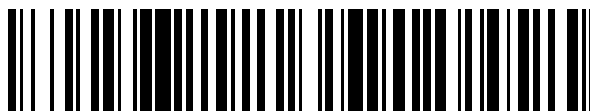


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 432 671**

51 Int. Cl.:

C07D 513/04 (2006.01)

C07D 513/14 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/428 (2006.01)

A61K 31/429 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.06.2010 E 10729848 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2013 EP 2448946**

54 Título: **2-carboxamida cicloamino ureas útiles como inhibidores de PI3K**

30 Prioridad:

02.07.2009 US 270028 P

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

04.12.2013

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)

Lichtstrasse 35

4056 Basel, CH

72 Inventor/es:

FAIRHURST, ROBIN ALEC;

GERSPACHER, MARC y

MAH, ROBERT

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 432 671 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

2- carboxamida cicloamino ureas útiles como inhibidores de PI3K

La presente invención se relaciona con 2-carboxamida cicloamino ureas sustituidas, como nuevos compuestos inhibidores de fosfatidilo inositol (PI) 3-quinasa y sus sales farmacéuticamente aceptables. La invención también se relaciona con composiciones de estos compuestos, bien sea solos o en combinación con al menos un agente terapéutico adicional, y opcionalmente en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Esta invención se relaciona todavía adicionalmente con estos compuestos, bien sea solos o en combinación con al menos un agente terapéutico adicional, para uso en la profilaxis o tratamiento de un cierto número de enfermedades, en particular, las mediadas por una o más actividad anormal de factores de crecimiento, tirosina quinasa receptoras, proteína serina/heroína quinastas, receptores acoplados con proteína G y fosfolípido quinastas y fosfatasa.

Las fosfatidilinositol 3-quinastas (PI3K) comprenden una familia de quinastas lipídicas que catalizan la transferencia de fosfato a la posición D-3' de los lípidos de inositol para producir fosfoinositol-3-fosfato (PIP), fosfoinositol-3,4-difosfato (PIP₂) y fosfoinositol-3,4,5-trifosfato (PIP₃) los cuales, a su vez, actúan como segundos mensajeros en las cascadas de señalización acumulando proteínas que contienen homología con pleckstrina, (FYVE, Fox y otros dominios enlazantes de fosfolípidos en una variedad de complejos de señalización frecuentemente en la membrana plasmática ((Vanhaesebroeck et al., Annu. Rev. Biochem 70:535 (2001); Katso et al., Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 17:615 (2001)). De las dos PI3K de Clase 1, la Clase 1A de PI3K son heterodímeros compuestos de una subunidad catalítica p110 (isoformas α , β , δ) asociados constitutivamente con una subunidad reguladora que puede ser p85 α , p55 α , p50 α , p85 β o p55 γ . La subclase Clase 1B tiene un miembro de familia, un heterodímero compuesto de una subunidad catalítica p110 γ asociada con una de dos subunidades reguladoras, p101 o p84 (Fruman et al, Annu Rev. Biochem 67:481 (1998). Suire et al., Curr. Biol. 15:566 (2005)). Los dominios modulares de las subunidades p85/55/50 incluyen dominios de homología con Src (SH2) que se enlazan a residuos de fosfotirosina en un contexto de secuencia específica sobre un receptor activado y tirosina quinastas citoplasmáticas, dando como resultado la activación y localización de las PI3K de Clase 1A. La PI3K de Clase 1B se activa directamente por receptores acoplados con proteínas G que se enlazan a un repertorio diverso de péptidos y de ligandos no peptídicos (Stephens et al., Cell 89:105 (1997)); Katso et al., Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 17:615-675 (2001)). Consecuentemente, los productos de fosfolípidos resultantes de PI3K de la Clase I se enlazan a receptores corriente arriba con actividades celulares corriente abajo incluyendo proliferación, supervivencia, quimiotaxis, tráfico celular, motilidad, metabolismo, respuestas inflamatorias y alérgicas, transcripción y traducción (Cantley et al., Cell 64:281 (1991); Escobedo y Williams, Nature 335:85 (1988); Fantl et al., Cell 69:413 (1992)).

