

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 580 108**

51 Int. Cl.:

C07D 217/02 (2006.01)

A61K 31/472 (2006.01)

A61P 27/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.07.2006** **E 06800045 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.05.2016** **EP 1910297**

54 Título: **Compuestos de isoquinolina**

30 Prioridad:

11.07.2005 US 698165 P

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

19.08.2016

73 Titular/es:

AERIE PHARMACEUTICALS, INC (100.0%)
7020 Kit Creek Road, Suite 270, P.O. Box 12320
Research Triangle Park, NC 27709, US

72 Inventor/es:

ECKHARDT, ALLEN E.;
OAKLEY, ROBERT H.;
SZNAIDMAN, MARCOS L.;
DELONG, MITCHELL A.;
YINGLING, JEFFREY D.;
HUDSON, CHRISTINE;
HEASLEY, BRIAN H.;
RAO, BYAPPANAHALLY N. NARASINGA;
PATEL, PARESMA R.;
MURRAY, CLAIRE LOUISE;
RICHARDSON, THOMAS E. y
PEEL, MICHAEL

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 580 108 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

Compuestos de isoquinolina

La presente invención se refiere a compuestos de isoquinolina que pueden afectar a la acción de cinasas receptoras acopladas a proteínas G en una célula y que son útiles como agentes terapéuticos o con agentes terapéuticos. En particular, estos compuestos son útiles en el tratamiento de enfermedades oculares o trastornos oculares tales como glaucoma.

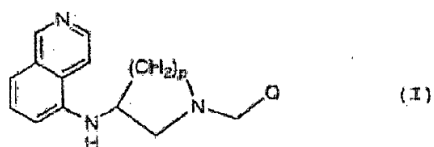
Una variedad de hormonas, neurotransmisores y otras sustancias biológicamente activas controlan, regulan o ajustan las funciones de cuerpos vivos por medio de receptores específicos ubicados en membranas celulares. Muchos de estos receptores median en la transmisión de señales intracelulares activando proteínas de unión a nucleótidos de guanina (proteínas G) a las que se acopla el receptor. Tales receptores se denominan genéricamente receptores acoplados a proteínas G (GPCR) e incluyen, entre otros, receptores α -adrenérgicos, receptores β -adrenérgicos, receptores de opioides, receptores de cannabinoides y receptores de prostaglandinas.

Los receptores acoplados a proteínas G desempeñan un papel importante en la regulación de diversas funciones fisiológicas. Por ejemplo, se han implicado los GPCR en varios estados patológicos incluyendo: indicaciones cardiacas tales como angina de pecho, hipertensión esencial, infarto de miocardio, arritmias supraventriculares y ventriculares, insuficiencia cardiaca congestiva, aterosclerosis, insuficiencia renal, diabetes, indicaciones respiratorias tales como asma, bronquitis crónica, broncoespasmo, enfisema, obstrucción de las vías respiratorias, indicaciones de las vías respiratorias altas tales como rinitis, alergias estacionales, enfermedad inflamatoria, inflamación en respuesta a lesión, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino crónica, glaucoma, hipergastrinemia, indicaciones gastrointestinales tales como trastorno ácido/péptico, esofagitis erosiva, hipersecreción gastrointestinal, mastocitosis, reflujo gastrointestinal, úlcera péptica, síndrome de Zollinger-Ellison, dolor, obesidad, bulimia nerviosa, depresión, trastorno obsesivo-compulsivo, malformaciones de órganos (por ejemplo, malformaciones cardiacas), enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Parkinson y enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, infección de Epstein-Barr y cáncer.

El equilibrio entre la iniciación y la desactivación de la señal intracelular, denominado desensibilización, regula la intensidad y duración de la respuesta de los receptores a estímulos tales como agonistas. La desensibilización de GPCR ocupados por agonistas resulta de su fosforilación por cinasas específicas denominadas cinasas receptoras acopladas a proteínas G (GRK) y la unión posterior de proteínas arrestinas a receptores fosforilados. Las arrestinas son una familia de proteínas intracelulares que se unen a GPCR activados, incluyendo aquellos que se han activado por agonistas, y especialmente aquellos que se han fosforilado por cinasas receptoras acopladas a proteínas G. La unión de las arrestinas impide la estimulación adicional de proteínas G y rutas de señalización posteriores. Cuando se produce desensibilización, se reduce o se impide la mediación o regulación de la función fisiológica mediada o regulada por las proteínas G a las que se acoplan los receptores. Por ejemplo, cuando se administran agonistas para tratar una enfermedad o un estado mediante la activación de determinados receptores, los receptores llegan a desensibilizarse a partir de la acción de las GRK de manera que la administración de agonistas puede no dar como resultado ya la activación terapéutica de los receptores apropiados. En ese punto, la administración del agonista ya no permite un control suficiente o eficaz de ni influir en la enfermedad o el estado que pretende tratarse.

El documento WO-A-2005020921 da a conocer compuestos para modular la actividad enzimática de proteína cinasas para modular actividades celulares tales como proliferación, diferenciación, muerte celular programada, migración y quimioinvasión. Incluso de manera más específica, la invención proporciona compuestos para modular la actividad de cinasa c-Kit y métodos de tratamiento de enfermedades mediadas por la actividad de e-Kit utilizando los compuestos y las composiciones farmacéuticas de los mismos.

El documento EP-A-1550660 da a conocer compuestos de la siguiente fórmula (I) que tienen actividad inhibidora de cinasa Rho.

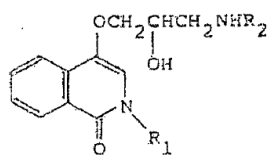


El documento WO-A-2005035503 da a conocer un derivado de isoquinolina que tiene actividad inhibidora de cinasa Rho.

El documento WO-A-0153274 da a conocer compuestos de amida que modulan y/o inhiben la actividad de determinadas proteína cinasas. Estos compuestos y composiciones farmacéuticas que los contienen pueden mediar en la transducción de señales de tirosina cinasas para modular y/o inhibir la proliferación celular no deseada.

El documento EP-A-0389995 da a conocer el uso de derivados de isoquinolina de la siguiente fórmula (I) para el

tratamiento de glaucoma o hipertensión ocular



(I).

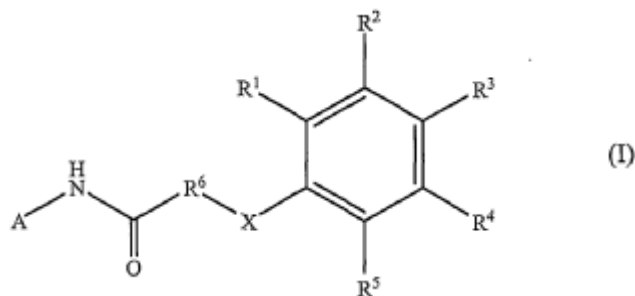
El documento EP-A-0232569 da a conocer 1-bencil-2-(N-sustituido)-carbamoil-tetrahidroisoquinolinas que tienen un efecto inhibidor sobre beta-adenilato ciclasa.

- 5 G. Shankar *et al.* dan a conocer que inhibidores específicos de proteína cinasas bloquean la migración de células de Langerhans inhibiendo la liberación de interleucina-1 alfa; *Immunology*, vol. 96, n.º 2, 1999, páginas 230-235.

R. B. Penn *et al.* dan a conocer la inhibición farmacológica de proteína cinasas en células intactas: el antagonismo de la unión a receptores beta-adrenérgicos por H-89 revela limitaciones en su utilidad; *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 288, n.º 2, 1999, páginas 428-437.

- 10 En vista del papel de las GRK en la desensibilización de los GPCR, existe la necesidad en la técnica de agentes que impidan o reduzcan la desensibilización de los GPCR controlando o inhibiendo la acción de las GRK correspondientes.

Se proporciona un compuesto según la fórmula (I):

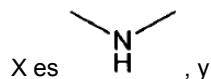


(I)

- 15 en la que A es un radical de isoquinolina sustituido o no sustituido, en la que el radical de isoquinolina puede estar mono o disustituido con halógeno, ciano, nitro o alquilo C₁-C₄;

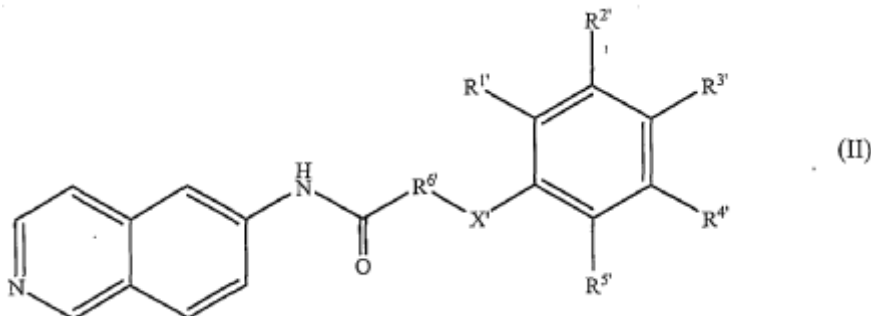
R¹, R², R³, R⁴, y R⁵ son, independientemente hidrógeno; halógeno; alquilo C₁-C₈; alcoxilo; fenoxilo, -OR⁷; amino; nitro; ciano; arilo; alquil C₁-C₄-arilo; heteroarilo; alquil C₁-C₄-heteroarilo; carbonilamino; tioalquilo; sulfonilo; sulfonilamino; acilo; o carboxilo;

- 20 R⁷ es alquilo C₁-C₄, arilo, heteroarilo, alquil C₁-C₄-arilo o alquil C₁-C₄-heteroarilo;



R⁶ es CH₂ o CH (alquilo C₁-C₄).

En otra realización de la invención, se proporciona un compuesto de isoquinolina según la fórmula (II):

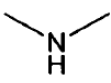


(II)

- 25 en la que R¹, R², R³, R⁴, y R⁵ son, independientemente, hidrógeno; halógeno; alquilo C₁-C₄ no sustituido; amino;

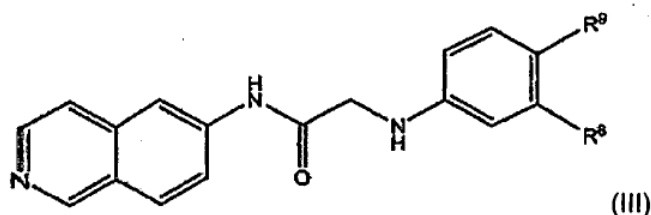
nitro; ciano; carbonilamino; alcoxilo; $-O-R^7$; sulfonilamino; carboxilo; acilo; o tioalquilo;

R^7 es alquilo C_1-C_4 , arilo, heteroarilo, alquil C_1-C_4 -arilo o alquil C_1-C_4 -heteroarilo;

X' es , y

R^{6a} es CH_2 o CH (alquilo C_1-C_4).

- 5 En otra realización de la invención, se proporciona un compuesto según la fórmula (III):



en la que R^8 y R^9 son, independientemente, hidrógeno; halógeno; alquilo C_1-C_4 no sustituido; alquilo C_1-C_4 sustituido; amino; nitro; ciano; carbonilamino; alcoxilo; fenoxilo; benciloxilo; $-O-R^{10}$; sulfonilamino; carboxilo; acilo o tioalquilo; y

- 10 R^{10} es alquilo C_1-C_4 no sustituido; alquilo C_1-C_4 sustituido; arilo sustituido; heteroarilo; heteroarilo sustituido; alcarilo C_1-C_4 o alc C_1-C_4 -heteroarilo;

en la que cuando está sustituido R^8 , R^9 o R^{10} , el sustituyente se selecciona de amino, ciano, halógeno, alcoxilo o hidroxilo; cuando R^8 , R^9 o R^{10} es arilo sustituido, el sustituyente se selecciona de amino, halógeno, ciano, halógeno o hidroxilo; cuando R^8 , R^9 o R^{10} es heteroarilo sustituido, el sustituyente se selecciona de halógeno, ciano, nitro o alquilo C_1-C_4 .

- 15 En otra realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica, comprendiendo dicha composición farmacéutica:

- a) un derivado de isoquinolina según la invención; y
- b) un portador.

- 20 En otra realización de la invención, se proporciona un derivado de isoquinolina según la invención para su uso en el tratamiento de un estado, en el que el estado se selecciona del grupo que consiste en enfermedad ocular, trastorno óseo (tal como osteoporosis), enfermedad cardíaca, enfermedad hepática, enfermedad renal, pancreatitis, cáncer, infarto de miocardio, molestias gástricas, hipertensión, control de la fecundidad, congestión nasal, trastorno neurogénico de la vejiga, trastorno gastrointestinal y trastorno dermatológico.

- 25 Se exponen realizaciones preferidas en las reivindicaciones dependientes.

La figura 1 es una representación gráfica del efecto de una preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK-2 del ejemplo 2 sobre la translocación de β -arrestina inducida por ISO en $\beta 2wt$ usando un ensayo de Transfluo[®].

La figura 2 es una representación gráfica del efecto de una preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK-2 del ejemplo 2 sobre la translocación de β -arrestina inducida por ISO en $\beta 1wt$ usando un ensayo de Transfluo[®].

- 30 La figura 3 es una representación gráfica del efecto de una preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK-2 del ejemplo 2 sobre la translocación de β -arrestina inducida por morfina del receptor de opioides μ usando un ensayo de Transfluo[®].

La figura 4 es una representación gráfica del efecto de una preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK-2 del ejemplo 3 sobre la translocación de β -arrestina inducida por ISO en $\beta 2wt$ usando un ensayo de Transfluo[®].

- 35 La figura 5 es una representación gráfica del efecto de una preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK-2 del ejemplo 3 sobre la translocación de β -arrestina inducida por ISO en $\beta 1wt$ usando un ensayo de Transfluo[®].

La figura 6 es una representación gráfica del efecto de una preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK-2 del ejemplo 3 sobre la translocación de β -arrestina inducida por morfina del receptor de opioides μ usando un ensayo de Transfluo[®].

- 40 La figura 7 es una representación gráfica del efecto de una preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK-2 del

ejemplo 4 sobre la translocación de β -arrestina inducida por ISO en $\beta 2wt$ usando un ensayo de Transfluor[®].

La figura 8 es una representación gráfica del efecto de una preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK-2 del ejemplo 4 sobre la translocación de β -arrestina inducida por ISO en $\beta 1wt$ usando un ensayo de Transfluor[®].

5 La figura 9 es una representación gráfica del efecto de una preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK-2 del ejemplo 4 sobre la translocación de β -arrestina inducida por morfina del receptor de opioides μ usando un ensayo de Transfluor[®].

10 “Alquilo” se refiere a un hidrocarburo alifático saturado que incluye grupos de cadena lineal y de cadena ramificada. “Alquilo” puede ejemplificarse mediante grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo y n-butilo. Los grupos alquilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Cuando está sustituido, el grupo sustituyente es preferiblemente amino, ciano, halógeno, alcoxilo o hidroxilo. “Alquilo C₁-C₄” se refiere a grupos alquilo que contienen de uno a cuatro átomos de carbono.

“Acilo” se refiere al grupo -C(O)R en el que R es alquilo C₁-C₄, arilo, heteroarilo, alquil C₁-C₄-arilo o alquil C₁-C₄-heteroarilo.

“Alcoxilo” se refiere al grupo -O-alquilo en el que el alquilo tiene la definición facilitada anteriormente.

15 “Carboxilo” se refiere al grupo -C(=O)O-alquilo C₁-C₄.

“Carbonilamino” se refiere al grupo -C(O)NR'R' en el que cada R' es, independientemente, hidrógeno, alquilo C₁-C₄, arilo, heteroarilo, alquil C₁-C₄-arilo o alquil C₁-C₄-heteroarilo.

20 “Arilo” se refiere a un grupo carbocíclico aromático. “Arilo” puede ejemplificarse mediante fenilo. El grupo arilo puede estar sustituido o no sustituido. Cuando está sustituido, el grupo sustituyente es preferiblemente amino, ciano, halógeno o hidroxilo.

“Alquil C₁-C₄-arilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₄ que tienen un sustituyente arilo de manera que el sustituyente arilo se une a través de un grupo alquilo. “Alquil C₁-C₄-arilo” puede ejemplificarse mediante bencilo.

“Alquil C₁-C₄-heteroarilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₄ que tienen un sustituyente heteroarilo de manera que el sustituyente heteroarilo se une a través del grupo alquilo.

25 “Halógeno” se refiere a átomos de flúor, cloro, bromo o yodo.

“Heteroarilo” se refiere a un radical carbocíclico aromático monocíclico mono o disustituido que tiene uno o más heteroátomos en el anillo carbocíclico, en el que los sustituyentes pueden ser halógeno, ciano, nitro o alquilo C₁-C₄.

“Tioalquilo” se refiere al grupo -S-alquilo.

30 “Sulfonilo” se refiere al grupo -S(O)₂R' en el que R' es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, arilo, heteroarilo, alquil C₁-C₄-arilo o alquil C₁-C₄-heteroarilo.

“Sulfonilamino” se refiere al grupo -S(O)₂NH-.

35 “Portador farmacéuticamente aceptable” significa un portador que es útil para la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente compatible con los otros constituyentes de la composición, no perjudicial para el receptor, y ni indeseable biológicamente ni de otra forma. “Un portador farmacéuticamente aceptable” incluye tanto uno como más de un portador. Las realizaciones incluyen portadores para administración tópica, ocular, parenteral, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, sublingual, nasal y oral. “Portador farmacéuticamente aceptable” también incluye agentes para la preparación de dispersiones acuosas y polvos estériles para inyección o dispersiones.

40 “Excipiente” tal como se usa en el presente documento incluye aditivos fisiológicamente compatibles útiles en la preparación de una composición farmacéutica. Pueden encontrarse ejemplos de portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables en Remington Pharmaceutical Science, 16^a ed.

45 “Cantidad terapéuticamente eficaz” tal como se usa en el presente documento se refiere a una dosificación de los compuestos o composiciones, eficaz para influir en, reducir, inhibir o impedir la desensibilización de un receptor, particularmente la desensibilización de GPCR. Este término tal como se usa en el presente documento también puede referirse a una cantidad eficaz para provocar un efecto *in vivo* deseado en un animal, preferiblemente, un ser humano, tal como reducción en la presión intraocular.

“Administrar” tal como se usa en el presente documento se refiere a la administración de los compuestos según sea necesario para lograr el efecto deseado.

“Enfermedad ocular” tal como se usa en el presente documento incluye glaucoma, alergia y ojo seco.

El término “enfermedad o estado asociado con actividad cinasa receptora de proteínas G” se usa para significar una

enfermedad o un estado que resulta, en su totalidad o en parte, del efecto sobre GPCR de una o más GRK.

El término "controlar la enfermedad o el estado" se usa para significar cambiar el efecto sobre GPCR de una o más GRK para afectar a la enfermedad o el estado.

5 "Desensibilización" o "desensibilización de GPCR" se refiere en general al proceso mediante el cual GPCR sensibilizados se convierten en GPCR desensibilizados.

"GPCR desensibilizado" significa un GPCR que actualmente no tiene capacidad para responder a un agonista y activar la señalización de proteínas G convencional.

"GPCR sensibilizado" significa un GPCR que actualmente tiene capacidad para responder a un agonista y activar la señalización de proteínas G convencional.

10 "Ruta de desensibilización de GPCR" significa cualquier componente celular del proceso de desensibilización de GPCR, así como cualquier estructura celular implicada en el proceso de desensibilización de GPCR y procesos posteriores, incluyendo arrestinas, GRK, GPCR, proteína AP-2, clatrina y proteína fosfatasas.

"Señalización de GPCR" significa activación inducida por GPCR de proteínas G. Esto puede dar como resultado, por ejemplo, la producción de AMPc.

15 "Cinasa receptora acoplada a proteínas G" (GRK) incluye cualquier cinasa que tiene la capacidad para fosforilar un GPCR.

