(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 565 200**

(51) Int. CI.:

C07D 401/14 (2006.01)
C07F 9/141 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.05.2012 E 12726226 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2016 EP 2709998**

(54) Título: **Derivados de indol sustituido para el tratamiento de trastornos inmunológicos**

(30) Prioridad:

17.05.2011 US 201161486808 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.04.2016

(73) Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH

(72) Inventor/es:

COOKE, NIGEL GRAHAM;
RAMOS, RITA;
KAMMERTOENS, KAREN y
VAN EIS, MAURICE

(74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

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 indol sustituido para el tratamiento de trastornos inmunológicos

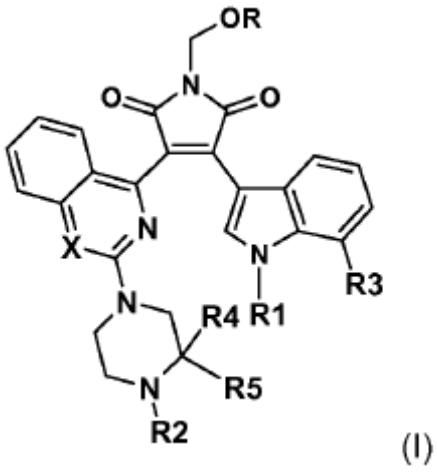
La presente invención se refiere a derivados de indol sustituidos, a procesos para su producción, su uso como productos farmacéuticos y a composiciones farmacéuticas que los comprenden.

Antecedentes de la invención

La mala biodisponibilidad de los productos farmacéuticos es frecuentemente un factor limitante para los ingredientes farmacéuticamente eficaces. Este problema se aborda ahora en un campo particular de derivados de indol mediante la conversión de un fármaco de origen correspondiente en un derivado del mismo, que parece tener efectos favorables inesperados en comparación con sus compuestos originales.

Resumen de la invención

Específicamente, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo,



(I)

en donde

X es CH o N;

R es H o PO_3H_2;

R1 es H; o alquilo C_{1-4};

R2 es H; o alquilo C_{1-4};

R3 es H; alquilo C_{1-4}; CN; Hal; u OH; y

R4 y R5 son independientemente uno del otro H o alquilo C_{1-4}; o R4 y R5 forman junto con el átomo de carbono al que están unidos, un grupo cicloalquilo de 3 - 6 miembros.

En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde X es CH;

R es PO_3H_2;

R1 es H;

R2 es H; o alquilo C_{1-4};

R3 es H; o alquilo C_{1-4}; y

R4 y R5 son independientemente uno de otro H; o R4 y R5 forman junto con el átomo de carbono al que están unidos, un grupo cicloalquilo de 3 - 6 miembros.

En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde X es CH;

R es H;

R1 es H;

R2 es H; o alquilo C_{1-4};

R3 es H; o alquilo C_{1-4}; y

R4 y R5 son independientemente uno de otro H; o R4 y R5 forman junto con el átomo de carbono al que están unidos, un grupo cicloalquilo de 3-6 miembros.

En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde X es N;

R es PO_3H_2;

R1 es H;

R2 es H; o alquilo C_{1-4};

R3 es H; y

R4 y R5 son independientemente uno de otro H; o R4 y R5 forman junto con el átomo de carbono al que están unidos, un grupo cicloalquilo de 3-6 miembros.

En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde X es N;

R es PO_3H_2;

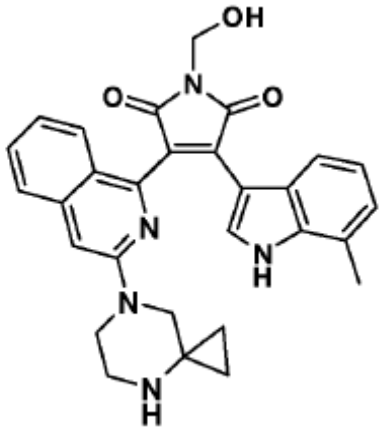
R1 es H;

R2 es H; o alquilo C_{1-4};

R3 es H; y

R4 y R5 son independientemente uno de otro H; o alquilo C_{1-4}.

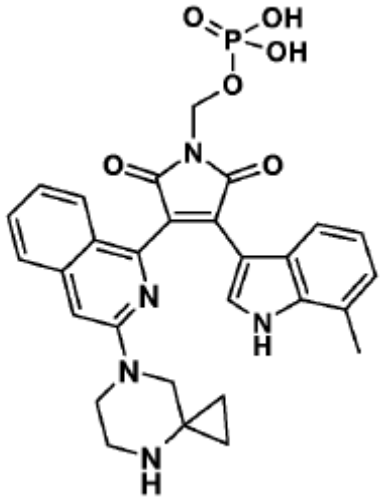
En otra realización, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (II)



(II)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

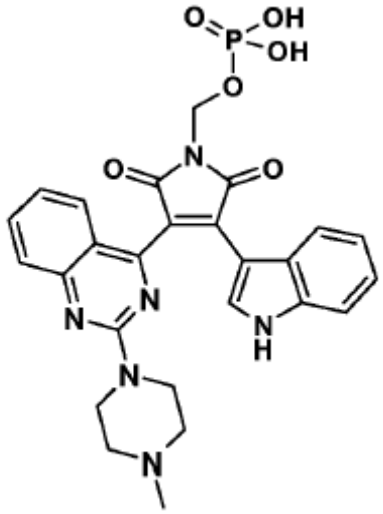
En otra realización, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (III)



(III)

o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (IV)



(IV)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Descripción detallada de los dibujos

La fig. 1 muestra el difractograma de rayos X del monohidrato cristalino del ácido fosfórico mono-[3-[3-(4,7-diazaspiro[2.5]oct-7-il)-isoquinolin-1-il]-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetil] éster del ácido fosfórico (monohidrato del ejemplo, No. 1).

La fig. 2 muestra el perfil de absorción de agua del mono-hidrato cristalino del Ejemplo No. 1 [6h equilibrado a 50% de HR, seguido por 2 ciclos de HR desde el 50% de HR a 90% de HR a 0% de HR a 90% de HR a 0% de HR a 50% de HR en etapas del 10% de HR]. HR = humedad relativa.

Técnica Anterior

N. Fotouhi et al. (EP 1,224,181) describe derivados de pirrol sustituido en donde la modificación química sobre dicho anillo de pirrol se compone de un gran número de variables y también puede contener un hidroxi de metileno o un grupo fosfato de metileno.

WO03082859 describe derivados de indolil maleimida.

Definiciones

Tal como se utiliza en este documento, el término "halógeno" (o halo) se refiere a flúor, bromo, cloro o yodo, en particular flúor, cloro.

Como se utiliza en este documento, el término "alquilo" se refiere a una unidad estructural hidrocarburo ramificado o no ramificado completamente saturado que tiene hasta 4 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, tert-butilo y similares.

Como se utiliza en este documento, el término "alcoxi" se refiere a grupos alquilo-O-, en donde alquilo se define en este documento anteriormente. Los ejemplos representativos de alcoxi incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propoxi, 2-propoxi, butoxi, tert-butoxi, pentiloxi, hexiloxi, ciclopropiloxi-, ciclohexiloxi- y similares. Por lo general, los grupos alcoxi tienen 1-4 átomos de carbono.

Como se utiliza en este documento, el término "cicloalquilo" se refiere a grupos hidrocarburo monocíclicos saturados o insaturados de 3-6 átomos de carbono, en particular 3-5 átomos de carbono, especialmente 3-4 o 3 átomos de carbono.

Como se utiliza en este documento, los términos "sal" o "sales" se refieren a una sal de adición de ácido o adición de base de un compuesto de la invención. Las "sales" incluyen, en particular, "sales farmacéuticamente aceptables". El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que retienen la eficacia biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención y, que por lo general no son biológicamente o de otra manera indeseable. En muchos casos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales ácidas y/o básicas en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a los mismos.

Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables se pueden formar con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ejemplo, sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, canforsulfonato, cloruro/clorhidrato, clorteofilonato, citrato, etandisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrógeno fosfato/dihidrógeno fosfato, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfosalicilato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato.

Los ácidos inorgánicos de los que las sales se pueden derivar incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares.

Los ácidos orgánicos a partir de los cuales las sales se pueden derivar incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido sulfosalicílico, y similares. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables se pueden formar con bases inorgánicas y orgánicas.

Las bases inorgánicas de las que las sales se pueden derivar incluyen, por ejemplo, sales de amonio y metales de las columnas I a XII de la tabla periódica. En ciertas realizaciones, las sales se derivan de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, zinc, y cobre; en particular las sales apropiadas incluyen sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.

Las bases orgánicas de las que las sales se pueden derivar incluyen, por ejemplo, aminas primaria, secundaria, y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, las resinas básicas de intercambio de iones, y similares. Ciertas aminas orgánicas incluyen isopropilamina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietilamina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir de un compuesto original, una unidad estructural básica o ácida, por métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales se pueden preparar por reacción de las formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tales como, hidróxido de Na, Ca, Mg, o K, carbonato, bicarbonato o similares), o haciendo reaccionar formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Tales reacciones se llevan a cabo por lo general en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos. En general, el uso de medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo es deseable, cuando sea posible. Las listas de sales apropiadas adicionales se pueden encontrar, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); y en "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).

Cualquier fórmula dada en este documento también pretende representar formas no marcadas, así como formas de los compuestos marcados isotópicamente. Los compuestos marcados isotópicamente tienen las estructuras representadas por las fórmulas dadas en este documento, excepto que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número másico seleccionado. Ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}F, ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{36}Cl, ^{125}I, respectivamente. La invención incluye diversos compuestos marcados isotópicamente como se define en este documento, por ejemplo, aquellos en los cuales los isótopos radiactivos, tales como ^{3}H, ^{14}C y, o aquellos en los cuales los isótopos no radiactivos, tales como ^{2}H y ^{13}C están presentes. Tales compuestos marcados isotópicamente son útiles en estudios metabólicos (con ^{14}C), estudios cinéticos de reacción (con, por ejemplo, ^{2}H o ^{3}H), técnicas de detección o de formación de imágenes, tales como la tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) incluyendo ensayos de distribución en tejidos de fármacos o sustratos, o en el tratamiento radiactivo de pacientes. En particular, un compuesto ^{18}F o marcado puede ser particularmente deseable para estudios PET o SPECT. Los compuestos marcados isotópicamente de esta invención y profármacos de los mismos generalmente se pueden preparar llevando a cabo los procedimientos revelados en los esquemas o en los ejemplos y las preparaciones descritas más abajo sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente fácilmente disponible por un reactivo no marcado isotópicamente.

Además, la sustitución con isótopos más pesados, en particular deuterio (es decir, ^{2}H o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes desde una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, aumento de la vida media in vivo o menores requisitos de dosificación o una mejora en el índice terapéutico. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera como un sustituyente de un compuesto de la invención. La concentración de dicho isótopo más pesado, específicamente deuterio, puede ser definida por el factor de enriquecimiento isotópico. El término "factor de enriquecimiento isotópico" como se usa en este documento significa la relación entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo especificado. Si un sustituyente en un compuesto de esta invención se designan deuterio, dicho compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al

menos 3500 (52.5% de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), al menos 4000 (60% de incorporación de deuterio), al menos 4500 (67.5% de incorporación de deuterio), al menos 5000 (75% de incorporación de deuterio), al menos 5500 (82.5% de incorporación de deuterio), al menos 6000 (90% de incorporación de deuterio), al menos 6333.3 (95% de incorporación de deuterio), al menos 6466.7 (97% de incorporación de deuterio), al menos 6600 (99% de incorporación de deuterio), o al menos 6633.3 (99.5% de incorporación de deuterio).

Los compuestos marcados isotópicamente de la invención, se pueden preparar generalmente mediante técnicas convencionales conocidas para los expertos en el arte o mediante procesos análogos a los descritos en los Ejemplos y Preparaciones adjuntos usando unos apropiados reactivos marcados isotópicamente en lugar del reactivo no marcado empleado anteriormente.

Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquellos en donde el solvente de cristalización puede estar isotópicamente sustituido, por ejemplo, D_2O, d_6-acetona, d_6-DMSO.

