



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 341 809**

(51) Int. Cl.:

C07D 217/22 (2006.01)

C07D 217/24 (2006.01)

A61K 31/472 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 27/06 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **07802697 .8**

(96) Fecha de presentación : **17.08.2007**

(97) Número de publicación de la solicitud: **2054389**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **06.05.2009**

(54)

Título: **Derivados de isoquinolina 6-sustituídos como inhibidores de ROCK-I.**

(30)

Prioridad: **18.08.2006 EP 06119142**

(73)

Titular/es: **N.V. ORGANON**
P.O. Box 20 Kloosterstraat 6
5349 Ab Oss, NL

(45)

Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.06.2010

(72)

Inventor/es: **Ray, Peter, Christopher;**
Laats, Steven;
Morphy, John, Richard y
Sherborne, Brad

(45)

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.06.2010

(74)

Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 341 809 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de isoquinolina 6-sustituidos como inhibidores de ROCK-I.

Esta invención se refiere a derivados de isoquinolina 6-sustituidos, a composiciones farmacéuticas que comprenden los mismos, así como al uso de estos derivados para la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos relacionados con ROCK-I, tales como glaucoma, hipertensión y aterosclerosis.

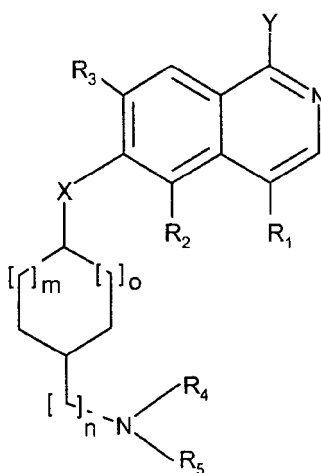
La inmensa mayoría de las rutas de transducción de señal están controladas por la fosforización reversible de proteínas. Actualmente existen aproximadamente 500 proteínas cinasas conocidas, que son responsables de la fosforilación de proteínas y por lo tanto del control de eventos de señalización celulares. Muchas enfermedades están asociadas con respuestas celulares anormales desencadenadas por eventos mediados por proteínas cinasas y se han realizado esfuerzos sustanciales en la química medicinal para encontrar inhibidores de proteínas cinasas que sean eficaces como agentes terapéuticos. La familia de proteínas cinasas se clasifica en tirosina cinasas y serina/treonina cinasas, basándose en el resto aminoácido que fosforilan. Recientemente, también se han descubierto histidina cinasas (que fosforilan el nitrógeno de imidazol sobre un resto de histidina).

La subfamilia AGC de cinasas pertenece a la familia de cinasas de serina y treonina y participa en una diversidad de procesos de señalización. Esta subfamilia incluye proteína cinasa formadora de superenrollamientos asociada a Rho (ROCK). Se ha informado sobre dos isoformas de ROCK: ROCK-I/ROCK β /p160ROCK y ROCK-II/ROCK α /Rho-cinasa. Estas dos proteínas comparten una similaridad del 65% al nivel aminoácido y del 92% en sus dominios de cinasa.

ROCK-I y ROCK-II estaban entre los primeros efectores de las GTPasas pequeñas de la familia de Rho que se descubrió. La ruta de señalización de Rho-ROCK controla la adhesión de la conformación de células, la contractividad, la movilidad celular y la invasión. Los inhibidores de primera generación Y-27632 y Faucidil se han usado mucho para aclarar los papeles biológicos de ROCK-I y ROCK-II en diversas enfermedades y/o trastornos. Como resultado, se ha sugerido que los inhibidores de ROCK tienen valor terapéutico en el asma bronquial, vasoespasmos cerebrales, vasoespasma coronario, disfunción eréctil, glaucoma, parto prematuro, proliferación vascular de músculo liso, hipertrofia de miocardio, malignoma, lesión inducida por isquemia/reperfusión, disfunción endotelial, enfermedad de Crohn y colitis, crecimiento de neuritis, enfermedad de Raynaud, angina, enfermedad de Alzheimer, hiperplasia prostática benigna, dolor neuropático, hipertensión y aterosclerosis (Mueller B. K *et al*, Nature Reviews Drug Discovery 4, 387-398 (2005); Hirooka Y. y Shimokawa H. Am. J. Cardiovasc. Drugs 5(1), 31-39 (2005); Hu E. y Lee D. Current Opinion Ther. Targets 9(4), 715-736 (2005)).

Se han descubierto derivados de isoquinolina 5-sustituidos como inhibidores de la ruta de Rho/Rho cinasa en la Solicitud de Patente Internacional WO 2004/00955 (documento EP 1541559; Asahi Kasei Pharma Corporation). Se describieron derivados de 5-isoquinolilamina N-sustituidos como inhibidores de Rho cinasa en la Solicitud de Patente Internacional WO 2004/024717 (documento EP 1550660; Kirin Brewery Kabashiki Kaisha). Se ha desvelado que los compuestos de quinazolona inhiben o modulan la actividad de la proteína cinasa A (PKA) y la proteína cinasa B (PKB) en la Solicitud de Patente Internacional WO 2006/051290. Sigue existiendo la necesidad de compuestos adicionales útiles en el tratamiento de enfermedades mediadas por Rho cinasa tales como glaucoma hipertensión y aterosclerosis.

Con ese propósito, la presente invención proporciona derivados de isoquinolina 6-sustituidos que tienen la Fórmula general I



Fórmula I

ES 2 341 809 T3

En la que

X es O, S o NH;

Y es OH o NH₂;

m es 0, 1 ó 2;

n es 0 ó 1;

o es 0 ó 1;

R₁ es H, cuando Y es NH₂; o R₁ es H alquilo (C₁₋₄) o halógeno cuando Y es OH;

R₂ y R₃ son independientemente H, alquilo (C₁₋₄) ó halógeno;

R₄ es H o alquilo (C₁₋₆), opcionalmente sustituido con halógeno, cicloalquilo (C₃₋₇) arilo (C₆₋₁₀), o un anillo heterocíclico saturado de 5 ó 6 miembros que comprende 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente entre O, S y N, estando el arilo (C₆₋₁₀) y el anillo heterocíclico opcionalmente sustituidos con alquilo (C₁₋₄), alquiloxi (C₁₋₄) o halógeno;

R₅ es H o alquilo (C₁₋₄); o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

con la condición de que se excluyan los compuestos de Fórmula I en la que X es O, Y es OH, n es 0 y m+o = 2.

La condición se refiere a la divulgación reciente en la Solicitud de Patente Internacional WO 2007/012422 (Sanofi-Aventis Deutschland GMBH) de derivados de ciclohexilamina isoquinolona como inhibidores de Rho-cinasa.

El término alquilo (C₁₋₄), como se usa en la definición de la Fórmula I, se refiere a un grupo alquilo ramificado o sin ramificar que tiene 1-4 átomos de carbono, tal como butilo, isobutilo, butilo terciario, propilo, isopropilo, etilo y metilo.

Análogamente, el termino alquilo (C₁₋₆), como se usa en la definición de la Fórmula I, se refiere a un grupo alquilo ramificado o sin ramificar, que tiene 1-6 átomos de carbono, tal como hexilo, pentilo, isopentilo, butilo, isobutilo, butilo terciario, propilo, isopropilo, etilo y metilo.

El término cicloalquilo (C₃₋₇) se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene 3-7 átomos de carbono, tal como cicloheptilo, ciclohexilo, ciclopentilo, ciblobutilo y ciclopentilo.

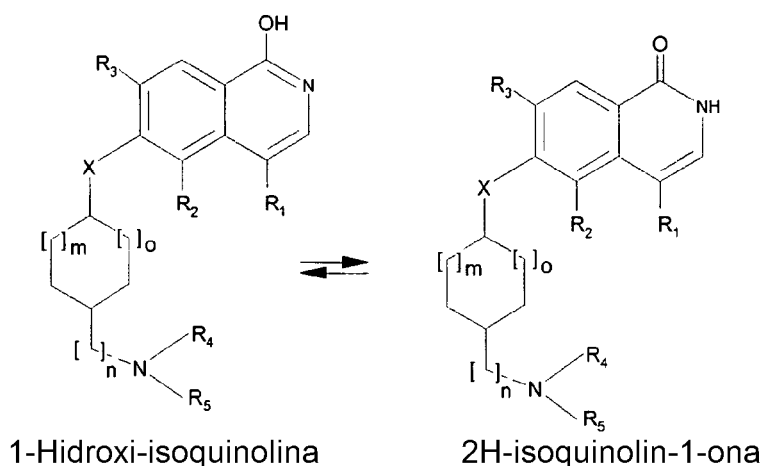
En el término alquilo (C₁₋₄), el alquilo (C₁₋₄) tiene el significado que se ha definido anteriormente.

El término halógeno se refiere a F, Cl, Br o I.

El término arilo (C₆₋₁₀) se refiere a un sistema de anular aromático que tiene 6-10 átomos de carbono, tal como fenilo o naftilo.

En la definición de la Fórmula I, el anillo heterocíclico saturado de 5 ó 6 miembros que comprende 1-3 heteroátomos seleccionados entre O, S y N se ejemplifica por tetrahidropiranilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiopiranilo, tetrahidrotienilo, piperidinilo, morfolinilo y tiomorfolinilo.