"Actividad inhibidora de la desensibilización de GPCR" de una composición (por ejemplo, compuesto, disolución, etc.) significa que la composición puede inhibir la desensibilización de GPCR de al menos un GPCR específico.

20 El término "inhibir la actividad cinasa receptora de proteínas G" o "inhibir la acción de una GRK" significa reducir o disminuir la acción de la GRK.

El término "influir en la actividad GRK" o "influir en la acción de la GRK" significa cambiar o afectar la acción o actividad de una GRK en uno o más GPCR.

En una realización preferida de fórmula (I), A es un radical de isoquinolina no sustituido y R^1 , R^3 y R^5 son hidrógeno.

25 En otra realización preferida de fórmula (I), R^1 , R^3 y R^5 son hidrógeno y R^2 o R^4 es -O-R, tal como se definió anteriormente.

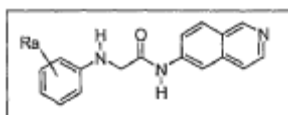
En algunas realizaciones preferidas, las isoquinolinas incluyen aquellos compuestos en los que R^1 , R^3 y R^5 son



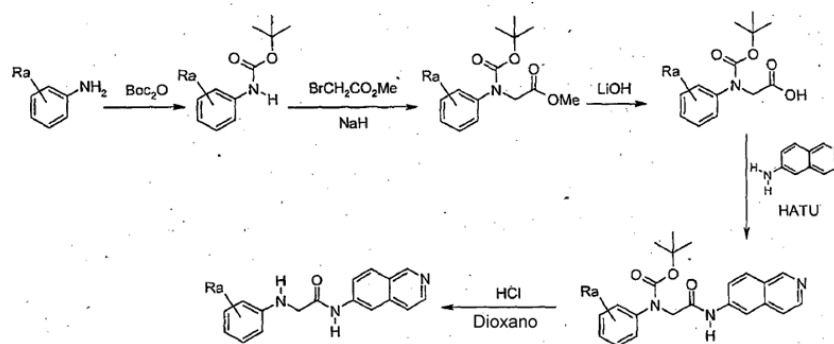
30 hidrógeno y X' es H . En realizaciones preferidas adicionales, uno de R^2 o R^4 también es hidrógeno. En algunas realizaciones preferidas o bien R^2 o bien R^4 es hidrógeno y el otro grupo R^2 o R^4 es -O-bencilo; ciano; -C(O)-NH-fenilo; hidrógeno; -O-fenilo; -S-alquilo C_1-C_4 , preferiblemente -S-CH₃; -alquilo C_1-C_4 , preferiblemente metilo; -C(O)-NH-m-piridina; -C(O)-NH₂; -SO₂-NH₂; -C(O)O-alquilo C_1-C_4 , preferiblemente -C(O)O-CH₃; -C(O)fenilo; -C(O)NH- C_1-C_4 alquilo, preferiblemente -C(O)NH-CH₃; halógeno, preferiblemente cloro o flúor; -C(O)-alquilo C_1-C_4 , preferiblemente -C(O)-CH₃; u -O-alquilo C_1-C_4 , preferiblemente O-CH₃ u O-propilo, preferiblemente isopropilo. En algunas realizaciones preferidas R^2 y R^4 son hidrógeno y R^3 se selecciona del grupo que comprende -O-bencilo; ciano; -C(O)-NH-fenilo; hidrógeno; -O-fenilo; -S-alquilo C_1-C_4 , preferiblemente -S-CH₃; -alquilo C_1-C_4 , preferiblemente metilo; -C(O)-NH-m-piridina; -C(O)-NH₂; -SO₂-NH₂; -C(O)O-alquilo C_1-C_4 , preferiblemente -C(O)O-CH₃; -C(O)-arilo; -C(O)NH-alquilo C_1-C_4 , preferiblemente -C(O)NH-CH₃; halógeno; -C(O)-alquilo C_1-C_4 , preferiblemente -C(O)-CH₃; u -O-alquilo C_1-C_4 , preferiblemente O-CH₃ u O-propilo, preferiblemente isopropilo.

Los compuestos de isoquinolina pueden sintetizarse mediante los esquemas generales expuestos a continuación:

Síntesis de isoquinolinas

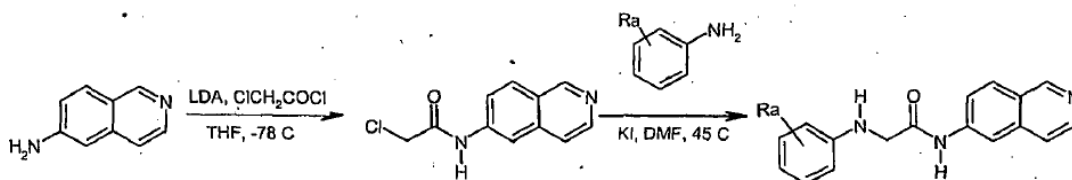


Esquema 1



Esquema 1: se trató la anilina sustituida correspondiente con un grupo protector adecuado tal como terc-butoxicarbonilo, seguido por la reacción con un electrófilo adecuado en un disolvente aprótico en presencia de una base apropiada tal como NaH. La saponificación del derivado de éster de glicina produce el ácido carboxílico apropiado, que puede acoplarse a la 6-aminoisoquinolina usando procedimientos de acoplamiento de amida convencionales para proporcionar la aminoisoquinolina sustituida. La eliminación del grupo protector siguiendo protocolos establecidos para tales transformaciones proporciona los derivados de isoquinolina finales.

Esquema 2



Esquema 2: alternativamente, pueden prepararse compuestos de la invención mediante el método descrito en el esquema 2. Puede acilarse una 6-aminoisoquinolina usando el agente de acilación apropiado en un disolvente aprótico con una base apropiada. El uso de LDA como base y cloruro de cloroacetilo proporciona un derivado de cloroacetamida. El tratamiento de este material con la anilina sustituida correspondiente en un disolvente apropiado y opcionalmente el calentamiento de la reacción proporcionan los derivados de isoquinolina finales.

El grupo R^a representa en general los sustituyentes expuestos en o bien la fórmula I o bien la fórmula II para los grupos R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 o $R^{1'}$, $R^{2'}$, $R^{3'}$, $R^{4'}$ y $R^{5'}$. Las abreviaturas usadas en los esquemas de síntesis mostrados tienen los siguientes significados: Boc_2O significa dicarbonato de di-terc-butilo, HATU significa hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, LDA significa diisopropilamido de litio, DMF es dimetilformamida y THF es tetrahidrofurano.

Los compuestos de isoquinolina de fórmula (I) o fórmula (II) y las composiciones que los incluyen tienen actividad inhibidora de la desensibilización de GPCR y pueden ser útiles en la influencia o la inhibición de la acción de cinasas receptoras de proteínas G, la influencia, la prevención o la inhibición de la desensibilización de receptores fosforilados por cinasas receptoras de proteínas G, la influencia o la inhibición de otros acontecimientos mediados por GRK y en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o estados controlados por receptores afectados por una o más de las cinasas receptoras de proteínas G. Pueden usarse las isoquinolinas para influir en o inhibir la acción de GRK o bien en una célula *in vitro* o bien en una célula en un cuerpo vivo *in vivo*. Específicamente, en una realización, se proporciona un método de inhibición de la acción de una cinasa receptora acoplada a proteínas G que comprende aplicar a un medio tal como un medio de ensayo o poner en contacto con una célula o bien en una célula *in vitro* o bien en una célula en un cuerpo vivo *in vivo* una cantidad inhibidora eficaz de un compuesto según la fórmula (I) o (II). En una realización preferida, la GRK inhibida es GRK-2, GRK-3, GRK-5 o GRK-6. En una realización preferida adicional, la GRK inhibida es GRK-2.

La presente memoria descriptiva da a conocer que se usan isoquinolinas según las fórmulas I o II en métodos de reducción de la desensibilización de GPCR en una célula que comprende administrar a, o poner en contacto con, la célula una cantidad terapéuticamente eficaz de una o más de las isoquinolinas. La una o más de las isoquinolinas se administran preferiblemente en una formulación farmacéuticamente aceptable, tal como en o con un portador farmacéuticamente aceptable cuando se administran las isoquinolinas a una célula o células en un cuerpo u organismo vivo. En otra realización, se usan las isoquinolinas según las fórmulas I o II en métodos para influir en la acción de una cinasa receptora acoplada a proteínas G en una célula que comprende administrar a, o poner en contacto con, la célula una cantidad eficaz de una o más isoquinolinas para influir en la acción de la GRK en la célula. La una o más de las isoquinolinas se administran preferiblemente en una formulación farmacéuticamente aceptable, tal como en o con un portador farmacéuticamente aceptable cuando se administran las isoquinolinas a

una célula o células en un cuerpo u organismo vivo.

El tratamiento o la prevención de enfermedades o estados para los que pueden ser útiles las isoquinolinas incluyen cualquiera de las enfermedades o los estados asociados con la actividad cinasa receptora de proteínas G o enfermedades o estados afectados por la desensibilización mediada por GRK de los GPCR. A modo de ejemplo, la exposición continua a estímulos endógenos puede provocar regulación por disminución y pérdida de respuesta de GPCR beneficiosos en determinadas enfermedades hereditarias así como la mayor parte de enfermedades crónicas. Los ejemplos de este tipo de comportamiento patológico incluyen la regulación por disminución y la pérdida de respuesta por receptores adrenérgicos tanto β -1 como β -2 en insuficiencia cardíaca congestiva. También se observa desensibilización mediante regulación por disminución de los receptores con la administración exógena de agonistas o fármacos tales como morfina para el dolor o salbutamol para el asma, por ejemplo, en la que la desensibilización de los receptores da como resultado un efecto adverso no deseado conocido como tolerancia a fármacos. Las isoquinolinas pueden usarse para influir en o reducir la desensibilización controlada por GRK para estados afectados por la acción o actividad de las GRK, dando como resultado un efecto terapéutico.

Las isoquinolinas en algunas realizaciones se administrarán junto con la administración de un agente terapéutico que está dirigido a influir en o controlar receptores acoplados a proteínas G específicos para el tratamiento o la prevención de un estado o una enfermedad afectados por esos receptores específicos. La combinación de la administración de las isoquinolinas con un agente terapéutico dirigido a GPCR proporcionará una reducción o prevención de la desensibilización de los receptores a los que se dirige el agente terapéutico, dando como resultado la mejora de la capacidad del agente terapéutico para tener el efecto deseado a lo largo de un periodo de tiempo más prolongado. Adicionalmente, la administración del agente terapéutico o agonista de receptor con una formulación de isoquinolina permitirá que se administren menores dosis del agente terapéutico durante un periodo de tiempo más prolongado.

Pueden administrarse uno o más agentes terapéuticos con uno o más compuestos de isoquinolina. Los agentes terapéuticos y/o los compuestos de isoquinolina se administran preferiblemente en una formulación farmacéuticamente aceptable con un portador farmacéuticamente aceptable cuando se administran las isoquinolinas a una célula o células en un cuerpo u organismo vivo.

Pueden obtenerse composiciones que incluyen las isoquinolinas de las fórmulas I o II en forma de diversas sales o solvatos. Como sales, se usan sales fisiológicamente aceptable o sales disponibles como materias primas.

Pueden formularse composiciones farmacéuticas para su uso según la presente invención de manera convencional usando uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables. Por tanto, los compuestos y sus solvatos y sales farmacéuticamente aceptables pueden formularse para la administración mediante, por ejemplo, colirio, en una formulación basada en aceite tópica, inyección, inhalación (o bien a través de la boca o bien por la nariz), administración oral, bucal, parenteral o rectal. Pueden encontrarse generalmente técnicas y formulaciones en "Remington's Pharmaceutical Sciences", (Meade Publishing Co., Easton, Pa.). Las composiciones terapéuticas deben ser normalmente estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento.

Las composiciones de la presente invención pueden comprender una cantidad segura y eficaz de los compuestos objeto, y un portador farmacéuticamente aceptable. Tal como se usa en el presente documento, "cantidad segura y eficaz" significa una cantidad de un compuesto suficiente para inducir significativamente una modificación positiva en el estado que va a tratarse, pero suficientemente baja como para evitar efectos secundarios graves (a una razón riesgo/beneficio razonable), dentro del alcance del criterio médico fundado. Una cantidad segura y eficaz de un compuesto variará con el estado particular que esté tratándose, la edad y el estado físico del paciente que esté tratándose, la gravedad del estado, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia concurrente, el portador farmacéuticamente aceptable particular utilizado y factores similares dentro del conocimiento y la experiencia del médico responsable.

La vía por la que se administrarán los compuestos de la presente invención (componente A) y la forma de la composición dictarán el tipo de portador (componente B) que va a usarse. La composición puede estar en una variedad de formas, adecuadas, por ejemplo, para la administración sistémica (por ejemplo, oral, rectal, nasal, sublingual, bucal, implantes o parenteral) o administración tópica (por ejemplo, aplicación local sobre la piel, ocular, sistemas de suministro de liposomas o iontoforesis).

Los portadores para la administración sistémica comprenden normalmente al menos uno de a) diluyentes, b) lubricantes, c) aglutinantes, d) disgregantes, e) colorantes, f) aromas, g) edulcorantes, h) antioxidantes, j) conservantes, k) deslizantes, m) disolventes, n) agentes de suspensión, o) agentes humectantes, p) tensioactivos, combinaciones de los mismos, y otros. Todos los portadores son opcionales en las composiciones sistémicas.

El constituyente a) es un diluyente. Los diluyentes adecuados para formas de dosificación sólidas incluyen azúcares tales como glucosa, lactosa, dextrosa y sacarosa; dioles tales como propilenglicol; carbonato de calcio; carbonato de sodio; alcoholes de azúcar, tales como glicerina; manitol y sorbitol. La cantidad del constituyente a) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 50 a aproximadamente el 90%.

El constituyente b) es un lubricante. Los lubricantes adecuados para formas de dosificación sólidas se ejemplifican

mediante lubricantes sólidos incluyendo sílice, talco, ácido esteárico y sus sales de magnesio y calcio, sulfato de calcio; y lubricantes líquidos tales como polietilenglicol y aceites vegetales tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de teobroma. La cantidad del constituyente b) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 10%.

5 El constituyente c) es un aglutinante. Los aglutinantes adecuados para formas de dosificación sólidas incluyen polivinilpirrolidona; silicato de aluminio y magnesio; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; gelatina; goma tragacanto; y celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa, metilcelulosa, celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa sódica. La cantidad del constituyente c) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 50%.

10 El constituyente d) es un disgregante. Los disgregantes adecuados para formas de dosificación sólidas incluyen agar, ácido algínico y la sal de sodio del mismo, mezclas efervescentes, croscarmelosa, crospovidona, carboximetilalmidón sódico, glicolato sódico de almidón, arcillas y resinas de intercambio iónico. La cantidad del constituyente d) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 10%.

15 El constituyente e) para formas de dosificación sólidas es un colorante tal como una materia colorante FD&C. La cantidad del constituyente e) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 0,005 a aproximadamente el 0,1%.

El constituyente f) para formas de dosificación sólidas es un aroma tal como mentol, menta piperita y aromas frutales. La cantidad del constituyente f) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 1,0%.

20 El constituyente g) para formas de dosificación sólidas es un edulcorante tal como aspartamo y sacarina. La cantidad del constituyente g) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 0,001 a aproximadamente el 1%.

El constituyente h) es un antioxidante tal como hidroxianisól butilado ("BHA"), hidroxitolueno butilado ("BHT") y vitamina E. La cantidad del constituyente h) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 5%.

El constituyente j) es un conservante tal como cloruro de benzalconio, metilparabeno y benzoato de sodio. La cantidad del constituyente j) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 5%.

30 El constituyente k) para formas de dosificación sólidas es un deslizante tal como dióxido de silicio. La cantidad del constituyente k) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 5%.

El constituyente m) es un disolvente, tal como agua, solución salina isotónica, oleato de etilo, alcoholes tales como etanol y disoluciones de tampón fosfato. La cantidad del constituyente m) en la composición sistémica es normalmente de desde aproximadamente el 0 hasta aproximadamente el 100%.

35 El constituyente n) es un agente de suspensión. Los agentes de suspensión adecuados incluyen AVICEL® RC-591 (de FMC Corporation de Filadelfia, PA) y alginato de sodio. La cantidad del constituyente n) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 8%.

El constituyente o) es un tensioactivo tal como lecitina, Polysorbate 80 y laurilsulfato de sodio, y los TWEEN® de Atlas Powder Company de Wilmington, Delaware. Los tensioactivos adecuados incluyen los dados a conocer en el C.T.F.A. Cosmetic Ingredient Handbook, 1992, págs. 587-592; Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª Ed. 1975, págs. 335-337; y McCutcheon's Volume 1, Emulsifiers & Detergents, 1994, Edición para Norteamérica, págs. 236-239. La cantidad del constituyente o) en la composición sistémica es normalmente de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 2%.

45 Aunque las cantidades de componentes A y B en las composiciones sistémicas variarán dependiendo del tipo de composición sistémica preparada, el derivado específico seleccionado para el componente A y los constituyentes del componente B, en general, las composiciones del sistema comprenden del 0,01% al 50% de componente A y del 50 al 99,99% de componente B.

Las composiciones para la administración parenteral comprenden normalmente A) del 0,01 al 10% de los compuestos de la presente invención y B) del 90 a aproximadamente el 99,9% de un portador que comprende a) un diluyente y m) un disolvente. En una realización, el constituyente a) comprende propilenglicol y m) comprende etanol u oleato de etilo.

50 Las composiciones para la administración oral pueden tener diversas formas de dosificación. Por ejemplo, las formas sólidas incluyen comprimidos, cápsulas, gránulos y polvos a granel. Estas formas de dosificación oral comprenden una cantidad segura y eficaz, habitualmente al menos aproximadamente el 5%, y más particularmente

desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 50% de componente A). Las composiciones de dosificación oral comprenden además de aproximadamente el 50% a aproximadamente el 95% de componente B), y más particularmente, de desde aproximadamente el 50% hasta aproximadamente el 75%.