Los compuestos de la invención, por compuesto de los ejemplos de fórmula (I) que contienen grupos capaces de actuar como donantes y/o aceptores de enlaces de hidrógeno pueden ser capaces de formar co-cristales con apropiados formadores de co-cristales. Estos co-cristales se pueden preparar a partir de compuestos de fórmula (I) por conocidos procedimientos de formación de co-cristales. Tales procedimientos incluyen molienda, calentamiento, co-sublimación, co-fusión, o poner en contacto en solución los compuestos de la fórmula (I) con el formador de co-cristal bajo condiciones de cristalización y aislar los co-cristales formados así. Los formadores de co-cristal apropiados incluyen los descritos en WO 2004/078163. Por lo tanto, la invención proporciona además co-cristales que comprenden un compuesto de fórmula (I).

Como se utiliza en este documento, el término "portador farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, surfactantes, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de la absorción, sales, conservantes, fármacos, estabilizadores de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, colorantes, y similares, y combinaciones de los mismos, como será conocido para los expertos en el arte (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329). Excepto en la medida que cualquier portador convencional es incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

El término "una cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, reducción o inhibición de una enzima o una actividad de la proteína, o mejorar los síntomas, aliviar condiciones, atrasar o retrasar la progresión de la enfermedad, o prevenir una enfermedad, etc. En una realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, es eficaz para (1) al menos parcialmente aliviar, inhibir, prevenir y/o mejorar una condición o un trastorno o una enfermedad (i) mediada por la proteína quinasa C, o (ii) asociada con actividad de la proteína quinasa C, o (iii) caracterizada por la actividad (normal o anormal) de la proteína quinasa C; o (2) reducir o inhibir la actividad de la proteína quinasa C; o (3) reducir o inhibir la expresión de la proteína quinasa C. En otra realización no limitativa, el término "una cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a una célula, o un tejido, o un material biológico no celular, o un medio, es eficaz para al menos parcialmente reducir o inhibir la actividad de la proteína quinasa C; o al menos parcialmente reducir o inhibir la expresión de la proteína quinasa C.

Como se utiliza en este documento, el término "sujeto" se refiere a un animal. Por lo general, el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere a, por ejemplo, primates (por ejemplo, seres humanos, hombres o mujeres), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un primate. En aún otras realizaciones, el sujeto es un humano.

Como se utiliza en este documento, el término "inhibir", "inhibición" o "que inhibe" se refiere a la reducción o supresión de una condición, síntoma o trastorno o enfermedad dada, o una disminución significativa en la actividad basal de una actividad o proceso biológico.

Como se usa en este documento, el término "tratar", "que trata" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere en una realización, para mejorar la enfermedad o trastorno (es decir, ralentizar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra realización "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere a aliviar o mejorar al menos un parámetro físico incluidos los que puede no ser discernibles por el paciente. En aún otra realización, "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere a la modulación de la enfermedad o trastorno, ya sea físicamente, (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente, (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico), o ambos. En aún otra realización, "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere a prevenir o retrasar la aparición o el desarrollo o la progresión de la enfermedad o trastorno.

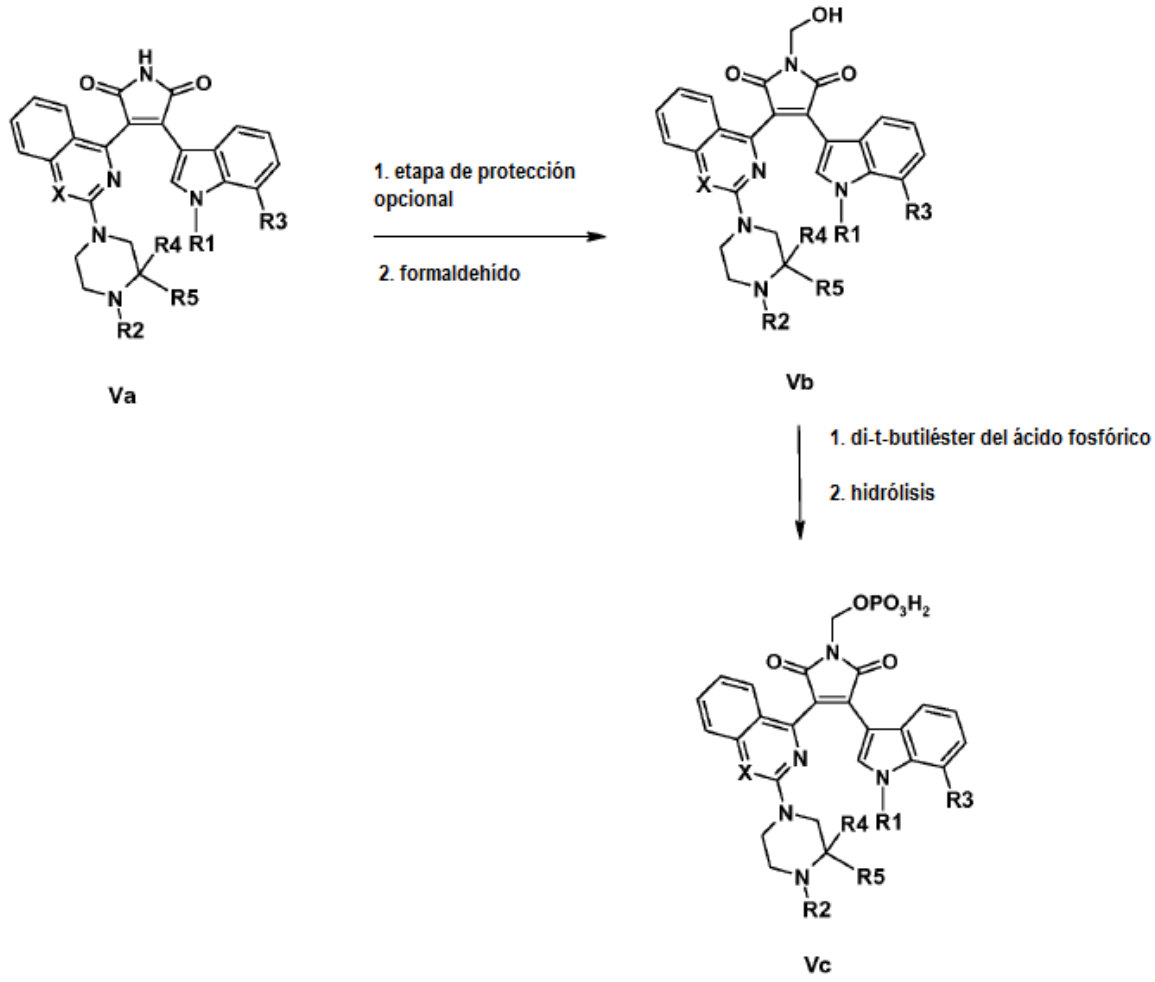
Como se usa en este documento, un sujeto está "en la necesidad de" un tratamiento si tal sujeto pudiera beneficiarse biológicamente, médicamente o en la calidad de vida de este tratamiento.

Como se utiliza en este documento, el término "un", "una", "el" y términos similares utilizados en el contexto de la presente invención (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) se han de interpretar para cubrir tanto el singular como plural a menos que se indique lo contrario en este documento o se contradiga claramente por el contexto.

Todos los métodos descritos en este documento se pueden realizar en cualquier orden apropiado a menos que se indique lo contrario en este documento o se contradiga claramente por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o lenguaje de ejemplo (por ejemplo, "tales como") proporcionados en este documento está destinado únicamente para iluminar mejor la invención y no plantea una limitación en el alcance de la invención reivindicada o lo contrario.

Métodos de fabricación

Los compuestos de la invención pueden ser fabricados por los métodos proporcionados a continuación, por ejemplo, mediante la conversión de maleimida de fórmula (Va) en el alcohol de fórmula (Vb), por ejemplo, con formaldehído en la presencia o ausencia de un solvente o una base tal como carbonato de potasio y opcionalmente antes de esta reacción mediante la introducción de grupos protectores, por ejemplo, grupos tert-butoxicarbonilo, de acuerdo con la reacción del estado de la técnica, por ejemplo, cuando hay grupos amino libres y reactivos en un compuesto de fórmula (Va), en donde las variables, X, R, R1, R2, R3, R4 y R5 tienen los significados como se proporcionan para la fórmula (I).



Va

Vb

Vc

El alcohol de fórmula (Vb) se pueden convertir opcionalmente a un éster reactivo, por ejemplo con triclorometilacetonitrilo y base apropiada, por ejemplo, DBU, y luego se puede hacer reaccionar con un agente de fosforilación apropiado, por ejemplo, di-tert-butiléster del ácido fosfórico en la presencia o ausencia de un solvente

apropiado, por ejemplo, un solvente aprótico, por ejemplo, acetonitrilo, y luego pueden ser hidrolizados, por ejemplo, con ácido trifluoroacético por ejemplo, en diclorometano o 1,2-dicloroetano para proporcionar el producto final Vc.

Alternativamente, el alcohol de fórmula (Vb) se puede hacer reaccionar directamente con un éster del ácido fosfórico, por ejemplo, con di-tertbutil éster del ácido fosfórico, por ejemplo, bajo condiciones de reacción de Mitsunobu para dar el éster de ácido fosfórico, que después puede ser hidrolizado, por ejemplo, con ácido trifluoroacético, por ejemplo, en diclorometano para proporcionar el producto final Vc.

Parte experimental:

En la medida que la producción de los materiales de partida no se describe particularmente, los compuestos son conocidos o se pueden preparar análogamente a métodos conocidos en la técnica o como se describe a continuación.

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

Abreviaturas:

bs	singlete ancho
d	doblete
DMSO	dimetilsulfóxido
d.n.	dosis normalizada
EtOAc	acetato de etilo
Et_2O	éter dietílico
FCC	cromatografía en columna instantánea
MeOH	metanol
EM	espectroscopía de masas
m	multiplete
RMN	resonancia magnética nuclear
p.o.	a través de la boca
r.t.	temperatura ambiente
s	singlete
t	triplete
TFA	ácido trifluoroacético
TLC	cromatografía en capa fina
UPLC	cromatografía líquida de ultra alta presión

La nomenclatura química de todos los compuestos se creó utilizando AutoNom®.

Los espectros de RMN se registraron en un espectrómetro Bruker Avance 400 DPX a temperatura ambiente.

Métodos LCMS utilizados:

Método de LC 1 (Rt [(1)]): Se obtuvieron los tiempos de retención (Rt) en un sistema Waters Acquity UPLC vinculado a un espectrómetro de masas Waters ZQ 2000 utilizando una columna de 1.7 μm de 50 mm x 2.1 Waters BEH C18 (velocidad de flujo = 0.7 ml/min, detección 240- 350 nm; DAD) aplicando un gradiente (solvente A: agua + ácido fórmico al 0.1%, solvente B: acetonitrilo; t=0 min: 99% de A, 1% de B; t=1 min 98% de A, 2% de B; t=2.25 min 1% de A, 99% de B; t=4.5 min 0% de A, 100% de B).

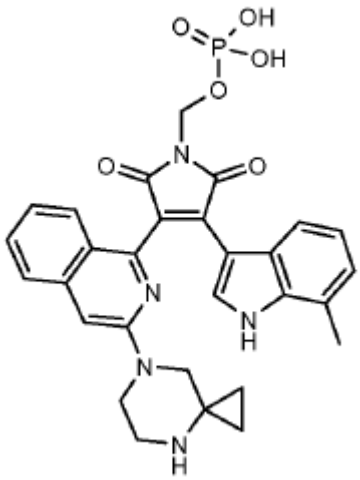
Método de LC 2 (Rt $^{(2)}$): Se obtuvieron los tiempos de retención (Rt) en un sistema Agilent HPLC con una columna C18 Ascentis®Express de 2.7 μm, 30 x 2.1 mm (Supelco) aplicando un gradiente (H_2O+ácido fórmico al 0.05%+acetato de amonio 3.75 mM)/(CH_3CN+ácido fórmico al 0.04%) 90/10 a 5/95 durante 1.7 min y 1.2 mL/min como flujo del solvente y a continuación 5/95 durante 0.7 min con 1.4 mL/min como flujo del solvente y 40°C para la temperatura del horno. Método de detección UV 214-350 nm - MS.