Existe una preferencia para los derivados de isoquinolina 6-sustituidos de Fórmula I en la que Y es OH. Se entiende que estos compuestos también pueden aparecer en la forma de amida tautomérica O y por lo tanto también pueden describirse como 2H-isoquinolin-1-ona:



Otros compuestos preferidos de Fórmula I son aquellos en los que X es O. En los compuestos mas preferidos de la invención para la Fórmula I, R_1 y R_3 son independientemente H, metilo o halógeno, y R_2 es H.

Son derivados de isoquinolina 6-sustituidos específicamente preferidos de la invención:

- (1S,3R)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;

- 6-(4-aminometilciclohexiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;

- (1R,3R)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;

- (1R,3S)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;

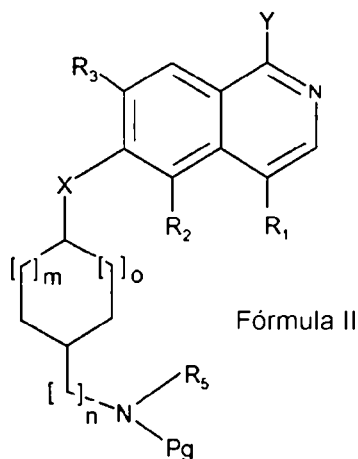
- (1S,3S)-6-(3-aminociclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;

- (1R, 3R)-6-(3-aminociclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;

- *cis*-6-(4-aminociclohexilsulfanil)isoquinolin-1-ilamina;

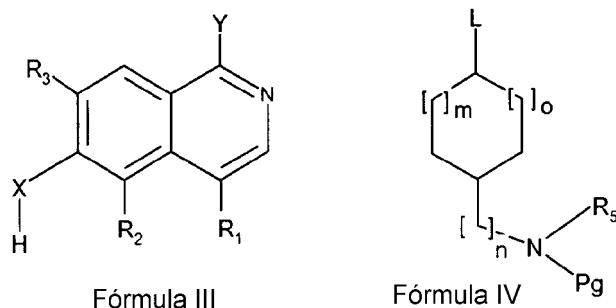
- (1S,3S)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Los compuestos de Fórmula I pueden prepararse a partir de un compuesto de Fórmula II en la que R_1 - R_3 , R_5 , X, Y, m, n y o tienen el significado definido previamente, teniendo opcionalmente cualquier grupo reactivo de Y un grupo protector, Pg es un grupo protector de N, por la retirada de dicho grupo protector de N (Pg) y posterior N-alkilación con un haluro apropiado de fórmula R_4 -Hal, o por aminación reductora con un aldehído apropiado obtenido a partir del grupo R_4 , después de lo cual se retira cualquier grupo protector restante.



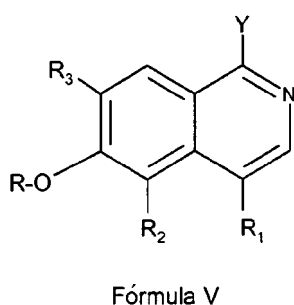
El término grupo protector de N se refiere a un grupo usado habitualmente para la protección de un grupo amino, tal como el grupo aloxicarbonilo (Alloc), el grupo *tert*-butiloxicarbonilo (Boc), el grupo benciloxicarbonilo (Z) o el grupo 9-fluorenil-metiloxicarbonilo (Fmoc). La retirada de estos y otros grupos protectores puede realizarse de varias maneras, dependiendo de la naturaleza de los grupos protectores. Una vista general sobre los grupos protectores y métodos para su retirada se dan en T.W. Greene y P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2ª edición, 1991, John Wiley & Sons, Inc.

Los compuestos de Fórmula II pueden prepararse a partir del acoplamiento de un compuesto de Fórmula III, en la que R₁-R₃, X e Y tienen el mismo significado que se ha definido previamente, con un compuesto de Fórmula IV, en la que m, n, o, R₅ y Pg tienen el significado dado previamente y en la que L es OH, usando condiciones de Mitsunobu convencionales [R.L. Elliot, H. Kopecka, D.E. Gunn, H.N. Lin y D.S. Garvey, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 6,2283 (1996); K. Wisniewski, A.S. Koldziejczyk y B. Falkiewicz, *J. Pept. Sc.* 4, 1 (1998)].

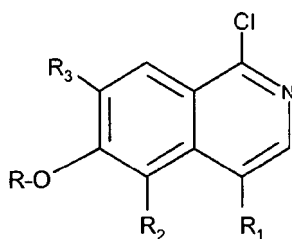


Como alternativa, los compuestos de Fórmula IV en la que L representa un grupo saliente adecuado, tal como OMs, OTs, I, Br o Cl, pueden encajar en una reacción de desplazamiento de Williamson mediada por S_N2 con un compuesto de Fórmula III en presencia de una base apropiada para producir un compuesto de Fórmula II.

Los compuestos de Fórmula III en la que X es S pueden prepararse a partir de compuestos de Fórmula III en la que X es O e Y es NH₂ que tienen un grupo protector tal como Alloc, ftaloilo, benzoilo, por tratamiento con cloruro de dimetiltiocarbamoilo para dar el O-éster (Newman, M. S. y Kermes, H. A. *J. Org. Chem.* 1966, 31, 3980) y posterior conversión de Newman-Karnes del O-éster en el S-éster usando irradiación con microondas, seguido de hidrólisis del S-éster.



Los compuestos de Fórmula III en la que X es O pueden obtenerse a partir de la desmetilación de un compuesto de Fórmula V, en la que R₁-R₃ e Y tienen el significado dado previamente y en la que R es metilo, por reacción con BBr₃ [J.F.W. McOmie y D.E. West, *Org. Synth., Collect. Vol. V*, 412 (1973)] o con EtSNa [A.S. Kende y J. P. Rizzi, *Tetrahedron Lett.*, 22, 1779 (1981)]. Como alternativa, también puede emplearse un compuesto de Fórmula V en la que R es bencilo y el grupo bencilo puede retirarse usando condiciones de hidrogenación apropiadas.

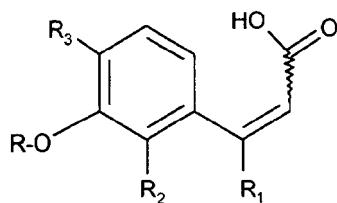


Fórmula VI

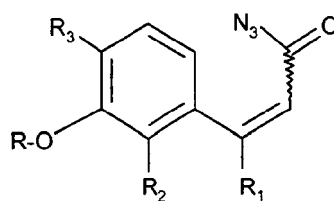
Un compuesto de Fórmula VI es un material de partida apropiado para preparar compuestos de Fórmula V. El grupo cloro de los compuestos de Fórmula VI puede transformarse directamente en un grupo amina por calentamiento del anterior con amoníaco a presión. Como alternativa, el grupo cloro en los compuestos de Fórmula VI puede convertirse en un grupo fenoxi por reacción con fenol en condiciones alcalinas. El tratamiento del derivado de fenoxi con acetato de amonio producen el derivado de amina de Fórmula V.

Los compuestos de Fórmula V también pueden obtenerse por tratamiento de un compuesto de Fórmula VI con azida sódica y posterior reducción de la aril ácida con PPh_3 .

Los compuestos de Fórmula VI pueden obtenerse a partir de compuestos de Fórmula V, en la que Y es OH, por tratamiento con cloruro de fosforilo.



Fórmula VII



Fórmula VIII

Los compuestos de Fórmula V, en la que Y es OH, pueden prepararse a partir de los ácidos cinámicos correspondientes de Fórmula VII. Los ácidos se convierten en los cloruros de acilo que después se transforman en las acil azidas de Fórmula VIII, que experimentan transposición de Curtius después del calentamiento para producir unos isocianatos intermedios, que después del calentamiento adicional dan como resultado una reacción de cierre del anillo intramolecular para dar una isoquinolinona de Fórmula V.

Los compuestos de Fórmula I en la que X = NH pueden prepararse por conversión del OH fenólico en compuestos de Fórmula III para dar el bromuro correspondiente, que posteriormente se acopla con un derivado de amina de Fórmula IV ($\text{L} = \text{NH}_2$) mediante una reacción de aminación catalizada con paladio (Wolfe J. P., Tomori H., Sadighi J. P., Yin, J y Buchwald S. L. J. Org. Chem. 2000, 65, 1158-1174).

Los derivados de isoquinolina 6-sustituídos de Fórmula I y sus sales pueden contener al menos un centro de quiralidad, y por lo tanto pueden existir en forma de estereoisómeros, incluyendo enantiómeros y diastereómeros. La presente invención incluye los estereoisómeros mencionados anteriormente dentro de su alcance y cada uno de los enantiómeros R y S individuales de los compuestos de Fórmula I y sus sales, sustancialmente libres, es decir, asociados con menos del 5%, preferiblemente menos del 2%, en particular menos del 1% del otro enantiómero, y mezclas de dichos enantiómeros en cualquier proporción incluyendo las mezclas racémicas que contienen cantidades sustancialmente iguales de los dos enantiómeros.

Los métodos para la síntesis asimétrica o separación quiral por los que se obtienen los estereoisómeros puros son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, síntesis con inducción quiral o partiendo de sustratos quirales disponibles en el mercado, o separación de estereoisómeros, por ejemplo usando cromatografías sobre medios quirales o por cristalización con un contra-ión quiral.