- Los comprimidos pueden someterse a compresión, formarse triturados de comprimido, recubrirse con recubrimiento entérico, recubrirse con azúcar, recubrirse con película o someterse a compresión de forma múltiple. Los comprimidos comprenden normalmente componente A y componente B, un portador que comprende constituyentes seleccionados del grupo que consiste en a) diluyentes, b) lubricantes, c) aglutinantes, d) disgregantes, e) colorantes, f) aromas, g) edulcorantes, k) deslizantes y combinaciones de los mismos. Diluyentes específicos incluyen carbonato de calcio, carbonato de sodio, manitol, lactosa y celulosa. Aglutinantes específicos incluyen almidón, gelatina y sacarosa. Disgregantes específicos incluyen ácido algínico y croscarmelosa. Lubricantes específicos incluyen estearato de magnesio, ácido esteárico y talco. Colorantes específicos son las materias colorantes FD&C, que pueden añadirse para el aspecto. Los comprimidos masticables contienen preferiblemente g) edulcorantes tales como aspartamo y sacarina, o f) aromas tales como mentol, menta piperita, aromas frutales o una combinación de los mismos.
- Las cápsulas (incluyendo formulaciones de liberación programada y de liberación sostenida) comprenden normalmente componente A, y un portador que comprende uno o más a) diluyentes dados a conocer anteriormente en una cápsula que comprende gelatina. Los gránulos comprenden normalmente componente A, y preferiblemente comprenden además k) deslizantes tales como dióxido de silicio para mejorar las características de flujo.
- La selección de constituyentes en el portador para composiciones orales depende de consideraciones secundarias como el sabor, el coste y la estabilidad en almacenamiento, que no son críticas para los fines de esta invención. Un experto en la técnica sabría cómo seleccionar constituyentes apropiados sin demasiada experimentación.
- Las composiciones sólidas también pueden recubrirse mediante métodos convencionales, normalmente con recubrimientos dependientes del pH o el tiempo, de manera que el componente A se libera en el tracto gastrointestinal en las proximidades de la aplicación deseada, o en diversos puntos y tiempos para prolongar la acción deseada. Los recubrimientos comprenden normalmente uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en acetato-ftalato de celulosa, poli(acetato-ftalato de vinilo), ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, recubrimientos EUDRAGIT® (disponible de Rohm & Haas G.M.B.H. de Darmstadt, Alemania), ceras y goma laca.
- Las composiciones para la administración oral también pueden tener formas líquidas. Por ejemplo, las formas líquidas adecuadas incluyen disoluciones acuosas, emulsiones, suspensiones, disoluciones reconstituidas a partir de gránulos no efervescentes, suspensiones reconstituidas a partir de gránulos no efervescentes, preparaciones efervescentes reconstituidas a partir de gránulos efervescentes, elixires, tinturas y jarabes. Las composiciones líquidas administradas por vía oral comprenden normalmente componente A y componente B, concretamente, un portador que comprende constituyentes seleccionados del grupo que consiste en a) diluyentes, e) colorantes, f) aromas, g) edulcorantes, j) conservantes, m) disolventes, n) agentes de suspensión y o) tensioactivos. Las composiciones líquidas perorales comprenden preferiblemente uno o más constituyentes seleccionados del grupo que consiste en e) colorantes, f) aromas y g) edulcorantes.
- Otras composiciones útiles para lograr la administración sistémica de los compuestos objeto incluyen formas de dosificación sublingual, bucal y nasal. Tales composiciones comprenden normalmente uno o más de sustancias de carga solubles tales como a) diluyentes incluyendo sacarosa, sorbitol y manitol; y c) aglutinantes tales como goma arábiga, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa. Tales composiciones pueden comprender además b) lubricantes, e) colorantes, f) aromas, g) edulcorantes, h) antioxidantes y k) deslizantes.
- En una realización de la invención, los compuestos de la presente invención se administran tópicamente. Las composiciones tópicas que pueden aplicarse localmente a los ojos pueden estar en cualquier forma conocida en la técnica, cuyos ejemplos incluyen gotas gelificables, aerosoles, pomadas o una unidad de liberación sostenida o no sostenida colocada en el fondo del saco conjuntival del ojo.
- Las composiciones tópicas que pueden aplicarse localmente a la piel pueden estar en cualquier forma incluyendo disoluciones, aceites, cremas, pomadas, geles, lociones, champús, acondicionadores sin aclarado (*leave-on*) y con aclarado (*rinse-out*), leches, limpiadores, hidratantes, aerosoles y parches cutáneos. Las composiciones tópicas comprenden: componente A, los compuestos descritos anteriormente, y componente B, un portador. El portador de la composición tópica ayuda preferiblemente en la penetración de los compuestos en el ojo. El componente B puede comprender además uno o más componentes opcionales.
- El intervalo de dosificación del compuesto para la administración sistémica es de desde aproximadamente 0,01 hasta 1000 µg/kg de peso corporal, preferiblemente desde aproximadamente 0,01 hasta 100 µg/kg de peso corporal, lo más preferiblemente desde aproximadamente 1 hasta 50 µg/kg de peso corporal al día. Las dosificaciones transdérmicas se diseñarán para obtener niveles en suero o plasma similares, basándose en técnicas conocidas por los expertos en la técnica de la farmacocinética y las formulaciones transdérmicas. Se espera que los niveles en plasma para la administración transdérmica estén en el intervalo de 0,01 a 100 nanogramos/ml, más preferiblemente

desde 0,05 hasta 50 ng/ml y lo más preferiblemente desde 0,01 hasta 10 ng/ml. Aunque estas dosificaciones se basan en la tasa de administración diaria, también pueden usarse dosificaciones acumuladas semanales o mensuales para calcular los requisitos clínicos.

5 Las dosificaciones pueden variar basándose en el paciente que esté tratándose, el estado que esté tratándose, la gravedad del estado que esté tratándose, la vía de administración, etc. para lograr el efecto deseado.

Los compuestos de la presente invención también son útiles en la disminución de la presión intraocular. Por tanto, estos compuestos son útiles en el tratamiento de glaucoma. La vía de administración preferida para tratar el glaucoma es tópicamente.

10 Las cantidades exactas de cada componente en la composición tópica dependen de varios factores. La cantidad de componente A añadido a la composición tópica depende de la CI_{50} del componente A, expresada normalmente en unidades nanomolares (nM). Por ejemplo, si la CI_{50} del medicamento es de 1 nM, la cantidad de componente A será de desde aproximadamente el 0,0001 hasta aproximadamente el 0,01%. Si la CI_{50} del medicamento es de 10 nM, la cantidad de componente A) será de desde aproximadamente el 0,001 hasta aproximadamente el 0,1 %. Si la CI_{50} del medicamento es de 100 nM, la cantidad de componente A será de desde aproximadamente el 0,01 hasta aproximadamente el 1,0%. Si la CI_{50} del medicamento es de 1000 nM, la cantidad de componente A será del 0,1 al 10%, preferiblemente del 0,5 al 5,0%. Si la cantidad de componente A está fuera de los intervalos especificados anteriormente (es decir, o bien mayor o bien menor), puede reducirse la eficacia del tratamiento. Puede calcularse la CI_{50} según el método en el ejemplo de referencia 1, más adelante. Un experto en la técnica sabrá cómo calcular una CI_{50} . El resto de la composición, hasta el 100%, es componente B.

20 La cantidad del portador empleado junto con el componente A es suficiente para proporcionar una cantidad práctica de composición para la administración por dosis unitaria del medicamento. Se describen técnicas y composiciones para preparar formas de dosificación útiles en los compuestos para su uso de esta invención en las siguientes referencias: Modern Pharmaceuticals, Capítulos 9 y 10, Banker & Rhodes, eds. (1979); Lieberman *et al.*, Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets (1981); y Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 2ª Ed., (1976).

El componente B puede comprender un único constituyente o una combinación de dos o más constituyentes. En las composiciones tópicas, el componente B comprende un portador tópico. Los portadores tópicos adecuados comprenden uno o más constituyentes seleccionados del grupo que consiste en solución salina tamponada con fosfato, agua isotónica, agua desionizada, alcoholes monofuncionales, alcoholes simétricos, gel de Aloe vera, alantoína, glicerina, aceites con vitamina A y E, aceite mineral, propilenglicol, miristil-propionato de PPG-2, dimetil-isosorbida, aceite de ricino y combinaciones de los mismos. Más particularmente, los portadores para aplicaciones cutáneas incluyen propilenglicol, dimetil-isosorbida y agua, e incluso más particularmente, solución salina tamponada con fosfato, agua isotónica, agua desionizada, alcoholes monofuncionales y alcoholes simétricos.

30 El portador de la composición tópica puede comprender además uno o más constituyentes seleccionados del grupo que consiste en q) emolientes, r) propelentes, s) disolventes, t) humectantes, u) espesantes, v) polvos, w) fragancias, x) pigmentos e y) conservantes.

El constituyente q) es un emoliente. La cantidad de constituyente q) en una composición tópica basada para la piel es normalmente de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 95%. Los emolientes adecuados incluyen alcohol estearílico, monorricinoleato de glicerilo, monoestearato de glicerilo, propano-1,2-diol, butano-1,3-diol, aceite de visón, alcohol cetílico, isoestearato de isopropilo, ácido esteárico, palmitato de isobutilo, estearato de isocetilo, alcohol oleílico, laurato de isopropilo, laurato de hexilo, oleato de decilo, octadecan-2-ol, alcohol isocetílico, palmitato de butilo, sebacato de di-n-butilo, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, estearato de isopropilo, estearato de butilo, polietilenglicol, trietilenglicol, lanolina, aceite de sésamo, aceite de coco, aceite de maní, aceite de ricino, alcoholes de lanolina acetilados, petróleo, aceite mineral, miristato de butilo, ácido isoesteárico, ácido palmítico, linoleato de isopropilo, lactato de laurilo, lactato de miristilo, oleato de decilo, miristato de miristilo y combinaciones de los mismos. Los emolientes específicos para la piel incluyen alcohol estearílico y polidimetilsiloxano.

El constituyente r) es un propelente. La cantidad del constituyente r) en la composición tópica es normalmente de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 95%. Los propelentes adecuados incluyen propano, butano, isobutano, dimetil éter, dióxido de carbono, óxido nitroso y combinaciones de los mismos.

50 El constituyente s) es un disolvente. La cantidad del constituyente s) en la composición tópica es normalmente de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 95%. Los disolventes adecuados incluyen agua, alcohol etílico, cloruro de metileno, isopropanol, aceite de ricino, monoetil éter de etilenglicol, monobutil éter de dietilenglicol, monoetil éter de dietilenglicol, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, tetrahidrofurano y combinaciones de los mismos. Disolventes específicos incluyen alcohol etílico y alcoholes homotópicos.

55 El constituyente t) es un humectante. La cantidad del constituyente t) en la composición tópica es normalmente del 0% al 95%. Los humectantes adecuados incluyen glicerina, sorbitol, 2-pirrolidona-5-carboxilato de sodio, colágeno soluble, ftalato de dibutilo, gelatina y combinaciones de los mismos. Humectantes específicos incluyen glicerina.

El constituyente u) es un espesante. La cantidad del constituyente u) en la composición tópica es normalmente de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 95%.

El constituyente v) es un polvo. La cantidad del constituyente v) en la composición tópica es normalmente del 0% al 95%. Los polvos adecuados incluyen beta-ciclodextrinas, hidroxipropilciclodextrinas, creta, talco, tierras de batán, caolín, almidón, gomas, dióxido de silicio coloidal, poliacrilato de sodio, esmectitas de tetraalquilamonio, esmectitas de triaalkilammonio, silicato de aluminio y magnesio modificado químicamente, arcilla de montmorillonita modificada orgánicamente, silicato de aluminio hidratado, sílice pirogénica, polímero de carboxivinilo, carboximetilcelulosa sódica, monoestearato de etilenglicol y combinaciones de los mismos. Para aplicaciones oculares, polvos específicos incluyen beta-ciclodextrina, hidroxipropilciclodextrina y poliacrilato de sodio. Para formulaciones oculares de dosificación en gel, puede usarse poliacrilato de sodio.

El constituyente w) es una fragancia. La cantidad del constituyente w) en la composición tópica es normalmente de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 0,5%, particularmente, de aproximadamente el 0,001% a aproximadamente el 0,1%. Para aplicaciones oculares, normalmente no se usa una fragancia.

El constituyente x) es un pigmento. Los pigmentos adecuados para aplicaciones cutáneas incluyen pigmentos inorgánicos, pigmentos de laca orgánicos, pigmentos nacarados y mezclas de los mismos. Los pigmentos inorgánicos útiles en esta invención incluyen los seleccionados del grupo que consiste en dióxido de titanio de tipo rutilo o anatasa, codificados en el Índice de Color con la referencia CI 77.891; óxidos de hierro negros, amarillos, rojos y marrones, codificados con las referencias CI 77.499, 77.492 y 77.491; violeta de manganeso (CI 77.742); azul ultramar (CI 77.007); óxido de cromo (CI 77.288); hidrato de cromo (CI 77.289); y azul férrico (CI 77.510) y mezclas de los mismos.

Las lacas y los pigmentos orgánicos útiles en esta invención incluyen los seleccionados del grupo que consiste en rojo D&C n.º 19 (CI 45.170), rojo D&C n.º 9 (CI 15.585), rojo D&C n.º 21 (CI 45.380), naranja D&C n.º 4 (CI 15.510), naranja D&C n.º 5 (CI 45.370), rojo D&C n.º 27 (CI 45.410), rojo D&C n.º 13 (CI 15.630), rojo D&C n.º 7 (CI 15.850), rojo D&C n.º 6 (CI 15.850), amarillo D&C n.º 5 (CI 19.140), rojo D&C n.º 36 (CI 12.085), naranja D&C n.º 10 (CI 45.425), amarillo D&C n.º 6 (CI 15.985), rojo D&C n.º 30 (CI 73.360), rojo D&C n.º 3 (CI 45.430), la materia colorante o las lacas basadas en carmín de cochinilla (CI 75.570) y mezclas de los mismos.

Los pigmentos nacarados útiles en esta invención incluyen los seleccionados del grupo que consiste en los pigmentos nacarados blancos tales como mica recubierta con óxido de titanio, oxiclورو de bismuto, pigmentos nacarados coloreados tales como mica de titanio con óxidos de hierro, mica de titanio con azul férrico y óxido de cromo, mica de titanio con un pigmento orgánico del tipo mencionado anteriormente así como los basados en oxiclورو de bismuto y mezclas de los mismos. La cantidad de pigmento en la composición tópica es normalmente de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 10%. Para aplicaciones oculares, generalmente no se usa un pigmento.

En una realización particularmente preferida de la invención, se preparan composiciones farmacéuticas tópicas para la administración ocular que comprenden normalmente componente A y B (un portador), tal como agua purificada, y uno o más constituyentes seleccionados del grupo que consiste en y) azúcares o alcoholes de azúcar tales como dextranos, particularmente manitol y dextrano 70, z) celulosa o un derivado de la misma, aa) una sal, bb) EDTA disódico (edetato de disodio) y cc) un aditivo de ajuste del pH.

Los ejemplos de z) derivados de celulosa adecuados para su uso en la composición farmacéutica tópica para la administración ocular incluyen carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa, metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa, particularmente, hidroxipropilmetilcelulosa.

Los ejemplos de aa) sales adecuadas para su uso en la composición farmacéutica tópica para la administración ocular incluyen fosfato de mono, di y trisodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio y combinaciones de los mismos.

Los ejemplos de cc) aditivos de ajuste del pH incluyen HCl o NaOH en cantidades suficientes para ajustar el pH de la composición farmacéutica tópica para la administración ocular a 6,8-7,5.

El componente A puede incluirse en kits que comprenden componente A, una composición sistémica o tópica descrita anteriormente, o ambos; e información, instrucciones, o ambos, proporcionando el uso del kit tratamiento para estados médicos y cosméticos en mamíferos (particularmente, seres humanos). La información y las instrucciones pueden estar en forma de palabras, dibujos o ambos. Además, o alternativamente, el kit puede comprender el medicamento, una composición, o ambos; e información, instrucciones, o ambos, referentes a los métodos de aplicación del medicamento, o de la composición, preferiblemente con el beneficio de tratar o prevenir estados médicos y cosméticos en mamíferos (por ejemplo, seres humanos).

La invención se explicará adicionalmente mediante los siguientes ejemplos ilustrativos.

Se describen procedimientos para la preparación de las isoquinolinas en los siguientes ejemplos.

Se facilitan todas las temperaturas en grados centígrados. Se adquirieron los reactivos de fuentes comerciales o se

prepararon siguiendo procedimientos de la bibliografía.

A menos que se indique de otro modo, se realizó purificación mediante HPLC redisolviendo el residuo en un pequeño volumen de DMSO y filtrando a través de un filtro de jeringa de 0,45 micrómetros (disco de nailón). Entonces se purificó la disolución usando una columna Microsorb Guard-8 C₈ de 50 mm Varian Dynamax para HPLC de 21,4 mm. Se seleccionó la concentración inicial de MeOH al 40-80%/H₂O ya que era apropiada para el compuesto objetivo. Se mantuvo este gradiente inicial durante 0,5 minutos, luego se aumentó al 100% de MeOH:0% de H₂O a lo largo de 5 minutos. Se mantuvo el 100% de MeOH durante 2 minutos más antes de reequilibrarse de nuevo al gradiente de partida inicial. El tiempo de ejecución total fue de 8 minutos. Se analizaron las fracciones resultantes, se combinaron según fue apropiado y luego se evaporaron para proporcionar material purificado.

Se registraron espectros de resonancia magnética de protón (¹H-RMN) en cualquiera de un espectrofotómetro de (¹H)-RMN INOVA 400 MHz de Varian, espectrofotómetro de (¹H)-RMN INOVA 500 MHz de Varian, espectrofotómetro de (¹H)-RMN de Bruker, espectrofotómetro de (¹H)-RMN DPX 400 MHz de Bruker o un espectrofotómetro de (¹H)-RMN DRX 500 MHz de Bruker. Se determinaron todos los espectros en los disolventes indicados. Aunque se notifican los desplazamientos químicos en ppm a campo bajo con respecto a tetrametilsilano, hacen referencia al pico de protón residual del pico del disolvente respectivo para ¹H-RMN. Las constantes de acoplamiento interprotónicas se notifican en hercios (Hz). Se realizó HPLC analítica usando una columna Aqua de 5 micrómetros C₁₈ 125 Å 50 x 4,60 mm de Phenomenex acoplada con un detector de UV VWD de la serie 1100 de Agilent. Se usa un tampón de BES al 0,1% (p/v) neutro de pH 7,1 con LiOH y CH₃CN al 1% en H₂O como fase acuosa. El gradiente inicial era tampón acuoso de MeOH al 55% que se aumentó al 100% de MeOH a lo largo de 3 minutos. Se mantuvo el 100% de MeOH durante 2 minutos antes de reequilibrarse de nuevo al gradiente de partida inicial. Se analizaron los espectros a 254 nm. Se obtuvieron los espectros CL-EM usando un instrumento AQA MS ESI de Thermofinnigan. Se hicieron pasar las muestras a través de una columna Aqua de 5 micrómetros C₁₈ 125 Å 50 x 4,60 mm de Phenomenex. El gradiente inicial era MeOH al 55%:CH₃CN al 1% en H₂O que se aumentó al 100% de MeOH a lo largo de 3 minutos. Se mantuvo el 100% de MeOH durante 2 minutos antes de reequilibrarse de nuevo al gradiente de partida inicial. El ajuste de pulverización de la sonda de EM era a 350 µl/min con un voltaje de cono a 25 mV y una temperatura de sonda a 450°C.

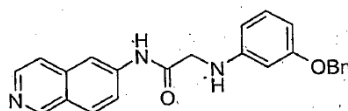
Las siguientes preparaciones ilustran procedimientos para la preparación de productos intermedios y métodos para la preparación de isoquinolinas.

Procedimiento general para la síntesis de isoquinolinas según el esquema 2

Etapa 1: Síntesis de 2-cloro-N-isoquinolin-6-il-acetamida: Se cargó un vial de 2,0 ml equipado con una barra de agitación con 6-aminoisoquinolina (100 mg, 0,7 mmol) en THF (1,0 ml) y se enfrió hasta -78°C. Se añadió diisopropilamido de litio (40 µl, 0,35 mmol) a la reacción a -78°C seguido por la adición gota a gota de cloruro de cloroacetilo (62 µl, 0,7 mmol). Se permitió que se calentase la reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante 30 min. Se concentró la reacción a vacío, luego se trituró el sólido con metanol frío. Se recogió el sólido mediante filtración para proporcionar 2-cloro-N-isoquinolin-6-il-acetamida (58 mg, 38%). ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,14 (s, 2H) 8,01 (dd, J=9,08, 1,66 Hz, 1H) 8,45 (d, J=8,98 Hz, 2H) 8,66 (d, J=1,56 Hz, 1H) 11,46 (s, 1H), CL-EM: 221 (M+H).

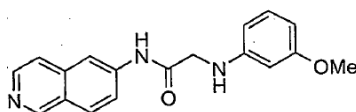
Etapa 2: Síntesis de isoquinolinas: Se cargó un vial de 2,0 ml equipado con una barra de agitación con 2-cloro-N-isoquinolin-6-il-acetamida (Véase la etapa 1, 30 mg, 0,14 mmol), DMF (1,0 ml), yoduro de potasio (70 mg, 0,42 mmol) y se agitó a 45 °C durante 30 min. Se añadió la anilina sustituida correspondiente (0,42 mmol) y se agitó durante 2 h. Tras completarse la reacción se concentró a vacío y se purificó el residuo mediante HPLC prep. para proporcionar la isoquinolina final.