Método de purificación:

HPLC preparativa de fase inversa Gilson

Columna SunFire prep C18 OBD 5μm, 30 x 100mm de WATERS, con H_2O + TFA al 0.1% y Acetonitrilo +TFA al 0.1% como fase móvil. Método de detección UV 220-400 nm

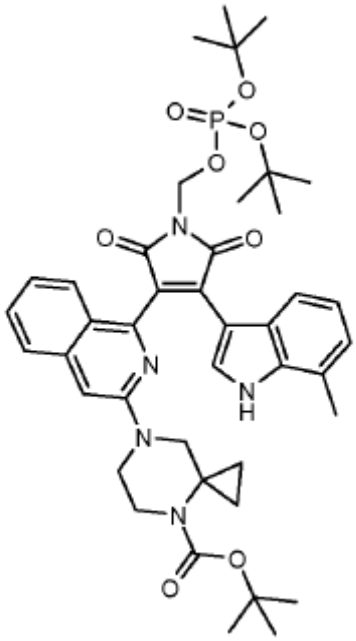
Ejemplo 1: mono-[3-[3-(4,7-diaza-spiro[2.5]oct-7-il)-isoquinolin-1-il]-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetil] éster del ácido fosfórico



A una solución del tert-butil éster del ácido 7-{1-[1-(di-tert-butoxi-fosforiloximetil)-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-3-il]-isoquinolin-3-il}-4,7-diaza-spiro[2.5]octano-4-carboxílico (1.90 g, 2.42 mmol) en 1,2-dicloroetano (50 mL) se le adicionó TFA (8.27 g, 72.5 mmol) bajo argón a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 3.5 h bajo argón a 0 °C hasta que la UPLC-MS indicó que se había producido la conversión completa del material de partida. La mezcla de reacción se diluyó con 1,2-dicloroetano (50 mL) y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto en bruto como un sólido de color rojo. El producto de reacción en bruto se disolvió en MeOH y se concentró lentamente a presión reducida hasta que la cristalización empieza a producirse. Se adicionó pentano y los sólidos se separaron por filtración y se lavaron con Et_2O. La purificación adicional se consiguió, suspendiendo el producto en bruto en DMSO, seguido por sonicación, durante 30 min. Los sólidos se separaron por filtración, se lavaron con Et_2O y se secaron a alto vacío (< 1 mm de Hg) para proporcionar el compuesto base como un sólido de color rojo oscuro.

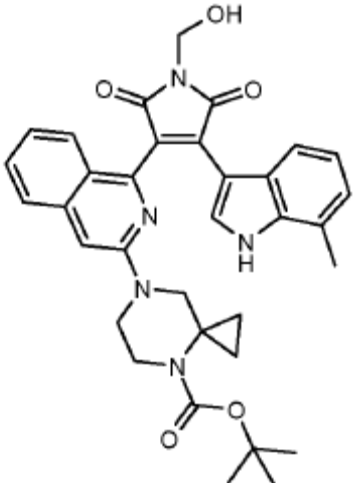
^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d6): 12.10 (s, 1H), 8.08 (d, 1H), 7.65-7.61 (m, 2H), 7.44 (t, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.06 (t, 1H), 6.74 (d, 1H), 6.43 (t, 1 H), 6.00 (d, 1 H), 5.29 (d, 2H), 3.87-3.01 (m, 6H), 2.37 (s, 3H), 0.97-0.62 (m, 4H). ^{31}P-RMN (162 MHz, DMSO-d6): -6.0. LCMS: $[M+1]^+$= 574.0, Rt$^{(1)}$ = 1.77 min., Rt$^{(2)}$ =0.71 min.

Preparación de tert-butil éster del ácido 7-{1-[4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-3-il]-isoquinolin-3-il}-4,7-diazaspiro[2.5]octano-4-carboxílico



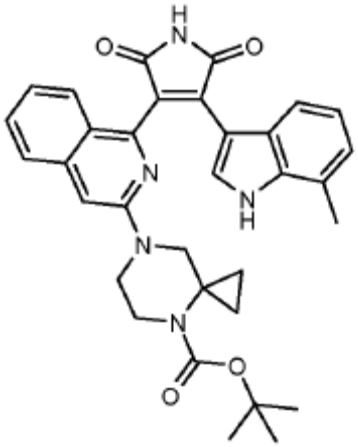
A una solución de tert-butil éster del ácido 7-{1-[1-hidroximetil-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-3-il]-isoquinolin-3-il}-4,7-diaza-spiro[2.5]octano-4-carboxílico (7.30 g, 12.30 mmol) en acetonitrilo (60 mL) se le adicionó gota a gota una solución de DBU (0.374 g, 0.371 mL, 2.46 mmol) en tricloroacetonitrilo (17.8 g, 12.3 mL, 123 mmol) a r.t. en atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó durante 5 h a r.t. hasta que la TLC (SiO_2, EtOAc/ciclohexano 6:4) indicó la conversión completa. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad a presión reducida y el residuo se suspendió en acetonitrilo (60 mL). Se adicionó di-tert-butil éster del ácido fosfórico (3.36 g, 15.99 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 3.5 h a r.t. en atmósfera de argón hasta que la TLC (SiO_2, EtOAc/ciclohexano 6:4) indicó que la reacción se completó. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se sometió a partición EtOAc y agua. Las capas se separaron y la fase orgánica se lavó con agua (5 veces). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a presión reducida para proporcionar un sólido de color rojo. El producto en bruto se purificó por FCC (Biotage SP4™ system, SiO_2, ciclohexano/EtOAc 20:80) para producir el compuesto base como un sólido de color rojo. ^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d6): 12.03 (s, 1H), 8.08 (d, 1H), 7.70-7.65 (m, 2H), 7.47 (t, 1 H), 7.11 (s, 1 H), 7.11-7.07 (m, 1 H), 6.77(d, 1 H), 6.44 (t, 1 H), 5.97 (d, 1H), 5.39 (d, 1H), 3.49-3.08 (m, 6H), 2.39 (s, 3H), 1.45 (s, 18H), 1.41 (s, 9H), 0.87-0.56 (m, 4H). ^{31}P-RMN (162 MHz, DMSO-d6): -12.1. LCMS: [M+1]+= 786.4, Rt $^{(1)}$= 2.53 min., Rt $^{(2)}$= 1.62 min.

Preparación de tert-butil éster del ácido 7-{1-[1-Hydroxymetil-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-3-il]-isoquinolin-3-il}- 4,7-diaza-spiro[2.5]octano-4-carboxílico



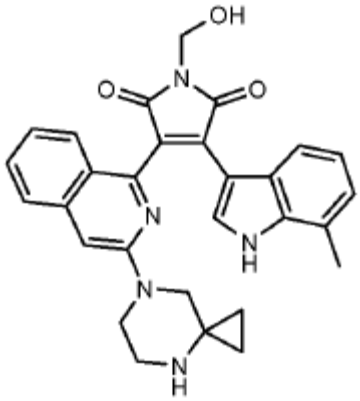
A una solución de tert-butil éster del ácido 7-{1-[4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-3-il]-isoquinolin-3-il}-4,7-diaza-spiro[2.5]octano-4-carboxílico (3.00 g, 5.32 mmol) en MeOH (25 mL) se le adicionó una solución acuosa al 37% de formaldehído (9.5 g, 8.72 mL, 117 mmol) bajo argón a r.t. La mezcla de reacción se calentó a 85 °C y se agitó durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió a r.t., bajo agitación continua y se filtró. Los sólidos se lavaron con agua helada y se secaron a alto vacío (< 1 mm de Hg) para proporcionar el compuesto base como cristales de color rojo oscuro. ^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d6): 11.96 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.69-7.64 (m, 2H), 7.47 (t, 1 H), 7.12-7.06 (m, 2H), 6.76 (d, 1 H), 6.42 (t, 1 H), 6.01 (d, 1 H), 5.00 (d, 2H), 3.49-3.10 (m, 6H), 2.39 (s, 3H), 1.41 (s, 9H), 0.89-0.57 (m, 4H). LCMS: [M]+= 593.7, Rt$^{(1)}$ = 2.34 min.

Preparación del tert-butil éster del ácido 7-{1-[4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-3-il] -isoquinolin-3-il}-4,7-diaza-spiro[2.5]octano-4-carboxílico.



Di-tert-butil dicarbonato (2.77 g, 10.8 mmol) y trietilamina (2.18 g, 21.6 mmol) se adicionaron a una solución de 3-[3-(4,7-diaza-spiro[2.5]oct-7-il)-isoquinolin-1-il]-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona (5.0 g, 10.8 mmol) en THF (50 mL) bajo argón a r.t. La mezcla de reacción se agitó durante 16 h y se concentró a presión reducida. El residuo se sometió a partición entre una solución saturada acuosa de NH_4Cl y CH_2Cl_2. Las capas se sometieron a partición y la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada acuosa de $NaHCO_3$ y salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto base como un sólido de color naranja. ^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d6): 11.88 (s, 1H), 11.15 (s, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.68-7.65 (m, 2H), 7.46 (t, 1H), 7.09 (t, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.73 (d, 1H), 6.41 (t, 1H), 6.01 (d, 1H), 3.48-3.16 (m, 6H), 2.38 (s, 3H), 1.40 (s, 9H), 0.87-0.54 (m, 4H). LCMS: $[M+1]^+$= 563.9, Rt$^{(1)}$ = 3.51 min, Rt $^{(1)}$= 2.36 min., Rt $^{(2)}$=1.37 min.

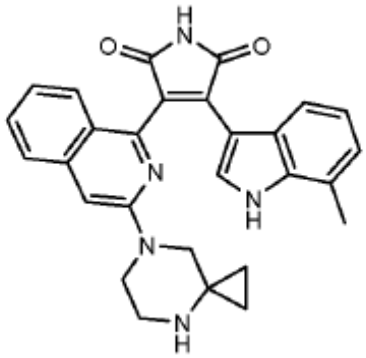
Ejemplo 2: 3-[3-(4,7-Diaza-spiro[2.5]oct-7-il)-isoquinolin-1-il]-1-hidroximetil-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona



A una solución del tert-butil éster del ácido 7-{1-[1-hidroximetil-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-3-il]-isoquinolin-3-il}-4,7-diaza-spiro[2.5]octano-4-carboxílico (500 mg, 0.842 mmol) en 1,2-dicloroetano (5 mL) se le adicionó TFA (1.44 g, 0.973 mL, 12.7 mmol) bajo argón a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h bajo argón a 0 °C, después de lo cual se le adicionó TFA adicional (0.768 g, 0.52 mL, 6.74 mmol). La agitación se continuó durante

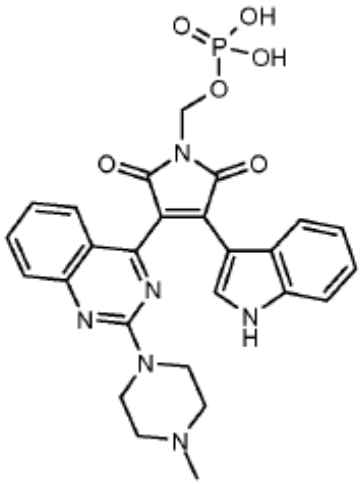
1.5 h a 0 °C. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad a presión reducida y el producto en bruto se cristalizó a partir de MeOH para proporcionar el compuesto base como un sólido de color rojo (sal de TFA) como un sólido de color rojo oscuro. ^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d6): 12.01 (d, 1H), 9.06 (bs, 2H), 8.11 (d, 1H), 7.71-7.66 (m, 2H), 7.51 (t, 1H), 7.27 (s, 1 H), 7.14 (t, 1H), 6.77 (d, 1H), 6.45-6.39 (m, 2H), 5.92 (d, 1H), 5.00 (d, 2H), 3.84-3.54 (m, 6H), 2.39 (s, 3H), 0.96-0.67 (m, 4H). LCMS: [M+1]+= 493.7, Rt $^{(1)}$ =1.84 min.

Ejemplo 3: 3-[3-(4,7-diaza-spiro[2.5]oct-7-il)-isoquinolin-1-il]-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona



La síntesis del compuesto base se ha descrito como Ejemplo 69 en WO03082859.