En muchos casos, la PIP₂ y la PIP₃ reclutan Akt, el producto del homólogo humano del oncógeno viral v-Akt, a la membrana plasmática donde actúa como punto modal para muchas rutas de señalización intracelular importantes para el crecimiento y supervivencia (Fantl et al., Cell 69:413-423(1992); Bader et al., Nature Rev. Cancer 5:921 (2005); Vivanco y Sawyer, Nature Rev. Cancer 2:489 (2002)). Regulación aberrante de PI3K, la cual frecuentemente incrementa la supervivencia a través de la activación de Akt, es uno de los eventos más prevalentes en el cáncer humano y ha demostrado presentarse en múltiples niveles. El gen supresor de tumores PTEN, el cual desfosforila los fosfoinosítidos en la posición 3' del anillo de inositol y al hacer así antagoniza la actividad de PI3K, se elimina funcionalmente en una variedad de tumores. En otros tumores, los genes de la isoforma p110 α , PIK3CA, y para Akt son amplificados y se ha demostrado un incremento en la expresión proteínica de sus productos genéticos en varios cánceres humanos. Adicionalmente, las mutaciones y translocación de p85 α que sirven para sobrerregular el complejo p85-p110 han sido descritos en cánceres humanos. Finalmente, mutaciones de sentido contrario somáticas en PIK3CA que activan las rutas de señalización corriente abajo han sido descritas en frecuencias significativas en una amplia diversidad de cánceres humanos (Kang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:802 (2005); Samuels et al., Science 304:554 (2004); Samuels et al., Cancer Cell 7:561 - 573 (2005)). Estas observaciones muestran que la desregulación de la fosfoinositol-3-quinasa y los componentes corriente arriba y corriente abajo de esta ruta de señalización es una de las desregulaciones más comunes asociadas con los cánceres humanos y las enfermedades proliferativas (Parsons et al., Nature 436:792 (2005); Hennessey et al., Nature Rev. Drug Disc. 4:988-1004 (2005)).

A la vista de lo anterior, los inhibidores de PI3K serían de valor particular en el tratamiento de enfermedades proliferativas y otros trastornos. La selectividad hacia la isoforma PI3K α es deseable, y propiedades deseables adicionales incluyen propiedades farmacocinéticas y/o estabilidad química mejoradas.

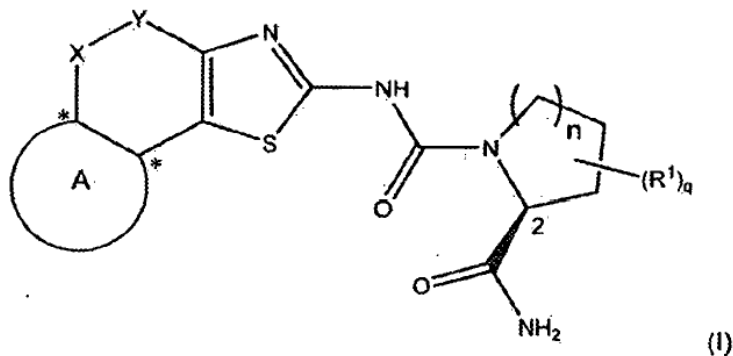
La WO2004/096797 divulga ciertos derivados de tiazol como inhibidores de PI3 quinasa y su uso como agentes farmacéuticos.

La WO 2005/021519 también divulga ciertos derivados de tiazol como inhibidores de PI3 quinasa y su uso como agentes farmacéuticos.

La US 2006/0106013 divulga ciertos derivados de tiazol como inhibidores de PI3 quinasa y su uso como agentes farmacéuticos.

