y se concentran a presión reducida. El residuo se purifica por FCC (EtOAc / AcOH / H₂O 6:1:1) para proporcionar el compuesto base como un polvo de color naranja. ¹H NMR (d₆-DMSO 400 MHz): δ 2.05 (s, 3H), 2.04 - 2.11 (m, 4H), 2.46 (s, 3H), 3.06 - 3.14 (m, 4H), 6.35 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.65 (dd, J = 8.1, 7.2 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.16 (d, J = 2.0 Hz, 1H). ES⁺-MS: 447 [M + H]⁺.

Preparación de la 2-[5-(4-Metil-piperazin-1-il)- 2-nitro-piridin-3-il]- acetamida

Una solución de ácido [5-(4-Metil-piperazin-1-il)- 2-nitro-piridin-3-il]- acético metil éster (222 mg, 0.75 mmol) en 33 % de NH₄OH acuoso (100 mL) se agita durante 16 h a 50 °C en un autoclave sellado. El análisis por TLC indicó el consumo completo del material inicial. El solvente se evapora a presión reducida para proporcionar el compuesto base como un sólido de color amarillo en una mezcla 3:2 con el ácido carboxílico correspondiente. ¹H NMR (d₆-DMSO 400 MHz): δ 2.18 (s, 3H), 2.36 - 2.44 (m, 4H), 3.36 - 3.44 (m, 4H), 3.77 (s, 2H), 6.92 (bs, 1H), 7.34 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.44 (bs, 1H), 8.07 (d, J = 2 Hz, 1H). ES⁺-MS: 280.4 [M + H]⁺.

Preparación del Ácido [5-(4-metil-piperazin-1-il)- 2-nitro-piridin-3-il]- acético metil éster

Una mezcla del ácido (5-bromo-2-nitro-piridin-3-il)- acético metil éster (472 mg, 1.72 mmol) y N-metilpiperazina (344 mg, 3.44 mmol) se calienta durante 18 h bajo una atmósfera de argón. El análisis por TLC indicó el consumo completo del material inicial. La mezcla de reacción se enfría a RT, se diluye con agua y se ajusta a pH 8 - 9 con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. La fase acuosa se extrae tres veces con cloruro de metileno y las capas orgánicas combinadas se lavan con salmuera, se secan sobre Na₂SO₄, y se concentran a presión reducida. El producto crudo se purifica por FCC (cloruro de metileno / MeOH 95:5 a 90:10) para proporcionar el compuesto base como un sólido de color amarillo. ¹H NMR (d₆-DMSO 400 MHz): δ 2.01 (s, 3H), 2.22 - 2.26 (m, 4H), 3.24 - 3.28 (m, 4H), 3.40 (s, 3H), 3.81 (s, 2H), 7.26 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 2 Hz, 1H). ES⁺-MS: 295.3 [M + H]⁺.

Preparación del Ácido (5-bromo-2-nitro-piridin-3-il)- acético metil éster

A una suspensión de 5-Bromo-2-nitro-piridina (2.33 g, 11.5 mmol) y ácido trimetilsilanil- acético metil éster (1.8 g, 12.0 mmol) en THF (12 mL) se adiciona a -78 °C una solución de TBAF seco (3.0 g, 11.5 mmol), obtenido mediante el secado de TBAF x 3 H₂O (7.5 g) durante 18 h a 70 °C con alto vacío, en una mezcla de acetonitrilo (6 mL) y THF (6 mL). La solución resultante de color rojo oscuro se agita durante 1 h a -40 °C. El análisis por TLC indicó el consumo completo del material inicial. La mezcla de reacción se enfría a -78 °C y se adiciona con cuidado DDQ (2.6 g, 11.5 mmol). La solución de color negro se calienta lentamente a RT. Dado que el análisis por TLC indicó que no se produjeron más cambios, la mezcla de reacción se somete a partición entre EtOAc y una solución saturada acuosa de NH₄Cl. Las capas se separan y la capa orgánica se lava con una solución acuosa saturada de NH₄Cl, salmuera, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra a presión reducida. El producto crudo se purifica por FCC (ciclohexano/EtOAc 9:1 a 8:1) para proporcionar el compuesto base como agujas de color amarillo. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 3.94 (s, 3H), 4.17 (s, 2H), 8.20 (s, 1H), 8.78 (s, 1H).

35 Siguiendo el procedimientos de los Ejemplos-Referencia 28 y 29, pero utilizando los materiales iniciales apropiados, se pueden obtener los compuestos de fórmula E, en donde R_a, R_b, y R₂ son como se indica en la Tabla 6, a continuación.

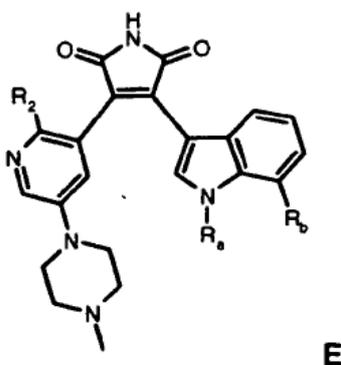
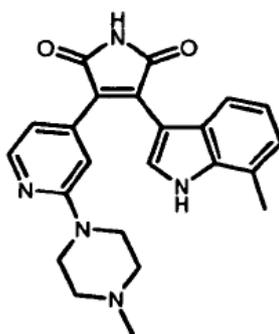


Tabla 6

Ejemplo Referencia	R ₂	R _a	R _b	MS
30	H	CH ₃	H	MH ⁺ 402
31	H	H	H	MH ⁺ 388
32	CF ₃	H	CH ₃	MH ⁺ 470
33	CF ₃	H	H	MH ⁺ 456
34	CF ₃	CH ₃	H	MH ⁺ 470
35	H	H	CH ₃	MH ⁺ 402
36	NO ₂	H	H	MH ⁺ 433
37	Cl	H	CH ₃	MH ⁺ 437

Ejemplo-Referencia 38: 3-(7-Metil-1H-indol-3-il)- 4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]-pirrol-2,5-diona



- 5 Una mezcla de 2-[2-(4-Metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]-acetamida (34 mg, 0.15 mmol) y ácido (7-metil-1H-indol- 3-il)-oxo- acético metil éster (47 mg, 0.22 mmol) se seca azeotrópicamente disolviendo en THF seco (3 ml) y con evaporación. Bajo una atmósfera de argón, la mezcla se disuelve en THF seco (1 ml), y se adiciona gota a gota una solución de KOtBu 1.0 M en THF (0.44 ml, 0.44 mmol) a RT. Después de 5 minutos a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NH₄Cl. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, y la capa orgánica se evapora. El residuo se purifica por FCC (CH₂Cl₂ /MeOH 95:5 a 90: a 85:15) y mediante HPLC preparativa (H₂O / MeCN / TFA 95:5:0.1) para proporcionar el compuesto base como una sal de TFA de color rojo. ¹H NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): δ 2.48 (s, 3H), 2.78 (s, 3H), 2.78 - 3.02 (m, 4H), 3.39 (d, J = 12 Hz, 2H), 4.14 (d, J = 13 Hz, 2H), 6.24 (d, J = 9 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 6 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 6 Hz, 1H), 9.71 (s, amplitud, 1H), 11.19 (s, 1H), 12.09 (d, J = 3 Hz, 1H). ES⁺-MS: 402.5 [M + H]⁺, ES⁻-MS: 400.3 [M - H]⁻.

Preparación de la 2-[2-(4-Metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]-acetamida

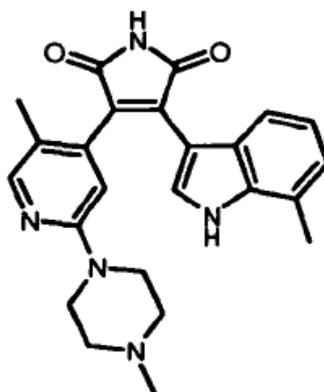
- El Ácido [2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]-acético ter-butil éster (95 mg, 0.33 mmol) se disuelve en una mezcla de TFA y CH₂Cl₂ (5 ml / 5 ml) y se agita a RT. Después de 1 h a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa del material inicial. El solvente se elimina por evaporación rotatoria, y se reemplaza por DMF seco (1.5 ml). Bajo una atmósfera de argón, se adiciona carbonil diimidazol (58 mg, 0.36 mmol). Después de 20 minutos a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa del ácido carboxílico. Se adiciona a RT, una solución acuosa de amoníaco (25%, 6 ml). Después de 15 minutos a RT, los solventes se retiran con alto vacío. El residuo se disuelve en CH₂Cl₂/MeOH (9:1) y se purifica por FCC (CH₂Cl₂ / MeOH, gradiente lento de 95:5 a 40:60) para producir el compuesto base. ¹H NMR (d₄-MeOD, 400 MHz): δ 2.35 (s, 3H), 2.56 (m, 4H), 3.46 (s, 2H), 3.54 (m, 4H), 6.66 (d, J = 6 Hz, 1H), 6.78 (s, 1H), 8.02 (d, J = 6 Hz, 1H). ES⁺-MS: 235.3 [M + H]⁺.