Las sales farmacéuticamente aceptables del derivado de isoquinolia 6-sustituido de la invención pueden obtenerse por tratamiento de una base libre de un compuesto de Fórmula I con un ácido mineral tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico y ácido sulfúrico, o un ácido orgánico tal como, por ejemplo, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido maleico, ácido malónico, ácido fumárico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido propiónico, ácido acético y ácido metanosulfónico.

Los compuestos de la invención pueden existir tanto de formas no solvatadas como en formas solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. En general, las formas solvatadas se consideran equivalentes a las formas no solvatadas para el propósito de la invención.

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden derivados de isoquinolina 6-sustituidos de acuerdo con la Fórmula general I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, mezcladas con auxiliares farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente otros agentes terapéuticos. El término "aceptable" significa que es compatible con los otros ingredientes de la composición y no nocivo para los receptores de la misma. Las composiciones incluyen, por ejemplo, las adecuadas para administración oral, sublingual, subcutánea, intravenosa, epidural, intratecal, intramuscular, transdérmica, pulmonar, local o rectal, y similares, todas ellas en formas de dosificación individuales para la administración.

Una vía de administración preferida es la vía oral.

Para la administración oral, el ingrediente activo puede presentarse como unidades separadas tales como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, soluciones, suspensiones o similares.

Para la administración parenteral, la composición farmacéutica de la invención puede presentarse en recipientes individuales o multidosis, por ejemplo, líquidos para inyección en cantidades predeterminadas, por ejemplo en viales y ampollas cerradas herméticamente, y también puede almacenarse en condiciones de secado por congelación (liofilizado) que sólo requieren la adición de un vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua, antes del uso.

Mezclado con dichos auxiliares farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, como se describe en la referencia convencional, Gennaro, A.R. *et al*, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20ª Edición, Lippincott Williams & Wilkins, 2000, véase especialmente Parte 5: (Pharmaceutical Manufacturing), el agente activo puede comprimirse en unidades de dosificación sólidas, tales como píldoras o comprimidos, o procesarse en cápsulas, supositorios o trociscos. Por medio de líquidos farmacéuticamente aceptables, el agente activo puede aplicarse en forma de una composición fluida, por ejemplo, en forma de una preparación para inyección, en forma de una solución, suspensión, emulsión, o en forma de un pulverizador, por ejemplo, un pulverizador nasal.

Para preparar unidades de dosificación sólidas, se contempla el uso de aditivos convencionales tales como cargas, colorantes, aglutinantes poliméricos y similares. En general, puede usarse cualquier aditivo farmacéuticamente aceptable que no interfiera con la función de los compuestos activos. Los vehículos adecuados con los que puede administrarse el agente activo de la invención en forma de composiciones sólidas incluyen lactosa, almidón, derivados de celulosa y similares, o mezclas de los mismos usados en cantidades adecuadas. Para la administración parenteral, pueden usarse suspensiones acuosas, soluciones salinas isotónicas y soluciones inyectables estériles, que contienen agentes de dispersión y/o agentes humectantes farmacéuticamente aceptables, tales como propilenglicol o butilenglicol.

La invención también incluye una composición farmacéutica, como se ha descrito anteriormente en este documento, junto con un material de empaquetamiento adecuado para dicha composición, incluyendo dicho material de empaquetamiento instrucciones para el uso de la composición para el uso como se ha descrito anteriormente en este documento.

Los compuestos pueden usarse en el tratamiento de enfermedades mediadas por Rho cinasa, tales como glaucoma, hipertensión y aterosclerosis.

Los compuestos de la invención pueden administrarse a seres humanos en una cantidad suficiente y durante una cantidad de tiempo suficiente para aliviar los síntomas. A modo de ilustración, los niveles de dosificación para seres humanos pueden estar en el intervalo de 0,001-50000 por kg de peso corporal, preferiblemente en una dosificación de 0,01-20 mg por kg de peso corporal.

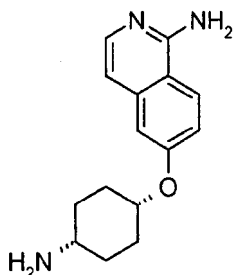
La invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos.

General

Se usan las siguientes abreviaturas:

Eluyente: x-y % de disolvente A en disolvente B significa que se usó un gradiente del eluyente de x % (v/v) de disolvente A en disolvente B al y % (v/v) de disolvente A en disolvente B.

Ejemplo 1

Cis-6-(4-aminocicloexiloxi) isoquinolin-1-ilaminaA: *Clorhidrato de N-óxido de 6-metoxi-isoquinolina*

A temperatura ambiente, se añadieron en porciones de 133 g de ácido *m*-cloroperbenzoico (pureza del 75%) a una solución en agitación de 6-metoxi-isoquinolina [Hendricks, J.B. y Rodríguez, C., J. Org. Chem. 1983, 48, 3344-3346; 79,8 g; 500 mmol] en 1,2 l de diclorometano. La agitación se continuó durante 3 horas y posteriormente se añadió metanol (1 l). La masa entera se redujo a 700 ml, después de lo cual se añadieron 800 ml de una solución saturada de cloruro de hidrógeno en éter dietílico. La dilución con 1,5 de éter dietílico dio como resultado la precipitación de cristales de color amarillo, que se separaron por filtración, se lavaron con éter dietílico enfriado y se secaron al vacío para dar clorhidrato de N-óxido de 6-metoxi-isoquinolina (85 g, 80%), (+)-FAB-MS 176 [M+H+Cl]⁺.

B: *1-cloro 6 metoxiisoquinolina*

Se añadió en porciones cuidadosamente clorhidrato de N-óxido de 6-metoxi-isoquinolina (85 g; 400 mmol) a cloruro de fosforilo (550 ml) a una temperatura de 90°C, después de lo cual la mezcla se agitó durante 6 h a 90°C. El exceso de cloruro de fosforilo se retiró al vacío. El sólido de color blanco restante se lavó con agua, se filtró y se secó al vacío para dar 1-cloro-6-metoxiisoquinolina (68 g, 88%), EI-MS: 1993 [M]⁺.

C: *6-metoxi-1-fenoxiisoquinolina*

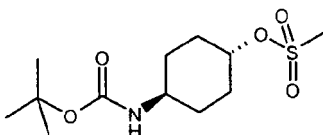
A una mezcla de 1-cloro-6-metoxiisoquinolina (85 g; 400 mmol) y fenol (67 g) se le añadió hidróxido potásico en polvo (8,4 g). La mezcla se calentó en una atmósfera de nitrógeno a 140°C durante 3 h, se dejó enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se diluyó con 280 ml de una solución 3 N de hidróxido sódico y 500 ml de diclorometano. La capa orgánica se lavó con hidróxido sódico 2 N, agua y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se secó al vacío para dar 6-metoxi-1-fenoxiisoquinolina (21,3 g, 98%), ESI-MS: 251,8 [M+H]⁺.

D: *1-amino-6-metoxiisoquinolina*

Una mezcla de 6-metoxi-1-fenoxiisoquinolina (21,3 g, 85 mmol) y acetato de amonio (55 g) se calentó en una atmósfera de nitrógeno a 150°C y se agitó durante una noche. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente, después de lo cual se añadió hidróxido sódico 3 N (280 ml) con agitación. La solución obtenida de esta manera se extrajo con acetato de etilo (2 x 300 ml) y las capas orgánicas combinadas se extrajeron con ácido clorhídrico 2 N (100 ml). Posteriormente, el pH de la capa acuosa se ajustó a 12 con hidróxido sódico 2 N. Después, la extracción con acetato de etilo (300 ml) produjo una capa orgánica que se lavó con salmuera (100 ml), se secó (sulfato de magnesio) y se concentró a presión reducida para dar 1-amino-6-metoxiisoquinolina (11 g, 75%), ESI-MS: 175,2 [M+H]⁺.

E: *1-amino-6-hidroxiisoquinolina*

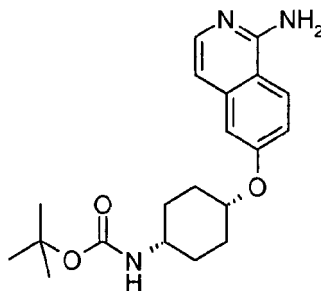
Una solución de tribromuro de boro (18,2 ml, 370 mmol) en 20 ml de diclorometano se añadió gota a gota a una solución agitada de 1-amino-6-metoxiisoquinolina (11,0 g, 63 mmol) en 150 ml diclorometano a 10°C. Después de agitar durante 4 días a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en hielo y el pH se ajustó a 9 mediante la adición de amoníaco acuoso concentrado. El material precipitado se recogió por filtración y se secó al vacío para dar 1-amino-6-hidroxiisoquinolina (8,9 g, 88%), EI-MS: 160 [M]⁺.

F: *4-Terc-butoxicarbonilaminociclohexil éster del ácido trans-metanosulfónico*

ES 2 341 809 T3

Se añadió cloruro de metanosulfonilo (135 μ l, 1,74 mmol) a una solución en agitación y enfriada (baño de hielo, 0-4°C) de éster *terc*-butílico del ácido *trans*-(4-hidroxyciclohexil)carbámico (0,25 g, 1,16 mmol) y trietilamina (243 μ l, 1,74 mmol) en diclorometano (10 ml). Después de la adición, la reacción se agitó a esta temperatura durante 30 minutos antes de que se dejara calentar a temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, se añadió hidrogenocarbonato sódico acuoso (10 ml) seguido de agitación vigorosa durante 30 minutos. La reacción se diluyó con diclorometano (20 ml) e hidrogenocarbonato sódico acuoso (20 ml) y después del reparto, la fase orgánica se lavó con agua (20 ml), se secó (sulfato de magnesio) y se evaporó a sequedad a presión reducida para producir *trans*-4-*terc*-butoxicarbonilaminociclohexil éster del ácido metanosulfónico (340 mg, 100%).