Se ha encontrado ahora que las 2-carboxamida cicloamino ureas de la fórmula I dadas más adelante tienen propiedades farmacológicas ventajosas e inhiben, por ejemplo, las PI3 quinasa (fosfatidilinositol 3-quinasa). En particular, preferiblemente, estos compuestos muestran selectividad por los subtipos PI3K alfa versus beta y/o delta y/o gamma en el ensayo bioquímico y/o en el celular. Una propiedad adicional que es preferiblemente deseada para los compuestos de la fórmula I incluye una estabilidad mejorada, por ejemplo, estabilidad química mejorada, por ejemplo en forma sólida y/o en solución regulada. Por lo tanto, los compuestos de la fórmula I son adecuados, por ejemplo, para ser usados en el tratamiento de enfermedades que dependen de la PI3 quinasa (en particular PI3K alfa, tales como los que muestran mutación somática de PIK3CA o mutaciones en la línea germinal o mutación somática de PTEN), especialmente enfermedades proliferativas tales como enfermedades tumorales y leucemias.

En un primer aspecto, la presente invención provee compuestos de la fórmula I,



en donde,

A es un anillo arilo no sustituido o sustituido o un anillo heterocíclico sustituido fusionado al resto de la molécula en las posiciones indicadas por el símbolo *;

X-Y es $(CH_2)_r$, o $O(CH_2)_t$, o $(CH_2)_tO$ en donde,

r es 1, 2 o 3;

t es 1 o 2;

n es 0, 1 o 2;

q es 0, 1, 2, 3 o 4;

R^1 representa, en cada aparición,

halo;

hidroxi;

arilo no sustituido o sustituido; amino no sustituido o sustituido;

alquilo C_1 - C_7 no sustituido;

C_1 - C_7 -alquilo el cual es sustituido una o más veces por hidroxi, C_1 - C_7 -alcoxi, amino no sustituido o sustituido, arilo o heterociclilo, y en donde arilo puede ser mono o polisustituido por halo; o

dos sustituyentes R^1 forman juntos un alcanodiilo para formar una unidad estructural cíclica, sustituida opcionalmente por hidroxi o halo;

o una sal, solvato o hidrato de los mismos.

La invención puede ser apreciada más completamente con referencia a la siguiente descripción, incluyendo el siguiente glosario de términos y los ejemplos concluyentes. Tal como se utiliza aquí, los términos "que incluye", "que contiene" y "que comprende" se utilizan aquí en su sentido abierto no limitante.

Cualquier fórmula dada aquí pretende representar compuestos que tienen estructuras representadas por la fórmula estructural así como ciertas variaciones o formas. En particular, los compuestos de cualquier fórmula dada aquí pueden tener centros asimétricos y por lo tanto existen en diferentes formas estereoisoméricas tales como diferentes

formas enantioméricas. Si al menos está presente un átomo de carbono asimétrico en el compuesto de la fórmula I, tal compuesto puede existir en una forma ópticamente activa o en la forma de una mezcla de isómeros ópticos, por ejemplo, en la forma de una mezcla racémica. Así, un átomo de carbono asimétrico puede estar presente en una configuración (R)-, (S)- o (R, S)-, preferiblemente en la configuración (R) - o (S)-. Todos los isómeros ópticos y sus mezclas, incluyendo las mezclas racémicas, son parte de la presente invención. Así, cualquier fórmula dada aquí pretende representar un racemato, una o más formas enantioméricas, una o más formas diastereoméricas, una o más formas atropisoméricas, y mezclas de los mismos. Adicionalmente, ciertas estructuras pueden existir como isómeros geométricos (por ejemplo isómeros cis y trans), como tautómeros, o como atropisómeros. Por ejemplo, sustituyentes en un doble enlace o un anillo pueden estar presentes en la forma cis- (=Z-) o trans (=E-). Los compuestos de la invención pueden estar presentes así como mezclas de isómeros o preferiblemente como isómeros puros, preferiblemente como enantiómeros-diastereómeros puros o enantiómeros puros.