Preparación del Ácido [2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]- acético ter-butil éster

Fosfato de potasio (2.65 g, 12.47 mmol) se seca a 120 °C con alto vacío durante 45 minutos. Después de enfriar a RT y de aireación con argón seco, se adicionan dibencilideneacetona paladio (Pd₂(dba)₃, 25 mg, 0.03 mmol) y di-ter-butilfosfina pentafenilferroceno (39 mg, 0.06 mmol). El ácido (2-cloro-piridin-4-il)- acético ter-butil éster (631 mg, 2.77 mmol), se disuelve en 1,2-dimetoxietano (14 ml, seco haciéndolo pasar a través de una columna de óxido de aluminio básico), y se adiciona 1-metil piperazina (830 mg, 8.31 mmol). La mezcla de reacción se calienta a 40 °C, durante 1 h. Se adiciona Pd₂(dba)₃ (25 mg, 0.03 mmol) adicional y ligando de fosfina (39 mg, 0.06 mmol), y la agitación se continúa a 60 °C, durante 2 h. Se adiciona más Pd₂(dba)₃ (25 mg, 0.03 mmol) y ligando de fosfina (39 mg, 0.06 mmol), y la agitación se continúa a 90 °C, durante 18 h y a RT durante 72 h. El análisis por TLC y MS indicó la presencia del producto deseado. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución saturada de NaCl en agua. La capa orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄, y el solvente se evapora. La purificación del residuo mediante FCC (hexano / EtOAc, gradiente de 95:5 a 90:10) produce el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.44 (s, 9H), 2.34 (s, 3H), 2.52 (m, 4H), 3.42 (s, 2H), 3.55 (m, 4H), 6.55 (d, J = 4 Hz, 1H), 6.56 (s, 1H), 8.11 (d, J = 4 Hz, 1H). ES⁺-MS: 292.4 [M + H]⁺.

15 *Preparación de Ácido (2-cloro-piridin-4-il)- acético ter-butil éster*

El hexametil disilazano (5.45 g, 33.8 mmol) se disuelve en tolueno seco (80 ml) bajo una atmósfera de argón. Después de purgar completamente el solvente con argón, la solución se enfría a -78 °C, y se adiciona n-BuLi (21.1 ml de una solución 1.6 M en hexanos, 33.8 mmol). La mezcla se agita durante 15 minutos a -78 °C y durante 15 minutos a RT, después de lo cual se obtiene una solución clara. Se adicionan paladio dibencilideneacetona (Pd₂(dba)₃, 743 mg, 0.81 mmol) y (2'-diciclohexilfosfanil-bifenil-2-il)- dimetil-amina (670 mg, 1.70 mmol). La mezcla se agita durante 10 minutos a RT, luego se enfría a -10 °C. Se adiciona lentamente ácido acético ter-butil éster (3.61 g, 31.08 mmol). Después de 10 minutos a -10 °C, se adiciona 2,4-dicloropiridina (4.00 g, 27.03 mmol) en una porción. La mezcla de reacción se deja calentar a RT. Después de 1 h, el análisis por TLC indicó el consumo completo de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NH₄Cl. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, y el solvente se evapora. El residuo se purifica por FCC (hexanos / EtOAc, gradiente de 97:3 a 90:10) para proporcionar el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.44 (s, 9H), 3.51 (s, 2H), 7.15 (dd, J = 1 Hz, 4 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 1 Hz, 1H), 8.32 (d, J = 4 Hz) . ES⁺-MS: 228.2, 230.1 (Cl) [M + H]⁺.

30 **Ejemplo-Referencia 39: 3-(7-Metil-1H-indol-3-il)- 4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]-pirrol- 2,5-diona**

Una mezcla de 2-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]-acetamida (30 mg, 0.12 mmol) y ácido (7-metil- 1H-indol-3-il)- oxo- acético metil éster (39 mg, 0.18 mmol) se seca azeotrópicamente disolviendo en THF seco (3 ml) y con evaporación. Bajo una atmósfera de argón, la mezcla se disuelve en THF seco (1 ml), y se adiciona gota a gota una solución de KOtBu 1.0 M en THF (0.36 ml, 0.36 mmol) a RT. Después de 10 minutos a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NH₄Cl. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, y la capa orgánica se evapora. El residuo se purifica por HPLC preparativa (H₂O/MeCN/TFA 95:5:0.1) para proporcionar el compuesto base como una sal de TFA de color rojo. ¹H NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): δ 1.79 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.79 (d, J = 3 Hz, 3H), 2.75 - 3.07 (m, 2H), 3.44 (s, amplitud, 2H), 4.25 (s, amplitud, 2H), 6.30 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.64 (dd, J = 8 Hz, 8 Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.88 (d, J = 8 Hz, 1H), 8.00 (d, J = 2 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 9.70 (s, amplitud, 1H), 11.16 (s, 1H), 12.04 (d, J = 2 Hz, 1H). ¹⁹F NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): δ -74.542. ES⁺-MS: 416.4 [M + H]⁺, ES⁻-MS: 414.4 [M - H]⁻.

Preparación de la 2-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]-acetamida

El ácido [5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]- acético ter-butil éster (320 mg, 1.05 mmol) se disuelve en una mezcla de TFA y CH₂Cl₂ (10 ml/10 ml) y se agita a RT. Después de 1 h a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa del material inicial. El solvente se elimina por evaporación rotatoria, y se reemplaza por DMF seco (1.5 ml).
 5 Bajo una atmósfera de argón, se adiciona carbonil diimidazol (187 mg, 1.16 mmol). Después de 30 minutos a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa del ácido carboxílico. Se adiciona a RT, una solución acuosa de amoniaco (25%, 16 ml). Después de 15 minutos a RT, los solventes se retiran con alto vacío. El residuo se disuelve en CH₂Cl₂ MeOH (9:1) y se purifica por FCC (CH₂Cl₂ / MeOH, gradiente lento de 95:5 a 40:60) para producir el compuesto base. ¹H NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): δ 2.07 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 2.64 (s, amplitud, 4H), 3.34 (s, 2H),
 10 3.46 (s, amplitud, 4H), 6.72 (s, 1H), 6.95 (s, amplitud, 1H), 7.44 (s, amplitud, 1H), 7.87 (s, 1H). ES⁺-MS: 249.3 [M + H]⁺, ES⁻-MS: 247.3 [M - H]⁻.

Preparación del Ácido [5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]- acético ter-butil éster

El ter-butóxido de sodio (227 mg, 2.37 mmol) se seca con alto vacío a aproximadamente 80 °C. Después de purgar con argón y de enfriar a RT, se adicionan acetato de paladio (39 mg, 0.17 mmol), rac-2,2'-bis-difenilfosfanil-[1,1']binaftalenil (rac-BINAP, 54 mg, 0.09 mmol) y ácido (2-cloro-5-metil-piridin-4-il)- acético ter-butil éster (520 mg, 2.15 mmol). La mezcla se disuelve en dioxano (7 ml, se desgacifica con tres ciclos de congelación/descongelación bajo HV/argón), y se adiciona 1-metil-piperazina (237 mg, 2.37 mmol). El matraz de fondo redondo que contiene la mezcla de reacción se sumerge en un baño de aceite pre-calentado (T = 85 °C). Después de 30 minutos, el análisis por TLC indicó la conversión casi completa de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NH₄Cl. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, y el solvente se evapora. El residuo se purifica por FCC (CH₂Cl₂ / MeOH, gradiente lento de 98:2 a 90:10) para proporcionar el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.43 (s, 9H), 2.14 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.51 (m, 4H), 3.44 (s, 2H), 3.49 (m, 4H), 6.51 (s, 1H), 7.96 (s, 1H). ES⁺-MS: 306.4 [M + H]⁺.