G: Éster *terc*-butílico del ácido *cis*-[4-(1-aminoisoquinolin-6-iloxi)ciclohexil]carbámico



Una suspensión de 1-amino-6-hidroxiisoquinolina (0,08 g, 0,5 mmol), *trans*-4-*terc*-butoxicarbonilaminociclohexil éster del ácido metanosulfónico (176 mg) y 2-*terc*-butilamino-2-dietilamino-1,3-dimetil-perhidro-1,3,2-diazafosforina sobre poliestireno (270 mg, carga de ~2,2 mmol/g) en acetonitrilo (2 ml) se calentaron a 120°C durante un periodo de 5 minutos usando el microondas. El exceso de reactivo soportado se retiró por filtración, lavando con acetonitrilo seguido de metanol, y el filtrado se evaporó a sequedad a presión reducida. La purificación se realizó por HPLC prep. para dar éster *terc*-butílico del ácido *cis*-[4-(1-aminoisoquinolin-6-iloxi)ciclohexil]carbámico (14 mg).

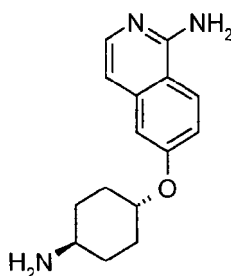
EI-MS $m/z = 358,5 [M+H]^+$.

H: *Cis*-6-(4-amino-ciclohexiloxi)-isoquinolin-1-ilamina

Una mezcla de éster *terc*-butílico del ácido *cis*-[4-(1-aminoisoquinolin-6-iloxi)ciclohexil]carbámico (14 mg) en diclorometano (900 μ l) y ácido trifluoroacético (100 μ l) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla se concentró al vacío y después se purificó por HPLC prep. para dar *cis*-6-(4-aminociclohexiloxi)isoquinolin-1-ilamina (8,1 mg) EL-MS: $m/z = 258,5 [M+H]^+$. 1H RMN (metanol D4) δ 1,55-1,80 (6H, m), 2,05-2,15 (2H, m), 2,75-2,85 (1H, m), 4,65-4,75 (1H, s ancho oscurecido), 6,88 (1H, d), 7,08-7,15 (2H, m), 7,64 (1H, d), 7,99 (1H, d).

Ejemplo 2

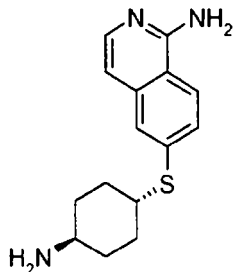
Trans-6-(4-aminociclohexiloxi)isoquinolin-1-ilamina



El compuesto del título se preparó por los procedimientos que se han descrito en los Ejemplos 1F, 1G y 1H usando el éster *terc*-butílico del ácido *cis*-(4-hidroxyciclohexil)carbámico:

EL-MS: $m/z = 258, 5 [M+H]^+$.

Ejemplo 3

Trans-6-(4-aminociclohexilsulfanil)isoquinolin-1-ilaminaA: *N*-(6-Hidroxiisoquinolin-1-il)-benzamida

Se añadió anhídrido benzoico (10,27 g) a una solución de 1-aminoisoquinolin-6-ol (3,312 g) en piridina (53 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 125°C durante 1 h, la piridina se retiró a presión reducida y el exceso de piridina se retiró por destilación azeotrópica con tolueno (x 2). Se añadió agua y la mezcla se extrajo con diclorometano (x 3), se secó (sulfato sódico) y se concentró al vacío para dar un precipitado sólido. La recristalización con diclorometano-éster dietílico dio 1-bencilaminoisoquinolin-6-il éster del ácido benzoico (6 g) EIMS: $m/z = 369,1$ $[M+H]^+$.

Una solución de NaOH (981 mg) en agua H₂O (65 ml) se añadió a una solución de 1-bencilaminoisoquinolin-6-il éster ácido benzoico (6 g) en metanol (65 ml) y tetrahidrofurano (65 ml). La mezcla se agitó durante 1,5 h a temperatura ambiente y después los extractos orgánicos se retiraron al vacío. La mezcla se diluyó con agua y después se extrajo con acetato de etilo (x 1). Después, la fase orgánica se acidificó con ácido clorhídrico diluido (pH ~3,5). La adición de acetato de etilo dio como resultado un precipitado sólido que se filtró y se lavó con MeOH frío y después con heptano para dar N-(6-hidroxiisoquinolin-1-il)benzamida (3,6 g), EIMS: $m/z = 265,1$ $[M+H]^+$.

B: *N*-(6-Mercaptoisoquinolin-1-il)-benzamida

A una solución de un compuesto *N*-(6-hidroxiisoquinolin-1-il)benzamida (100 mg, 0,379 mmol), trietilamina (105 ml, 0,758 mmol) y piridina (306 ml, 3,79 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (2 ml) se le añadió cloruro de N,N-dimetiltiocarbamoilo (70 mg, 0,568 mmol) a 0°C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se calentó a 65°C y se agitó durante 48 h. Los extractos orgánicos se retiraron a presión reducida y el exceso de piridina se retiró por destilación azeotrópica con tolueno (x 2). Se añadió NaHCO₃ acuoso saturado y la mezcla se extrajo con diclorometano (x 2), se secó (sulfato de magnesio) y se concentró al vacío para dar un residuo. La cromatografía ultrarrápida del residuo (eluyente: acetato de etilo al 5-50% en heptano) *O*-(1-benzoilaminoisoquinolin-6-il) éster del ácido dimetiltiocarbámico (70 mg), EIMS: $m/z = 352,7$ $[M+H]^+$.

Una solución del *O*-(1-benzoilaminoisoquinolin-6-il)éster del ácido dimetiltiocarbámico (70 mg) en *o*-diclorobenceno (3 ml) se irradió en un microondas a 230°C durante 30 min. La cromatografía ultrarrápida de la mezcla (eluyente: acetato de etilo al 5-50% en heptano) *S*-(1-benzoilaminoisoquinolin-6-il)éster del ácido dimetiltiocarbámico (70 mg), EIMS: $m/z = 352,7$ $[M+H]^+$.

Se añadió una solución de NaOH (92 mg) en agua H₂O (1 ml) a una solución de *S*-(1-benzoilaminoisoquinolin-6-il)éster del ácido dimetiltiocarbámico (70 mg) en MeOH (1 ml) y THF (1 ml). La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y después durante 1 hora más a 56°C. Los extractos orgánicos se retiraron al vacío, después la mezcla se diluyó con agua y se acidificó con ácido clorhídrico diluido (pH ~3,5). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (x 3), se secó (sulfato sódico) y se concentró al vacío para dar un residuo. La cromatografía ultrarrápida del residuo (eluyente: acetato de etilo al 1-5% en heptano) dio *N*-(6-mercaptoisoquinolin-1-il)-benzamida (30 mg).

C: Trans-6-(4-aminociclohexilsulfanil)isoquinolin-1-ilamina

Se añadieron carbonato potásico (160 mg) y *cis*-4-*terc*-butoxicarbonilaminociclohexil éster del ácido metanosulfónico (140 mg, 0,47 mmol) a una solución de residuo de *N*-(6-mercaptoisoquinolin-1-il)benzamida en DMA (4 ml). La mezcla se irradió en un microondas a 120°C durante 600 s y después se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa para dar éster *terc*-butilico del ácido *trans*-[4-(1-benzoilaminoisoquinolin-6-ilsulfanil)ciclohexil]carbámico. Se añadieron ácido acético glacial (1 ml) y ácido clorhídrico 6 M (2 ml) a éster *terc*-butilico del ácido *trans*-[4-(1-benzoilaminoisoquinolin-6-ilsulfanil)ciclohexil]carbámico y la mezcla se calentó a reflujo durante 24 h. Después, la mezcla se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se cargó sobre una

ES 2 341 809 T3

columna SCX acidificada previamente usando metanol y después se eluyó con amoníaco 2 M en metanol para dar la *trans*-6-(4-aminociclohexilsulfanil)isoquinolin-1-ilamina en bruto, que se purificó adicionalmente usando HPLC prep. (9 mg), EIMS: $m/z = 274,5$ $[M+H]^+$.

- 5 Los siguientes compuestos se prepararon por el procedimiento que se ha descrito en 1F, 1G y 1H usando el *trans*-4-*tert*-butoxicarbonilaminociclohexil éster:

Ejemplo 4

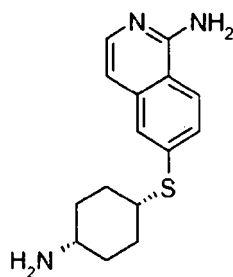
10

Cis-6-(4-aminociclohexilsulfanil)isoquinolin-1-ilamina

15

20

25



EIMS: $m/z = 274,3$ $[M+H]^+$.