Ejemplo 1



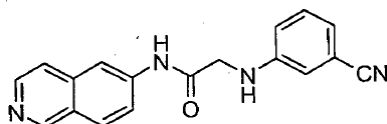
2-(3-Benciloxi-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ¹H-RMN (400 MHz, metanol-d₄) δ ppm 3,93 - 3,97 (m, 2H) 4,99 - 5,02 (m, 2H) 6,27 - 6,33 (m, 2H) 6,33 - 6,39 (m, 1H) 7,04 (t, J=8,09Hz, 1H) 7,16 - 7,41 (m, 6H) 7,68 - 7,76 (m, 2H) 8,02 (d, J=8,89Hz, 1H) 8,31 - 8,37 (m, 2H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 384 (M+H).

Ejemplo 2



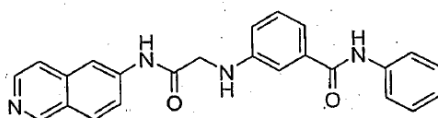
N-Isoquinolin-6-il-2-(3-metoxi-fenilamino)-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 3,71 (s, 3H) 3,95 (s, 2H) 6,21 - 6,33 (m, 2H) 7,04 (t, $J=8,00$ Hz, 1H) 7,66 - 7,76 (m, 2H) 8,01 (d, $J=8,98$ Hz, 1H) 8,29 - 8,37 (m, 2H) 9,08 (s, 1H), CL-EM: 308 (M+H).

5 Ejemplo 3



2-(3-Ciano-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 4,04 (s, 2H) 6,92 - 7,02 (m, 3H) 7,25 - 7,34 (m, 1H) 7,75 (dd, $J=8,88$, 2,05Hz, 2H) 8,05 (d, $J=8,98$ Hz, 1H) 8,36 (d, $J=1,95$ Hz, 2H) 9,10 (s, 1H), CL-EM: 303 (M+H).

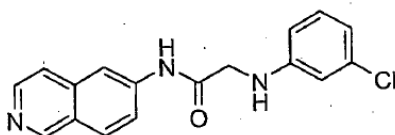
10 Ejemplo 4



3-[(Isoquinolin-6-ilcarbamoilmetil)-amino]-N-fenil-benzamida:

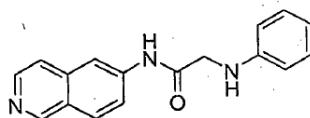
Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 4,07 (s, 2H) 7,09 - 7,14 (m, 1H) 7,22 - 7,25 (m, 2H) 7,27 - 7,36 (m, 4H) 7,61 - 7,66 (m, 2H) 7,71 (d, $J=5,86$ Hz, 1H) 7,75 (dd, $J=8,88$, 2,05Hz, 1H) 8,03 (d, $J=8,98$ Hz, 1H) 8,32 - 8,35 (m, 1H) 8,36 (d, $J=1,95$ Hz, 1H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 397 (M+H).

Ejemplo 5



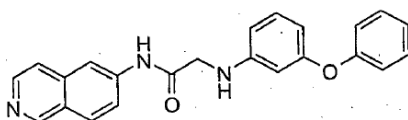
2-(3-Cloro-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 3,99 (s, 2H) 6,56 - 6,60 (m, 1H) 6,63 - 6,69 (m, 2H) 7,09 (t, $J=8,00$ Hz, 1H) 7,70 - 7,77 (m, 2H) 8,04 (d, $J=8,98$ Hz, 1H) 8,32 - 8,37 (m, 2H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 312 (M+H).

Ejemplo 6



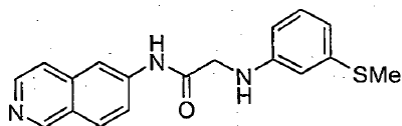
N-Isoquinolin-6-il-2-fenilamino-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 3,97 (s, 2H) 6,65 - 6,75 (m, 3H) 7,10 - 7,19 (m, 2H) 7,67 - 7,78 (m, 2H) 8,02 (d, $J=8,98$ Hz, 1H) 8,30 - 8,38 (m, 2H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 278 (M+H).

Ejemplo 7



N-Isoquinolin-6-il-2-(3-fenoxi-fenilamino)-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 3,93 - 3,95 (m, 2H) 6,28 - 6,33 (m, 2H) 6,42 - 6,48 (m, 1H) 6,91 - 6,96 (m, 2H) 6,99 (t, $J=7,32\text{Hz}$, 1H) 7,08 - 7,15 (m, 1H) 7,19 - 7,25 (m, 2H) 7,69 - 7,74 (m, 2H) 8,03 (d, $J=8,79\text{Hz}$, 1H) 8,31 - 8,38 (m, 2H) 9,10 (s, 1H), CL-EM: 370 (M+H).

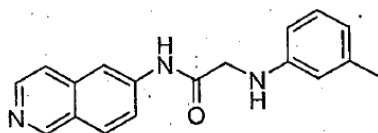
5 Ejemplo 8



N-Isoquinolin-6-il-2-(3-metilsulfanil-fenilamino)-acetamida:

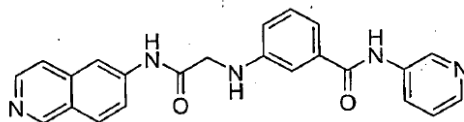
Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 2,40 (s, 3H) 3,97 (s, 2H) 6,43 - 6,48 (m, 1H) 6,58 - 6,62 (m, 2H) 7,03 - 7,10 (m, 1H) 7,68 - 7,76 (m, 2H) 8,02 (d, $J=8,98\text{Hz}$, 1H) 8,31 - 8,36 (m, 2H) 9,08 (s, 1H), CL-EM: 324 (M+H).

Ejemplo 9



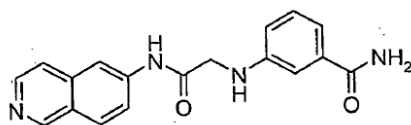
N-Isoquinolin-6-il-2-m-tolilamino-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 2,23 (s, 3H) 3,95 (s, 2H) 6,43 - 6,57 (m, 3H) 7,02 (t, $J=7,71\text{Hz}$, 1H) 7,67 - 7,77 (m, 2H) 8,02 (d, $J=8,98\text{Hz}$, 1H) 8,30 - 8,37 (m, 2H) 9,08 (s, 1H), CL-EM: 292 (M+H).

Ejemplo 10



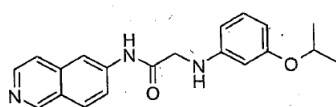
3-[(Isoquinolin-6-ilcarbamoilmetil)-amino]-N-piridin-3-il-benzamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 4,08 (s, 2H) 6,89 - 6,94 (m, 1H) 7,24 - 7,33 (m, 3H) 7,42 (dd, $J=8,40, 4,88\text{Hz}$, 1H) 7,71 (d, $J=5,86\text{Hz}$, 1H) 7,75 (dd, $J=8,88, 2,05\text{Hz}$, 1H) 8,03 (d, $J=8,98\text{Hz}$, 1H) 8,19 - 8,24 (m, 1H) 8,28 (dd, $J=4,78, 1,46\text{Hz}$, 1H) 8,33 (d, $J=5,86\text{Hz}$, 1H) 8,36 (d, $J=1,76\text{Hz}$, 1H) 8,85 (d, $J=2,54\text{Hz}$, 1H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 398 (M+H).

Ejemplo 11



3-Isoquinolin-6-ilcarbamoilmetil)-amino]-benzamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 4,04 (s, 2H) 6,84 - 6,88 (m, 1H) 7,15 - 7,20 (m, 2H) 7,24 (t, $J=7,91\text{Hz}$, 1H) 7,71 (d, $J=5,86\text{Hz}$, 1H) 7,74 (dd, $J=8,98, 2,15\text{Hz}$, 1H) 8,02 (d, $J=8,98\text{Hz}$, 1H) 8,36 (t, $J=2,44\text{Hz}$, 2H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 321 (M+H).

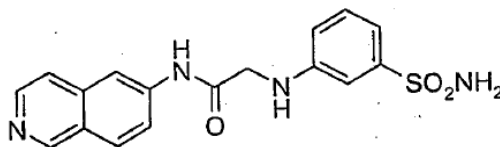
Ejemplo 12



2-(3-Isopropoxi-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 1,24 (d, $J=6,05\text{Hz}$, 6H) 3,95 (s, 2H) 4,45 - 4,55 (m, 1H) 6,23 (t, $J=2,25\text{Hz}$, 1H) 6,25 - 6,30 (m, 2H) 7,03 (t, $J=8,10\text{Hz}$, 1H) 7,69 - 7,76 (m, 2H) 8,02 (d, $J=8,79\text{Hz}$, 1H) 8,32 - 8,36 (m,

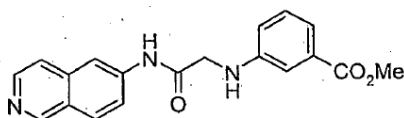
2H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 336 (M+H).

Ejemplo 13



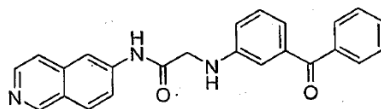
- 5 N-Isoquinolin-6-il-2-(3-sulfamoil-fenilamino)-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 4,05 (s, 2H) 6,85 - 6,89 (m, 1H) 7,18 - 7,22 (m, 2H) 7,30 (t, $J=8,20$ Hz, 1H) 7,70 (d, $J=5,86$ Hz, 1H) 7,74 (dd, $J=8,88$, 2,05Hz, 1H) 8,03 (d, $J=8,98$ Hz, 1H) 8,32 - 8,36 (m, 2H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 357 (M+H).

Ejemplo 14



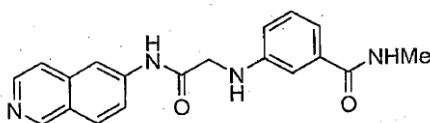
- 10 Éster metílico del ácido 3-[(isoquinolin-6-ilcarbamoilmetil)-amino]-benzoico: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 3,84 (s, 3H) 4,04 (s, 2H) 6,89 - 6,94 (m, 1H) 7,25 (t, $J=7,81$ Hz, 1H) 7,31 - 7,36 (m, 2H) 7,74 - 7,79 (m, 2H) 8,06 (d, $J=8,98$ Hz, 1H) 8,34 (d, $J=6,05$ Hz, 1H) 8,38 (d, $J=1,95$ Hz, 1H) 9,12 (s, 1H), CL-EM: 336 (M+H).

Ejemplo 15



- 15 2-(3-Benzoi-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 4,02 (s, 2H) 6,95 - 7,00 (m, 1H) 7,02 - 7,04 (m, 1H) 7,05 - 7,09 (m, 1H) 7,30 (t, $J=7,81$ Hz, 1H) 7,35 - 7,41 (m, 2H) 7,48 - 7,55 (m, 1H) 7,69 - 7,76 (m, 4H) 8,04 (d, $J=8,98$ Hz, 1H) 8,33 - 8,37 (m, 2H) 9,10 (s, 1H), CL-EM: 382 (M+H).

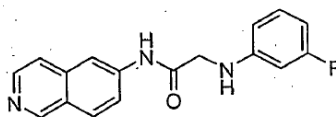
Ejemplo 16



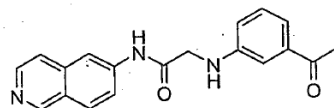
3-[(Isoquinolin-6-ilcarbamoilmetil)-amino]-N-metil-benzamida:

- 25 Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 2,87 (s, 3H) 4,04 (s, 2H) 6,83 (dd, $J=8,20$, 2,54Hz, 1H) 7,06 - 7,11 (m, 1H) 7,11 - 7,14 (m, 1H) 7,22 (t, $J=7,81$ Hz, 1H) 7,70 (d, $J=5,86$ Hz, 1H) 7,74 (dd, $J=8,88$, 2,05Hz, 1H) 8,02 (d, $J=8,98$ Hz, 1H) 8,30 - 8,37 (m, 2H) 9,08 (s, 1H), CL-EM: 335 (M+H).

Ejemplo 17



- 30 2-(3-Fluoro-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 3,98 (s, 2H) 6,34 - 6,41 (m, 2H) 6,45 - 6,49 (m, 1H) 7,07 - 7,14 (m, 1H) 7,71 (d, $J=5,86$ Hz, 1H) 7,73 (dd, $J=8,88$, 2,05Hz, 1H) 8,03 (d, $J=8,79$ Hz, 1H) 8,31 - 8,38 (m, 2H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 296 (M+H).

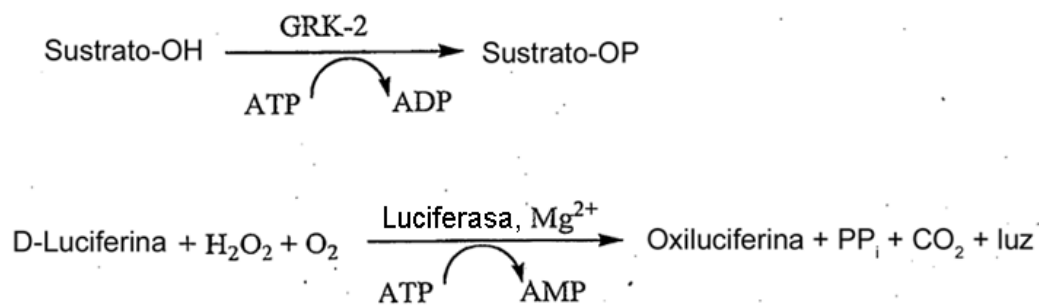
Ejemplo 18

2-(3-Acetil-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 2,54 (s, 3H) 4,05 (s, 2H) 6,91 - 6,95 (m, 1H) 7,25 - 7,30 (m, 2H) 7,31 - 7,35 (m, 1H) 7,71 (d, $J=5,86\text{Hz}$, 1H) 7,74 (dd, $J=8,88$, 2,05Hz, 1H) 8,03 (d, $J=8,79\text{Hz}$, 1H) 8,31 - 8,37 (m, 2H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 320 (M+H).

Ejemplo de referencia 1:

Se determinó la inhibición de cinasas receptoras acopladas a proteínas G incluyendo hGRK-2 para compuestos de isoquinolina dados a conocer en el presente documento usando un ensayo bioquímico. También se determinó la inhibición de GRK-3, GRK-5 y GRK-6 usando el mismo ensayo.

Se determinó la inhibición de proteína cinasas usando un ensayo bioquímico que utiliza la emisión de luz de una reacción con luciferasa. El ensayo basado en luciferasa funciona según los siguientes principios de reacción:



Un inhibidor de GRK-2 aumentará la cantidad de ATP en disolución tal como se muestra. Por tanto, un inhibidor de GRK-2 dirigirá la reacción con luciferasa hacia la derecha, dando como resultado más luz emitida. La cantidad de luz emitida es proporcional a la inhibición que resulta del inhibidor de GRK-2. También se usó el ensayo con luciferasa para someter a prueba las propiedades de inhibición de otras cinasas. En la tabla 1 a continuación, se presentan los resultados del ensayo para GRK-2, GRK-3, GRK-5 y GRK-6.

El procedimiento de prueba fue tal como sigue:

Tampón de ensayo:

HEPES 50 mM, pH 7,5
 MgCl_2 10 mM
 Ortovanadato de sodio activado 100 μM
 CHAPS al 0,01%
 BSA al 0,1%
 DTT 1 mM (añadido nuevo cada día)

Disolución madre de tampón de ensayo 10X:

HEPES 500 mM, pH 7,5
 MgCl_2 100 mM
 Ortovanadato de sodio activado 1 mM
 CHAPS al 0,1%
 BSA al 1% (se omite para el tampón de dilución de compuesto 10X)

Condiciones de ensayo finales:

Compuesto de prueba 50 μM
 Caseína 20 μM
 ATP 10 μM
 hGRK2 50 nM
 DMSO al 4,5%
 Incubación durante 90-120 minutos

Se detiene mediante la adición de 30 μl de reactivo Kinase-Glo diluido 3X que contiene azul de tripano al 0,01%. Se

hace un recuento en un lector de placas FUSION.

PROTOCOLO

Dilución de compuestos y transferencia

- 5 Se prepara suficiente tampón que contiene DMSO al 40% para añadir 20 µl/pocillo al número de placas que esté sometiéndose a ensayo. Este tampón no debe contener BSA porque precipitará con la adición de DMSO al 40%. (Ejemplo: para preparar 3000 ml de tampón de dilución de compuesto: 1200 ml de DMSO, 180 ml de tampón de dilución de compuesto 10X, 1615 ml de agua ultrapura, 3 ml de DTT 1 M).

- 10 Usando el dispensador Multidrop, se añaden 20 µl de tampón de dilución de compuesto a todos los pocillos de la placa hija de 384 pocillos (se añade 1 µl de DMSO a pocillos de control). Esto dará como resultado una placa hija que contiene 21 µl de compuesto de prueba ~ 500 µM.

Usando el sistema PlateTrak, se transfieren 5 µl de los compuestos de prueba a una placa de microtitulación blanca, sin unión, de 384 pocillos (Costar XXXX).

Adición de GRK2/ATP

- 15 Se prepara un volumen suficiente de tampón (con BSA y DTT 1 mM) que contiene GRK2 125 nM y ATP 25 µM. (Ejemplo: a 219 ml de tampón, se le añaden 550 µl de ATP 10 mM y 350 µl de GRK2 79 µM).

Usando el dispensador Multidrop, se añaden 20 µl de mezcla de GRK2/ATP a todos los pocillos de la placa de microtitulación.

Adición de caseína

- 20 Se prepara un volumen suficiente de tampón (con BSA y DTT 1 mM) que contiene caseína 40 µM. (Ejemplo: a 211 ml de tampón, se le añaden 8,8 ml de caseína 1 mM)

Usando el dispensador Multidrop, se añaden 25 µl a las columnas 1 a 23 de la placa de microtitulación. Se añaden 25 µl de tampón completo a la columna 24 (blancos).

Incubación

- 25 Se mezcla la reacción suavemente dando golpecitos (la adición con el dispensador Multidrop de la caseína realiza un mezclado aceptable), se apilan las placas y se incuban a temperatura ambiente durante entre 90 y 120 minutos. Puede seguirse la pista al avance del ensayo en una placa independiente si se desea. Se selecciona como objetivo un consumo de ATP del 20-30%. Ha de intentarse evitar que se supere un consumo del 40% ya que la cinética podría volverse no lineal debido al agotamiento del sustrato (ATP).

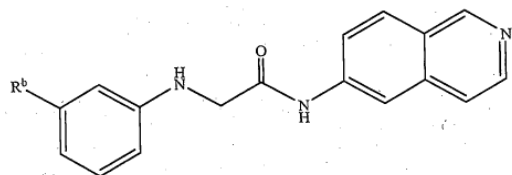
Adición de reactivos Kinase-Glo

- 30 Puede diluirse el reactivo Kinase-Glo 3 veces sin pérdida de calidad de los datos en este ensayo. Adicionalmente, puesto que la biblioteca contiene muchos compuestos coloreados que extinguirán la luz emitida desde el pocillo dando como resultado un falso negativo (los inhibidores de cinasas dan como resultado menos consumo de ATP, por tanto más luz emitida), se somete toda la reacción a extinción deliberada para anular este efecto. Esta extinción deliberada se logra mediante la adición de azul de tripano al 0,01% a los reactivos Kinase-Glo. (Ejemplo: 100 ml de reactivos Kinase-Glo 1X (preparados según el folleto), 200 ml de tampón de ensayo, 7,5 ml de azul de tripano al 0,4%.

Usando el dispensador Multidrop, se añaden 30 µl a todos los pocillos de la placa de ensayo.

Se hace un recuento en el lector de placas FUSION en modo de luminiscencia.