Preparación del ácido (2-cloro-5-metil-piridin-4-il)- acético ter-butil éster

El hexametil disilazano (1.33 g, 8.23 mmol) se disuelve en tolueno seco (15 ml) bajo una atmósfera de argón. Después de purgar completamente el solvente con argón, la solución se enfría a -78 °C, y se adiciona n-BuLi (5.1 ml de una solución 1.6 M en hexanos, 8.23 mmol). La mezcla se agita durante 15 minutos a -78 °C y durante 15 minutos a rt, después de lo cual se obtiene una solución clara. Se adicionan paladio dibencilideneacetona (Pd₂(dba)₃, 151 mg, 0.16 mmol) y (2'-diclohexilfosfanil-bifenil-2-il)- dimetil-amina (136 mg, 0.35 mmol). La mezcla se agita durante 10 minutos a RT, a continuación se enfría a -10 °C. El ácido acético ter-butil éster (924 mg, 7.96 mmol) se adiciona lentamente. Después de 10 minutos a -10 °C, se adiciona en una porción 2,4-dicloro-5-metil-piridina (889 mg, 5.49 mmol). La mezcla de reacción se deja calentar a RT. Después de 1 h, el análisis por TLC indicó el consumo completo de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NH₄Cl. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, y el solvente se evapora. El residuo se purifica por FCC (hexanos / EtOAc, gradiente de 100:0 a 90:10) para proporcionar el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.45 (s, 9H), 2.26 (s, 3H), 3.52 (s, 2H), 7.18 (s, 1H), 8.18 (s, 1H). ES⁺-MS: 242.2, 244.2 (Cl) [M + H]⁺.

Preparación de la 2,4-dicloro-5-metil-piridina

La 2,4-dicloro-5-clorometil-piridina (1.43 g, 7.28 mmol) se disuelve en etanol (14 ml). Después de la adición de trietil amina (737 mg, 7.28 mmol), se adiciona níquel Raney (143 mg). El recipiente de reacción se conecta a un tanque lleno con H₂. Después de 3 horas de la agitación magnética muy vigorosa a RT, un análisis NMR de una alícuota de reacción indicó la conversión completa del material inicial. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en agua.

La capa acuosa se extrae tres veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄. La eliminación cuidadosa del solvente produce el compuesto base de pureza adecuada para otro uso. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 2.33 (s, 3H), 7.35 (s, 1H), 8.23 (s, 1H). ES⁺-MS: 160, 162, 164 (2 Cl) [M + H]⁺.

Preparación de la 2,4-Dicloro-5-clorometil-piridina

El (4,6-dicloro-piridin-3-il)- metanol (2.21 g, 12.41 mmol) se enfría bajo una atmósfera de argón a 0 °C. Se adiciona tionil cloruro (8 ml) con cuidado. Después de 5 minutos a 0 °C, la solución se calienta a reflujo. Después de 10 minutos, el análisis por TLC indicó la conversión completa del material inicial. Después de enfriar a RT, el exceso de tionil cloruro se elimina vía una bomba de membrana. El aceite remanente se disuelve en EtOAc. La solución se vierte en una solución acuosa concentrada de NaHCO₃. La capa orgánica se separa y se lava dos veces con una solución acuosa concentrada de NaCl. Después del secado sobre Na₂SO₄, el solvente orgánico se elimina para

proporcionar el compuesto base de pureza adecuada para su uso posterior inmediato. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 4.65 (s, 2H), 7.42 (s, 1H), 8.44 (s, 1H). $\text{ES}^+\text{-MS}$: 195, 197, 199 (3 Cl) $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Preparación del 2(4,6-Dicloro-piridin-3-il)- metanol

5 El ácido 4,6-dicloro-nicotínico etil éster (5.0 g, 22.72 mmol) se disuelve en dioxano (30 ml). Se adiciona una solución de hidróxido de litio (599 mg, 24.99 mmol) en agua (20 ml), y la mezcla se agita a RT. Después de 30 minutos, el análisis por TLC indicó la conversión completa del material inicial. Los solventes se retiran, y la sal de litio residual de ácido 4,6-dicloro-nicotínico, después del secado completo con alto vacío, se utiliza directamente en la siguiente etapa. $^1\text{H NMR}$ ($d_6\text{-DMSO}$, 400 MHz): δ 7.54 (s, 1H), 8.34 (s, 1H). $\text{ES}^-\text{-MS}$: 190.1, 192.1, 194.1 (2 Cl) $[\text{M} - \text{H}]^-$.

10 La sal de litio del ácido 4,6-dicloro-nicotínico (4.5 g, 22.72 mmol) se suspende en cloruro de tionilo (28 ml) bajo una atmósfera de argón. Después de homogenizar la mezcla en un baño de ultrasonido, la mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 2.5 h, después de lo cual el análisis por TLC indicó el consumo completo del material inicial. La solución se enfría a RT, y el exceso de cloruro de tionilo se elimina con una bomba de membrana. El residuo sólido se enfría a 0 °C, y se adiciona muy cuidadosamente una solución de borohidruro de sodio (3.10 g, 81.85 mmol) en agua (35 ml). Después de 1 h a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc, y la capa acuosa se satura con NaCl. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na_2SO_4 y el solvente se elimina. La purificación por FCC (hexanos:EtOAc, gradiente de 9:1 a 7:3) produce el compuesto base. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 2.00 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 4.81 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 7.38 (s, 1H), 8.47 (s, 1H). $\text{ES}^+\text{-MS}$: 178.1, 180.1, 181.9 (2 Cl) $[\text{M} + \text{H}]^+$.

20 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo-Referencia 39, pero utilizando los materiales iniciales apropiados, se pueden obtener los compuestos de fórmula F en donde R_c , R_d , R_e , son H; y R_a y R_b son como se indica en la Tabla 7, a continuación.

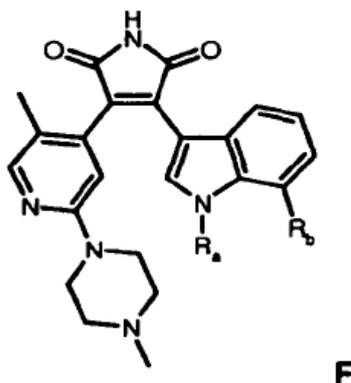
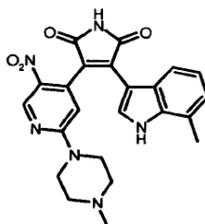


Tabla 7

Ejemplo Referencia	R_a	R_b	MS
40	H	H	MH^+ 402

25 **Ejemplo-Referencia 41: 3-(7-Metil-1H-indol-3-il)- 4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)- 5-nitro-piridin-4-il]-pirrol-2,5-diona**



Una mezcla de 2-[2-(4-Metil-piperazin-1-il)- 5-nitro-piridin-4-il]-acetamida (50 mg, 0.18 mmol) y ácido (7-metil-1H-indol-3-il)- oxo- acético metil éster (60 mg, 0.27 mmol) se seca azeotrópicamente disolviendo en THF seco (10 ml) y con evaporación. Bajo una atmósfera de argón, la mezcla se disuelve en THF seco (3 ml), y se adiciona gota a gota una solución de KOtBu 1.0 M en THF (0.54 ml, 0.54 mmol) a RT. Después de 10 minutos a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NH₄Cl. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, y la capa orgánica se evapora. El residuo se purifica por HPLC preparativa (H₂O / MeCN / TFA 95:5:0.1) para proporcionar el compuesto base como una sal de TFA de color rojo. ¹H NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): δ 2.48 (s, 3H), 2.70 (s, 3H), 3.00 - 3.22 (s, amplitud, 1H), 4.05 - 4.43 (s, amplitud, 4H), 6.44 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.76 (dd, J = 8 Hz, 8 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 8 Hz, 1H), 8.05 (d, J = 2 Hz, 1H), 9.07 (s, 1H), 9.80 (s, amplitud, 1H), 11.30 (s, 1H), 12.10 (d, J = 2 Hz, 1H). ¹⁹F NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): δ -73.959. ES⁺-MS: 447.3 [M + H]⁺, ES⁻-MS: 445.3 [M - H]⁻.

Preparación de la 2-[2-(4-Metil-piperazin-1-il)- 5-nitro-piridin-4-il]-acetamida

El Ácido [2-(4-metil-piperazin-1-il)- 5-nitro-piridin-4-il]- acético etil éster (250 mg, 0.81 mmol) se disuelve en metanol (2.5 ml). Se adiciona una solución acuosa de amoníaco (25%, 2.5 ml), y la mezcla se calienta a 40 °C, durante 18 h. el análisis por TLC indicó la conversión completa del material inicial. Los solventes se retiran, y el residuo se purifica por FCC (CH₂Cl₂ / MeOH, gradiente de 97:3 a 90:10) para proporcionar el compuesto base. ¹H NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): δ 2.21 (s, 3H), 2.38 (m, 4H), 3.72 (m, 4H), 3.80 (s, 2H), 6.84 (s, 1H), 6.93 (s, amplitud, 1H), 7.46 (s, amplitud, 1H), 8.85 (s, 1H). ES⁺-MS: 280.3 [M + H]⁺, ES⁻-MS: 278.3 [M - H]⁻.