Ejemplo 4: mono-{3-(1H-indol-3-il)-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-quinazolin-4-il]-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetil} éster del ácido fosfórico



En atmósfera de argón, se adicionaron di-tert-butil éster del ácido fosfórico clorometil éster (1.24 g, 4.81 mmol) y Cs_2CO_3 (3.14 g, 9.63 mmol) a una solución de 3-(1H-indol-3-il)-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-quinazolin-4-il]-pirrol-2,5-diona (2.0 g, 4.01 mmol) en acetona (40 mL). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de argón, durante 16 h a 50 °C, seguido por la concentración a presión reducida. El residuo se sometió a partición EtOAc y una solución saturada acuosa de NH_4Cl, las capas se separaron y la capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. La concentración a presión reducida proporcionó el producto en bruto como una espuma de color rojo. El producto en bruto se purificó por HPLC Gilson de fase reversa como se describe anteriormente. Después de la concentración de las fracciones deseadas in vacuo, se obtuvo un sólido de color rojo. UPLC-MS indicó que se había producido la escisión parcial de los grupos t-butil éster. La mezcla así obtenida (280 mg) se disolvió en una mezcla de 1,2-dicloroetano (4 mL) y acetonitrilo (2.0 mL). Se adicionó TFA (145 mg, 98 µL, 1.27 mmol) y la solución resultante se agitó durante 3 h bajo argón a 0 °C cuando UPLC-MS indicó que se había producido la conversión completa del material de partida. La mezcla de reacción se diluyó con 1,2-dicloroetano (4.0 mL) y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto en bruto como un sólido de color rojo. El producto de reacción en bruto se disolvió en MeOH (3 mL) y se concentró lentamente a presión reducida hasta que la cristalización empieza a producirse. Los cristales se separaron por filtración y se lavaron con Et_2O y pentano para proporcionar el compuesto base como un sólido de color naranja. ^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d6): 12.27 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.72-7.66 (m, 2H), 7.58 (d, 1H), 7.40 (d, 1H), 7.14 (t, 1 H), 7.02 (t, 1 H), 6.65 (t, 1 H), 6.24 (d, 1 H),

5.34 (d, 2H), 4.14-3.72 (bs, 4H), 3.00-2.73 (bs, 4H), 2.60 (s, 3H). ^{31}P-RMN (162 MHz, DMSO-d6): -2.7. LCMS: [M]+= 548.6, $Rt^{(1)}$ = 1.72 min., $Rt^{(2)}$ =0.73 min.

Preparación del material cristalino del compuesto del ejemplo 1:

2 gramos de mono-[3-[3-(4,7-diaza-spiro[2.5]oct-7-il)-isoquinolin-1-il]-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetil] éster del ácido fosfórico (ejemplo No. 1) se dispersaron en una mezcla de 800 ml de etanol y 200 ml de agua. Esta suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Después de ello, dicha suspensión se filtró a través de un filtro de vidrio sinterizado y los cristales así obtenidos se secaron en corriente de aire atmosférico normal. Para 1 gramo de estos cristales, se adicionaron 4 ml de una solución de 80% de etanol/20% de agua (vol./vol.) y la mezcla resultante se evaporó a sequedad a presión atmosférica para proporcionar el mono-hidrato del ejemplo, No. 1.

FIGURA 1

Un difractograma de rayos X del monohidrato cristalino anterior se muestra en la Figura 1, y los picos se registran contra el ángulo 2 theta en la Tabla 1.

Tabla 1. Principales picos en el patrón de difracción de rayos X del monohidrato cristalino del ejemplo, Nº 1

Ángulo 2θ	valor d Angstrom	Recuentos de intensidad	% de Recuento	Intensidad	% de Intensidad
8.506	10.38645	8.506	10.38645	5215	26.0
9.525	9.27790	9.525	9.27790	7052	35.2
13.793	6.41501	13.793	6.41501	4245	21.2
14.926	5.93044	14.926	5.93044	3513	17.5
15.172	5.83502	15.172	5.83502	3360	16.8
15.413	5.74440	15.413	5.74440	3384	16.9
16.356	5.41519	16.356	5.41519	6738	33.6
17.091	5.18400	17.091	5.18400	20046	100
18.005	4.92268	18.005	4.92268	10587	52.8
19.224	4.61338	19.224	4.61338	6442	32.1
20.859	4.25526	20.859	4.25526	9742	48.6
22.433	3.96009	22.433	3.96009	5332	26.6
23.316	3.81209	23.316	3.81209	5751	28.7
25.792	3.45140	25.792	3.45140	8574	42.8
27.402	3.25222	27.402	3.25222	3930	19.6
27.712	3.21657	27.712	3.21657	3575	17.8
28.091	3.17398	28.091	3.17398	4187	20.9
30.521	2.92662	30.521	2.92662	2899	14.5
31.502	2.83768	31.502	2.83768	3756	18.7

De acuerdo con lo anterior, la presente invención proporciona en otra realización una forma cristalina de mono-[3-[3-(4,7-diaza-spiro[2.5]oct-7-il)-isoquinolin-1-il]-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetil] éster del ácido fosfórico, especialmente el mono-hidrato, que preferiblemente tiene un patrón de difracción en polvo de rayos X con al menos uno, preferiblemente dos, más preferiblemente tres, incluso más preferiblemente cuatro, especialmente cinco, más preferiblemente todos los siguientes picos a un ángulo de refracción 2 theta (θ) de 9.525, 16.356, 17.091, 18.005, 20.859, cada ± 0.2, especialmente como se representa en la Figura 1.

Tabla 2. Estabilidad química de ejemplo No. 1, amorfo y cristalino

Compuesto	Estado sólido	Pureza inicial (%)	Temperatura [° C]	Tiempo de Exposición	Pureza [%]
Ejemplo Nº 1	amorfo	98.5	50	1 semana	95.8
Ejemplo Nº 1	amorfo	98.5	80	1 semana	89.7
Ejemplo Nº 1	cristalino monohidrato	100	50	1 semana	100
Ejemplo Nº 1	cristalino monohidrato	100	80	1 semana	100

La Tabla resume los eventos térmicos vistos en DSC (calorimetría diferencial de barrido) y TGA (análisis gravimétrico térmico)

Rango de temperatura [° C]	Evento
30-125	Pérdida de agua
225-265	Degradación

FIGURA 2

El perfil de absorción de agua del Ejemplo No. 1 mono-hidrato cristalino se muestra en la Figura 2. Se aplica la siguiente exposición a la humedad: 6h de equilibrio a 50% de HR, seguido por 2 ciclos de HR desde 50% de HR a 90% de HR a 0% de HR a 90% de HR a 0% de HR a 50% de HR en etapas de 10% de HR. (RH = humedad relativa)

Parte biofarmacéutica

Los compuestos de la invención, por ejemplo, un compuesto de fórmulas (I), (II), (III) o (IV) y similares, en forma libre o en forma de sal o hidrato farmacéuticamente aceptable, exhiben propiedades farmacológicas valiosas como se describe en los ensayos a continuación, por ejemplo, en ensayos in vitro e in vivo, y por lo tanto están indicados para terapia.

A. In vitro

1. Ensayos de la proteína quinasa C alfa y theta

Los compuestos de la invención se ensayaron para determinar su actividad sobre diferentes isotipos de PKC de acuerdo con los siguientes métodos. Todos los ensayos se realizaron en placas de microtitulación de 384 pozos. Cada placa de ensayo contenía diluciones en serie de 8 puntos para 40 compuestos de ensayo, así como dos diluciones en serie de 16 puntos de estaurosporina como compuesto de referencia, más controles 16 altos y 16 bajos. Las etapas de manipulación e incubación de líquidos se realizaron en una estación de trabajo automatizado equipado con un Innovadyne Nanodrop Express.

Las placas de ensayo se prepararon mediante la adición de 50 nL por pozo de solución del compuesto en 90% de DMSO. Las reacciones de quinasa se iniciaron mediante la adición gradual de 4.5 µl por pozo de un péptido 2x/ solución de ATP y 4.5 µl por pozo de una solución de enzima de 2x. La concentración final de los reactivos durante la reacción de quinasa fue: HEPES 50 mM, pH 7.5, DTT 1 mM, Tween 20 al 0.02%, BSA al 0.02%, DMSO al 0.6%, beta-glicerofosfato 10 mM, y ortovanadato de sodio 10 µM. El sustrato peptídico utilizado en los ensayos de PKC-alfa y PKC-theta fue Dy495-X5-ME-MPR-RFARKGSLRQKNV-COOH. Ambas enzimas fueron proteínas recombinantes humanas de longitud completa expresadas en células de insecto (Invitrogen AG, Basilea, Suiza). Otros componentes fueron

ajustados específicamente para los respectivos ensayos de quinasa: PKC-alfa: enzima 12 pM, ATP 17 μM, sustrato peptídico 1 μM, $MgCl_2$ 7, $CaCl_2$ 0.2 mM. PKC-theta: enzima 29 pM, ATP 70 μM, sustrato peptídico 1 μM, $MgCl_2$ 7 mM, $CaCl_2$ 0.2 mM.

Las reacciones de quinasa se incubaron a 30 °C durante 60 minutos y posteriormente se terminaron por la adición de 16 μl por pozo de solución de parada (HEPES 100 mM pH 7.5, DMSO al 5%, el reactivo de revestimiento Caliper al 0.1%, EDTA 10 mM, y Brij35 al 0.015%). Las placas con reacciones de quinasa terminadas fueron transferidas a las estaciones de trabajo del Caliper LC3000 para la lectura. Los péptidos fosforilados y no fosforilados se separaron utilizando la tecnología de cambio de movilidad de microfluidos Caliper y se calcularon las actividades de quinasa a partir de las cantidades de fosfo-peptido formado.

Ensayo	Ejemplo 1	Ejemplo 3
PKCα (IC_{50} en nM)	1677	0.4
PKCθ (IC_{50} en nM)	462	0.2

Los resultados del ensayo se muestran anteriormente en este documento y en este documento a continuación puede apoyar el concepto de profármaco de los compuestos de la invención.

2. Ensayo de proliferación de células de médula ósea (BM)

Las células de médula ósea de ratones CBA (2.5×10^4 células por pozo en placas de microtitulación de cultivo tisular de fondo plano) se incubaron en 100 μL de un medio de RPMI que contenía 10% de FCS, 100 U/mL de penicilina, 100 μg/mL de estreptomicina (Gibco BRL, Basilea Suiza), 2-mercaptoetanol 50 μM (Fluka, Buchs, Suiza), medio acondicionado WEHI-3 (7.5% v/v) y medio condicionado L929 (3% v/v) como fuente de factores de crecimiento y compuestos diluidos en serie. Se llevaron a cabo siete etapas de dilución de tres veces en los duplicados de los compuestos de ensayo. Después de cuatro días de incubación 1 μCi de ^{3}H-timidina se adicionó. Las células se recogieron después de un período adicional de incubación de cinco horas, y se determinó la ^{3}H-timidina incorporada de acuerdo con procedimientos estándar. Los medios acondicionados se prepararon de la siguiente manera. Las células WEHI-3 (ATCC TIB68) y las células L929 (ATCC CCL 1) se cultivaron en medio RPMI hasta que la confluencia durante 4 días y una semana, respectivamente. Se recogieron las células, se resuspendieron en los mismos matraces de cultivo en medio C que contiene 1% de FCS (Schreier and Tess 1981) para WEHI-3 células y medio RPMI para las células L929 y se incubaron durante 2 días (WEHI-3) o una semana (L929). Se recogió el sobrenadante, se filtró a través de 0.2 μm y se almacenó en alícuotas a - 80 °C. Los cultivos sin los compuestos de ensayo y sin WEHI-3 y los sobrenadantes L929 se utilizaron como valores de control bajos. Los valores de control bajos se restaron de todos los valores. Los controles altos sin ninguna muestra se tomaron como la proliferación de 100%. Se determinaron los porcentajes de inhibición por las muestras se calculó y las concentraciones necesarias para 50% de inhibición (valores de IC_{50}).

Ensayo	Ejemplo 1	Ejemplo 3
IC_{50} en nM	6741 ± 1117	1672 ± 256

B. In vivo:

Administración del compuesto del Ejemplo No. 1

Una dosis única del compuesto del ejemplo 1 (3.0 mg/kg) se administró p.o. a 3 perros beagle macho. El compuesto 1 se dosificó como una suspensión acuosa de la forma monohidrato cristalino en metilcelulosa (0.5%): Tween 80 (1%) (90:10). Se extrajo sangre en intervalos regulares por punción venosa, y las muestras se analizaron por un período de hasta 24 horas. Los compuestos de los ejemplos 1, 2, y 3 se evaluaron cuantitativamente con el transcurso del tiempo, y los resultados se tabulan a continuación:

Tiempo (h)	Compuesto 1 (nM)	Compuesto 2 (nM)	Compuesto 3 (nM)
0	-	-	-
0.083	-	10.0	15.0
0.25	3.1	39.6	166.7
0.5	1.1	31.3	757.4
0.75	-	19.1	1198.0
1	-	6.3	1308.3
2	-	7.7	1118.6
3	-	1.0	958.9
4	-	-	762.0
7	-	-	403.1
24	-	-	67.9

Los parámetros farmacocinéticos clave (valores medios ± desviaciones estándar (n = 3) para 1, 2 y 3 después de la dosificación oral del ejemplo, No. 1.