- 40 Los resultados de inhibición para los ejemplos 1-18 anteriores son para isoquinolinas que tienen la siguiente estructura de isoquinolina general:



en la que R^b se facilita por separado para cada ejemplo a continuación en la tabla 1. Se proporcionan los resultados en cuanto a la K_i (nM): K_i de 10-100 nM - +++++

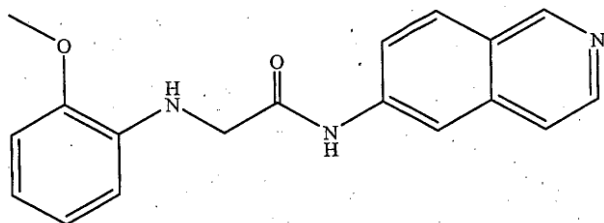
K_i de 100-1000 nM - +++
 K_i de 1000-10.000 nM - ++
 $K_i > 10.000$ nM - +.

TABLA 1

EJ.	R ^b	GRK-2	Inhib. máx. (%) (GRK2)	GRK-3	GRK-5	GRK-6
1	OBn	+++	112	+++	+++	+
2	OMe	++++	103	++++	+++	+++
3	CN	++	91	++	-	+
4	CONHPh	++++	99	++++	+++	++
5	Cl	+++	102	+++	++	++
6	H	+++	112	+++	++	++
7	OPh	+++	104	+++	++	++
8	SMe	++++	108	++++	++	++
9	Me	+++	100	+++	++	++
10	CONH-m- piridina	++++	106	++++	+++	+++
11	CONH ₂	++++	102	++++	++	++
12	O-iPr	++++	118	++++	++	+
13	SO ₂ NH ₂	++	115	++	+	+
14	COOMe	+++	104	+++	+	+
15	COPh	++	119	++	+	+
16	CONHMe	++++	113	++++	++	++
17	F	+++	120	++++	++	++
18	COMe	+++	116	+++	+	+

5 Ejemplo 19

Se preparó una isoquinolina que tiene la siguiente estructura tal como se describió anteriormente según el esquema 2.



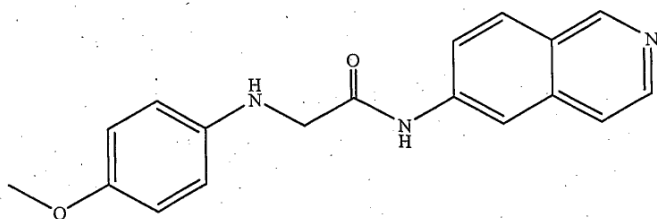
- 10 N-Isoquinolin-6-il-2-(2-metoxi-fenilamino)-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ¹H-RMN (400 MHz, metanol-d₄) δ ppm 3,89 (s, 3H) 4,00 (s, 2H) 6,54 (dd, J=7,81, 1,56Hz, 1H) 6,67 - 6,72 (m, J=7,61, 1,56Hz, 1H) 6,78 - 6,83 (m, J=7,71, 1,46Hz, 1H) 6,87 (dd, J=7,91, 1,27Hz, 1H) 7,68 - 7,77 (m, 2H) 8,03 (d, J=8,98Hz, 1H) 8,32 - 8,38 (m, 2H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 308 (M+H).

También se sometió a prueba esta isoquinolina usando el ensayo bioquímico con luciferasa. La inhibición máxima fue del 109% para GRK-2. Los resultados en K_i (nM) usando la escala anterior fueron tal como sigue:

- 15 GRK-2 - ++
 GRK-3 - ++
 GRK-5 - +
 GRK-6 - ++

Ejemplo 20

- 20 Se preparó una isoquinolina que tiene la siguiente estructura tal como se describió anteriormente según el esquema 2.



N-Isoquinolin-6-il-2-(4-metoxi-fenilamino)-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 3,69 (s, 3H) 3,91 (s, 2H) 6,61 - 6,69 (m, 2H) 6,74 - 6,82 (m, 2H) 7,67 - 7,79 (m, 2H) 8,03 (d, $J=8,79\text{Hz}$, 1H) 8,30 - 8,38 (m, 2H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 308 (M+H).

- 5 También se sometió a prueba esta isoquinolina usando el ensayo bioquímico con luciferasa. La inhibición máxima fue del 116% para GRK-2. Los resultados en K_i (nM) usando la escala anterior fueron tal como sigue:

GRK-2 - ++

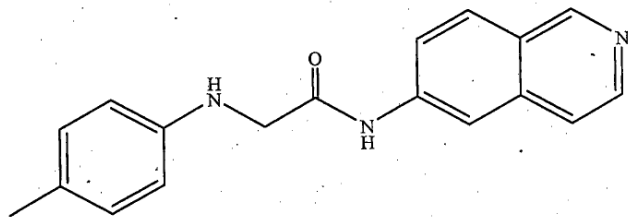
GRK-3 - ++

GRK-5 - +

10 GRK-6 - ++.

Ejemplo 21

Se preparó una isoquinolina que tiene la siguiente estructura tal como se describió anteriormente según el esquema 2.



- 15 N-Isoquinolin-6-il-2-p-tolilamino)-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: ^1H -RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 2,19 (s, 3H) 3,93 (s, 2H) 6,56 - 6,63 (m, 2H) 6,97 (d, $J=8,00\text{ Hz}$, 2H) 7,66 - 7,76 (m, 2H) 8,01 (d, $J=8,79\text{Hz}$, 1H) 8,28 - 8,37 (m, 2H) 9,08 (s, 1H), CL-EM: 292 (M+H).

También se sometió a prueba esta isoquinolina usando el ensayo bioquímico con luciferasa. La inhibición máxima fue del 116% para GRK-2. Los resultados en K_i (nM) usando la escala anterior fueron tal como sigue:

20 GRK-2 - ++

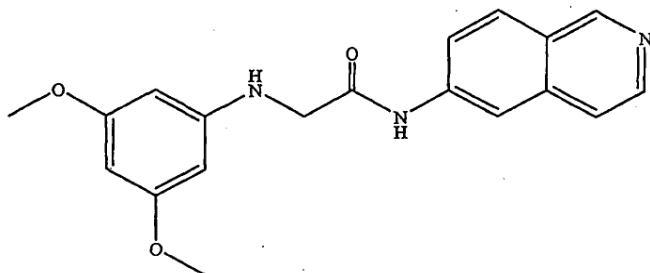
GRK-3 - ++

GRK-5 - +

GRK-6 - ++.

Ejemplo 22

- 25 Se preparó una isoquinolina que tiene la siguiente estructura tal como se describió anteriormente según el esquema 2.



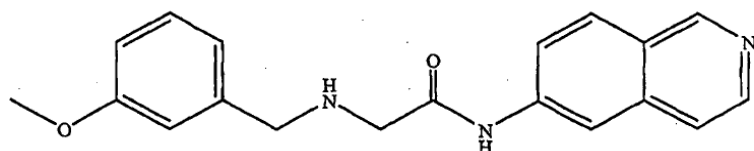
2-(3,5-Dimetoxi-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 3,70 (s, 6H) 3,94 (s, 2H) 5,82 - 5,94 (m, 3H) 7,67 - 7,79 (m, 2H) 8,03 (d, $J=8,79\text{Hz}$, 1H) 8,28 - 8,40 (m, 2H) 9,09 (s, 1H), CL-EM: 338 (M+H).

- 5 También se sometió a prueba esta isoquinolina usando el ensayo bioquímico con luciferasa. La inhibición máxima fue del 124% para GRK-2. Los resultados en K_i (nM) usando la escala anterior fueron tal como sigue:

GRK-2 - ++
 GRK-3 - ++
 GRK-5 - ++
 GRK-6 - ++.

10 Ejemplo 23 (ejemplo de referencia)

Se preparó una isoquinolina que tiene la siguiente estructura tal como se describió anteriormente según el esquema 2.



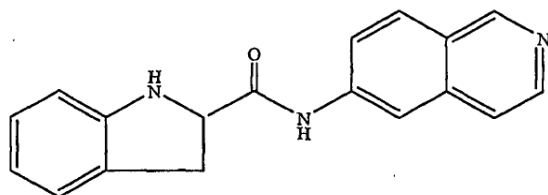
- 15 N-Isoquinolin-6-il-2-(3-metoxi-bencilamino)-acetamida: Se obtuvo el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2: $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 3,45 (s, 2H) 3,77 (s, 3H) 3,81 (s, 2H) 6,76 - 6,83 (m, 1H) 6,91 - 7,00 (m, 2H) 7,19 - 7,27 (m, 1H) 7,68 - 7,76 (m, 2H) 8,04 (d, $J=8,79\text{Hz}$, 1H) 8,32 - 8,37 (m, 2H) 9,10 (s, 1H), CL-EM: 322 (M+H).

También se sometió a prueba esta isoquinolina usando el ensayo bioquímico con luciferasa. La inhibición máxima fue del 111% para GRK-2. Los resultados en K_i (nM) usando la escala anterior fueron tal como sigue:

- 20 GRK-2 - ++
 GRK-3 - ++
 GRK-5 - +
 GRK-6 - +.

Ejemplo 24 (ejemplo de referencia)

- 25 Se preparó una isoquinolina que tiene la siguiente estructura tal como se describió anteriormente según el esquema 2.



- 30 Isoquinolin-6-il-amida del ácido 2,3-dihidro-1H-indol-2-carboxílico: A una disolución de 6-aminoisoquinolina (25 mg, 0,17 mmol) en DMF (1,0 ml) se le añadió ácido indolina-2-carboxílico (30 mg, 0,17 mmol), HATU (70 mg, 0,19 mmol), diisopropiletilamina (35 μl , 0,19 mmol) y se agitó durante la noche a 40°C. Se concentró la mezcla de reacción y se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar el compuesto del título (3,0 mg): $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 3,18 (dd, $J=16,11$, 8,30 Hz, 1H) 3,56 (dd, $J=16,20$, 10,54 Hz, 1H) 4,52 (dd, $J=10,54$, 8,40 Hz, 1H) 6,70 - 6,81 (m, 2H) 6,99 - 7,10 (m, 3H) 7,73 (d, $J=6,05$ Hz, 1H) 7,81 (dd, $J=8,88$, 2,05 Hz, 1H) 8,05 (d, $J=8,98$ Hz, 1H) 8,35 (d, $J=5,86$ Hz, 1H) 8,40 (d, $J=1,95$ Hz, 1H) 9,11 (s, 1H), CL-EM: 290 (M+H).

- 35 También se sometió a prueba esta isoquinolina usando el ensayo bioquímico con luciferasa. La inhibición máxima fue del 110% para GRK-2. Los resultados en K_i (nM) usando la escala anterior fueron tal como sigue:

GRK-2 - ++

GRK-3 - ++
 GRK-5 - +
 GRK-6 - +.

Ejemplo 25

También se examinaron las isoquinolinas de los ejemplos 2-4 en ensayos celulares para determinar el efecto inhibidor de GRK-2. Se muestran los resultados en las figuras 1-9. Las figuras muestran el efecto de las tres isoquinolinas diferentes en la translocación de varios receptores. Se usó el ensayo de Transfluor (Assay and Drug Development Technologies, volumen 1, número 1-1, páginas 21-30, (2002), patente estadounidense n.º 5.891.646, y patente estadounidense n.º 6.110.693) para medir el grado de translocación en células U2OS que sobreexpresan el receptor y arrestina.

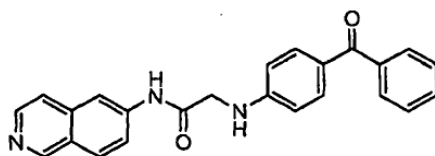
Las figuras 1-3 muestran el efecto de la isoquinolina descrita en el ejemplo 2 (GRK-2, $K_i = 0,022$ micromolar), en la translocación de arrestina-GFP inducida por isoproterenol al receptor adrenérgico beta 2 (B2wt). La figura 1 muestra curvas de dosis-respuesta para el efecto de isoproterenol (un agonista de receptor adrenérgico beta 2) frente a granos F (una medida del grado de translocación de arrestina-GFP al receptor) para concentraciones crecientes de la isoquinolina (véanse las curvas). Para cualquier concentración dada de isoproterenol, a medida que aumenta la concentración de isoquinolina, existe una reducción gradual de la translocación (disminución de granos F). Al impedir la fosforilación mediada por GRK-2 del receptor, la isoquinolina impide la unión de arrestina-GFP al receptor. La figura 2 muestra el mismo efecto sobre el receptor adrenérgico beta 1 (B1wt), y la figura 3 es el efecto sobre el receptor de opioides mu. Las figuras 4-6 y las figuras 7-9 muestran el efecto de otras dos isoquinolinas, la isoquinolina del ejemplo 3 (GRK-2, $K_i = 1,8$ micromolar) y la isoquinolina del ejemplo 4, (GRK-2, $K_i = 0,037$ micromolar), respectivamente, en los mismos tres receptores sometidos a prueba para la isoquinolina del ejemplo 2.

La isoquinolina del ejemplo 2 y la isoquinolina del ejemplo 4, que son muy buenos inhibidores de GRK-2 muestran una inhibición moderada de la translocación de arrestina-GFP a B2WT, B1WT, pero una fuerte inhibición para el receptor de opioides mu. Sin embargo, la isoquinolina del ejemplo 3, que es un inhibidor más débil de GRK-2, muestra mucha menos inhibición de la translocación en los tres receptores. Finalmente, concentraciones aumentada de la isoquinolina o bien del ejemplo 2 o bien del ejemplo 4 mostraron una acumulación aumentada de AMPc en células HEK-293 (receptor adrenérgico beta 2 sobreexpresado) en presencia de una concentración fija de isoproterenol. Esto concuerda con la inhibición de GRK-2 que da como resultado menos translocación de arrestina-GFP, menos desensibilización, y por consiguiente, más señalización por B2AR. Con más receptores disponibles ahora en la superficie de la célula, está generándose más AMPc en presencia de Isoproterenol. La isoquinolina del ejemplo 3, que es un inhibidor débil de GRK-2 y muestra mucha menos inhibición de la translocación, también tiene menos efecto sobre la cantidad de AMPc acumulada en la célula.

En la figura 1, la CI_{50} de la $\beta 2$ -arrestina era de 8 μM . En la figura 3, la CI_{50} para el receptor de opioides mu era menor de 1 μM . En la figura 4, la CI_{50} de la $\beta 2$ -arrestina era mayor de 100 μM . En la figura 5, la CI_{50} para la $\beta 1$ -arrestina era mayor de 100 μM . En la figura 6, la CI_{50} para el receptor de opioides mu era mayor de 100 μM . En la figura 7, la CI_{50} de la $\beta 2$ -arrestina era de 4 μM . En la figura 8, la CI_{50} para la $\beta 1$ -arrestina era mayor de 100 μM . En la figura 9, la CI_{50} para el receptor de opioides mu era menor de 1 μM .

Las isoquinolinas pueden examinarse adicionalmente para determinar el efecto sobre la desensibilización de GPCR mediante el uso de los métodos descritos en la solicitud de patente estadounidense n.º 2004/0091946, publicada el 13 de mayo de 2004, la o solicitud de patente estadounidense n.º 2005/0032125, publicada el 10 de febrero de 2005.

Ejemplo 26



2-(4-Benzoil-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida: Pudo obtenerse el compuesto del título tal como se describe en la etapa 2 anterior.

Ejemplo de referencia 2

Ensayo de malla trabecular porcina (MTP) basado en células.

Se recogió la sección anterior de ojos porcinos en un plazo de 4 horas tras la muerte. Se extrajeron el iris y el cuerpo ciliar y se recogieron células de la malla trabecular mediante disección roma. Se sembró tejido de la malla trabecular

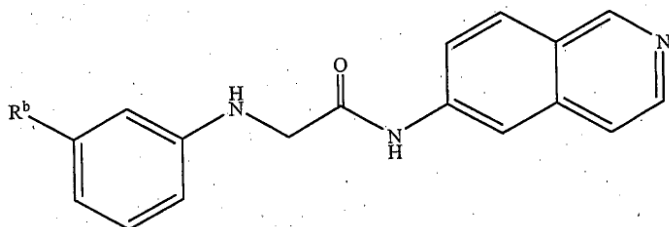
finamente triturado en placas de 6 pocillos recubiertas con colágeno en medio-199 que contenía suero bovino fetal (FBS) al 20%. Después de dos pases a confluencia, se transfirieron las células a DMEM con bajo contenido en glucosa que contenía FBS al 10%. Se usaron las células entre el pase 3 y el pase 8.

- 5 Se sembraron las células en placas de múltiples pocillos de vidrio, recubiertas con fibronectina, el día antes de las pruebas con compuestos en condiciones de cultivos convencionales. Se añadieron los compuestos a las células en presencia de DMEM que contenía FBS al 1% y DMSO al 1%. Cuando se incubaron los compuestos con las células en la duración determinada que era óptima, se eliminaron los medios y compuestos y se fijaron las células durante 20 minutos en paraformaldehído libre de metanol al 3%. Se enjuagaron las células dos veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se permeabilizaron las células con Triton X-100 al 0,5% durante dos minutos. Tras 10 dos lavados adicionales con PBS, se tiñó F-actina con faloidina marcada con Alexa-fluor 488 y se tiñeron los núcleos con DAPI.

Se redujeron los datos a la longitud de fibra de actina rectilínea media y se normalizaron con respecto a células control tratadas con DMSO (100%) e Y-27632 50 μ M (0%). Y-27632 es un inhibidor de cinasa rho que se sabe que da como resultado la despolimerización de F-actina en estas células.

15 Ejemplo 27

Se usó el ensayo celular descrito en el ejemplo de referencia 2 para someter a prueba los ejemplos 1-18 anteriores, cuyos resultados se presentan a continuación. Para referencia, estos son isoquinolinas que tienen la siguiente estructura de isoquinolina general:



- 20 en la que R^b se facilita por separado para cada ejemplo a continuación en la tabla 2. Se proporcionan los resultados en cuanto a la actividad a 50 μ M en comparación con el control

Más activo que el control- +++

Tan activo como el control ++

Menos activo que el control +

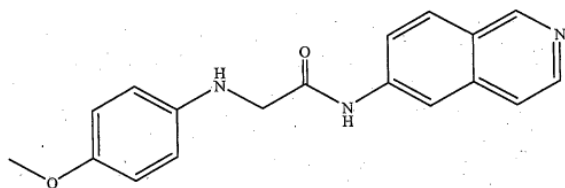
- 25 Inactivo -

TABLA 2

Ejemplo	R^b	Ensayo celular MTP
1	OCH ₂ Ph	+
2	OMe	+++
3	CN	+++
4	CONHPh	+++
5	Cl	++
6	H	++
7	OPh	+++
8	SMe	+++
10	CONH-m-piridina	+++
14	COOMe	+++
15	COPh	++

Ejemplo 28

Se preparó una isoquinolina que tiene la siguiente estructura tal como se describió anteriormente según el esquema 2 expuesto en el ejemplo 20.

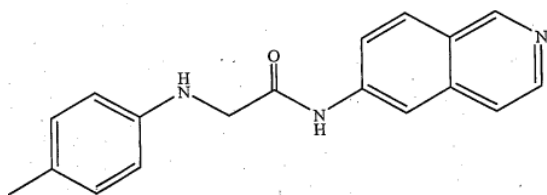


También se sometió a prueba esta isoquinolina usando el ensayo celular MTP tal como se describe en el ejemplo de referencia 2 como referencia. Los resultados usando la escala anterior fueron tal como sigue:

Ensayo celular MTP +

5 Ejemplo 29

Se preparó una isoquinolina que tiene la siguiente estructura tal como se describió anteriormente según el esquema 2 expuesto en el ejemplo 21.