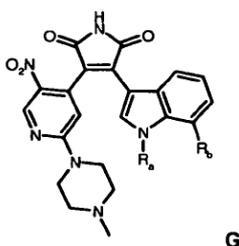
Preparación del Ácido [2-(4-metil-piperazin-1-il)- 5-nitro-piridin-4-il]- acético etil éster

Fosfato de potasio (2.48 g, 11.67 mmol) se seca a 120 °C con alto vacío durante 45 minutos. Después de enfriar a RT y de aireación con argón seco, se adicionan dibencilideneacetona paladio (Pd₂(dba)₃, 24 mg, 0.026 mmol) y di-ter-butilfosfino pentafenilferroceno (37 mg, 0.052 mmol). El ácido (2-bromo-5-nitro-piridin-4-il)- acético etil éster (750 mg, 2.59 mmol), se disuelve en 1,2-dimetoxietano (10 ml, seco haciéndolo pasar a través de una columna de óxido de aluminio básico), y se adiciona 1-metil piperazina (780 mg, 7.78 mmol). La mezcla de reacción se agita a RT durante 10 minutos, después de lo cual el análisis por TLC y MS indicó la conversión completa del material inicial. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución saturada de NaCl en agua. La capa orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄, y el solvente se evapora. La purificación del residuo por FCC (hexano / EtOAc, gradiente de 95:5 a 90:10) produce el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.26 (t, J = 7 Hz, 3H), 2.35 (s, 3H), 2.50 (m, 4H), 3.76 (m, 4H), 3.94 (s, 2H), 4.18 (q, J = 7 Hz, 2H), 6.36 (s, 1H), 9.05 (s, 1H). ES⁺-MS: 309.3 [M + H]⁺, ES⁻-MS: 307.3 [M - H]⁻.

Preparación del ácido (2-bromo-5-nitro-piridin-4-il)- acético etil éster

La 2-bromo-5-nitropiridina (1.84 g, 9.06 mmol) y el ácido trimetilsilanil- acético etil éster (1.53 g, 9.52 mmol) se disuelven bajo una atmósfera de argón en THF seco (10 ml). Después de enfriar a -78 °C, una solución de tetrabutilamonio fluoruro (TBAF, 2.37 g, secado durante la noche con vacío) en una mezcla de THF y se adiciona lentamente acetonitrilo (10 ml / 10 ml), de tal manera que la temperatura de reacción no sube por encima de -65 °C. Después de completar la adición, la mezcla se agita a -40 °C, durante 30 minutos, y a -20 °C, durante 10 minutos. La mezcla de reacción se vuelve a enfriar a -78 °C, y se adiciona el 2,3-dicloro-5,6-diciano-pbenzoquinona (DDQ, 2.06 g, 9.06 mmol). La suspensión se deja calentar a RT. El análisis por TLC indicó la conversión completa. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución saturada de solución de NH₄Cl. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, y el solvente se evapora. El residuo se purifica por FCC (tolueno / EtOAc 100:0 a 97:3) para proporcionar el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.26 (t, J = 7 Hz, 3H), 4.01 (s, 2H), 4.19 (q, J = 7 Hz, 2H), 7.53 (s, 1H), 9.06 (s, 1H). ES⁻-MS: 287, 289 [M - H]⁻

Siguiendo el procedimiento del Ejemplo-Referencia 41, pero utilizando los materiales iniciales apropiados, se pueden obtener los compuestos de fórmula G en donde R_a y R_b son como se indica en la Tabla 8, a continuación.

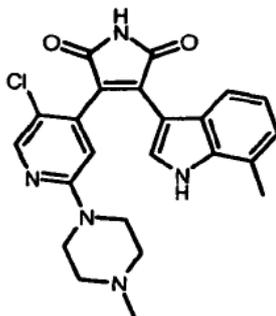


45

Tabla 8

Ejemplo Referencia	R _a	R _b	MS
42	H	H	MH ⁺ 433

Ejemplo-Referencia 43: 3-[5-Cloro-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]-4-(7-metil-1H-indol-3-il)- pirrol- 2,5-diona



- 5 Una mezcla de 2-[5-Cloro-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]-acetamida (90 mg, 0.18 mmol) y ácido (7-metil-1H-indol-3-il)- oxo- acético metil éster (109 mg, 0.50 mmol) se seca azeotrópicamente disolviendo en THF seco (10 ml) y con evaporación. Bajo una atmósfera de argón, la mezcla se disuelve en THF seco (3 ml), y se adiciona gota a gota una solución de KOtBu 1.0 M en THF (1.0 ml, 1.0 mmol) a RT. Después de 10 minutos a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NH₄Cl. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, y se seca sobre Na₂SO₄, y la capa orgánica se evapora. El residuo se purifica por HPLC preparativa (H₂O / MeCN / TFA 95:5:0.1) para proporcionar el compuesto base como una sal de TFA de color rojo. ¹H NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): δ 2.45 (s, 3H), 2.78 (s, 3H), 2.82 - 3.13 (m, 4H), 4.27 (m, 2H), 6.40 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.70 (dd, J = 7 Hz, 8 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 7 Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 8.03 (d, J = 2 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 9.74 (s, amplitud, 1H), 11.27 (s, 1H), 12.1 (d, J = 2 Hz, 1H). ES⁺-MS: 436.3 [M + H]⁺, ES⁻-MS: 434.3 [M - H]⁻.

Preparación de la 2-[5-Cloro-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]-acetamida

- El ácido [5-cloro-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]- acético etil éster (385 mg, 1.29 mmol) se disuelve bajo una atmósfera de argón en DMF seco (4 ml). Se adiciona formamida (195 mg, 4.33 mmol), y la mezcla se calienta a 105 °C. A esta temperatura, se adiciona gota a gota metóxido de sodio (5.4 M en MeOH, 0.24 ml, 1.29 mmol). Después de 20 minutos, el análisis por TLC indicó una conversión incompleta, por lo tanto se hace otra adición de metóxido de sodio (0.08 ml de una solución 5.4 M en MeOH). Después de otros 10 minutos, la reacción se juzgó completa de acuerdo con TLC. La mezcla de reacción se enfría a RT y se diluye con CH₂Cl₂ (150 ml). Se adiciona agua (3 ml) hasta que se obtiene una solución clara. Se adiciona suficiente Na₂SO₄ para absorber el agua y el solvente orgánico se evapora. El residuo se purifica por FCC (CH₂Cl₂ / MeOH 95:5 a 80:20) para proporcionar el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 2.35 (s, 3H), 2.51 (m, 4H), 3.56 (m, 4H), 3.62 (s, 2H), 5.37 (s, amplitud, 1H), 5.54 (s, amplitud, 1H), 6.64 (s, 1H), 8.15 (s, 1H). ES⁺-MS: 269.2, 271.1 (Cl) [M + H]⁺, ES⁻-MS: 267.2, 269.3 (Cl) [M - H]⁻.

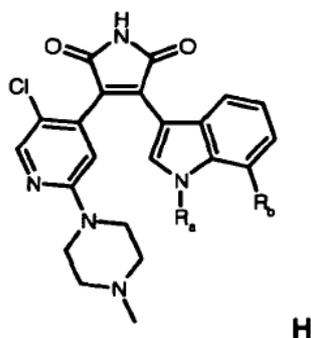
Preparación del Ácido [5-cloro-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]- acético etil éster

- El ácido [5-Amino-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]- acético etil éster (680 mg, 2.44 mmol) se disuelve bajo una atmósfera de argón en 18% de ácido clorhídrico acuoso (12 ml). Después de enfriar la solución a 0 °C, se adiciona una solución de nitrato de sodio (244 mg, 3.54 mmol) en agua (6 ml) durante 15 minutos, teniendo en cuenta que la temperatura interna no sube por encima de 5 °C. Después de 20 minutos a 0 °C, la mezcla de reacción se adiciona a una solución de cloruro de cobre(I) a -10 °C (recién preparada, 725 mg, 7.33 mmol) en agua (1.8 ml). Después de 15 minutos a -10 °C, el análisis por TLC indicó la conversión completa. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NaCl. La capa orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄, y se concentra. El residuo se purifica por FCC (CH₂Cl₂ / MeOH, gradiente de 98:2 a 90:10) para proporcionar el compuesto base. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.27 (t, J = 7 Hz, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.50 (m, 4H), 3.52 (m, 4H), 3.66 (s, 2H), 4.19 (q, J = 7 Hz, 2H), 6.59 (s, 1H), 8.11 (s, 1H). ES⁺-MS: 298.2, 300.1 (Cl) [M + H]⁺, ES⁻-MS: 296.2, 298.2 (Cl) [M - H]⁻.