Parámetros	Compuesto 1	Compuesto 2	Compuesto 3
C_{max} d.n. (nM)	-	15 ±8	441 ± 165
T_{max} (h)	-	0.4 ± 0.1	0.9 ± 0.1
AUC d.n. (nM•h)	-	bajo	3350 ± 1402

Administración del compuesto del ejemplo No. 3

El compuesto del ejemplo No. 3 se administró por vía oral en forma de sal acetato de mono en una cápsula de gelatina dura a 6 perros beagle macho en ayunas. Se le dio una dosis nominal de 100 mg/perro, lo que resulta en dosis de 8.9 a 11.3 mg/kg (peso de los perros que oscila de 8.9 a 11.3 kg). Se extrajo sangre por punción venosa, y el muestreo se realizó hasta 32 h. La determinación bioanalítica se realizó para 3 y se tabula a continuación:

Tiempo (h)	Compuesto 3 (nM)
0	-
0.25	177
0.5	936
1	2155
2	2548
3	2000

Tiempo (h)	Compuesto 3 (nM)
4	1898
6	1486
8	1238
24	276
32	116

Los parámetros farmacocinéticos clave (valores medios o rango) para el compuesto No. 3 después de la administración oral como se describió anteriormente.

Parámetros	Compuesto 3
C_{max} d. n. (n M)	323
T_{max} (h)	0.5-2
AUC d.n. (nM•h)	2790

Sección fisicoquímica

Evaluaciones de solubilidad

La solubilidad del compuesto del Ejemplo No. 1 en fluidos gástrico simulado e intestinal simulado a temperatura ambiente

Medio	Solubilidad [mg/mL]	pH final
Fluido gástrico simulado (SGF) pH 2	0.04	2.22
Fluido intestinal simulado del estado de ayuno (FaSSIF) pH 6.5	0.1	6.59
Fluido intestinal simulado estado alimentado (FeSSIF) pH 5.8	0.13	6.05

La solubilidad del compuesto Ejemplo No. 3 (forma libre/forma de sal de acetato) en los fluidos gástricos simulados:

	Forma libre		Sal de acetato	
Medio	Solubilidad [mg/mL]	pH final	Solubilidad [mg/mL]	pH final
Fluido gástrico simulado (SGF) de pH 2	0.12	-	0.15	5.45
Fluido intestinal simulado del estado de ayuno (FaSSIF) pH 6.5	0.03	-	0.05	3.97
Fluido intestinal simulado estado alimentado (FeSSIF) pH 5.8	0.28	-	0.55	6.5

Evaluaciones de estabilidad

Estabilidad de cpd. Ejemplo No. 1 en los fluidos gástricos e intestinales simulados a 37 °C:

Medio	Tiempo (horas)	Cantidad en % de área del compuesto del ejemplo No. 1
Fluido gástrico simulado (SGF) de pH 2	0	95.9
	1	95.5
	2.5	95.3
	4.2	95.6
	7	95.6
Fluido intestinal simulado del estado de ayuno (FaSSIF) pH 6.5	0	95.1
	1	93.8
	2.5	92.3
	4.2	90.5
	7	87.7
Fluido intestinal simulado estado alimentado (FeSSIF) pH 5.8	0	95.0
	1	94.9
	2.5	94.8
	4.2	94.8
	7	94.8

La estabilidad del compuesto Ejemplo No. 3 (forma libre/forma de sal de acetato) en fluidos simulados gástricos e intestinales a 37 °C:

Medio	Tiempo (horas)	Cantidad de forma libre en % de área del compuesto del ejemplo No. 3	Cantidad de sal de acetato en% de área del compuesto del ejemplo No. 3
Fluido gástrico simulado (SGF) de pH 2	0	98.8	100
	1	98.6	96.4
	2.5	98.1	93.2
	4	97.9	92.4
	7	97.9	90.0

Medio	Tiempo (horas)	Cantidad de forma libre en % de área del compuesto del ejemplo No. 3	Cantidad de sal de acetato en% de área del compuesto del ejemplo No. 3
Fluido intestinal simulado del estado de ayuno (FaSSIF) pH 6.5	0	100	100
	1	100	98.6
	2.5	100	98.7
	4	90.7	95.1
	7	82.5	88.5
Fluido intestinal simulado estado alimentado (FeSSIF) pH 5.8	0	100	100
	1	100	99.1
	2.5	100	98.9
	4	99.2	98
	7	98.7	97.5

Sección utilidad

Los compuestos de la presente invención son por lo general útiles en la prevención o tratamiento de trastornos o enfermedades donde PKC, o mediadores de otras quinasas juegan un papel, por ejemplo, en enfermedades o trastornos mediados por linfocitos T, linfocitos B, mastocitos, eosinófilos o cardiomiocitos, y por lo tanto se indican por lo general en rechazo agudo o crónico de alo o xenoinjertos de órganos o tejidos, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedad de huésped contra injerto, arteriosclerosis, infarto cerebral, oclusión vascular debido a lesión vascular tal como angioplastia, restenosis, fibrosis (especialmente pulmonar, sino también otros tipos de fibrosis, tales como la fibrosis renal), angiogénesis, hipertensión, insuficiencia cardíaca, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedades del CNS tales como la enfermedad de Alzheimer o la esclerosis lateral amiotrófica, cáncer, enfermedades infecciosas tales como el SIDA, choque séptico o síndrome de dificultad respiratoria en adultos, lesión por isquemia/reperfusión por ejemplo, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, isquemia intestinal, insuficiencia renal o choque hemorrágico, o choque traumático.

Los compuestos de la invención también son útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades o trastornos inflamatorios agudos o crónicos o enfermedades autoinmunes, por ejemplo, sarcoidosis, pulmón fibroide, neumonía intersticial idiopática, enfermedad obstructiva de las vías aéreas, incluyendo condiciones tales como asma, asma intrínseca, asma extrínseca, asma por polvo, particularmente crónica o asma inveterada (por ejemplo, asma tardía e hipersensibilidad de las vías respiratorias), bronquitis, que incluye asma bronquial, asma infantil, artritis reumatoide, osteoartritis, lupus eritematoso sistémico, lupus síndrome nefrótico, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia grave, diabetes mellitus tipo I y complicaciones asociadas con la misma, diabetes mellitus en adultos tipo II, uveítis, síndrome nefrótico, nefrosis resistente a los esteroides y dependiente de los ésteroides, pustulosis palmoplantar, encefalomielitis alérgica, glomerulonefritis, psoriasis, artritis psoriásica, eccema atópico (dermatitis atópica), dermatitis de contacto alérgica, dermatitis de contacto irritante y otras dermatitis eccematosas, dermatitis seborreica, liquen plano, pénfigo, penfigoide bulloso, epidermolisis bullosa, urticaria, angioedemas, vasculitis, eritemas, eosinofilias cutáneas, acné, alopecia areata, fascitis eosinofílica, aterosclerosis, conjuntivitis, queratoconjuntivitis, queratitis, conjuntivitis vernal, uveítis asociada con la enfermedad de Behcet, queratitis herpética, córnea cónica, síndrome de Sjoegren, distrofia del epitelio corneal, queratoleucoma, pénfigo ocular, úlcera de Mooren, escleritis, oftalmopatía de graves, inflamación intraocular severa, inflamación de la mucosa o vasos sanguíneos tales como las enfermedades B4 mediada por leucotrienos, úlceras gástricas, daño vascular causado por enfermedades isquémicas y trombosis, hipertrofia cardiaca, enfermedad intestinal isquémica, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa), enterocolitis necrotizante, enfermedades renales incluyendo nefritis intersticial, síndrome de Goodpasture, síndrome hemolítico urémico y nefropatía diabética, enfermedades nerviosas seleccionadas de miositis múltiple, síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Meniere y radiculopatía, enfermedad del colágeno incluyendo escleroderma, granuloma de Wegener y síndrome de Sjogren, enfermedades autoinmunes crónicas del hígado

incluyendo hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria y colangitis esclerosante), resección parcial del hígado, necrosis hepática aguda (por ejemplo, necrosis causada por toxinas, hepatitis viral, shock o anoxia), cirrosis, hepatitis fulminante, psoriasis pustulosa, enfermedad de Behcet, hepatitis crónica activa, síndrome de Evans, polinosis, hipoparatiroidismo idiopático, enfermedad de Addison, gastritis atrófica autoinmune, hepatitis lupoide, nefritis tubulointersticial, nefritis membranosa, o fiebre reumática.

Los compuestos de la invención también pueden ser útiles para el tratamiento de tumores, por ejemplo, cáncer de mama, cáncer genitourinario, cáncer de pulmón, cáncer gastrointestinal, cáncer epidermoide, melanoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, neuroblastoma, cáncer de cabeza y/o cuello o cáncer de vejiga, o en un sentido más amplio cáncer renal, de cerebro o gástrico; en particular (i) un tumor de mama; un tumor epidermoide, tal como una cabeza epidermoide y/o tumor de cuello o un tumor en la boca; un tumor de pulmón, por ejemplo, una célula pequeña o tumor de pulmón de células no pequeñas; un tumor gastrointestinal, por ejemplo, un tumor colorectal; o un tumor genitourinario, por ejemplo, un tumor de próstata (especialmente un tumor de próstata refractario a las hormonas); o (ii) una enfermedad proliferativa que es refractaria al tratamiento con otros quimioterapéuticos; o (iii) un tumor que es refractario al tratamiento con otros quimioterapéuticos debido a la resistencia a múltiples fármacos.

Los compuestos también pueden ser útiles para el tratamiento de tumores del sistema sanguíneo y linfático (por ejemplo, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de Burkitt, linfoma relacionado con el SIDA, enfermedades inmunoproliferativas malignas, mieloma múltiple y neoplasias de células plasmáticas malignas, leucemia linfoide aguda o leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica aguda o crónica, leucemia monocítica, otras leucemias de tipo celular específico, leucemia de tipo celular no especificado, otras y neoplasias malignas no especificadas del tejido linfático, hematopoyético y tejidos relacionados, por ejemplo, linfoma difuso de células grandes, o linfoma de células T, linfoma cutáneo de células T). El cáncer mieloide incluye, por ejemplo, leucemia mieloide aguda o crónica.

Donde se menciona un tumor, una enfermedad tumoral, un carcinoma o un cáncer, también se implica la metástasis en el órgano o tejido original y/o en cualquier otra localización, alternativa o adicionalmente, cualquiera que sea la localización del tumor y/o metástasis.

Preferiblemente, los compuestos de la presente invención son en particular útiles en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad o un trastorno mediado por linfocitos T, tales como rechazo agudo o crónico de alo o xenoinjertos de órganos o tejidos, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedad de huésped contra injerto, esclerosis múltiple, psoriasis, o artritis reumatoide.

La mala biodisponibilidad de los productos farmacéuticos es muy a menudo un factor limitante para los ingredientes farmacéuticamente eficaces. Además, la biodisponibilidad puede ser dependiente de la especie. Por ejemplo, un fármaco se absorbe bien en ratones, rata o perros o similares puede no traducirse en una biodisponibilidad adecuada en los hombres. La presente invención proporciona un compuesto profármaco de fórmula (I) produciendo una biodisponibilidad favorable para su compuesto(s) original(es), en particular en los hombres. Por ejemplo, como se muestra en la sección experimental (Sección B, in vivo), el compuesto del ejemplo, 1 se convierte, por ejemplo, en un compuesto del ejemplo 3, que se puede detectar en la sangre como el componente principal, poco después de la administración (por ejemplo, después de alrededor de una hora), y por lo tanto demuestra la conversión eficaz y favorable en un compuesto original.