30

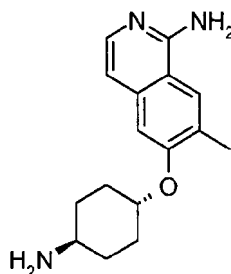
Ejemplo 5

Trans-6-(4-aminociclohexiloxi)-7-metilisoquinolin-1-ilamina

35

40

45



50

A: Bromhidrato de 1-Amino-7-metil-isoquinolin-6-ol

Una mezcla de 3-metoxi-4-metilbenzaldehído (19,3 g, 0,129 mol), carbo-metoxi metileno trifenilfosforano (51 g) en tolueno (250 ml) se calentó a reflujo durante 24 h. La mezcla se inactivó con cloruro de amonio acuoso, se extrajo con acetato de etilo y concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida usando acetato de etilo-heptano (1:1) para dar éster metílico del ácido 3-(3-metoxi-4-metilfenil)acrílico (27 g, 0,126 mol). Una mezcla del éster metílico del ácido 3-(3-metoxi-4-metilfenil)acrílico (27 g), hidróxido sódico (14 g), agua (70 ml), metanol (140 ml) y tetrahidrofurano (70 ml) se calentó a 50°C durante 1 h. La mezcla se concentró al vacío y después se añadió agua. La mezcla se filtró y se añadió HCl 5 M hasta que se produjo la precipitación. La mezcla se filtró y el precipitado sólido se lavó con agua y se secó al vacío para dar ácido 3-(3-metoxi-4-metilfenil)acrílico (23,5 g, 0,122 mol).

Posteriormente se añadieron tolueno (750 ml) y cloruro de tionilo (11 ml) al ácido 3-(3-metoxi-4-metilfenil)acrílico (20 g, 0,104 mol) a temperatura ambiente. La suspensión se calentó a reflujo durante 2 h mientras se agitaba vigorosamente para dar una solución transparente de color ligeramente amarillo. La mezcla de reacción se concentró al vacío, después se añadió tolueno y la mezcla se concentró de nuevo al vacío para dar cloruro de 3-(3-metoxi-4-metilfenil)acrililo para su uso en la siguiente etapa.

El cloruro de 3-(3-metoxi-4-metilfenil)acrilato se disolvió en acetona (800 ml). La solución resultante se añadió lentamente (15 min) a 0°C a una mezcla de azida sódica (13 g) en agua (100 ml) y acetona (100 ml) mientras se agitaba vigorosamente y se enfriaba con un baño de hielo. Después de que se completara la adición, la mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 90 minutos mientras se agitaba vigorosamente. Después, la mezcla de reacción se vertió en hielo-agua (300 ml). Después de agitar durante 15 minutos, la mezcla se filtró y el residuo sólido se lavó con exceso de agua. El residuo sólido restante se disolvió en diclorometano (45 ml). El agua liberada se retiró con un embudo de decantación. La capa de diclorometano se secó con Na₂SO₄ y se filtró para dar una solución en diclorometano de 3-(3-metoxi-4-metilfenil)acrilato azida para su uso inmediato en la siguiente etapa.

La solución de azida en diclorometano se añadió en porciones (¡Cuidadosamente!) usando un embudo de adición a éter difenílico precalentado (50 ml) a 150°C, mientras se agitaba suavemente, en un matraz de fondo redondo de tres bocas, equipado con un purgador Dean-Stark. Durante la adición, se produjo desprendimiento de gas nitrógeno con formación de isocianato. El diclorometano añadido se evaporó y se recogió con el purgador Dean-Stark. Después de que se completara la adición (~30 min) y de que no se observara desprendimiento de gas, la mezcla se calentó a reflujo (~250°C) mientras se agitaba (a ~200°C no se evapora más cantidad de diclorometano y el purgador Dean-Stark se retira rápidamente). La mezcla de reacción se mantuvo a ~250°C durante 1 h, después se enfrió 125°C y se vertió en una mezcla de acetona y heptano (1:10). Precipitó un sólido que se filtró y se secó al vacío para dar 6-metoxi-7-metil-2H-isoquinolin-1-ona (12 g, 63,49 mmol).

Una suspensión de 6-metoxi-7-metil-2H-isoquinolin-1-ona (5 g, 26,45 mmol) se trató a temperatura ambiente con oxiclورو de fósforo (22 ml). La mezcla se calentó a 100°C durante 1 h con agitación y después se concentró al vacío para dar un residuo. Al residuo se le añadió tolueno y se concentró adicionalmente al vacío para dar un residuo que se recogió en tolueno y se añadió lentamente a carbonato sódico acuoso saturado. Después la capa de tolueno se separó. La capa acuosa se mezcló adicionalmente y se extrajo con tolueno. Las capas de tolueno combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío para dar un residuo. El residuo se trituró con éter dietílico se filtró y se secó al vacío para dar 1-cloro-6-metoxi-7-metil-isoquinolina (4 g, 19,32 mmol).

Una mezcla de 1-cloro-6-metoxi-7-metil-isoquinolina (9 g, 43,48 mol), fenol (16,3 g), hidróxido potásico (9,45 g) y xileno (100 ml) se calentó a reflujo durante 4 días. La mezcla de reacción se vertió en hidróxido sódico acuoso (4 M) y la capa xileno se separó. La capa acuosa se extrajo dos veces con tolueno. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida usando diclorometano para dar 6-metoxi-7-metil-1-fenoxiisoquinolina (9 g, 33,96 mmol).

Una mezcla de la 6-metoxi-7-metil-1-fenoxiisoquinolina en bruto (9 g, 33,96 mmol) y acetato de amonio (26 g) se fundió con agitación a 170°C durante 5 h. La mezcla se repartió entre hidróxido sódico acuoso (2 M) y acetato de etilo. Las fases se separaron y la fase orgánica se extrajo con ácido clorhídrico acuoso diluido. La fase acuosa ácida se neutralizó a pH 12 usando hidróxido sódico (2 M), se extrajo con acetato de etilo, se secó (MgSO₄) y después se secó al vacío para dar 6-metoxi-7-metilisoquinolin-1-ilamina (5,11 g, 27,18 mmol).

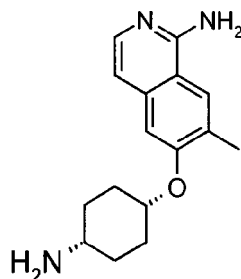
Una mezcla de 6-metoxi-7-metilisoquinolin-1-ilamina (5,11 g, 27,18 mmol) y ácido bromhídrico acuoso al 48% (150 ml) se calentó a 125°C durante 2 días. La mezcla se concentró al vacío, se trituró con éter dietílico, y se secó al vacío para dar bromhidrato de 1-amino-7-metil-isoquinolin-6-ol (5 g), EIMS: m/z = 175,1 [M+H]⁺. ¹H RMN(DMSO-D₆) δ 7,06 (1H, d), 7,16 (1H, d), 7,25 (1H, dd), 7,56 (1H, d), 8,44 (1H, dd), 8,66 (2H, s ancho), 11,05 (1H, s), 12,45 (1H, s).

B: *Trans*-6-(4-aminociclohexiloxi)-7-metilisoquinolin-1-ilamina

Se mezclaron bromhidrato de 1-amino-7-metilisoquinolin-6-ol (100 mg, 0,57 mmol), carbonato potásico (78 mg, 0,57 mmol) y *cis*-4-*tert*-butoxicarbonilaminociclohexil éster del ácido metanosulfónico (166 mg, 0,57 mmol) con *N,N*-dimetilformamida (3 ml). La mezcla se calentó en un microondas a 100°C durante 15 min. La mezcla se diluyó con agua, se acidificó con ácido acético glacial, se diluyó con metanol y se cargó sobre un cartucho SCX acidificado previamente. El producto en bruto obtenido después de la elución con amoniaco 2 M en metanol se purificó por HPLC prep. para dar *trans*-6-(4-aminociclohexiloxi)-7-metilisoquinolin-1-ilamina (8 mg), EI-MS: m/z = 272,7 [M+H]⁺.

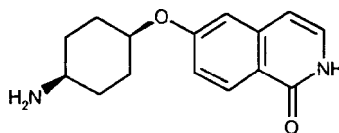
El siguiente compuesto se preparó por el procedimiento descrito anteriormente usando el mesilato sintetizado apropiadamente.

Ejemplo 6

Cis-6-(4-aminociclohexiloxi)-7-metilisoquinolin-1-ilamina

EI-MS: $m/z = 272,7$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 7A

Cis-6-(4-aminociclohexiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona (ejemplo de referencia)A: 6-Hidroxi-2H-isoquinolin-1-ona

La 1-cloro-6-metoxiisoquinolina se preparó de acuerdo con el Ejemplo 1A o a partir de 3-metoxibenzaldehído usando el mismo procedimiento que en el Ejemplo 5A. Después, la 1-cloro-6-metoxi-7-metilisoquinolina se desmetiló de acuerdo con el Ejemplo 1 para producir 1-cloroisoquinolin-6-ol.

Se mezcló 1-cloroisoquinolin-6-ol (5 g, 27,84 mmol) con ácido clorhídrico (5 M, 40 ml) y se calentó a 180°C durante 40 minutos en condiciones de microondas. La mezcla se dejó enfriar y después se enfrió. El sólido de color pardo se lavó con éter dietílico y se secó en el horno a 50°C al vacío para dar 6-hidroxi-2H-isoquinolin-1-ona, 4,45 g (98%), EI-MS: $m/z = 162,4$ $[M+H]^+$. 1H RMN (Metanol-D₄) δ 6,80 (1H, d), 7,01 (1H, d), 7,10 (1H, dd), 7,25 (1H, d), 8,22 (1H, d).