Preparación del Ácido [5-amino-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]- acético etil éster

El ácido [2-(4-metil-piperazin-1-il)- 5-nitro-piridin-4-il]- acético etil éster (2.78 g, 9.02 mmol) se disuelve en MeOH (28 ml). Se adiciona paladio sobre carbón (10%, 96 mg, 0.90 mmol), y el matraz de reacción se conecta a un tanque lleno con hidrógeno. Después de la agitación vigorosa durante 2.5 h, el análisis por TLC indicó la conversión completa. La mezcla de reacción se filtra, el solvente orgánico se elimina, y el residuo se purifica por FCC (CH₂Cl₂ / MeOH, gradiente de 97:3 a 70:30) para producir el ácido [5-amino-2-(4-metil-piperazin-1-il)- piridin-4-il]- acético etil éster. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.27 (t, J = 7 Hz, 3H), 2.35 (s, 3H), 2.54 (m, 4H), 3.40 (m, 4H), 3.55 (s, 2H), 3.62 (s, amplitud, 2H), 4.16 (q, J = 7 Hz, 2H), 6.50 (s, 1H), 7.79 (s, 1H). ES⁻-MS: 279.3 [M + H]⁺.

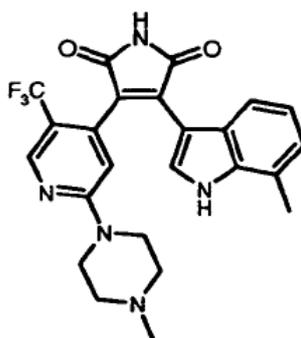
Siguiendo el procedimiento del Ejemplo-Referencia 43, pero utilizando los materiales iniciales apropiados, se pueden obtener los compuestos de fórmula H en donde R_a y R_b son como se indica en la Tabla 9, a continuación.



10

Tabla 9

Ejemplo Referencia	R _a	R _b	MS
44	H	H	MH ⁺ 422, 423

Ejemplo-Referencia 45: 3-(7-Metil-1H-indol-3-il)- 4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)- 5-trifluorometil-piridin- 4-il]- pirrol-2,5-diona

15

Una mezcla de 2-[2-(4-Metil-piperazin-1-il)- 5-trifluorometil-piridin-4-il]-acetamida (80 mg, 0.26 mmol) y ácido (7-metil-1H-indol-3-il)- oxo- acético metil éster (86 mg, 0.40 mmol) se seca azeotrópicamente disolviendo en THF seco (10 ml) y con evaporación. Bajo una atmósfera de argón, la mezcla se disuelve en THF seco (3 ml), y se adiciona gota a gota una solución de KOtBu 1.0 M en THF (1.05 ml, 1.05 mmol) a RT. Después de 45 minutos a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NH₄Cl. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, y la capa orgánica se evapora. El residuo se purifica por HPLC preparativa (H₂O / MeCN / TFA 95:5:0.1) para proporcionar el compuesto base como una sal de TFA de color rojo. ¹H NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): δ 2.44 (s, 3H), 2.78 (s, 3H), 2.74 - 3.54 (m, amplitud, 6H), 4.34 - 4.58 (m, amplitud, 2H), 6.62 (d, J = 8 Hz, 1H), 6.74

20

(dd, J = 7 Hz, 8 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 7 Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 7.96 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.58 (s, 1H), 9.84 (s, amplitud, 1H), 11.27 (s, 1H), 12.01 (d, J = 3 Hz, 1H). ^{19}F NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz): δ -74.00, -57.33. ES^+ -MS: 470.3 [M + H] $^+$.

Preparación de 2-[2-(4-Metil-piperazin-1-il)- 5-trifluorometil-piridin-4-il]-acetamida

5 El ácido [2-(4-Metil-piperazin-1-il)- 5-trifluorometil-piridin-4-il]- acético ter-butil éster (475 mg, 1.32 mmol) se disuelve en una mezcla de TFA y CH_2Cl_2 (10 ml / 10 ml) y se agita a RT. Después de 1.5 h a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa del material inicial. El solvente se elimina por evaporación rotatoria, y se reemplaza por DMF seco (5 ml). Bajo una atmósfera de argón, se adiciona carbonil diimidazol (236 mg, 1.46 mmol). Después de 3 h a RT, el análisis por TLC indicó la conversión completa del ácido carboxílico. Se adiciona una solución acuosa de amoníaco (25%, 20 ml) a RT. Después de 15 minutos a RT, los solventes se retiran con alto vacío. El residuo se
10 disuelve en CH_2Cl_2 / MeOH (9:1) y se purifica por FCC (CH_2Cl_2 / MeOH, gradiente lento de 90:10 a 40:60) para producir el compuesto base. ^1H NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz): δ 2.69 (s, 3H), 2.93 - 3.18 (m, amplitud, 4H), 3.54 (s, 2H), 3.59 - 3.98 (m, amplitud, 4H), 6.95 (s, 1H), 7.02 (s, amplitud, 1H), 7.47 (s, amplitud, 1H), 8.45 (s, 1H). ES^+ -MS: 303.2 [M + H] $^+$.

Preparación del Ácido [2-(4-metil-piperazin-1-il)- 5-trifluorometil-piridin-4-il]- acético ter-butil éster

15 El ter-butóxido de sodio (354 mg, 3.68 mmol) se seca con alto vacío a aproximadamente 80 °C. Después de purgar con argón y de enfriar a RT, se adicionan acetato de paladio (60 mg, 0.27 mmol), rac-2,2'-bis-difenilfosfanil-[1,1']binaftalenil (rac-BINAP, 83 mg, 0.13 mmol) y ácido (2-cloro-5-trifluorometil-piridin-4-il)- acético ter-butil éster (990 mg, 3.35 mmol). La mezcla se disuelve en dioxano (11 ml, se desgacifica con tres ciclos de congelación/descongelación con HV/argón), y se adiciona 1-metil-piperazina (369 mg, 3.68 mmol). El matraz de
20 fondo redondo que contiene la mezcla de reacción se sumerge en un baño de aceite pre-calentado (T = 85 °C). Después de 1 h, el análisis por TLC indicó la conversión casi completa de los materiales iniciales. La mezcla de reacción se enfría a RT, se diluye con EtOAc y se vierte en una solución acuosa saturada de NH_4Cl . La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre Na_2SO_4 , y el solvente se evapora. El residuo se purifica por FCC (CH_2Cl_2 / MeOH, gradiente lento de 99:1 a 94:6) para proporcionar el compuesto base. ^1H NMR (CDCl_3 , 400
25 MHz): δ 1.44 (s, 9H), 2.34 (s, 3H), 2.50 (m, 4H), 3.59 (s, 2H), 3.66 (m, 4H), 6.54 (s, 1H), 8.35 (s, 1H). ES^+ -MS: 360.3 [M + H] $^+$.

Preparación del Ácido (2-cloro-5-trifluorometil-piridin-4-il)- acético ter-butil éster

Bajo una atmósfera de argón seco, una mezcla de dibencilideneacetona paladio ($\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, 22 mg, 0.02 mmol), di-ter-butilfosfino pentafenilferroceno (17 mg, 0.02 mmol), 2-cloro-4-iodo-5-trifluorometil-piridina (1.50 g, 4.88 mmol) y el
30 reactivo Reformatzky preparado a partir de ácido bromo-acético ter-butil éster y metal de zinc activado (1.40 g, 5.37 mmol) se suspende en THF seco y desgacificado (20 ml). La mezcla se calienta a 60 °C. Después de 45 minutos y después de 90 minutos, se adicionan lotes adicionales de dibencilideneacetona paladio ($\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, 22 mg, 0.02 mmol), di-ter-butilfosfino pentafenilferroceno (17 mg, 0.02 mmol), y del reactivo Reformatzky (1.40 g, 5.37 mmol). Después de un total de 2.5 h a 60 °C, el análisis por TLC indicó la conversión completa de los materiales iniciales.
35 Después de enfriar a RT, la mezcla de reacción se diluye con cantidades iguales de EtOAc y H_2O , y se filtra a través de un tapón de algodón apretado. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera dos veces, se seca sobre Na_2SO_4 , y el solvente se evapora. El residuo se purifica por FCC (hexanos /EtOAc, gradiente de 100:0 a 97:3) para proporcionar el compuesto base. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 1.44 (s, 9H), 3.71 (s, 2H), 7.39 (s, 1H), 8.63 (s, 1H). ES^+ -MS: 294.1, 296.2 (Cl) [M + H] $^+$.

40 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo-Referencia 45, pero utilizando los materiales iniciales apropiados, se pueden obtener los compuestos de fórmula I en donde R_a y R_b son como se indica en la Tabla 10, a continuación.