Para los usos anteriores la dosis requerida variará por supuesto dependiendo del modo de administración, la condición particular que se va a tratar y el efecto deseado. En general, los resultados satisfactorios se indican que se obtienen sistémicamente en dosificaciones diarias de aproximadamente 0.02 a 25 mg/kg por peso corporal. Una dosis diaria indicada en el mamífero más grande, por ejemplo, los seres humanos, pueden ser por lo general en el intervalo de aproximadamente 0.2 mg a aproximadamente 2 g, administrados convenientemente, por ejemplo, en dosis divididas hasta cuatro veces al día o en forma retardada. Las formas de dosificación unitaria apropiadas para la administración oral pueden comprender por lo general desde aprox. 0.1 a 500 mg de ingrediente activo.

Los compuestos de la invención se pueden administrar por cualquier ruta convencional, en particular parenteralmente, por ejemplo, en forma de soluciones o suspensiones inyectables, por vía enteral, por ejemplo, por vía oral, por ejemplo, en forma de comprimidos o cápsulas, tópicamente, por ejemplo, en forma de lociones, geles, ungüentos o cremas, o en una forma nasal o de supositorio. La administración tópica puede ser, por ejemplo, a la piel. Una forma adicional de administración tópica puede ser en el ojo. Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención en asociación con al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable se puede fabricar de manera convencional mezclando con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los compuestos de la invención se pueden administrar en forma libre o en forma de sal o en forma de hidrato farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, como se indicó anteriormente. Tales sales o hidratos se pueden preparar de manera convencional y por lo general pueden exhibir el mismo orden de actividad que los compuestos libres.

De acuerdo con lo anterior, la presente invención también proporciona:

(1) Un compuesto de la invención o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como un producto farmacéutico;

(2) Un compuesto de la invención o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como un inhibidor de PKC, por ejemplo, para su uso en cualquiera de las indicaciones particulares expuestas en este documento anteriormente;

(3) Una composición farmacéutica, por ejemplo, para su uso en cualquiera de las indicaciones en este documento antes establecidos, que comprende un compuesto de la invención o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con uno o más diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables para los mismos;

(4) El uso de un compuesto de la invención o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad o condición en la cual la activación de PKC juega un papel o está implicado; por ejemplo, Como se indicó anteriormente.

Combinaciones

Los compuestos de la invención se pueden administrar como el único ingrediente activo o en combinación con, por ejemplo, como un adyuvante para, otros fármacos, por ejemplo, en regímenes inmunosupresores o inmunomoduladores u otros regímenes de agentes anti-inflamatorios, por ejemplo, para el tratamiento o la prevención de rechazo agudo o crónico de alo- o xenoinjertos o trastornos inflamatorios o autoinmunes, un agente quimioterapéutico o un agente anti-infeccioso, por ejemplo, un agente anti-viral tal como por ejemplo, un agente anti-retroviral o un antibiótico.

Por ejemplo, los compuestos de la invención se pueden usar en combinación con un inhibidor de calcineurina, por ejemplo, ciclosporina A, ISA247 o FK 506; un inhibidor de mTOR, por ejemplo, rapamicina, 40-O- (2-hidroxietil) - rapamicina, CCI779, ABT578, TAFA-93, AP23573, AP23464, AP23841, biolimus-7 o biolimus-9; una ascomicina que tiene propiedades inmunosupresoras, por ejemplo, ABT-281, ASM981, etc.; corticosteroides; ciclofosfamida; azatiopreno; metotrexato; leflunomida; mizoribina; ácido micofenólico o sal; mofetil micofenolato; 15-desoxiespergualina o un homólogo inmunosupresor, análogo o derivado del mismo; un inhibidor de PKC, por ejemplo, como se revela en WO 02/38561 o WO 03/82859, por ejemplo, el compuesto del Ejemplo 56 o 70; un agonista o modulador del receptor S1 P, por ejemplo, FTY720 opcionalmente fosforilado o un análogo del mismo, por ejemplo, 2-amino-2-[4-(3-benciloxifeniltio)-2-clorofenil]etil-1,3-propanediol opcionalmente fosforilado o ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidina-3-carboxílico o sus sales farmacéuticamente aceptables; anticuerpos monoclonales inmunosupresores, por ejemplo, anticuerpos monoclonales para receptores de leucocitos, por ejemplo, MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD28, CD40, CD45, CD52, CD58, CD80, CD86 o sus ligandos; otros compuestos inmunomoduladores, por ejemplo, una molécula de unión recombinante que tiene al menos una porción del dominio extracelular de CTLA4 o un mutante del mismo, por ejemplo, al menos una porción extracelular de CTLA4 o un mutante del mismo unido a una secuencia de proteína no CTLA4, por ejemplo, CTLA4Ig (por ejemplo. Designado ATCC 68629) o un mutante del mismo, por ejemplo, LEA29Y; inhibidores de moléculas de adhesión, por ejemplo, antagonistas de LFA-1, antagonistas de ICAM-1 o -3, antagonistas de VCAM-4 o antagonistas de VLA-4, por ejemplo, natalizumab (ANTEGREN®); o anticuerpos antiquimiocina o anticuerpos del receptor de antiquimiocina, o antagonistas de los receptores de quimiocinas de peso molecular bajo, por ejemplo, anticuerpos anti MCP-1.

Un compuesto de la invención también se puede usar en combinación con otros agentes antiproliferativos. Tales agentes antiproliferativos incluyen, pero no se limitan a:

(i) inhibidores de la aromatasa, por ejemplo, ésteroides, especialmente exemestano y formestano y, en particular, no-ésteroides, especialmente aminoglutetimida, vorozol, fadrozol, anastrozol y, muy especialmente, letrozol;

(ii) antiestrógenos, por ejemplo, tamoxifeno, fulvestrant, raloxifeno y clorhidrato de raloxifeno;

(iii) inhibidores de la topoisomerasa I, por ejemplo, topotecan, irinotecan, 9-nitrocamptotecina y el conjugado camptotecina macromolecular PNU-166148 (compuesto A1 en WO99/17804);

(iv) inhibidores de la topoisomerasa II, por ejemplo, las antraciclinas doxorubicina (incluyendo formulación liposómica, por ejemplo, CAELYX ™), epirubicina, idarubicina y nemorubicina, las antraquinonas mitoxantrona y losoxantrona, y las podofilotoxinas etopósido y tenipósido;

(v) agentes activos microtúbulos, por ejemplo, los taxanos paclitaxel y docetaxel, los alcaloides de la vinca, por ejemplo, vinblastina, especialmente sulfato de vinblastina, vincristina especialmente sulfato de vincristina, y vinorelbina, discodermolida y epotilonas, tales como epotilona B y D;

(vi) agentes alquilantes, por ejemplo, ciclofosfamida, ifosfamida y melfalán;

(vii) inhibidores de la histona desacetilasa;

(viii) inhibidores de la farnesil transferasa;

(ix) inhibidores de COX-2, por ejemplo, celecoxib (Celebrex), rofecoxib (Vioxx ®) y lumiracoxib (COX189);

(x) inhibidores de MMP;

(xi) inhibidores de mTOR;

(xii) antimetabolitos antineoplásicos, por ejemplo, 5-fluorouracilo, tegafur, capecitabina, cladribina, citarabina, fludarabina fosfato, fluorouridina, gemcitabina, 6-mercaptopurina, hidroxiurea, metotrexato, edatrexato y sales de tales compuestos, y además ZD 1694 (RALTITREXED ™), LY231514 (ALIMTA ™), LY264618 (LOMOTREXOL ™) y OGT719;

(xiii) compuestos de platino, por ejemplo, carboplatino, cisplatino y oxaliplatino;

(xiv) compuestos que reducen la actividad de la proteína quinasa y otros compuestos anti-angiogénicos, por ejemplo, (i) compuestos que disminuyen la actividad del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (b) el factor de crecimiento epidérmico (EGF), c-Src, proteína quinasa C, factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), tirosina quinasa Bcr-Abl, c-kit, receptor I del factor de crecimiento similar a la insulina y Flt-3 (IGF-IR) y quinasas dependientes de ciclinas (CDK); (ii) imatinib, midostaurina, Iressa™ (ZD1839), CGP 75166, vatalanib, ZD6474, GW2016, CHIR-200131, CEP-7055/CEP-5214, CP-547632 y KRN-633; (iii) talidomida (THALOMID), celecoxib (Celebrex), SU5416 y ZD6126;

(xv) agonistas de gonadorelina, por ejemplo, abarelix, goserelina y acetato de goserelina;

(xvi) anti-andrógenos, por ejemplo, bicalutamida (CASODEX™);

(xvii) bengamidas;

(xviii) bifosfonatos, por ejemplo, ácido etridónico, ácido clodrónico, ácido tiludrónico, ácido pamidrónico, ácido alendrónico, ácido ibandrónico, ácido risedrónico y ácido zoledrónico;

(xix) anticuerpos antiproliferativos, por ejemplo, trastuzumab (Herceptin ™), Trastuzumab-DM1, erlotinib (Tarceva ™), bevacizumab (Avastin ™), rituximab (Rituxan), PRO64553 (anti-CD40) y anticuerpo 2C4;

(xx) temozolomida (Temodal®);

(xxi) Estatinas.

La estructura de los agentes activos identificados por números de código, nombres genéricos o comerciales se pueden tomar de la edición actual del compendio estándar "The Merck Index" o de bases de datos, por ejemplo, Patentes internacionales (por ejemplo, IMS World Publications).

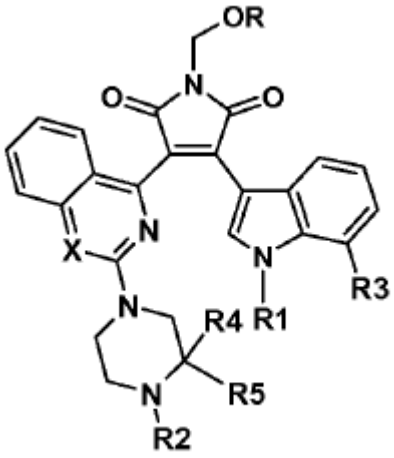
De acuerdo con lo anterior la presente invención proporciona, además:

(6) Un método como se definió anteriormente que comprende co-administración, por ejemplo, concomitantemente o en secuencia, de una cantidad terapéuticamente eficaz de a) un compuesto de fórmula I o una sal aceptable o hidrato del mismo, y b) una segunda sustancia farmacéutica farmacéuticamente, dicha segunda sustancia farmacéutica es, por ejemplo, para uso en cualquiera de las indicaciones particulares determinadas más arriba;

(7) Una combinación, por ejemplo, un kit, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, y una segunda sustancia farmacéutica, dicha segunda sustancia farmacéutica es, por ejemplo, como se revela anteriormente.

Cuando se administra un compuesto de la invención en conjunción con otra terapia inmunosupresora/inmunomoduladora, agente anti-inflamatorio o antineoplásico, por ejemplo, como se describió anteriormente, las dosis de la droga o el agente co-administrado por supuesto variarán dependiendo del tipo de co-fármaco o agente empleado, o el fármaco o agente específico usado, o la condición a tratar y así sucesivamente.