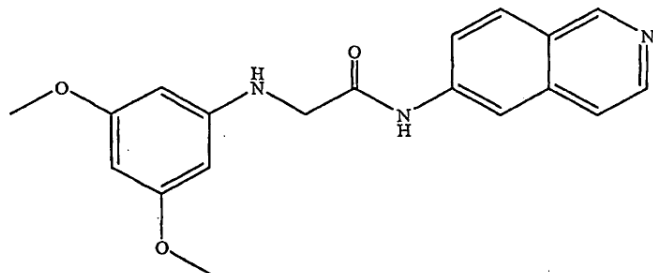


10 También se sometió a prueba esta isoquinolina usando el ensayo celular MTP tal como se describe en el ejemplo de referencia 2. Los resultados usando la escala anterior fueron tal como sigue:

Ensayo celular MTP ++

Ejemplo 30

Se preparó una isoquinolina que tiene la siguiente estructura tal como se describió anteriormente según el esquema 2 expuesto en el ejemplo 22.

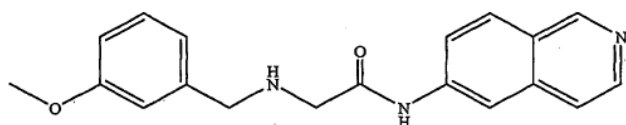


15 También se sometió a prueba esta isoquinolina usando el ensayo celular MTP tal como se describe en el ejemplo de referencia 2. Los resultados usando la escala anterior fueron tal como sigue:

Ensayo celular MTP -

Ejemplo 31 (ejemplo de referencia)

20 Se preparó una isoquinolina que tiene la siguiente estructura tal como se describió anteriormente según el esquema 2 expuesto en el ejemplo 23.



También se sometió a prueba esta isoquinolina usando el ensayo celular MTP tal como se describe en el ejemplo de referencia 2. Los resultados usando la escala anterior fueron tal como sigue:

25 Ensayo celular MTP ++

Ejemplo de referencia 3:

Actividad farmacológica para el ensayo de glaucoma.

- 5 Puede demostrarse la actividad farmacológica para el ensayo de glaucoma usando ensayos diseñados para someter a prueba la capacidad de los compuestos objeto para disminuir la presión intraocular. Se describen ejemplos de tales ensayos en la siguiente referencia: C. Liljebris, G. Selen, B. Resul, J. Sternschantz y U. Hacksell, "Derivatives of 17-phenyl-18,19,20-trinorprostaglandin F_{2α} Isopropyl Ester: Potential Anti-glaucoma Agents", Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 38 (2) 1995, págs. 289-304.

Ejemplo 32

- 10 Se preparan composiciones farmacéuticas tópicas para reducir la presión intraocular mediante métodos convencionales y se formulan tal como sigue:

<u>Constituyente</u>	<u>Cantidad (% en peso)</u>
Derivado de isoquinolina	0,50
Dextrano 70	0,1
Hidroxipropilmetilcelulosa	0,3
Cloruro de sodio	0,77
Cloruro de potasio	0,12
EDTA disódico	0,05
Cloruro de benzalconio	0,01
HCl y/o NaOH	pH 7,0-7,2
Agua purificada	c.s. hasta el 100%

Se usa un compuesto según esta invención como el derivado de isoquinolina. Cuando se administra tópicamente la composición a los ojos una o más veces al día como gotas de 40 microlitros, la composición anterior disminuye la presión intraocular en un paciente que presenta glaucoma.

Ejemplo 33

- 15 Se repite el ejemplo 32 usando N-isoquinolin-6-il-2-p-tolilamino-acetamida según esta invención. Cuando se administra como una gota 4 veces al día, la composición anterior disminuye sustancialmente la presión intraocular y sirve como agente neuroprotector.

Ejemplo 34

- 20 Se repite el ejemplo 32 usando 2-(3-benzoil-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida según esta invención. Cuando se administra como una gota dos veces al día, la composición anterior disminuye sustancialmente la presión intraocular.

Ejemplo 35

- 25 Se repite el ejemplo 32 usando 3-[(isoquinolin-6-ilcarbamoilmetil)-amino]-N-piridin-3-il-benzamida según esta invención. Cuando se administra como una gota dos veces al día, la composición anterior disminuye sustancialmente los síntomas alérgicos y alivia el síndrome del ojo seco.

Ejemplo 36

Se repite el ejemplo 32 usando una 4-[(isoquinolin-6-ilcarbamoilmetil)-amino]-N-piridin-4-il-benzamida según esta invención. Cuando se administra como una gota según sea necesario, la composición anterior disminuye sustancialmente la hiperemia, el enrojecimiento y la irritación ocular.

- 30 Ejemplo 37

Se repite el ejemplo 32 usando N-(isoquinolin-6-il)-2-(4-metoxifenilamino)acetamida según esta invención. Cuando se administra como una gota 4 veces al día, la composición anterior disminuye sustancialmente la presión intraocular y sirve como agente neuroprotector.

Ejemplo 38

Se repite el ejemplo 32 usando N-(isoquinolin-6-il)-2-(4-(metiltio)fenilamino)acetamida según esta invención. Cuando se administra como una gota dos veces al día, la composición anterior disminuye sustancialmente la presión intraocular.

Ejemplo 39

- 5 Se repite el ejemplo 32 usando 3-(2-(isoquinolin-6-ilamino)-2-oxoetilamino)benzoato de fenilo según esta invención. Cuando se administra como una gota dos veces al día, la composición anterior disminuye sustancialmente los síntomas alérgicos y alivia el síndrome del ojo seco.

Ejemplo 40

- 10 Se repite el ejemplo 32 usando 4-(2-(isoquinolin-6-ilamino)-2-oxoetilamino)benzoato de fenilo según esta invención. Cuando se administra como una gota según sea necesario, la composición anterior disminuye sustancialmente los síntomas alérgicos

Ejemplo 41

- 15 Se repite el ejemplo 32 usando N-(isoquinolin-6-il)-2-(3-(metiltio)fenilamino)acetamida según esta invención. Cuando se administra como una gota según sea necesario, la composición anterior disminuye sustancialmente hiperemia, el enrojecimiento y la irritación ocular.

Ejemplo 42

Se repite el ejemplo 32 usando N-(2-fluorofenil)-4-(2-(isoquinolin-6-ilamino)-2-oxoetilamino)benzamida según esta invención. Cuando se administra como una gota dos veces al día o según sea necesario, la composición anterior disminuye sustancialmente la presión intraocular.

- 20 Ejemplo 43

Se repite el ejemplo 32 usando N-(2-fluorofenil)-2-(2-(isoquinolin-6-ilamino)-2-oxoetilamino)benzamida según esta invención. Cuando se administra como una gota dos veces al día o según sea necesario, la composición anterior disminuye sustancialmente la presión intraocular.

Ejemplo 44

- 25 Se repite el ejemplo 32 usando N-(isoquinolin-6-il)-2-(3-sulfamoilfenilamino)acetamida según esta invención. Cuando se administra como una gota dos veces al día o según sea necesario, la composición anterior disminuye sustancialmente la presión intraocular.

Ejemplo 45

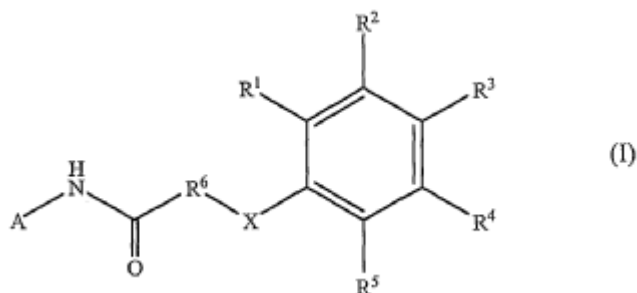
- 30 Se repite el ejemplo 32 usando N-(isoquinolin-6-il)-2-(4-sulfamoilfenilamino)acetamida según esta invención. Cuando se administra como una gota dos veces al día o según sea necesario, la composición anterior disminuye sustancialmente la presión intraocular.

Ejemplo 46

- 35 Se repite el ejemplo 32 usando N-(isoquinolin-6-il)-2-(4-(N-metilsulfamoil)fenilamino)acetamida según esta invención. Cuando se administra como una gota dos veces al día o según sea necesario, la composición anterior disminuye sustancialmente la presión intraocular.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto según la fórmula (I):



- 5 en la que A es un isoquinolin-6-ilo sustituido o no sustituido, en la que el radical de isoquinolina puede estar mono o disustituido con halógeno, ciano, nitro o alquilo C₁-C₄;

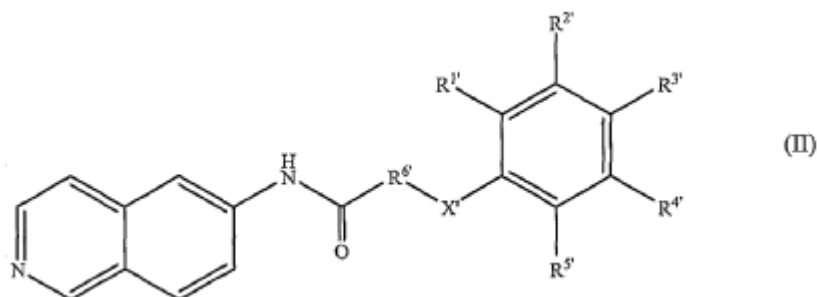
R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ son, independientemente, hidrógeno, halógeno, alquilo C₁-C₈, alcoxilo, fenoxilo, -OR⁷, amino, nitro, ciano, arilo, alquilarilo C₁-C₄, heteroarilo, alquil C₁-C₄-heteroarilo, carbonilamino, tioalquilo, sulfonilo, sulfonilamino, acilo o carboxilo;

R⁷ es alquilo C₁-C₄, arilo, heteroarilo, alquil C₁-C₄-arilo o alquil C₁-C₄-heteroarilo;

- 10 X es ; y

R⁶ es CH₂ o CH(alquilo C₁-C₄).

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ son, independientemente, hidrógeno, halógeno, alquilo C₁-C₈, alcoxilo, -OR⁷, amino, nitro, ciano, arilo, alquilarilo C₁-C₄, heteroarilo, alquil C₁-C₄-heteroarilo, carbonilamino, tioalquilo, sulfonilo, sulfonilamino, acilo o carboxilo;
- 15 3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que A es un radical de isoquinolina no sustituido y R¹, R³ y R⁵ son hidrógeno.
4. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R¹, R², R³ y R⁵ son hidrógeno y R⁴ es -O-R⁷.
5. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R⁴ es carbonilamino, sulfilamino, acilo o carboxilo.
6. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R¹, R² y R⁵ son H y uno de R³ y R⁴ es carbonilamino, sulfilamino, acilo o carboxilo.
- 20 7. Compuesto según la fórmula (II):



en la que R^{1'}, R^{2'}, R^{3'}, R^{4'} y R^{5'} son, independientemente, hidrógeno, halógeno, alquilo C₁-C₄ no sustituido, amino, nitro, ciano, carbonilamino, alcoxilo, -O-R⁷, sulfonilamino, carboxilo, acilo o tioalquilo;

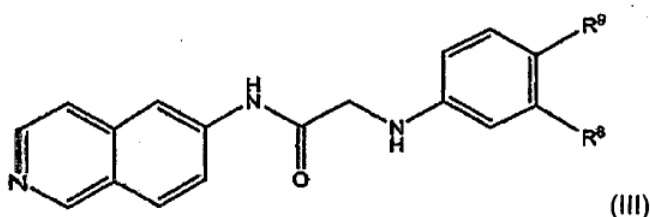
- 25 R^{7'} es alquilo C₁-C₄, arilo, heteroarilo, alquil C₁-C₄-arilo o alquil C₁-C₄-heteroarilo;

- X' es ; y

R^{6'} es CH₂ o CH(alquilo C₁-C₄).

8. Compuesto según la reivindicación 7, en el que R^{1'}, R^{2'}, R^{3'} y R^{5'} son hidrógeno y R^{4'} es -O-R⁷.

9. Compuesto según la reivindicación 7, en el que $R^{4'}$ es carbonilamino, sulfilamino, acilo o carboxilo.
10. Compuesto según la reivindicación 9, en el que $R^{4'}$ es carbonilamino y el carbonilamino es $C(O)NH$ -fenilo, $C(O)NH$ -m-piridilo, $C(O)NH$ -o-piridilo, $C(O)NH$ -p-piridilo, $C(O)NH_2$ o $C(O)NHCH_3$.
11. Compuesto según la reivindicación 7, en el que $R^{1'}$, $R^{2'}$ y $R^{5'}$ son H y uno de $R^{3'}$ y $R^{4'}$ es carbonilamino, sulfilamino, acilo o carboxilo.
12. Compuesto según la reivindicación 7, en el que $R^{2'}$ o $R^{4'}$ es $-O-R^7$.
13. Compuesto según la reivindicación 7, en el que $R^{7'}$ es metilo, etilo, fenilo, bencilo, propilo o isopropilo.
14. Compuesto según la fórmula (III):



- 10 en la que R^8 y R^9 son, independientemente, hidrógeno, halógeno, alquilo C_1 - C_4 no sustituido, alquilo C_1 - C_4 sustituido, amino, nitro, ciano, carbonilamino, alcoxilo, fenoxilo, benciloxilo, $-O-R^{10}$, sulfonilamino, carboxilo, acilo o tioalquilo; y
 R^{10} es alquilo C_1 - C_4 no sustituido, alquilo C_1 - C_4 sustituido, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, alcarilo C_1 - C_4 o alc C_1 - C_4 -heteroarilo,
- 15 en la que cuando está sustituido R^8 , R^9 o R^{10} , el sustituyente se selecciona de amino, halógeno, ciano, alcoxilo o hidroxilo.
15. Compuesto según la reivindicación 14, en el que R^8 es carbonilamino, un carboxilo, un sulfonilamino, un ciano o un resto acilo, y R^9 se selecciona de H, metilo, ciano o halógeno.
16. Compuesto según la reivindicación 15, en el que R^8 es carbonilamino, y el carbonilamino es $C(O)NH$ -fenilo, $C(O)NH$ -m-piridilo, $C(O)NH$ -o-piridilo, $C(O)NH$ -p-piridilo, $C(O)NH_2$ y $C(O)NHCH_3$.
17. Compuesto según la reivindicación 15, en el que R^8 es carboxilo y el carboxilo es $C(O)O$ -fenilo, $C(O)O$ -m-piridilo, $C(O)O$ -o-piridilo, $C(O)O$ -p-piridilo, $C(O)NH_2$ o $C(O)OCH_3$.
18. Compuesto según la reivindicación 15, en el que R^8 es sulfonilamino, y el sulfonilamino es $S(O)_2$ -NH-fenilo, $S(O)_2$ -NH-m-piridilo, $S(O)_2$ -NH-o-piridilo, $S(O)_2$ -NH-p-piridilo, $S(O)_2$ -NH $_2$ o $S(O)_2$ -NHCH $_3$.
19. Compuesto según la reivindicación 14, en el que R^9 es un carbonilamino, un carboxilo, un sulfonilamino, un ciano o un resto acilo, y R^8 es H, metilo, ciano o halógeno.
20. Compuesto según la reivindicación 14, en el que R^8 es alcoxilo, fenoxilo, benciloxilo u $-O-R^{10}$ y R^9 es H, metilo, ciano o halógeno.
21. Compuesto según la reivindicación 14, en el que R^8 y R^9 son, independientemente, hidrógeno, halógeno, alquilo C_1 - C_4 no sustituido, alquilo C_1 - C_4 sustituido, amino, nitro, ciano, carbonilamino, alcoxilo, benciloxilo, $-O-R^{10}$, sulfonilamino, carboxilo, acilo o tioalquilo.
22. Composición farmacéutica que comprende:
a) un derivado de isoquinolina según las reivindicaciones 1, 7 ó 14; y
b) un portador.
23. Composición según la reivindicación 22, en la que el portador se selecciona del grupo que consiste en portadores sistémicos y tópicos.
24. Composición según la reivindicación 22, en la que la composición comprende aproximadamente del 0,01% al 10% del derivado de isoquinolina y del 90 al 99,99% del portador sistémico.
25. Derivado de isoquinolina para su uso en el tratamiento de un estado, en el que el estado se selecciona del grupo que consiste en enfermedad ocular, trastorno óseo, enfermedad cardíaca, enfermedad hepática,

enfermedad renal, pancreatitis, cáncer, infarto de miocardio, molestias gástricas, hipertensión, control de la fecundidad, congestión nasal, trastorno neurogénico de la vejiga, trastorno gastrointestinal y trastorno dermatológico.

en el que el derivado de isoquinolina es de fórmula (I) según la reivindicación 1.

- 5 26. Derivado de isoquinolina para su uso en el tratamiento de un estado, en el que el estado se selecciona del grupo que consiste en enfermedad ocular, trastorno óseo, enfermedad cardíaca, enfermedad hepática, enfermedad renal, pancreatitis, cáncer, infarto de miocardio, molestias gástricas, hipertensión, control de la fecundidad, congestión nasal, trastorno neurogénico de la vejiga, trastorno gastrointestinal y trastorno dermatológico,

10 en el que el derivado de isoquinolina es de fórmula (II) según la reivindicación 7.

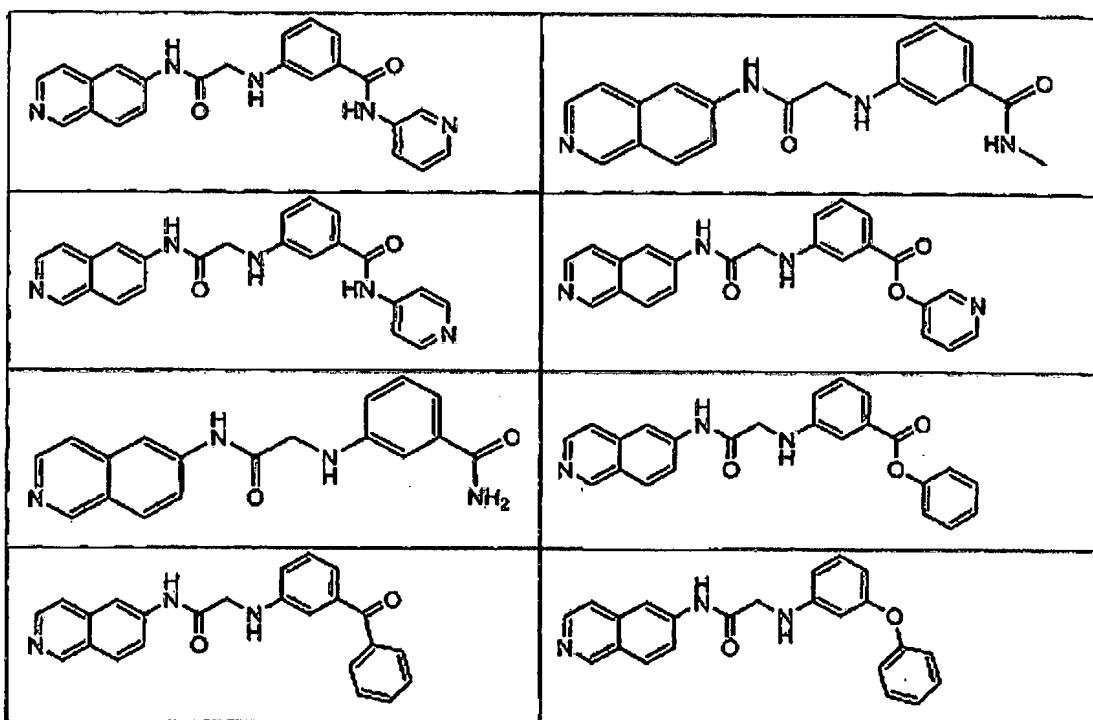
27. Compuesto según la reivindicación 25 ó 26, en el que el estado comprende enfermedad ocular.