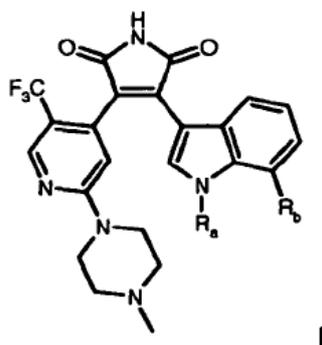
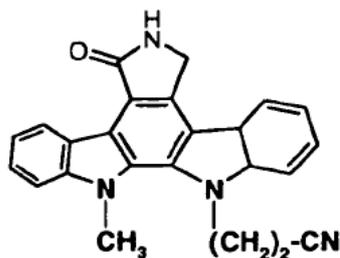


Tabla 10

Ejemplo Referencia	R _a	R _b	MS
46	H	H	MH ⁺ 456

Ejemplo-Referencia 47: Gö 6976

5 De acuerdo con lo anterior la presente invención además provee:

1.1 Un inhibidor de PKC como se define en la reivindicación 1 o las reivindicaciones dependientes que posee selectividad para las isoformas de PKC α y β , y opcionalmente θ , sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo sobre una o más de las isoformas δ , ϵ y/o η , y que posee selectividad para la PKC en una o más proteínas quinasas las cuales no pertenecen a la familia CDK, por ejemplo en una o más tirosina quinasas, por ejemplo sobre una o más de las proteínas PKA, PKB, Abl, Met, Src, Ins- R, Flt-3, JAK-2, KDR y Ret, por ejemplo sobre una o más de las proteínas Flt-3, JAK-2, KDR o Ret, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable. El compuesto preferiblemente muestra una selectividad de al menos 10 veces, más preferiblemente 20 veces, más preferiblemente 100 veces para PKCs α y β sobre una o más de las otras isoformas de PKC. El compuesto preferiblemente muestra una selectividad de al menos 10 veces, más preferiblemente 20 veces, más preferiblemente 100 veces para PKC sobre las otras proteínas quinasas.

1.2 Un inhibidor de PKC como se define en la reivindicación 1 o las reivindicaciones dependientes que posee selectividad para las isoformas de PKC α y β , y opcionalmente θ , sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo sobre una o más de las isoformas δ , ϵ y/o η , y para que la relación del valor de IC₅₀ según se determina mediante un ensayo MLR con el valor de IC₅₀ según se determina mediante el ensayo BM es superior de 5, 10, 20, 30 o 50, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable. Preferiblemente la relación es superior de 20 o 30. Preferiblemente los ensayos MLR y BM se realizan como se ha definido anteriormente.

1.3 Un inhibidor de PKC como se define en la reivindicación 1 o las reivindicaciones dependientes que posee selectividad para la isoformas de PKC α , β y θ sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo en una o más de la isoformas de PKC δ , ϵ y/o η , en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable. El compuesto también puede poseer selectividad para PKC sobre las otras proteínas quinasas, por ejemplo proteínas quinasas, las cuales no pertenecen a la familia CDK, por ejemplo sobre una o más tirosina quinasas. El compuesto preferiblemente muestra una selectividad para la PKC sobre las proteínas quinasas, las cuales no pertenecen a la familia CDK.

La presente divulgación también provee:

5 2.1 El uso de un inhibidor de PKC que es selectivo para las isoformas de PKC α y β , y opcionalmente θ , sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo sobre una o más de las isoformas δ , ε y/o η , en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, para prevenir o tratar trastornos o enfermedades mediados por linfocitos T y/o PKC, o en la prevención, inhibición o control del rechazo agudo o crónico del injerto o enfermedad huésped contra injerto, en la prevención o tratamiento de enfermedades autoinmunes o trastornos, enfermedades inflamatorias, enfermedades infecciosas, enfermedades cardiovasculares o el cáncer.

10 2.2 El uso de un inhibidor de PKC, durante el cual la relación del valor de IC_{50} , según se determina mediante el ensayo MLR con el valor de IC_{50} , según se determina mediante el ensayo BM es superior de 5, 10, 20, 30 o 50, por ejemplo mayor de 20 o 30, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, para prevenir o tratar trastornos o enfermedades mediados por linfocitos T y/o PKC, o en la prevención, inhibición o control del rechazo agudo o crónico del injerto o enfermedad huésped contra injerto, en la prevención o tratamiento de enfermedades autoinmunes o trastornos, enfermedades inflamatorias, enfermedades infecciosas, enfermedades cardiovasculares, o el cáncer.

15 2.3 El uso de un inhibidor de PKC que es selectivo para PKC, opcionalmente PKC α y PKC β , sobre una o más proteínas quinasas, por ejemplo sobre una o más proteínas quinasas, las cuales no pertenecen a la familia CDK, por ejemplo sobre una o más tirosina quinasas, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, para prevenir o tratar trastornos o enfermedades mediados por linfocitos T y/o PKC, o en la prevención, inhibición o control del rechazo agudo o crónico del injerto o enfermedad huésped contra injerto, en la prevención o tratamiento de enfermedades autoinmunes o trastornos, enfermedades inflamatorias, enfermedades infecciosas, enfermedades cardiovasculares, o el cáncer.

25 2.4 El uso de un inhibidor de PKC como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 o 1.3, por ejemplo un compuesto de fórmula I o Ib, o una sal de estos farmacéuticamente aceptable para prevenir o tratar trastornos o enfermedades mediados por linfocitos T y/o PKC, o en la prevención, inhibición o control del rechazo agudo o crónico del injerto o enfermedad huésped contra injerto, en la prevención o tratamiento de enfermedades autoinmunes o trastornos, enfermedades inflamatorias, enfermedades infecciosas, enfermedades cardiovasculares o el cáncer.

2.5 El uso de un inhibidor de PKC de la invención, por ejemplo como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 o 1.3, por ejemplo un compuesto de fórmula I o Ib, o una sal de estos farmacéuticamente aceptable en la inhibición del rechazo del injerto o enfermedad huésped contra injerto.

30 2.6 El uso de un inhibidor de PKC de la invención, por ejemplo como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 o 1.3, por ejemplo un compuesto de fórmula I o Ib, o una sal de estos farmacéuticamente aceptable en la prevención o tratamiento de enfermedades autoinmunes.

La presente invención también se refiere a:

35 3. El uso de un compuesto de fórmula I, o una sal de estos farmacéuticamente aceptable como un producto farmacéutico.

La presente divulgación también provee:

4.1 El uso de un compuesto de fórmula I, o una sal de estos farmacéuticamente aceptable como un inhibidor selectivo de PKC, por ejemplo como un inhibidor de PKC como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 o 1.3.

40 4.2 El uso de un compuesto de fórmula Ib o una sal de estos farmacéuticamente aceptable como un inhibidor selectivo de PKC como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 o 1.3.

45 5.1 Un método para prevenir o tratar trastornos o enfermedades mediados por linfocitos T y/o PKC, en un sujeto con necesidad de dicho tratamiento, método que comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad efectiva de un inhibidor de PKC de la invención, por ejemplo un inhibidor de PKC que es selectivo de las isoformas de PKC α y β , y opcionalmente θ , sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo sobre una o más de las isoformas δ , ε y η , o un inhibidor de PKC como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 o 1.3, o un compuesto de fórmula I o Ib, o una sal de estos farmacéuticamente aceptable.

50 5.2 Un método para prevenir o tratar el rechazo agudo o crónico al trasplante, enfermedad huésped contra injerto, enfermedades inflamatorias o autoinmunes, el cáncer, enfermedades cardiovasculares o enfermedades infecciosas, en un sujeto con necesidad de dicho tratamiento, método que comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad efectiva de un inhibidor de PKC de la invención, por ejemplo un inhibidor de PKC que es selectivo de las

isoformas de PKC α y β , y opcionalmente θ , sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo sobre una o más de las isoformas δ , ε y η , o un inhibidor de PKC como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 o 1.3, o un compuesto de fórmula I o Ib, o una sal de estos farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también se refiere a:

5 6.1 Un composición farmacéutica, por ejemplo para utilizar en cualquier de los métodos como anteriormente en 4.1 y 4.2, que comprende un inhibidor de PKC de la invención, por ejemplo un inhibidor de PKC que es selectivo de las isoformas de PKC α y β , y opcionalmente θ , sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo sobre una o más de las isoformas δ , ε y η , o un inhibidor de PKC como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 o 1.3, o un compuesto de fórmula I, en forma libre o forma de sal farmacéuticamente aceptable, en asociación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable para este.

6.2 Un inhibidor de PKC de la invención, por ejemplo un inhibidor de PKC que es selectivo de las isoformas de PKC α y β , y opcionalmente θ , sobre las otras isoformas de PKC, por ejemplo sobre una o más de las isoformas δ , ε y η , o un inhibidor de PKC como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 o 1.3, o un compuesto de fórmula I, en forma libre o forma de sal farmacéuticamente aceptable, para utilizar en la preparación de una composición farmacéutica.

15 6.3 Un inhibidor de PKC de la invención, por ejemplo un inhibidor de PKC que es selectivo de las isoformas de PKC α y β , y opcionalmente θ , sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo sobre una o más de las isoformas δ , ε y η , o un inhibidor de PKC como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 o 1.3, o un compuesto de fórmula I, en forma libre o forma de sal farmacéuticamente aceptable, para utilizar en la preparación de una composición farmacéutica para utilizar en cualquiera de los métodos como anteriormente en 5.1 y 5.2, por ejemplo en la inhibición del rechazo agudo o crónico del injerto o enfermedad huésped contra injerto, o en la prevención o tratamiento de enfermedades autoinmunes o trastornos.