En otra realización, se proporciona un método de fabricación de un compuesto de fórmula (I),



(I)

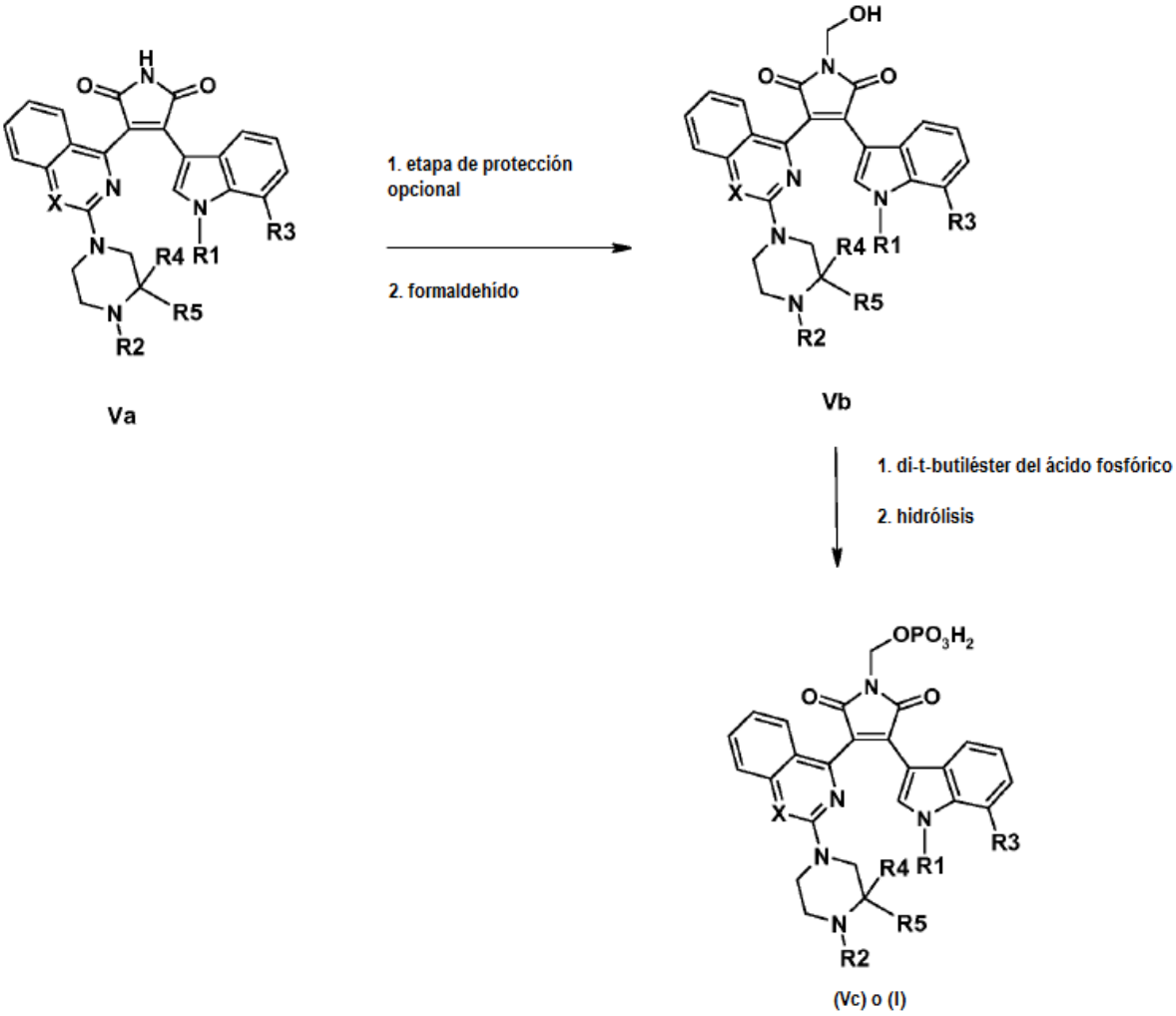
en donde X es CH o N; R es H o PO_3H_2; R1 es H o alquilo C_{1-4}; R2 es H o alquilo C_{1-4}; R3 es H, alquilo C_{1-4}, CN, Hal u OH; y R4 y R5 son independientemente uno del otro H o alquilo C_{1-4}; o R4 y R5 forman junto con el átomo de carbono al que están unidos, un grupo cicloalquilo de 3 - 6 miembros, que comprende:

(a) opcionalmente, para compuestos en donde R1 y/o R2 son hidrógeno, el tratamiento de la maleimida de fórmula (Va), por ejemplo, con dicarbonato de di-tert-butilo en presencia o ausencia de un solvente tal como THF o diclorometano y/o una base tal como trietilamina, produciendo de este modo la maleimida de fórmula (Va) que comprende grupos tert-butoxicarbonilo en lugar de los hidrógenos en R1 y/o R2 en su caso;

(b) tratar la maleimida opcionalmente protegido de fórmula (Va), por ejemplo, con formaldehído en la presencia o ausencia de un solvente y/o una base tal como carbonato de potasio, dando de ese modo un alcohol de fórmula (Vb),

en donde R = H;

(c) tratar opcionalmente el alcohol de fórmula (Vb), por ejemplo, con tricloroacetonitrilo por lo general en presencia de una base, por ejemplo, DBU o trimetilamina para formar un éster reactivo, seguido por el tratamiento con un agente de fosforilación, por ejemplo, con un éster de ácido fosfórico, por ejemplo, con el éster fosfórico ácido di-tert-butilo por lo general en presencia de una base, por ejemplo, DBU o trimetilamina, con lo cual el éster intermedio resultante se trata con un ácido apropiado, por ejemplo, ácido clorhídrico o TFA en ausencia de presencia de un solvente tal como THF, diclorometano, dicloroetano o similares para producir el producto final de acuerdo con la fórmula general (I), o como una etapa (c) alternativa alcohol de fórmula (Vb) se puede hacer reaccionar directamente con un éster de ácido fosfórico, por ejemplo, con di-tertbutil éster del ácido fosfórico, por ejemplo, bajo condiciones de reacción de Mitsunobu para dar el éster de ácido fosfórico, que después puede ser hidrolizado, por ejemplo, con ácido trifluoroacético, por ejemplo, en diclorometano para proporcionar el producto final de fórmula (I).


1. etapa de protección opcional
2. formaldehído
1. di-t-butiléster del ácido fosfórico
2. hidrólisis

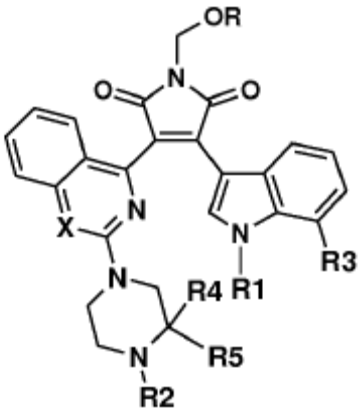
Va

Vb

(Vc) o (I)

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I) o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo,



(I)

en donde

X es CH o N;

R es H o PO_3H_2;

R_1 es H; o alquilo C_{1-4};

R_2 es H; o alquilo C_{1-4};

R_3 es H; alquilo C_{1-4}; CN; Hal; u OH; y

R4 y R5 son independientemente uno del otro H, o alquilo C_{1-4}; o R4 y R5 forman junto con el átomo de carbono al que están unidos, un grupo cicloalquilo de 3 - 6 miembros.

2. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde X es CH;

R es H;

R1 es H;

R2 es H; o alquilo C_{1-4};

R3 es H; o alquilo C_{1-4}; y

R4 y R5 son independientemente uno de otro H; o R4 y R5 forman junto con el átomo de carbono al que están unidos, un grupo cicloalquilo de 3 - 6 miembros.

3. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde X es N;

R es PO_3H_2;

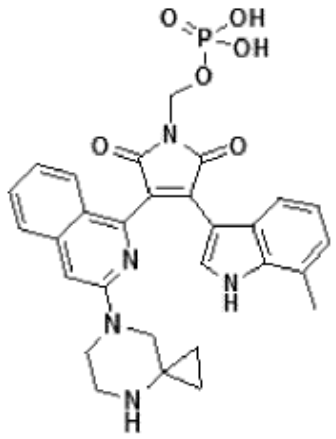
R1 es H;

R2 es H; o alquilo C_{1-4};

R3 es H; y

R4 y R5 son independientemente uno de otro H; o R4 y R5 forman junto con el átomo de carbono al que están unidos, un grupo cicloalquilo de 3 - 6 miembros.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es un compuesto de fórmula (III)



(III)

o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 4, que es mono-[3-[3-(4,7-diaza-spiro[2.5]oct-7-il)-isoquinolin-1-il]-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetil] éster del ácido fosfórico, mono-hidrato.

6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que es 3-[3-(4,7-diaza-spiro[2.5]oct-7-il)-isoquinolin-1-il]-1-hidroximetil-4-(7-metil-1H-indol-3-il)-pirrol-2,5-diona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3, que es mono-{3-(1H-indol-3-il)-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-quinazolin-4-il]-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetil} éster del ácido fosfórico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 7 o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para uso como un producto farmacéutico, en particular para uso en el tratamiento de trastornos o enfermedades donde PKC, o mediadores de otras quinasas, desempeñan un papel.

9. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde dicho tratamiento o la prevención se puede mediar por los linfocitos T, linfocitos B, mastocitos, eosinófilos o cardiomiocitos, y por lo tanto puede estar indicado en el rechazo agudo o crónico de alo o xenoinjertos de órganos o tejidos, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedad de huésped contra injerto, arteriosclerosis, infarto cerebral, oclusión vascular debido a lesión vascular tal como angioplastia, restenosis, fibrosis (especialmente pulmonar, pero también otros tipos de fibrosis, tales como fibrosis renal), angiogénesis, hipertensión, insuficiencia cardíaca, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad del CNS tal como enfermedad de Alzheimer o esclerosis lateral amiotrófica, cáncer, enfermedades infecciosas tales como SIDA, choque séptico o síndrome de dificultad respiratoria en adultos, lesión por isquemia/reperfusión por ejemplo, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, isquemia intestinal, insuficiencia renal o choque hemorrágico, o choque traumático.

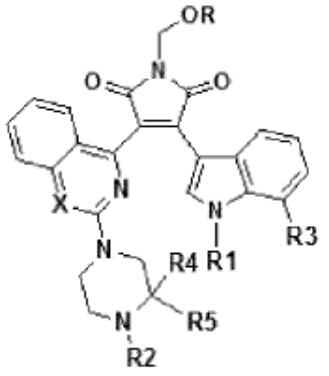
10. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde dicho tratamiento o prevención se dirige al rechazo agudo o crónico de alo o xenoinjertos de órganos o tejidos, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedad de huésped contra injerto, esclerosis múltiple, psoriasis, o artritis reumatoide.

11. Una combinación que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 7 o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, y una segunda sustancia farmacéutica.

12. Una forma cristalina de mono-[3-[3-(4,7-diaza-spiro[2.5]oct-7-il)-isoquinolin-1-il] -4-(7-metil-1H-indol-3-il)-2,5-dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-ilmetil] éster del ácido fosfórico de acuerdo con la reivindicación 4, en especial el mono-hidrato, que preferiblemente tiene un patrón de difracción en polvo de rayos X con al menos uno, preferiblemente dos, más

preferiblemente tres, incluso más preferiblemente cuatro, especialmente cinco, más preferiblemente todas de los siguientes picos a un ángulo de refracción 2 theta (θ) de 9.525, 16.356, 17.091, 18.005, 20.859, cada ± 0.2.

13. Un método de fabricación de un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1,



(I)

en donde X es CH o N;

R es H o PO_3H_2;

R1 es H; o alquilo C_{1-4};

R2 es H; o alquilo C_{1-4};

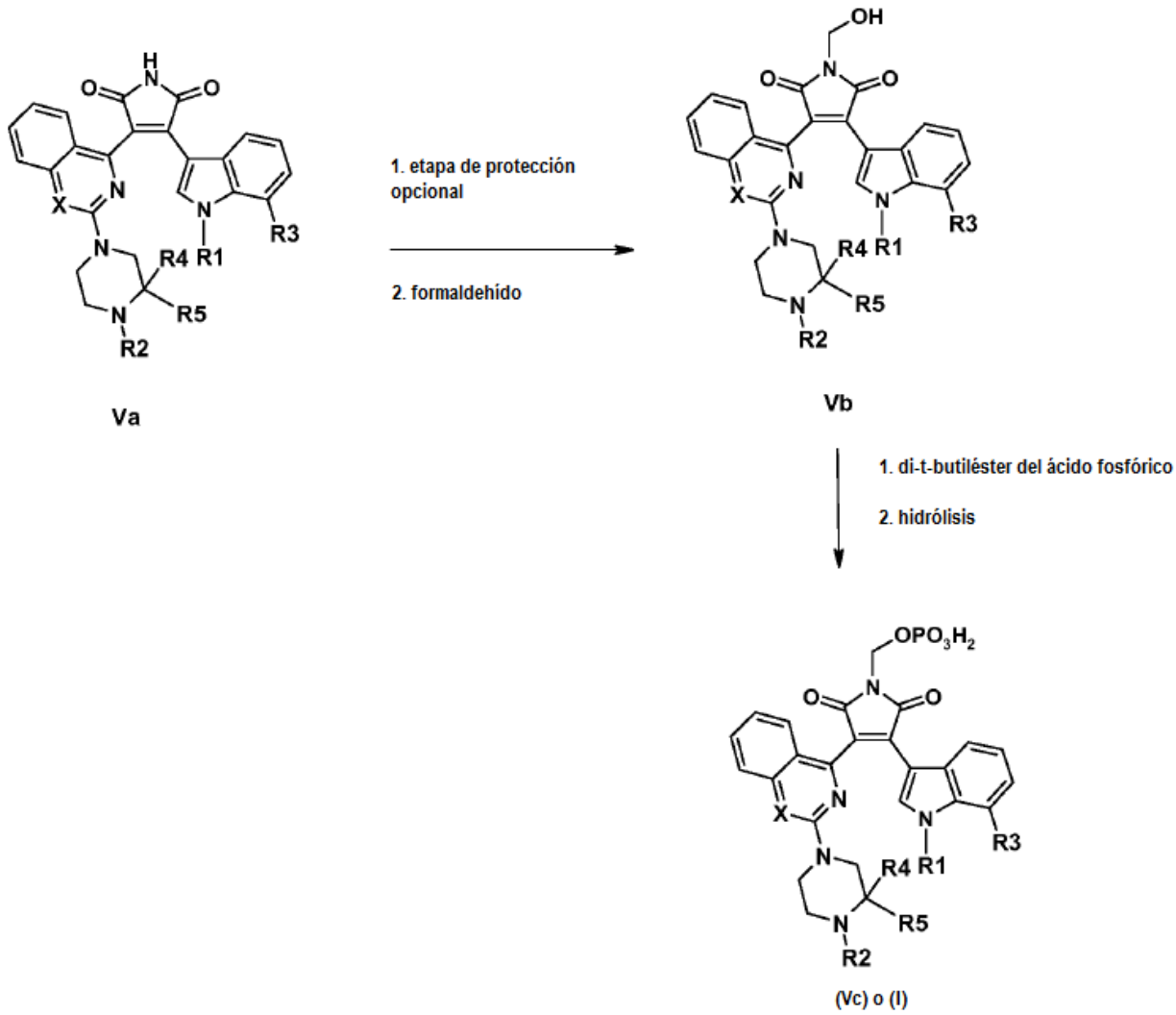
R3 es H; alquilo C_{1-4}; CN; Hal; u OH; y