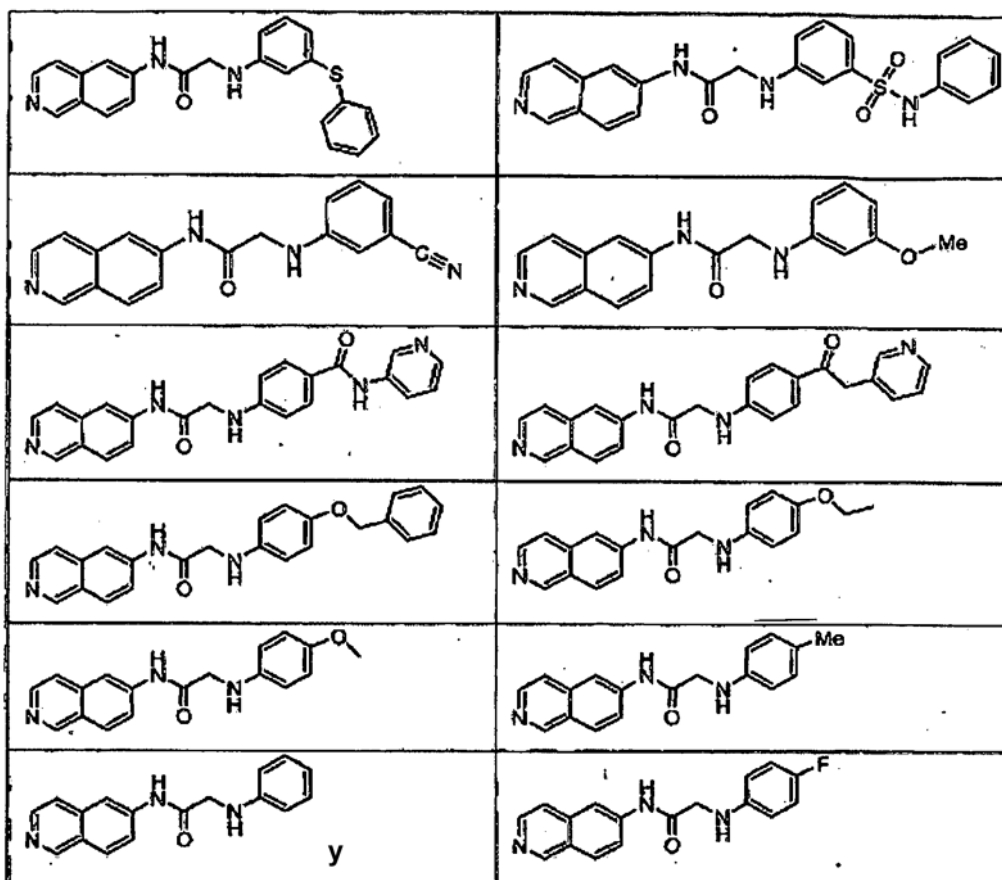
28. Compuesto según la reivindicación 27, en el que el estado comprende glaucoma.

29. Compuesto según la reivindicación 25 ó 26, en el que R¹, R³ y R⁵ son, independientemente, hidrógeno, halógeno, alquilo C₁-C₈, alcoilo, -O-R⁷, amino, nitro, ciano, arilo, alquilarilo C₁-C₄, heteroarilo, alquil C₁-C₄-heteroarilo, carbonilamino, tioalquilo, sulfonilo, sulfonilamino, acilo o carboxilo;

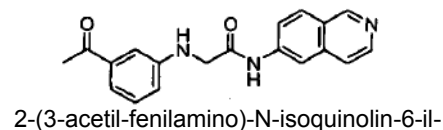
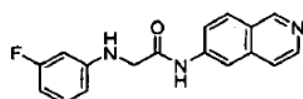
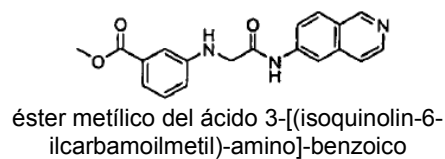
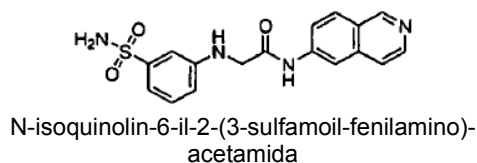
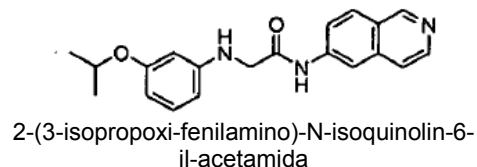
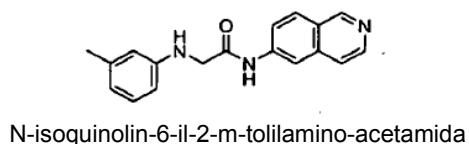
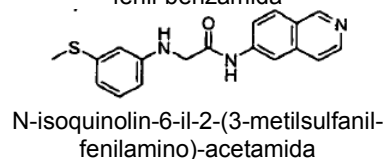
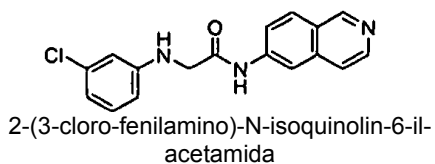
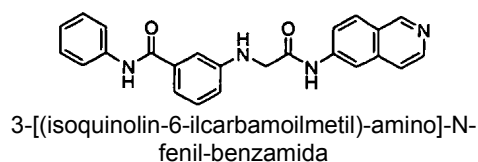
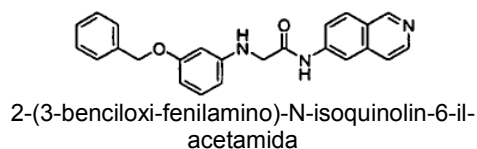
R² y R⁴ son, independientemente, hidrógeno, halógeno, alquilo C₁-C₈, alcoxilo, -O-R⁷, amino, nitro, ciano, arilo, alquilarilo C₁-C₄, alquil C₁-C₄-heteroarilo, carbonilamino, tioalquilo, sulfonilo, sulfonilamino, acilo o carboxilo.

30. Compuesto según la reivindicación 1, 7 ó 14, seleccionado de los siguientes:

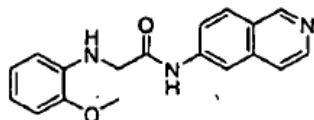




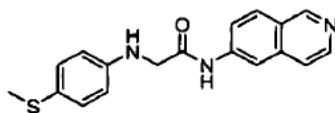
o



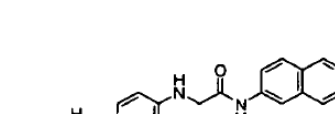
2-(3-fluoro-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida



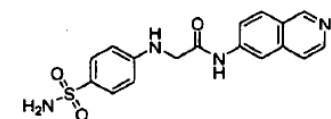
N-isoquinolin-6-il-2-(2-metoxi-fenilamino)-acetamida



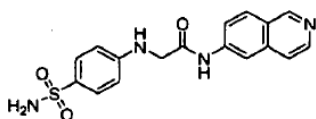
N-isoquinolin-6-il-2-(4-(metiltio)fenilamino)-acetamida



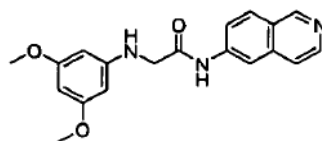
N-(2-fluorofenil)-4-(2-isoquinolin-6-il-amino)-2-oxoetilamino)benzamida



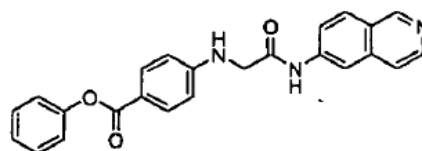
N-(isoquinolin-6-il)-2-(4-sulfamoilfenilamino)acetamida



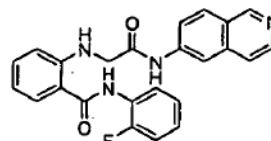
acetamida



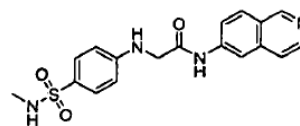
2-(3,5-dimetoxi-fenilamino)-N-isoquinolin-6-il-acetamida



4-(2-(isoquinolin-6-il-amino)-2-oxoetilamino)benzoato de fenilo



N-(2-fluorofenil)-2-(2-isoquinolin-6-il-amino)-2-oxoetilamino)benzamida



N-(isoquinolin-6-il)-2-(4-(N-metilsulfamoil)fenilamino)acetamida

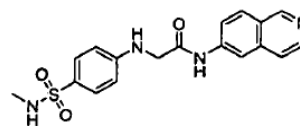


FIG. 1

Efecto de la preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK2 sobre la translocación de B-arrestina inducida por ISO en B2wt

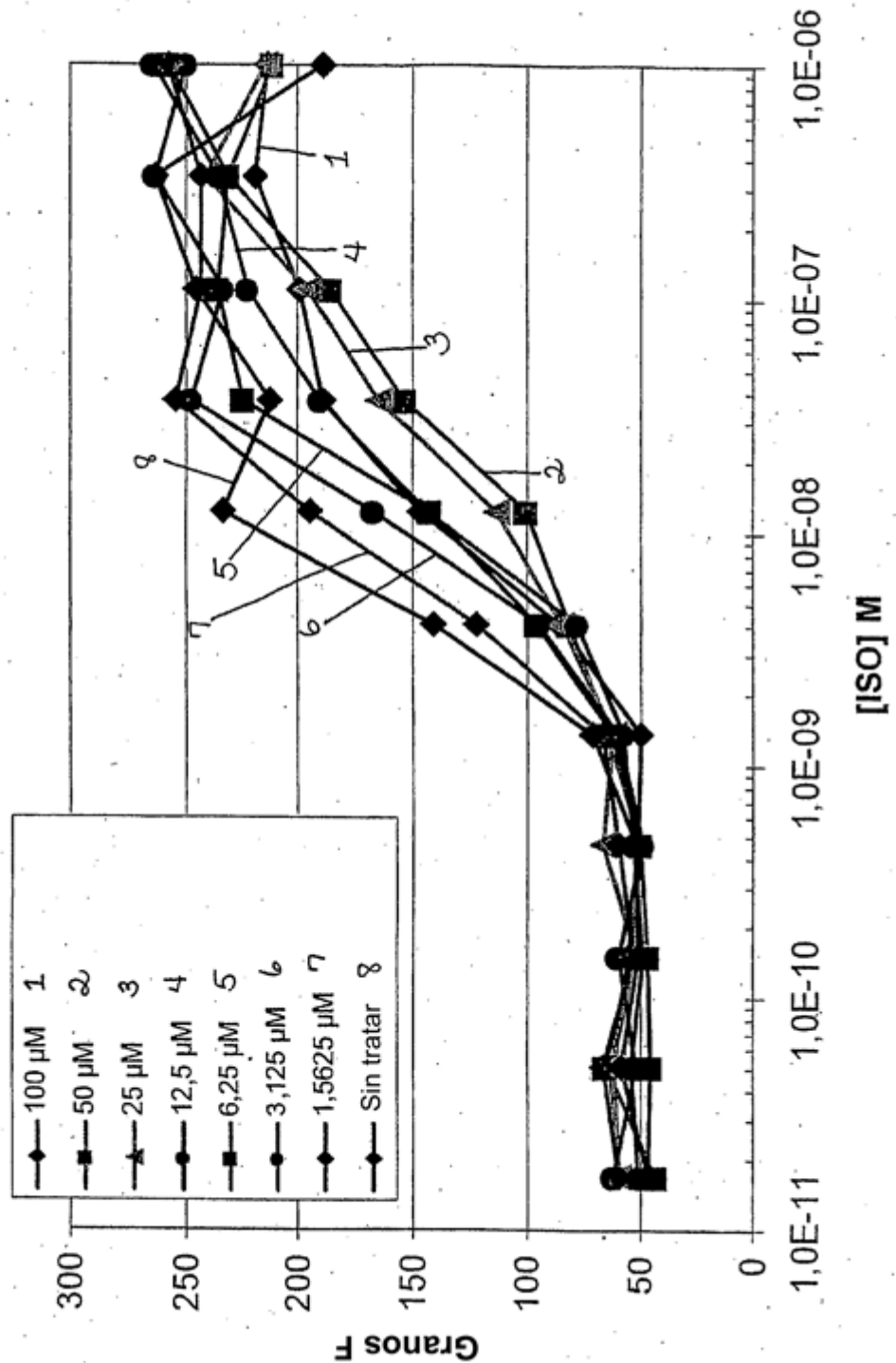


FIG. 2

Efecto de la preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK2 sobre la translocación de B-arrestina inducida por ISO en B1wt

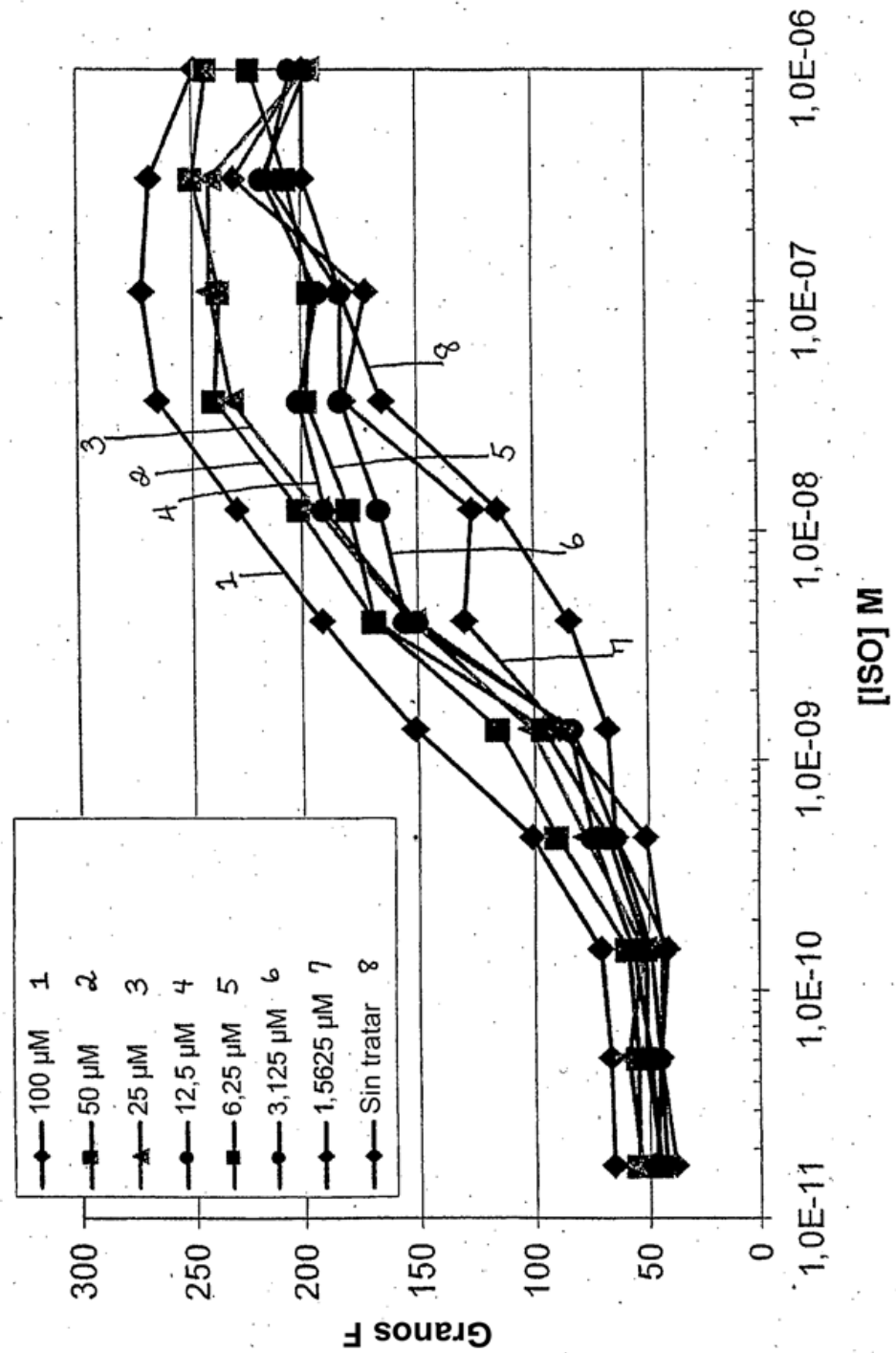


FIG. 3

Efecto de la preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK2 sobre la translocación de B-arrestina inducida por morfina del receptor de opioides mu

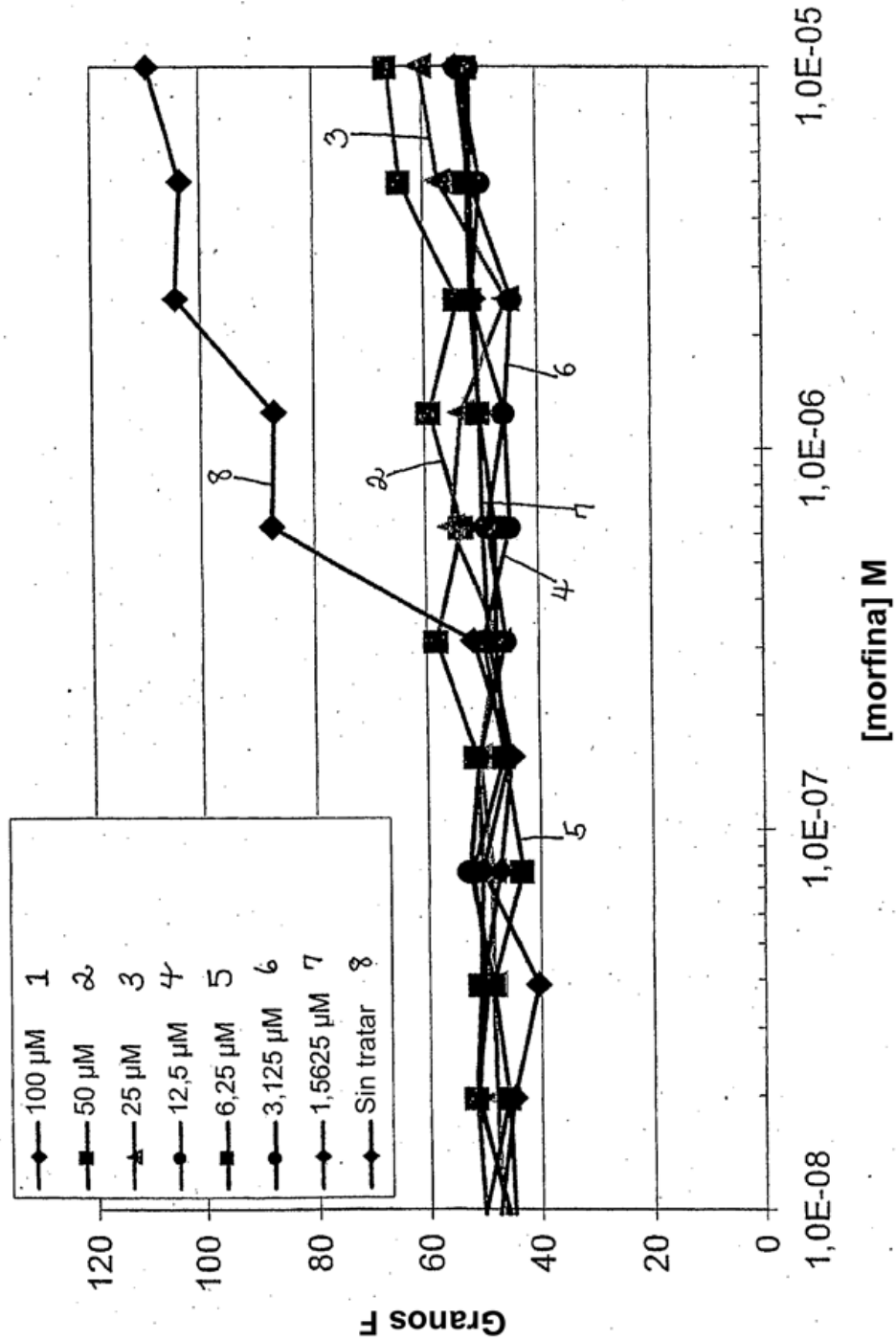


FIG. 4

Efecto de la preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK2 sobre la translocación de B-arrestina inducida por ISO en B2wt