Para el uso de los compuestos de la invención, que son compuestos de fórmula I, la dosificación necesaria por supuesto variará dependiendo del modo de administración, la condición particular que se trata y el efecto deseado. En general, se indica que se obtienen resultados satisfactorios sistémicamente a dosis diarias de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal. Una dosis diaria indicada en los grandes mamíferos, 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.

Los inhibidores selectivos de PKC de la invención, que son compuestos de fórmula I, se pueden administrar mediante cualquier ruta convencional, en particular por vía enteral, por ejemplo por vía oral, por ejemplo en la forma de comprimidos o cápsulas, o por vía parenteral, por ejemplo en la forma de soluciones inyectables o suspensiones, por vía tópica, por ejemplo en la forma de lociones, geles, ungüentos o cremas, o en una forma nasal o un supositorio. Las composiciones farmacéuticas que comprenden unos inhibidores selectivos de PKC de la invención, los cuales son un compuesto de fórmula I, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable puede ser fabricado de manera convencional mezclando con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Las formas de unidad de dosificación para la administración oral contienen, por ejemplo, de aproximadamente 0.1 mg a aproximadamente 500 mg de la sustancia activa.

La administración tópica es por ejemplo en la piel. Otra forma de administración tópica es en los ojos.

Los inhibidores selectivos de PKC de la invención, por ejemplo los compuestos de fórmula I o Ib, se pueden administrar en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable por ejemplo como se indica anteriormente. Tales sales se pueden preparar de manera convencional y muestran el mismo orden de actividad como los compuestos libres.

Ensayos

Los ensayos utilizados se describen anteriormente, en este documento.

45 Las relaciones del valor de IC_{50} para PKC β con el valor de IC_{50} para PKC α , del valor de IC_{50} para PKC δ con el valor de IC_{50} para PKC α , del valor de IC_{50} para PKC δ con el valor de IC_{50} para PKC α , del valor de IC_{50} para PKC ε con el valor de IC_{50} para PKC α , del valor de IC_{50} para PKC η con el valor de IC_{50} para PKC α , del valor de IC_{50} para PKC θ con el valor de IC_{50} para PKC α , del valor de IC_{50} según se determina mediante el ensayo MLR y con el valor de IC_{50} según se determina mediante el ensayo BM, obtenido para algunos compuestos de la invención se indican en la tabla 11.

Ensayos de PKC α , β , δ , ε , η y θ , los ensayos MLR y BM, son como se han descrito anteriormente.

Tabla 11

Ejemplo	β/α	δ/α	ϵ/α	η/α	θ/α	MLR/BM
1	1.2	66.4	122.6	140.2	90.8	21.6
8	2.6	155.0	48.0	226.7	131.0	27.8
9	1.4	605.6	363.0	632.0	432.8	37.6
Ej.-Ref. 27	1.3	59.6	54.8	59.6	59.3	10.7
Ej.-Ref. 29	2.3	21.9	19.2	21.6	1.5	23.2
Ej.-Ref. 32	2.2	59.6	39.8	56.0	24.8	6.3
Ej.-Ref. 47	5.3	120.5	45.8	118.7	222.3	2.1

El inhibidor selectivo de la invención, por ejemplo los inhibidores selectivos de PKC α , β , y opcionalmente θ , se pueden administrar como el único ingrediente activo o junto con otros fármacos en regímenes inmunomoduladores u otros agentes anti-inflamatorios, por ejemplo para el tratamiento o prevención del rechazo agudo o crónico de alo- o xenoinjertos o trastornos inflamatorios o autoinmunes. Por ejemplo, pueden ser utilizados en combinación con ciclosporinas, o ascomicinas o sus análogos o derivados de inmunosupresores, por ejemplo ciclosporina A, ISA Tx247, FK-506, ABT-281, ASM 981; un inhibidor de mTOR, por ejemplo rapamicina, 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina, CCI779, ABT578, o un rapálogo, por ejemplo AP23573, AP23464, AP23675, AP23841, Tafa-93, biolimus 7 o biolimus 9 etc.; corticosteroides; ciclofosfamida; azatiopreno; metotrexato; un modulador del receptor S1P, por ejemplo FTY 720 o un análogo de estos; leflunomida o análogos de estos; mizoribina; ácido micofenólico o una sal de estos, por ejemplo sal de sodio; micofenolato mofetil; 15-deoxispergualina o análogos de estos; anticuerpos monoclonales inmunosupresores, por ejemplo, anticuerpos monoclonales para los receptores de leucocitos, por ejemplo, MHC, CD2, CD3, CD4, CD11a/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 enlace recombinante que tiene al menos una porción del dominio extracelular de CTLA4 o un mutante de estos, por ejemplo una porción al menos extracelular de CTLA4 o un mutante de estos unido a una secuencia de proteína no- CTLA4, por ejemplo CTLA4Ig (por ej. designado ATCC 68629) o un mutante de estos, por ejemplo LEA29Y, u otros inhibidores de molécula de adhesión, por ejemplo mAbs o inhibidores de bajo peso molecular incluyendo antagonistas de LFA-1, antagonistas de la Selectina y antagonistas de VLA-4. Los inhibidores selectivos de PKC de la invención, también se pueden administrar junto con un fármaco antiproliferativo, por ejemplo un fármaco quimioterapéutico, por ejemplo como se utiliza en el tratamiento contra el cáncer, incluyendo pero no limitando a inhibidores de aromatasa, antiestrógenos, inhibidores de la topoisomerasa I, inhibidores de la topoisomerasa II, agentes activos del microtúbulo, agentes alquilantes, inhibidores de la histona deacetilasa, inhibidores de la farnesil transferasa, inhibidores de COX-2, inhibidores de MMP, inhibidores de mTOR, antimetabolitos antineoplásicos, compuestos de platino, compuestos que reducen la actividad de la proteína quinasa y otros compuestos anti-angiogénicos, agonistas de la gonadotropina, anti-andrógenos, bengamidas, bisfosfonatos, anticuerpos antiproliferativos y temozolomida, o con un fármaco anti-diabético, un secretagogo de insulina o potenciador de secreción de la insulina, por ejemplo una sulfonil urea, por ejemplo tolbutamida, clorpropamida, tolazamida, acetohexamida, 4-cloro-N-[(1-pirolidinilamino)carbonil]- benzensulfonamida (glicopiramida), glibenclamida (gliburida), gliclazida, 1-butil-3-metanililurea, carbutamida, glibonurida, glipizida, gliquidona, glixepida, glibutiazol, glibuzol, glihexamida, glimidina, glipinamida, fenbutamida o tolliclamida, un derivado de agente insulínico oral, por ejemplo un potenciador de insulina de actuación corta, por ejemplo meglitinida, repaglinida, un derivado del ácido fenilacético, por ejemplo nateglinida, un inhibidor de DPP IV, por ejemplo 1-{2-[(5-cianopiridin-2-il)amino]etilamino} acetil-(2S)-ciano-pirolidina dihidrocloruro, LAF237, GLP-1 o un análogo agonista de GLP-1, o un sensibilizador de la insulina por ejemplo un agonista del receptor activado de proliferador de la peroxisoma α (PPAR α), por ejemplo una gliptazona, un tipo no-gliptazona tal como un análogo de N-(2- benzoilfenil)-L-tirosina, por ejemplo GI-262570, o un oxolidinedione, por ejemplo JTT501, un agonista dual PPAR γ /PPAR α , 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-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 de estos farmacéuticamente aceptable en una terapia de la diabetes,

De acuerdo con lo anterior, la presente divulgación provee en incluso otro aspecto:

5 7. Un método como se define anteriormente que comprende la co-administración, por ejemplo concomitantemente o en secuencia, de una cantidad efectiva terapéuticamente de un compuesto de la invención, por ejemplo un inhibidor selectivo de PKCs α , β , y opcionalmente θ , sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo un inhibidor selectivo de PKC en una o más proteínas quinasas, por ejemplo en una o más proteínas quinasas, las cuales no pertenecen a la familia CDK-1, por ejemplo un compuesto como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 y 1.3, por ejemplo un compuesto de fórmula I o Ib, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y una segunda sustancia farmacéutica, siendo dicha segunda sustancia farmacéutica un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, antiinflamatorio, antiproliferativo o anti-diabético, por ejemplo como se indica anteriormente.