R4 y R5 son independientemente uno del otro H o alquilo C_{1-4}; o R4 y R5 forman junto con el átomo de carbono al que están unidos, un grupo cicloalquilo de 3 - 6 miembros, que comprende:

(a) opcionalmente, para compuestos en donde R1 y/o R2 son hidrógeno, el tratamiento de la maleimida de fórmula (Va), por ejemplo, di-tert-butil dicarbonato en presencia o ausencia de un solvente tal como THF o diclorometano y/o una base tal como trietilamina, produciendo de este modo la maleimida de fórmula (Va) que comprende grupos tert-butoxicarbonilo en lugar de los hidrógenos en R1 y/o R2 cuando sea apropiado;

(b) tratamiento de la maleimida opcionalmente protegida de fórmula (Va), por ejemplo, con formaldehído en presencia o ausencia de un solvente y/o una base tal como carbonato de potasio, tal como produciendo de ese modo un alcohol de fórmula (Vb), en donde R = H;

(c) tratar opcionalmente el alcohol de fórmula (Vb), por ejemplo, con tricloroacetonitrilo por lo general en presencia de una base, por ejemplo, DBU o trimetilamina para formar un éster reactivo, seguido por el tratamiento con un agente de fosforilación, por ejemplo, con un éster de ácido fosfórico, por ejemplo, con el di-tert-butil éster del ácido fosfórico por lo general en presencia de una base, por ejemplo, DBU o trimetilamina, con lo cual el éster intermedio resultante se trata con un ácido apropiado, por ejemplo, ácido clorhídrico o TFA en ausencia de presencia de un solvente tal como THF, diclorometano, dicloroetano o similares para producir el producto final de acuerdo con la fórmula general (I), o como una etapa (c) alternativa alcohol de fórmula (Vb) se puede hacer reaccionar directamente con un éster de ácido fosfórico, por ejemplo, con di-tertbutiléster del ácido fosfórico, por ejemplo, bajo condiciones de reacción de Mitsunobu para proveer el éster del ácido fosfórico, que después puede ser hidrolizado, por ejemplo, con ácido trifluoroacético, por ejemplo, en diclorometano para proveer el producto final de fórmula (I).


1. etapa de protección opcional
2. formaldehído
1. di-t-butiléster del ácido fosfórico
2. hidrólisis

Va

Vb

(Vc) o (I)

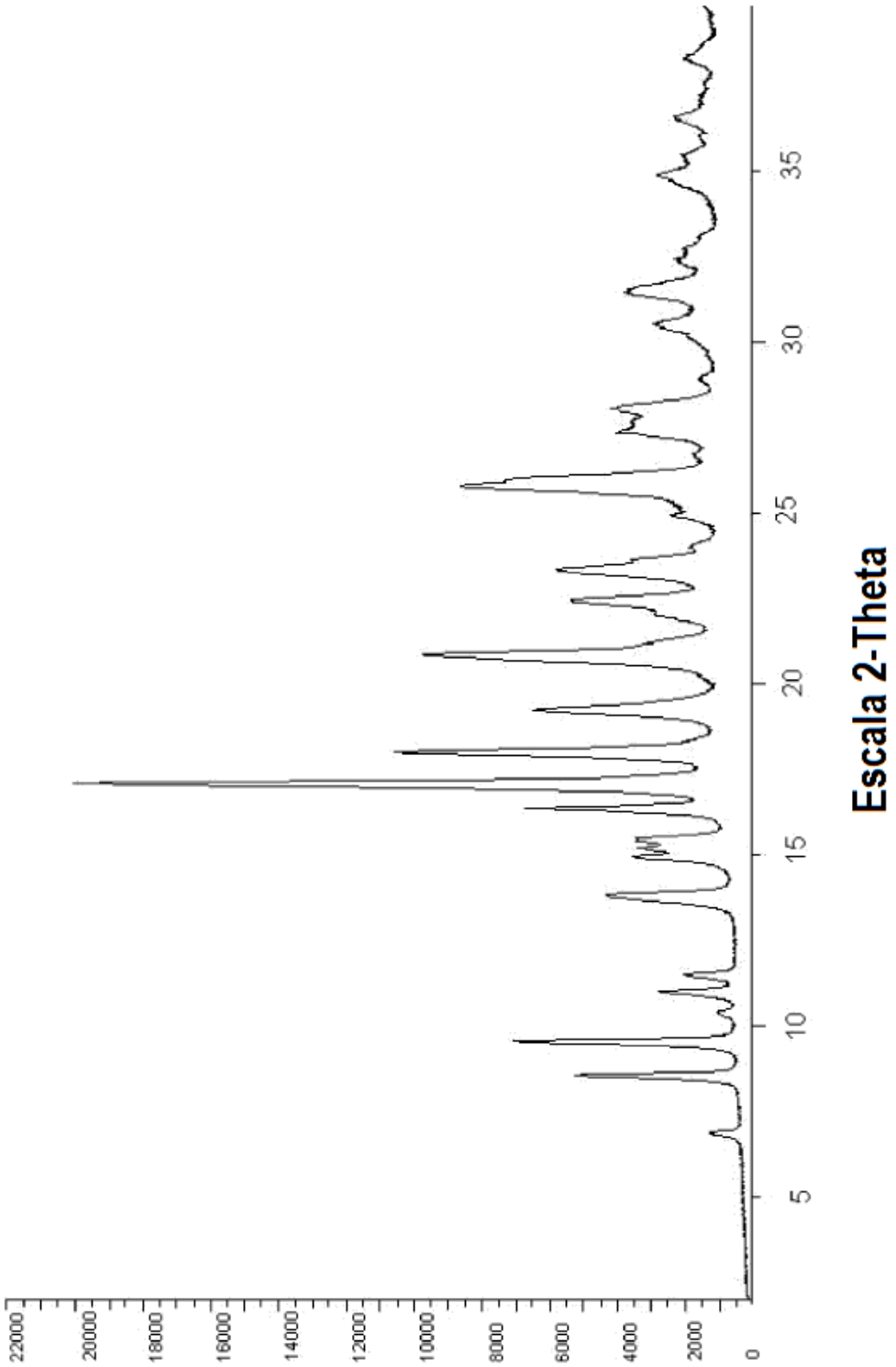

22000
20000
18000
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
5
10
15
20
25
30
35
Escala 2-Theta

Figura 1.

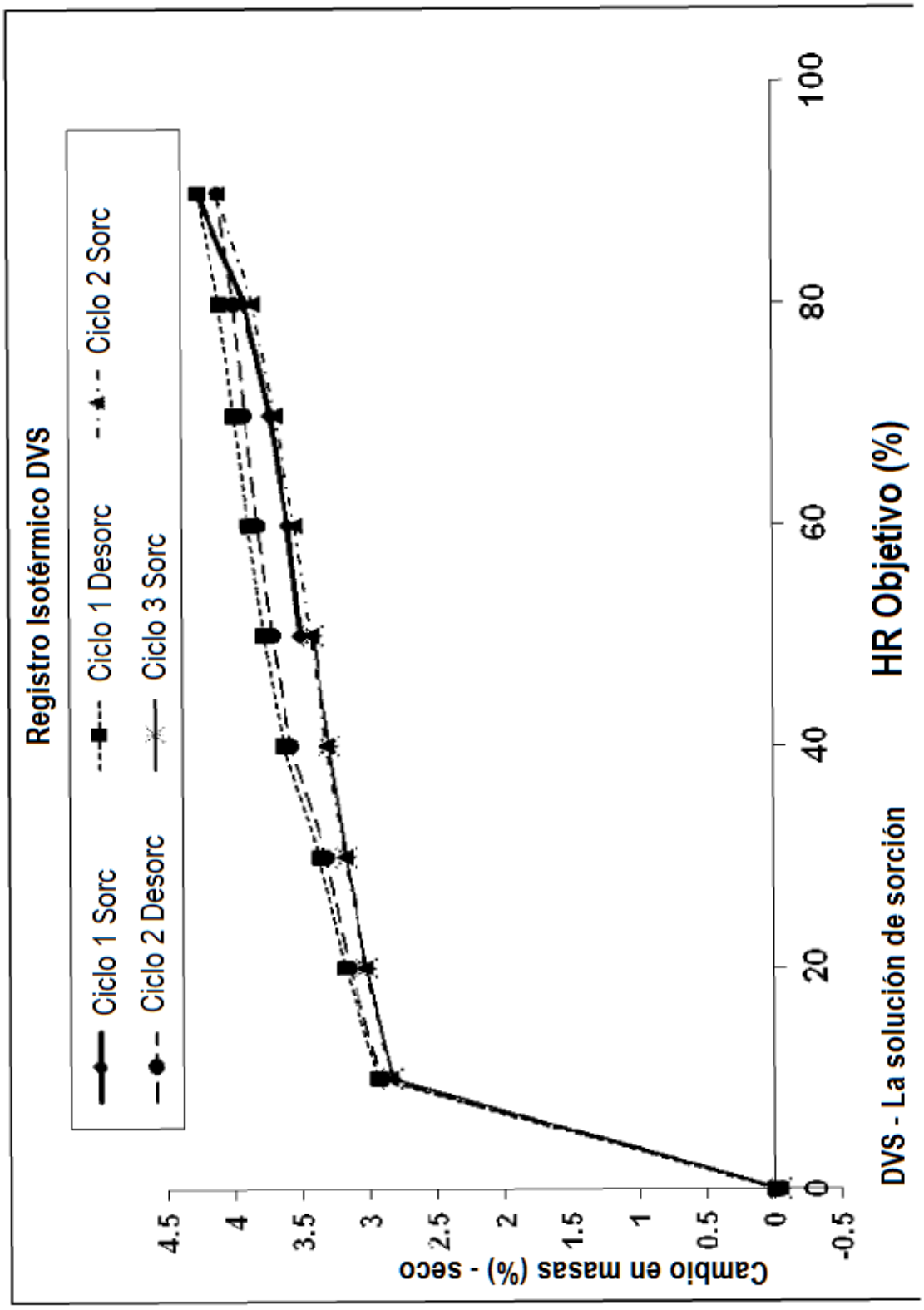

Registro Isotérmico DVS
Ciclo 1 Sorc
Ciclo 1 Desorc
Ciclo 2 Sorc
Ciclo 2 Desorc
Ciclo 3 Sorc
Cambio en masas (%) - seco
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
-0.5
0
20
40
60
80
100
DVS - La solución de sorción
HR Objetivo (%)

Figura 2