B: Trans-4-terc-butoxicarbonilamino-ciclohexil éster del ácido metanosulfónico

Se añadió cloruro de metanosulfonilo (135 μ l, 1,74 mmol) a una solución agitada y enfriada (baño de hielo, 0-4°C), éster *terc*-butilico del ácido (*trans*-4-hidroxyciclohexil)carbámico (0,25 g, 1,16 mmol) y trietilamina (243 μ l, 1,74 mmol) en diclorometano (10 ml). Después de la adición, la reacción se agitó a esta temperatura durante 30 minutos antes de que se dejara calentar a temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, se añadió hidrogenocarbonato sódico acuoso (10 ml), seguido de agitación vigorosa durante 30 minutos. La reacción se diluyó con diclorometano (20 ml) e hidrogenocarbonato sódico acuoso (20 ml) y después de la repartición, la fase orgánica se lavó con agua (20 ml), se secó (MgSO₄) y se evaporó a sequedad, a presión reducida para producir el éster *trans*-4-*terc*-butoxicarbonilaminociclohexil del ácido metanosulfónico (340 mg, 100%).

C: 6-(Cis-4-aminociclohexiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona

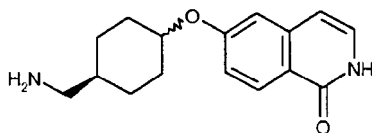
Una suspensión de 6-hidroxi-2H-isoquinolin-1-ona (0,1 g, 0,62 mmol) y carbonato potásico (0,13 g, 0,93 mmol) en DMF (2,5 ml) se calentó a 110°C y se añadió gota a gota una solución del éster *trans*-4-*terc*-butoxicarbonilaminociclohexil del ácido metanosulfónico (0,27 g, 0,93 mmol) en DMF (1,5 ml). El calentamiento se continuó a 110°C durante 16 horas y el disolvente se retiró al vacío. El residuo se recogió en cloroformo/isopropanol (3:1) y se lavó con NaOH 1 M. Los extractos orgánicos se recogieron a través de una frita hidrófoba y se concentraron para producir el producto en bruto. El residuo se purificó por HPLC prep. para dar éster *terc*-butilico del ácido *cis*-[4-(1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-iloxi)ciclohexil]carbámico, EI-MS: $m/z = 359,1$ $[M+H]^+$. Una mezcla del éster *terc*-butilico del ácido *cis*-[4-(1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-iloxi)ciclohexil]carbámico en diclorometano (0,9 ml) y ácido trifluoroacético (0,1 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se concentró al vacío y después se purificó por cromatografía de intercambio iónico para dar *cis*-(4-amino-cicloclohexiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona (3,1 mg), EI-MS: $m/z = 259,1$ $[M+H]^+$.

Los siguientes compuestos de la invención se prepararon por el procedimiento que se descrito para el ejemplo de referencia 7A usando amino alcohol protegido con Boc apropiado:

ES 2 341 809 T3

Ejemplo 7B

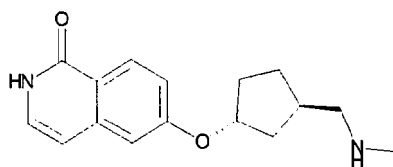
6-(4-Aminometilciclohexiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona



EI-MS: $m/z = 273,5$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 7C

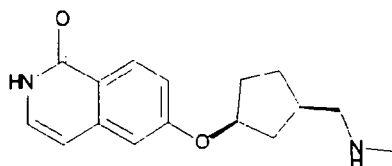
(1R,3R)-6-(3-metilaminometil-ciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona



ESI-MS: $m/z = 273,1$.

Ejemplo 7D

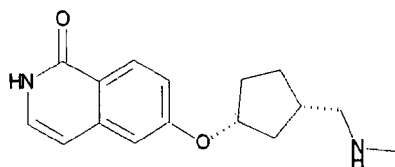
(1S,3R)-6-(3-metilaminometil-ciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona



ESI-MS: $m/z = 273,1$.

Ejemplo 7E

(1R,3S)-6-(3-metilaminometil-ciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona

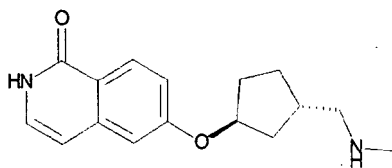


ESI-MS: $m/z = 273,1$.

ES 2 341 809 T3

Ejemplo 7F

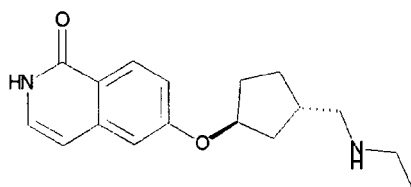
(1S,3S)-6-(3-metilaminometil-ciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona



ESI-MS: $m/z = 273,1$.

Ejemplo 7G

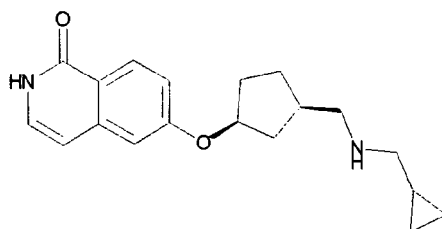
(1S,3S)-6-(3-etilaminometil-ciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona



ESI-MS: $m/z = 287,2$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 7H

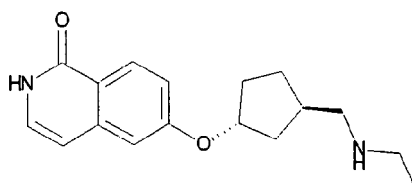
(1S,3R)-6-[3-(ciclopropilaminometil)ciclopentiloxi]-2H-isoquinolin-1-ona



ESI-MS: $m/z = 313,2$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 7I

(1R,3R)-6-(3-etilaminometil-ciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona

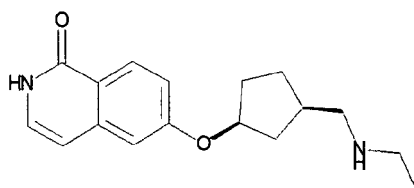


ESI-MS: $m/z = 287,2$ $[M+H]^+$.

ES 2 341 809 T3

Ejemplo 7J

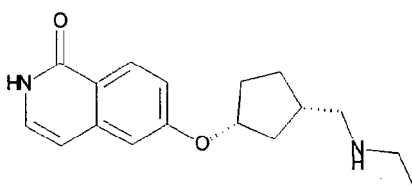
(1S,3R)-6-(3-etilaminometil-ciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona



ESI-MS: $m/z = 287,2$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 7K

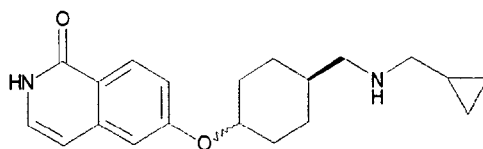
(1R,3S)-6-(3-etilaminometil-ciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona



ESI-MS: $m/z = 287,2$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 7L

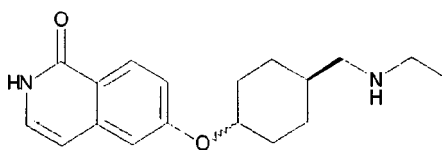
6-(4-ciclopropilmetilaminometil-ciclohexiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona



ESI-MS: $m/z = 327,3$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 7M

6-(4-etilaminometil-ciclohexiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona



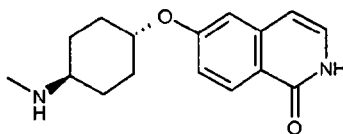
ESI-MS: $m/z = 301,1$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 8

Trans-6-(4-metilaminociclohexilo)-2H-isoquinolin-1-ona

5 (Ejemplo de referencia)

10



15

A: *Cis*-4-metilaminociclohexanol

20 Una solución 2 M de hidruro de litio y aluminio en THF (4,6 ml) se añadió gota a gota a una solución de éster *terc*-butílico del ácido *cis*-(4-hidroxi-ciclohexil)carbámico (1 g, 4,6 mmol) en THF (5 ml) con agitación a temperatura ambiente. Después de agitar durante 30 minutos, la mezcla se calentó a reflujo durante 16 horas. Después de que se dejara enfriar, se añadieron cuidadosamente agua (0,35 ml) seguido de hidróxido sódico 2 N (0,35 ml) y agua (0,35 ml). El precipitado de color blanco se retiró por filtración y el filtrado se concentró a presión reducida. La fase acuosa
25 restante se diluyó con agua y se neutralizó mediante la adición gota a gota de ácido clorhídrico 4 N. La fase acuosa se pasó lentamente a través de una columna de intercambio iónico (SCX, 10 g) y después de lavar con metanol, el producto se eluyó con amoníaco 2 M en solución de metanol. Las fracciones se combinaron y se concentraron a presión reducida para producir *cis*-4-metilaminociclohexanol (455 mg, 76%).