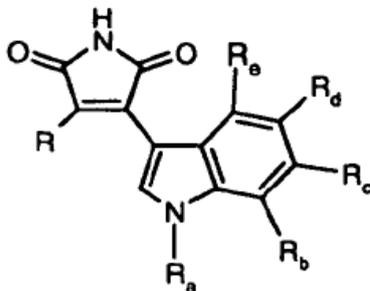
10 8. La presente invención también provee una combinación terapéutica, por ejemplo un kit, que comprende a) un compuesto de la invención, por ejemplo un inhibidor selectivo de PKCs α , β , y opcionalmente θ , sobre una o más de las otras isoformas de PKC, por ejemplo un inhibidor selectivo de PKC sobre una o más proteínas quinasas, por ejemplo sobre una o más proteínas quinasas, las cuales no pertenecen a la familia CDK-1, por ejemplo un compuesto como se indica anteriormente en 1.1, 1.2 y 1.3, que es 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 anti-diabético. El componente a) y el
15 componente b) pueden ser utilizados concomitantemente o en secuencia. El kit puede comprender instrucciones para su administración.

20 Cuando un inhibidor selectivo de PKC de la invención, por ejemplo un inhibidor selectivo de PKCs α , β , y opcionalmente θ , que es un compuesto de fórmula I, se administra en conjunto con otra terapia de inmunosupresor/inmunomodulador, antiinflamatorio, antiproliferativo o anti-diabéticos, por ejemplo para prevenir o tratar el rechazo agudo o crónico del injerto o trastornos inflamatorios o autoinmunes como se ha especificado anteriormente, las dosificaciones del compuesto inmunosupresor, inmunomodulador, anti-inflamatorio, antiproliferativo o anti-diabético co-administrado, por supuesto variará dependiendo del tipo de co-fármaco empleado, por ejemplo si se trata de un esteroide o una ciclosporina, del fármaco específico empleado, de la
25 condición que se trata y así sucesivamente.

Los inhibidores selectivos de PKC de la invención, en particular los inhibidores selectivos de PKCs α , β , y opcionalmente θ , en una o más isoformas de PKC, que son compuestos de fórmula I y Ib, tienen un perfil farmacocinético interesante y actividades in vitro e in vivo interesantes.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I

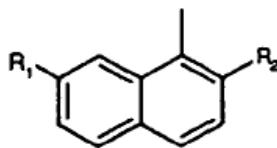


en donde

5 R_a es H; alquilo C_{1-4} ; o alquilo C_{1-4} sustituido por OH, NH_2 , NHalquilo C_{1-4} o N(alquilo C_{1-4})₂;

uno de R_b , R_c , R_d y R_e es halógeno; alcoxi C_{1-4} ; alquilo C_{1-4} ; CF_3 o CN y los otros tres sustituyentes son cada uno H; o R_b , R_c , R_d y R_e son todos H; y

R es un radical de fórmula (a),



(a)

10 en donde

R_1 es $-(CH_2)_n-NR_3R_4$,

cada uno de R_3 y R_4 , independientemente, es H o alquilo C_{1-4} ; o R_3 y R_4 forman junto con el átomo de nitrógeno al cual se unen un residuo heterocíclico, en donde dicho residuo heterocíclico es un anillo heterocíclico saturado, insaturado o aromático de cinco o seis miembros que comprende de 1 o 2 heteroátomos;

15 n es 0, 1 o 2; y

R_2 es H; halógeno; alquilo C_{1-4} ; CF_3 ; OH; SH; NH_2 ; alcoxi C_{1-4} ; alquiltio C_{1-4} ; NHalquilo C_{1-4} ; N(alquilo C_{1-4})₂, CN, alquino o NO_2 ,

o una sal de estos.

20 **2.** Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual en el anillo saturado, insaturado o aromático que comprende 1 o 2 heteroátomos formados a partir de R_3 y R_4 , 1 o 2 heteroátomos se seleccionan de N, O y S.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde R_a es H o metilo; R_2 es H, Cl, NO_2 , F, CF_3 o metilo, n es 0 o 1; uno de R_b , R_c , R_d y R_e es metilo o etilo y los otros tres sustituyentes son H; o R_b , R_c , R_d y R_e son todos H; y cada uno de R_3 y R_4 , independientemente, es H, metilo, etilo o i-propil; o R_3 y R_4 forman junto con el átomo de nitrógeno al cual se unen un residuo heterocíclico; y cada uno de R_1 es un residuo heterocíclico.

25 **4.** Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 3, el cual se selecciona de

3-(2-Cloro-7-dimetilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;

- 3-(7-Aminometil-2-Cloro-naftalen-1-il)- 4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona; 3-(2-Cloro-7 -metilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona; 3-(2-Cloro-7-metilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(1-metil-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona;
- 3-(2-Cloro-7-metilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(7-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 5 3-(2-Cloro-7-metilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(6-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(2-Cloro-7-metilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(5-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(2-Cloro-7-dimetilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(7-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(2-Cloro-7-dimetilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona; 3-(2-Cloro-7-dimetilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(6-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 10 3-(2-Cloro-7-dimetilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(5-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-{2-Cloro-7-[(etil-metil-amino)-metil]-naftalen-1-il}-4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(2-Cloro-7-dietilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(2-Cloro-7 -etilaminometil-naftalen-1-il)- 4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-[2-Cloro-7-(isopropilamino-metil)- naftalen-1-il]-4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 15 3-[2-Cloro-7-(4-metil-piperazin-1-ilmetil) naftalen-1-il]-4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(2-Cloro-7-pirrolidin-1-ilmetil-naftalen-1-il)- 4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(7-Aminometil-2-metil-naftalen-1-il)- 4-(1,7-dimetil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(7-Aminometil-2-metil-naftalen-1-il)- 4-(7-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(7-Aminometil-2-metil-naftalen-1-il)- 4-(1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 20 3-(7-Aminometil-2-metil-naftalen-1-il)- 4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(7-Aminometil- naftalen -1-il)- 4-(1-H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(7-Aminometil-naftalen-1-il)- 4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(7-Amino-naftalen-1-il)- 4-(1-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(7-Amino-naftalen-1-il)- 4-(1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 25 3-(7-Dimetilaminometil-2-fluoro-naftalen-1-il)- 4-(7-metil-1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;
- 3-(7-dimetilaminometil-2-fluoro-naftalen-1-il)- 4-(1H-indol-3-il)- pirrol-2,5-diona;

en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable.

5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, para utilizar como un producto farmacéutico.
- 30 6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, en asociación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable para esta.
7. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, en la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir enfermedades o trastornos mediados por los linfocitos T y/o PKC, seleccionadas del grupo que consiste de rechazo de aloinjerto, enfermedad huésped contra injerto,
- 35

enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares o cáncer.

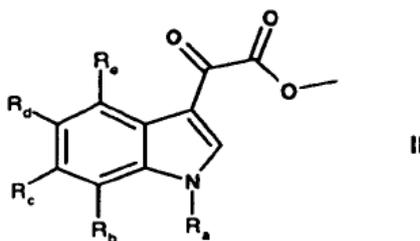
5 **8.** Una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, y otro agente seleccionado de agentes inmunosupresores, inmunomoduladores, anti-inflamatorios, quimioterapéuticos, antiproliferativos y anti-diabéticos.

10 **9.** Una combinación de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el segundo agente es una ciclosporina o sus análogos o derivados de inmunosupresores, ascomicina o sus análogos o derivados de inmunosupresores, un inhibidor de mTOR, un corticosteroide, una ciclofosfamida, azatiopreno, metotrexato, un agonista del receptor de EDG que tiene propiedades de alojamiento acelerado de linfocitos, leflunomida o análogos de estos, mizoribina, ácido micofenólico, micofenolato mofetil, 15-deoxispergualina o análogos de estos, un anticuerpo monoclonal inmunosupresor, CTLA4lg o un mutante de estos, mAbs o inhibidores de bajo peso molecular.

15 **10.** Una combinación de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en donde el segundo agente es ciclosporina A, ISA TX247, FK-506, ABT-281, ASM 981, rapamicina, 40-O-(2-hidroxi)etil-rapamicina, FTY 720, un antagonista de LFA-1, un antagonista de la Selectina, un antagonista de VLA- 4 o un anticuerpo monoclonal contra los receptores de leucocitos.

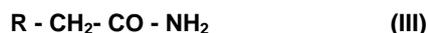
11. Una combinación de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el anticuerpo monoclonal se dirige contra MHC, CD2, CD3, CD4, CD 11 a/CD18, CD7, CD25, CD 27, B7, CD40, CD45, CD58, CD 137, ICOS, CD150, OX40, 4-1 BB o sus ligandos.

20 **12.** Un proceso para la producción de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 a 3, proceso que comprende la reacción de un compuesto de fórmula II



en donde R_a a R_e son como se definen en la reivindicación 1 ,

con un compuesto de fórmula III



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

y, cuando sea necesario, la conversión del compuesto resultante de fórmula I obtenido en forma libre a una forma de sal o viceversa, según sea apropiado.