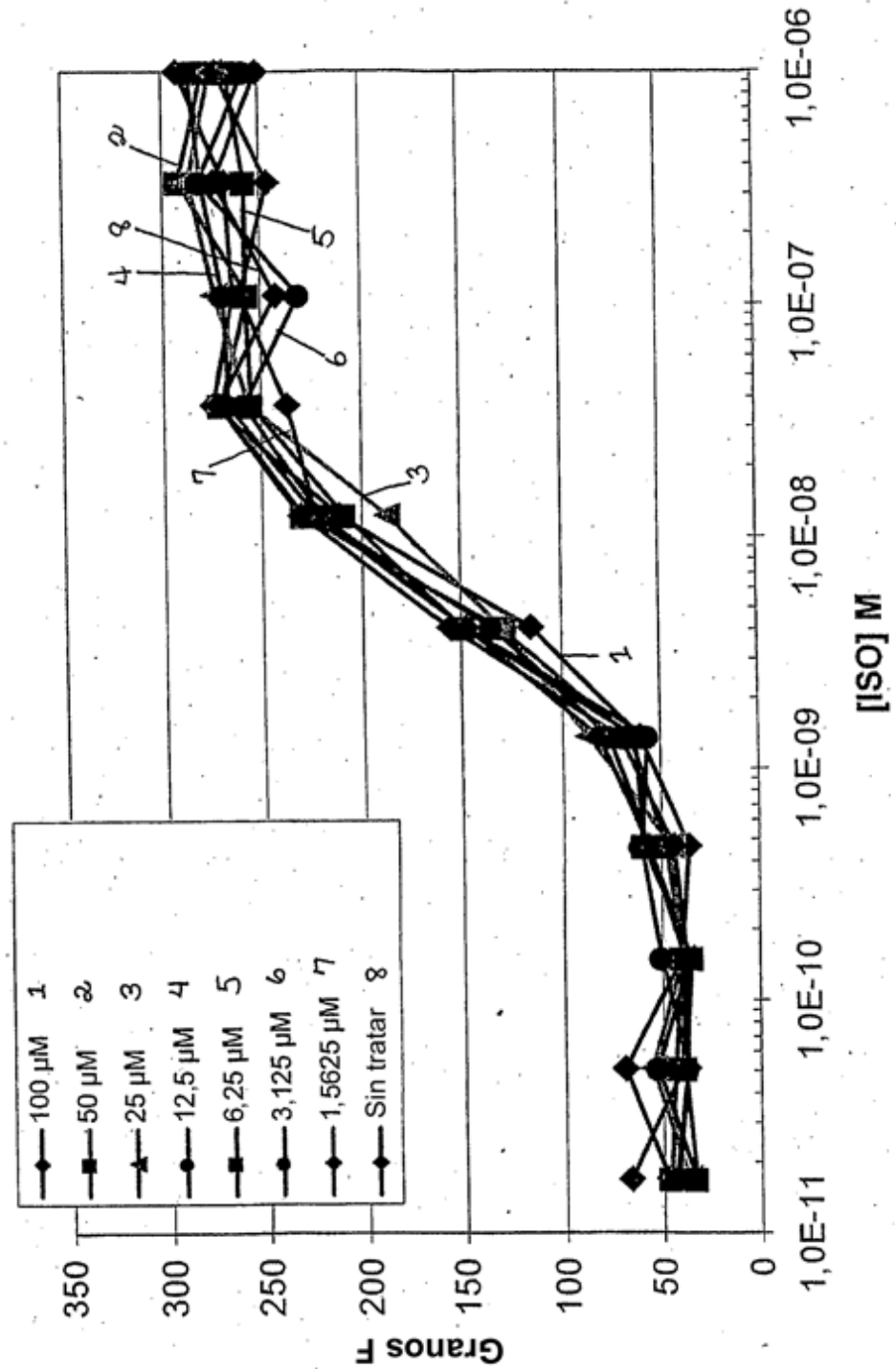


FIG. 5

Efecto de la preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK2 sobre la translocación de B-arrestina inducida por ISO en B1wt

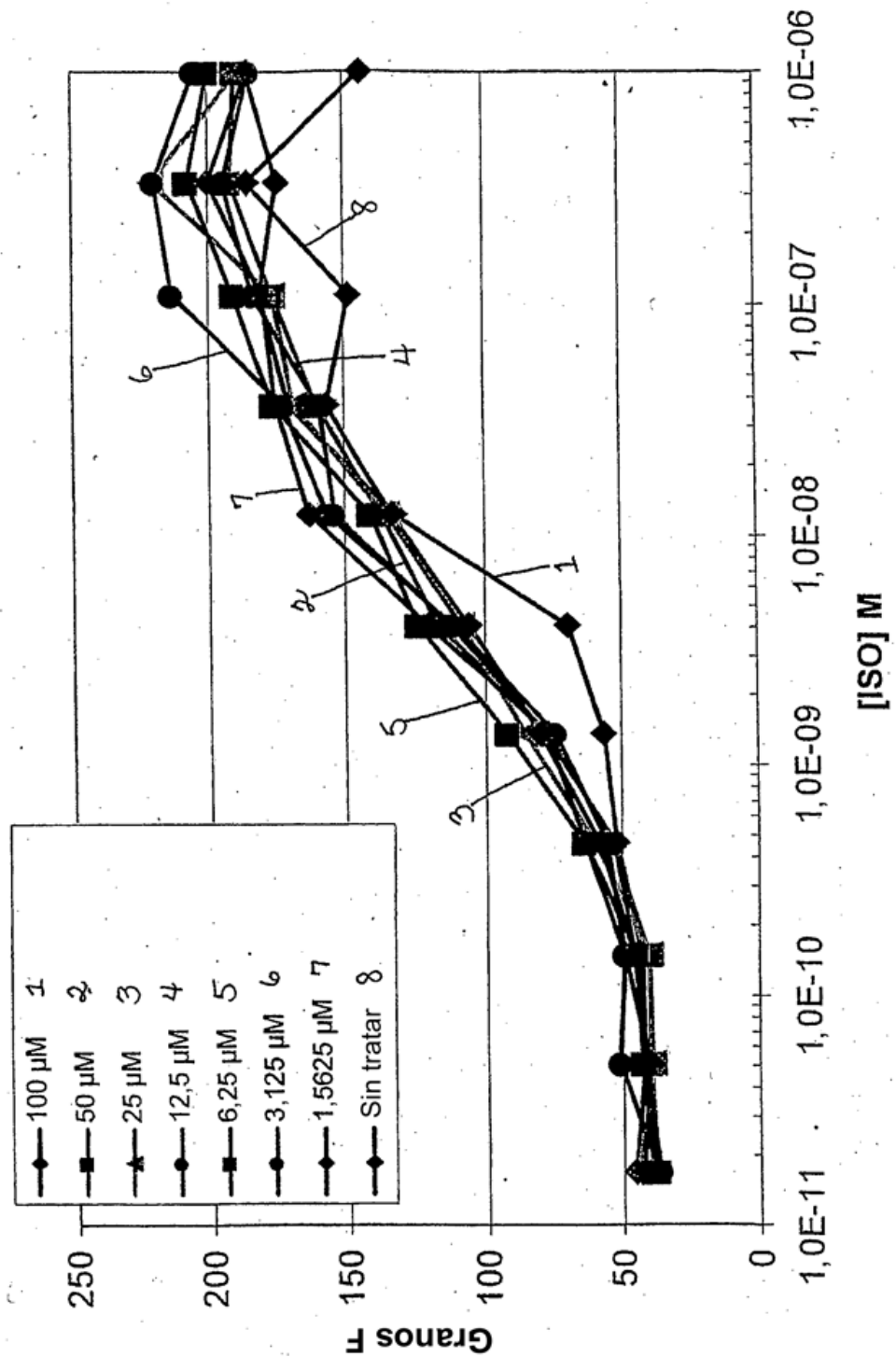


FIG. 6

Efecto de la preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK2 sobre la translocación de B-arrestina inducida por morfina del receptor de opioides mu

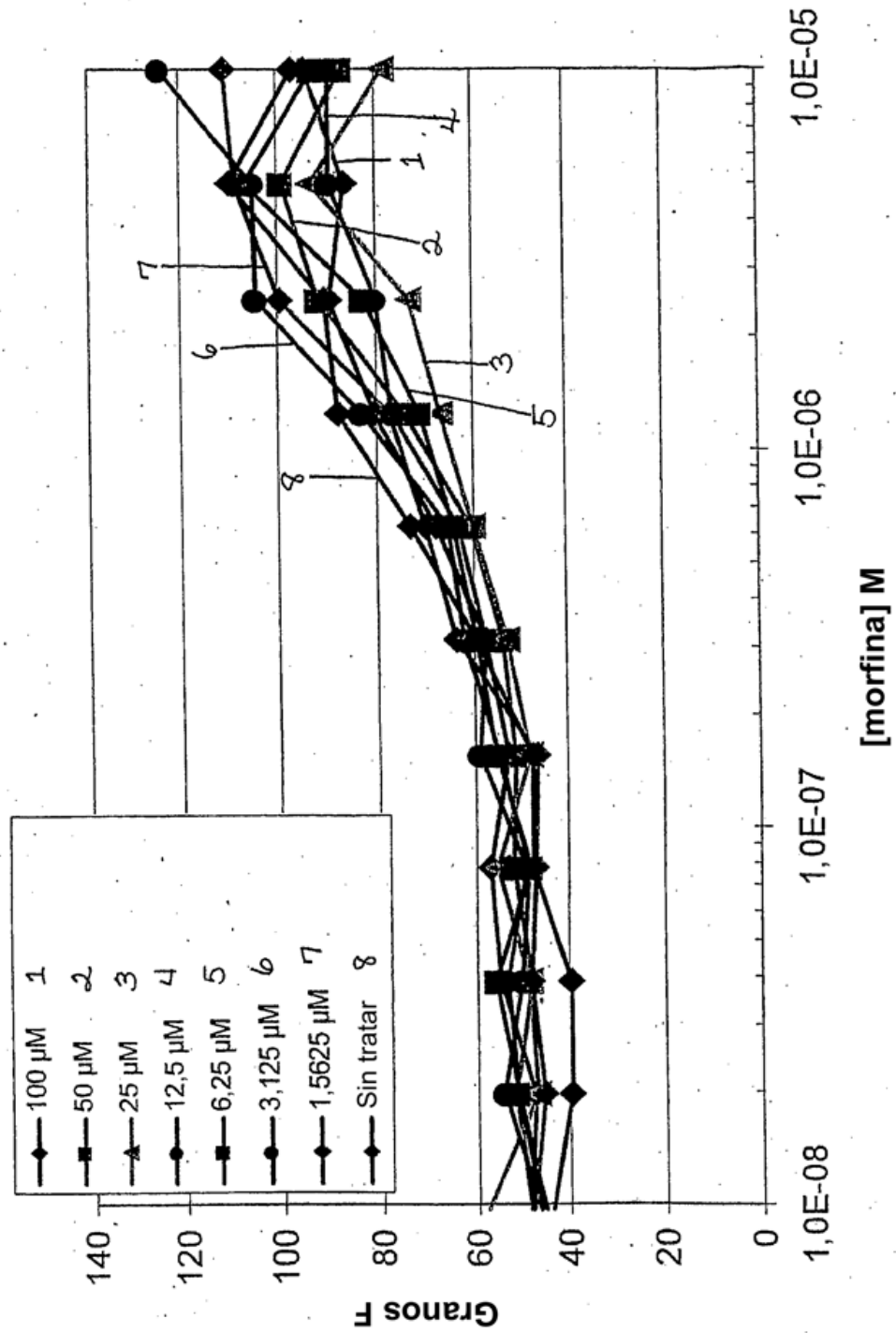


FIG. 7

Efecto de la preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK2 sobre la translocación de B-arrestina inducida por ISO en B2wt

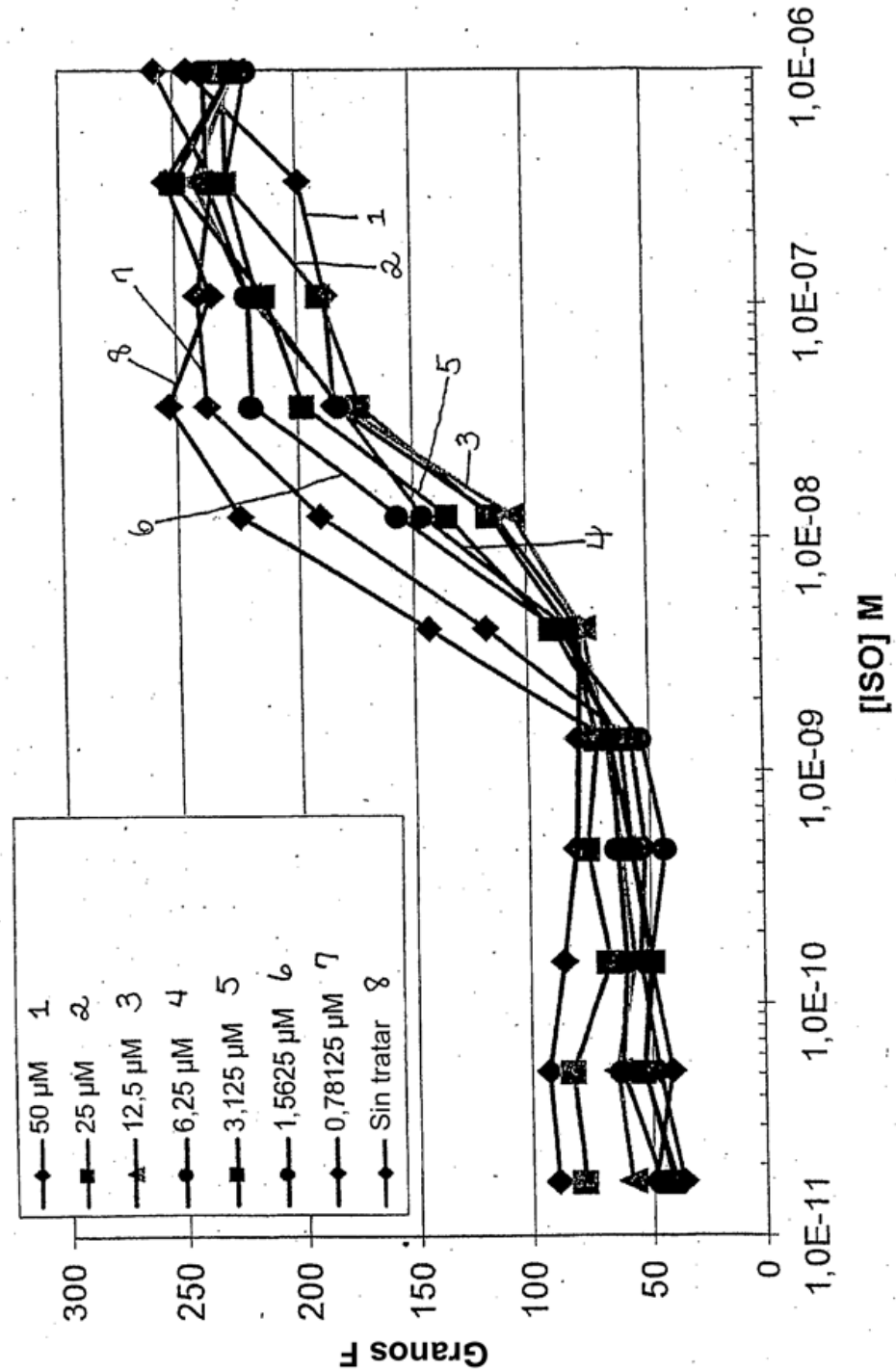


FIG. 8

Efecto de la preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK2 sobre la translocación de B-arrestina inducida por ISO en B1wt

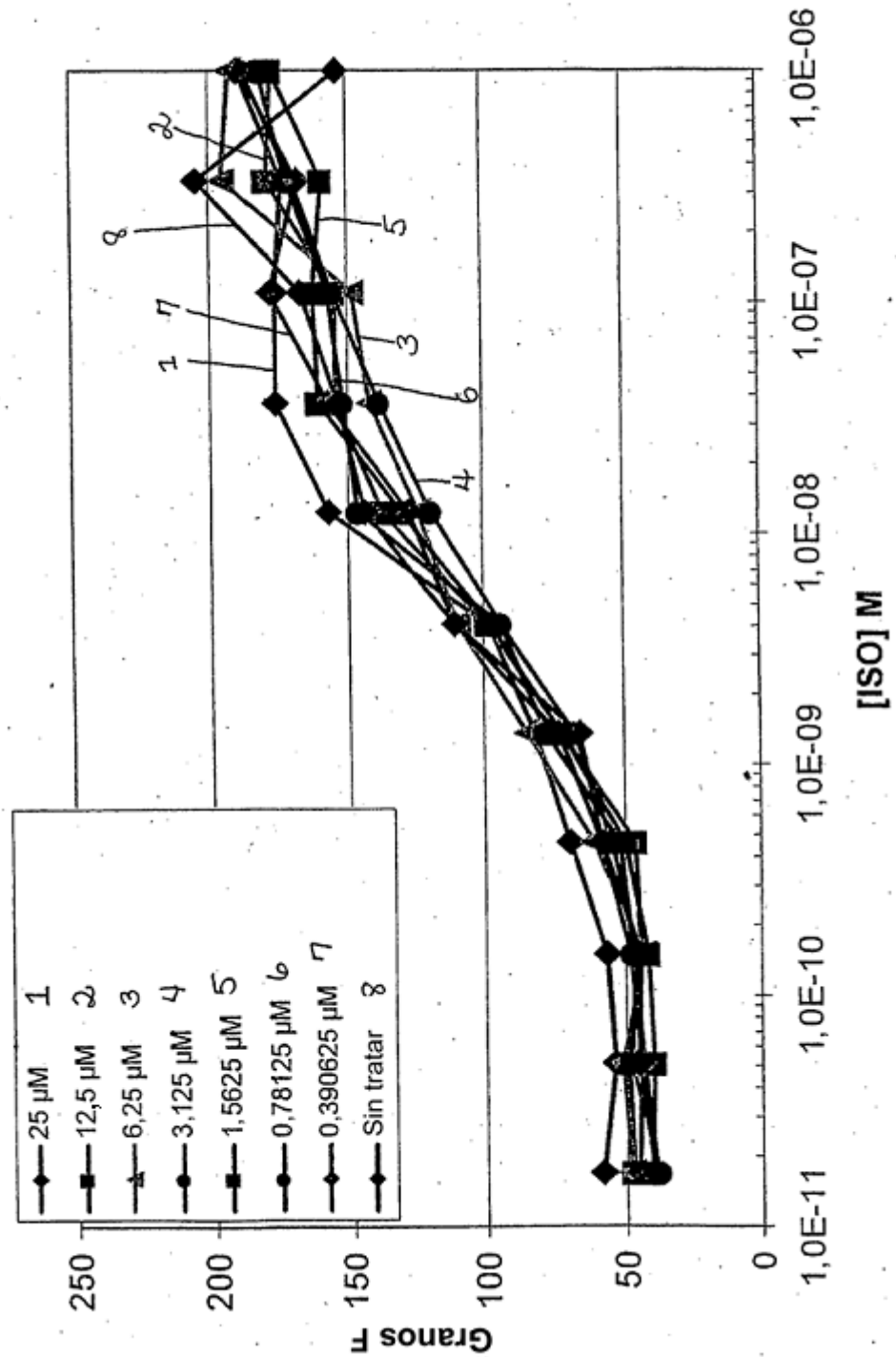


FIG. 9

Efecto de la preincubación de 60 minutos del inhibidor de GRK2 sobre la translocación de B-arrestina inducida por morfina del receptor de opioides mu