30 B: Éster *terc*-butílico del ácido *cis*-(4-hidroxiciclohexil)metilcarbámico

A una solución de *cis*-4-metilamino-ciclohexanol (450 mg, 3,48 mmol) en metanol (30 ml) se le añadieron dicarbonato de di-*terc*-butilo (840 mg, 3,83 mmol) e hidrogenocarbonato sódico (1,75 g, 20,9 mmol). La suspensión resultante se sonizó a 40°C durante 3 horas y después el disolvente se retiró para dar un residuo que se repartió entre agua y diclorometano. La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera saturada y después con agua antes del secado (MgSO₄) y la concentración a presión reducida para dar éster *terc*-butílico del ácido *cis*-(4-hidroxiciclohexil)metilcarbámico.

40 C: *Cis*-4-(*terc*-butoxicarbonilmetilamino)ciclohexil éster de ácido metanosulfónico

Se añadió cloruro de metanosulfonilo (290 µl, 3,72 mmol) a una solución en agitación y enfriada (baño de hielo, 0-4°C) de éster *terc*-butílico del ácido *cis*-(4-hidroxiciclohexil)metilcarbámico (710 mg, 3,10 mmol) y trietilamina (520 µl, 3,72 mmol) en diclorometano (15 ml). Después de la adición, la reacción se agitó a esta temperatura durante 30 minutos antes de dejarse calentar a temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, se añadió hidrogenocarbonato sódico acuoso (15 ml), seguido de agitación vigorosa durante 30 minutos. La reacción se diluyó con diclorometano (30 ml) e hidrogenocarbonato sódico acuoso (30 ml) y después de repartirse la fase orgánica se recogió y se evaporó a sequedad a presión reducida para producir *cis*-4-(*terc*-butoxicarbonilmetilamino)ciclohexil éster del ácido metanosulfónico (930 mg, 98%).

50 D: Éster *terc*-butílico del ácido *trans*-metil[4-(1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-iloxi)ciclohexil]carbámico

Una suspensión de 6-hidroxi-2H-isoquinolin-1-ona (410 mg, 2,52 mmol) y carbonato potásico (420 mg, 3,03 mmol) en DMF (7 ml) se calentó a 110°C y se añadió gota a gota una solución de *cis*-4-(*terc*-butoxicarbonilmetilamino)ciclohexil éster del ácido metanosulfónico (930 mg, 3,03 mmol) en DMF (3 ml). El calentamiento se continuó a 110°C durante 16 horas y el disolvente se retiró al vacío. El residuo se recogió en cloroformo/isopropanol (3:1) y se lavó con hidrogenocarbonato sódico acuoso. Los extractos orgánicos se recogieron a través de una frita hidrófoba y se concentraron para producir el producto en bruto. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre sílice (eluyente: diclorometano seguido de amoníaco 2 M en metanol) para dar éster *terc*-butílico del ácido *trans*-metil[4-(1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-iloxi)ciclohexil]carbámico (400 mg, 42%), EI-MS: m/z = 373,1 [M+H]⁺.

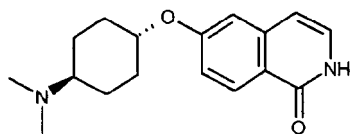
60 E: *Trans*-6-(4-metilaminociclohexilo)-2H-isoquinolin-1-ona

Una solución de éster *terc*-butílico del ácido *trans*-metil[4-(1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-iloxi)ciclohexil]carbámico (400 mg, 1,07 mmol) en diclorometano (9 ml) y ácido trifluoroacético (1 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se concentró al vacío y después se purificó por cromatografía de intercambio iónico para dar *trans*-6-(4-metilaminociclohexilo)-2H-isoquinolin-1-ona, EI-MS: m/z = 273,4 [M+H]⁺.

Ejemplo 9A

Trans-6-(4-dimetilaminociclohexiloxy)-2H-isoquinolin-1-ona

5 (Ejemplo de referencia)



15

Se añadieron un par de gotas de ácido acético glacial a una solución de *trans*-6(4-metilaminociclohexiloxy)-2H-isoquinolin-1-ona (Ejemplo 12; 25 mg, 92 (μ mol) y formaldehído (40 (μ l) en acetonitrilo (1 ml). La mezcla se agitó durante 20 minutos y después se añadió triacetoxiborohidruro sódico (100 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y después se concentró al vacío. El residuo se repartió entre cloroformo/isopropanol (3:1) e hidrogenocarbonato sódico acuoso. La capa orgánica se separó y después se concentró para dar un residuo que se purificó por HPLC prep. para dar *trans*-6-(4-dimetilaminociclohexiloxy)-2H-isoquinolin-1-ona, EI-MS: $m/z = 287,3$ $[M+H]^+$.

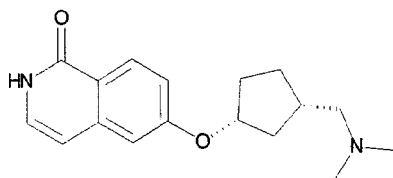
25

Los siguientes compuestos se prepararon por los mismos procedimientos que se han descrito anteriormente para los ejemplos de referencia 8 y 9A usando la amina apropiada:

30 Ejemplo 9B

(1R,3S)-6-(3-dimetilaminometil-ciclopentiloxy)-2H-isoquinolin-1-ona

35



40

45

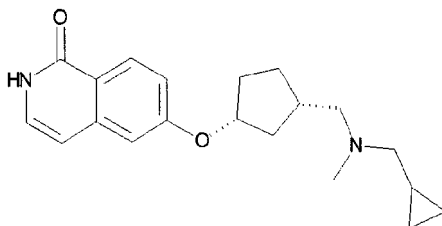
ESI-MS: $m/z = 287,2$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 9C

50

(1R,3S)-6-[3-((ciclopropilmetilmetilamino)-metil)-ciclopentiloxy]-2H-isoquinolin-1-ona

55



60

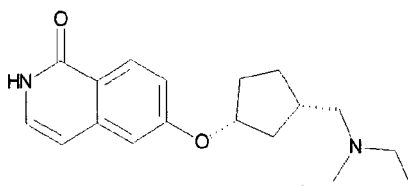
65

ESI-MS: $m/z = 327,3$ $[M+H]^+$.

ES 2 341 809 T3

Ejemplo 9D

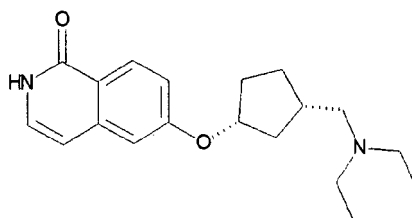
(1R,3S)-6-[3-((etilmetilamino)-metil)-ciclopentiloxi]-2H-isoquinolin-1-ona



ESI-MS: $m/z = 301,3$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 9E

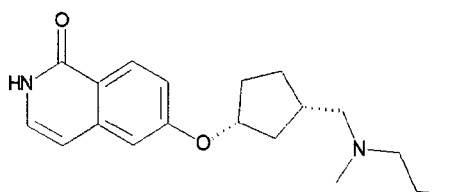
(1R,3S)-6-(3-(dietilaminometil-ciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona



ESI-MS: $m/z = 315,2$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 9F

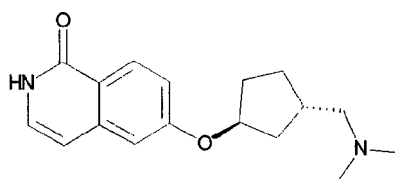
(1R,3S)-6-(3-(propilmetilaminometil-ciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona



ESI-MS: $m/z = 315,3$ $[M+H]^+$.

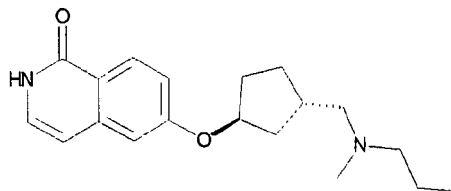
Ejemplo 9G

(1S,3S)-6-(3-(dimetilaminometil-ciclopentilox)-2H-isoquinolin-1-ona

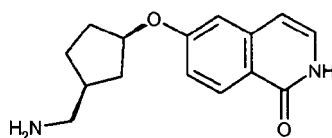


ESI-MS: $m/z = 287,2$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 9H

(1S,3S)-6-(3-(propilmetilaminometil-ciclopentilox)-2H-isoquinolin-1-onaESI-MS: $m/z = 315,3 [M+H]^+$.

Ejemplo 10

(1R,3S)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona

Se añadió dicarbonato de di-*tert*-butilo (260 mg, 1,2 mmol) a una solución de (1S,3S)-3-aminometilciclopentanol (100 mg, 1 mmol) en diclorometano (1,5 ml) y trietilamina (415 μ l, 3 mmol) a -5°C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y después se agitó durante una noche. Se añadió agua, la mezcla se diluyó con diclorometano y la fase orgánica se separó y se concentró al vacío para dar éster *tert*-butilico del ácido (1S,3R)-(3-hidroxiciclopentilmetil) carbámico. Sin purificación adicional el residuo se disolvió en diclorometano (2 ml) y trietilamina (182 μ l). Se añadió cloruro de metano sulfonilo (102 μ l) a ~5°C y la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 días. Se añadió NaHCO₃ acuoso saturado, la mezcla se diluyó con diclorometano y la fase orgánica se separó y se concentró al vacío para dar (1R,3S)-3-(*tert*-butoxicarbonilaminometil)ciclopentil éster del ácido metanosulfónico, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Se añadió una solución de (1R,3S)-3-(*tert*-butoxicarbonilaminometil)ciclopentil éster del ácido metanosulfónico en *N,N*-dimetilformamida (2 ml) durante 15 minutos a una solución en agitación de 6-hidroxi-2H-isoquinolin-1-ona (161 mg, 1 mmol) y carbonato potásico (276 mg) en *N,N*-dimetilformamida (2 ml) a 100°C. La mezcla se agitó a 90°C durante 4 h, después se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. Se añadió NaHCO₃ acuoso saturado, la mezcla se extrajo con cloroformo:isopropanol (3:1) y la fase orgánica se concentró al vacío para dar un residuo. Al residuo se le añadió una solución de diclorometano:ácido trifluoroacético (3:1, 3 ml) y la mezcla resultante se agitó durante 3,5 h y después se concentró al vacío para dar un residuo. El residuo se cargó sobre una columna SCX acidificada previamente usando metanol y eluyendo con amoniaco 2 M en metanol para producir la (1R,3S)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona, en bruto, que se purificó por HPLC prep. (2 mg); EI-MS: $m/z = 259,1 [M+H]^+$.

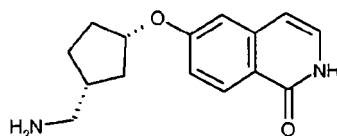
Los siguientes compuestos se prepararon por el procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 10 usando el mesilato apropiado y 6-hidroxi-2H-isoquinolin-1-ona:

ES 2 341 809 T3

Ejemplo 11A

(1S, 3R)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona

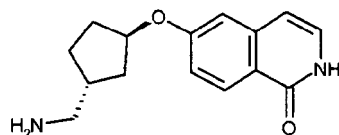
EI-MS: $m/z = 259,0$ $[M+H]^+$.



Ejemplo 11B

(1R,3S)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona

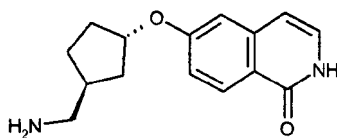
EI-MS: $m/z = 259,0$ $[M+H]^+$.



Ejemplo 11C

(1S,3S)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona

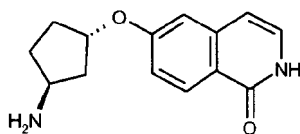
EI-MS: $m/z = 259,1$ $[M+H]^+$.



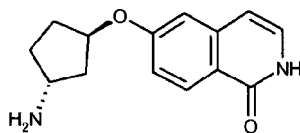
Ejemplo 11D

(1S,3S)-6-(3-aminociclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona

EI-MS: $m/z = 245,3$ $[M+H]^+$.



Ejemplo 11E

*(1R,3R)-6-(3-aminociclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona*EI-MS: $m/z = 245,3 [M+H]^+$.

Ejemplo 12

Determinación in-vitro de la actividad inhibidora de los compuestos de la invención sobre ROCK-1 humano recombinante

A una placa de microtitulación de 384 pocillos se le añaden 5 μ l de una solución 250 μ M de compuesto de ensayo en tampón de ensayo (Hepes 20 mM pH 7,4, tween al 0,01%) con dimetilsulfóxido al 4% (DMSO), más 5 μ l de una mezcla que contiene péptido marcado con fluoresceína 100 nM (AKRRRLSSLRAK-fluoresceína del Peptide Institute, Japón), ATP 20 μ M, $MgCl_2$ 10 mM diluido en tampón de ensayo que contiene ditiotritol 2 mM. Después, a cada pocillo se le añaden 10 μ l de una solución 0,1 de ng/ μ l de ROCK-1 humano recombinante en tampón de ensayo que contiene ditiotritol 2 mM, produciendo una concentración de compuesto de ensayo final de 10 μ M. Después de una hora de incubación a temperatura ambiente en la oscuridad, se detecta actividad enzimática mediante la adición de 60 μ l de reactivo de unión a IMAP (Molecular Devices) a cada pocillo. La placa se incuba durante 30 minutos más a temperatura ambiente en la oscuridad y se mide el cambio resultante en la polarización de fluorescencia en un Analyst HT (Molecular Devices) a una longitud de onda de excitación de 485 nm y a una longitud de onda de emisión de 530 nm. El porcentaje de actividad enzimática se calcula por comparación de esta actividad con la de una solución que contiene Y-27632 30 μ M Tocris (genera una inhibición máxima de la actividad de ROCK-1). Posteriormente, los compuestos se someten a un análisis de curva de respuesta de dosis con el fin de determinar los valores CI_{50} para los compuestos activos (donde CI_{50} es la concentración del compuesto de ensayo que provoca una inhibición del 50% de la actividad enzimática). La mayor parte de los compuestos de la invención se caracterizan por un valor de CI_{50} de más de 5. Los compuestos preferidos de la invención, tales como los que se describen en los ejemplos 4, 7B, 10, 11 A, 11B, 11C, 11D y 11E, tienen valores de pCI_{50} de más de 6,5.

Ejemplo 13

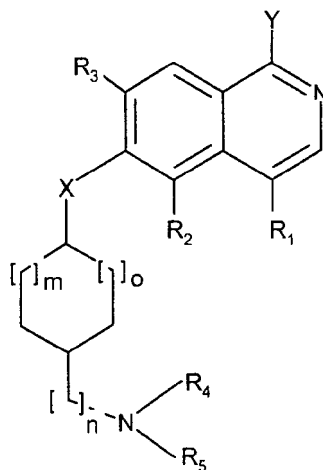
Determinación in-vitro de la actividad inhibidora de la migración de monocitos de los compuestos de la invención

Se suspendieron células monocíticas humanas (THP-1) en medio de migración (RPMI 1640 que contiene BSA al 0,1%) a una concentración de 2×10^6 células/ml en presencia y ausencia de compuesto de ensayo de inhibición. Después, la suspensión celular se incubó durante 30 min a 37°C. Después, se añadió una solución de proteína quimio-táctica de monocitos (MCP-1) a una concentración de 10 ng/ml en medio de migración a la cámara inferior del kit de migración celular de 96 pocillos QCMTM Chemotaxis 5 μ M (ECM512, Chemicon International). Después de la introducción del inserto de migración y de una etapa de preequilibrado de 10 min, se añadieron 100 μ l de la suspensión celular a la cámara superior y el kit se incubó durante 4 h a 37°C en una atmósfera de dióxido de carbono al 5%. También se incluyeron pocillos blancos y migratorios basales, que no contenían células ni MCP-1, respectivamente. El número de células migratorias se determinó por la aplicación de un tampón de lisis y tinte fluorescente sensible a ácido nucleico (CyQuantGR dye, Molecular Probes). Después, la fluorescencia se determinó usando el lector de placas FlexStation. El porcentaje de inhibición de la migración se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición de la Migración Específica (\%)} = (1 - \{(\text{células migradas en presencia de compuesto de ensayo} - \text{células migradas basales}) / (\text{células migradas en ausencia de compuesto de ensayo} - \text{células migradas basales})\}) \times 100$$

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de isoquinolina 6-sustituido que tiene la Fórmula general I



Fórmula I

en la que

X es O, S o NH;

Y es OH o NH₂;

m es 0, 1 ó 2;

n es 0 ó 1;

o es 0 ó 1;

R₁ es H, cuando Y es NH₂; o R₁ es H alquilo (C₁₋₄) o halógeno cuando Y es OH;

R₂ y R₃ son independientemente H, alquilo (C₁₋₄) o halógeno;

R₄ es H o alquilo (C₁₋₆), opcionalmente sustituido con halógeno, cicloalquilo (C₃₋₇), arilo (C₆₋₁₀), o un anillo heterocíclico saturado de 5 ó 6 miembros que comprende 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente entre O, S y N, estando el arilo (C₆₋₁₀) y el anillo heterocíclico opcionalmente sustituidos con alquilo (C₁₋₄), alquilo (C₁₋₄) o halógeno;

R₅ es H o alquilo (C₁₋₄);

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

con la condición de que se excluyan los compuestos de Fórmula I en la que X es O, Y es OH, n es 0 y m+o = 2.

2. El derivado de isoquinolina 6-sustituido de la reivindicación 1, en el que Y es OH.

3. El derivado de isoquinolina 6-sustituido de la reivindicación 1 ó 2, en el que X es O.

4. El derivado de isoquinolina 6-sustituido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que R₁ y R₃ son independientemente H, metilo o halógeno, y R₂ es H.

5. El derivado de isoquinolina 6-sustituido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que n es 0.

6. El derivado de isoquinolina 6-sustituido de la reivindicación 1 que se selecciona entre:

- (1S,3R)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;

ES 2 341 809 T3

- 6-(4-aminometilciclohexiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;
- (1R,3R)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;
- 5 - (1R,3S)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;
- (1S,3S)-6-(3-aminociclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;
- (1R,3R)-6-(3-aminociclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;
- 10 - *cis*-6-(4-aminociclohexilsulfanil)isoquinolin-1-ilamina;
- (1S,3S)-6-(3-aminometilciclopentiloxi)-2H-isoquinolin-1-ona;

15 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

7. El derivado de isoquinolina 6-sustituido una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 para su uso en terapia.

20 8. Una composición farmacéutica que comprende un derivado de isoquinolina 6-sustituido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, mezclado con auxiliares farmacéuticamente aceptables.

25 9. Uso de un derivado de isoquinolina 6-sustituido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos relacionados con ROCK-I tales como glaucoma, hipertensión y aterosclerosis.