Cualquier fórmula dada aquí pretende representar hidratos, solvatos y polimorfos de tales compuestos, y mezclas de los mismos.

Cualquier fórmula dada aquí pretende representar formas no marcadas así como formas isotópicamente marcadas de los compuestos. Los compuestos marcados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas dadas aquí excepto que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa seleccionado. Ejemplos de isótopos que pueden ser incorporados en compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{125}I , respectivamente. Se incorporan diversos compuestos marcados isotópicamente de la presente invención, por ejemplo aquellos en los cuales los isótopos radiactivos tales como ^3H , ^{13}C , y ^{14}C . Tales compuestos isotópicamente marcados son útiles en estudios metabólicos (preferiblemente con ^{14}C), estudios de cinética de reacción (con, por ejemplo, ^2H o ^3H), detección o técnicas de formación de imágenes, tales como tomografía de emisión por positrones (PET) o tomografía computarizada de emisión de fotón individual (SPECT) incluyendo ensayos de distribución de fármacos o de tejidos sustrato o en tratamientos radioactivos de pacientes. En particular, un compuesto marcado con ^{18}F puede ser particularmente preferido para estudios de PET o SPECT. Adicionalmente, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio (^2H) puede producir ciertas ventajas terapéuticas resultantes de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo vida media incrementada in vivo o requerimientos de dosificación reducidos. Los compuestos marcados isotópicamente de esta invención y profármacos de los mismos pueden prepararse en general llevando a cabo los procedimientos divulgados en los esquemas o en los ejemplos y en la preparaciones descritas más adelante sustituyendo un reactivo isotópicamente marcado fácilmente disponible por un reactivo marcado no isotópicamente.

Adicionalmente, la sustitución con isótopos más pesados, particularmente deuterio (esto es, ^2H o D) puede producir ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una estabilidad metabólica mayor, por ejemplo, vida media incrementada in vivo o requerimientos de dosificación reducidos o un mejoramiento en el índice terapéutico. Se entiende que el deuterio en este contexto es visto como un sustituyente en el compuesto de la fórmula (I). La concentración de tal isótopo más pesado, específicamente deuterio, puede ser definida por el factor de enriquecimiento isotópico. El término "factor de enriquecimiento isotópico" tal como se utiliza aquí significa la relación entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo especificado. Si un sustituyente en un compuesto de esta invención es deuterio denotado, tal compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al menos 3500 (52.5% de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), al menos 4000 (60% de incorporación de deuterio), al menos 4500 (67.5% de incorporación de deuterio), al menos 5000 (75% de incorporación de deuterio), al menos 5500 (82.5% de incorporación de deuterio), al menos 6000 (90% de incorporación de deuterio), al menos 6333.3 (95% de incorporación de deuterio), al menos 6466.7 (97% de incorporación de deuterio), al menos 6600 (99% de incorporación de deuterio), o al menos 6633.3 (99.5% de incorporación de deuterio). En los compuestos de esta invención cualquier átomo no específicamente designado como isótopo particular pretende representar cualquier isótopo estable de ese átomo. A menos que se establezca otra cosa, cuando se designa una posición específicamente como "H" o "hidrógeno", se entiende que la posición tiene hidrógeno en su composición isotópica de abundancia natural. De acuerdo con lo anterior, en los compuestos de esta invención cualquier átomo designado específicamente como un deuterio (D) se entiende que representa deuterio, por ejemplo en los rangos dados anteriormente.

Cuando se hace referencia a cualquier fórmula dada aquí, la selección de una unidad estructural en particular de una lista de especies posibles para una variable especificada no pretende definir la unidad estructural para la aparición variable en cualquier lugar. En otras palabras, cuando aparece una variable más de una vez, la selección de las especies a partir de una lista especificada es independiente de la selección de las especies para la misma variable en cualquier lugar de la fórmula (donde una o más hasta todas las expresiones más generales en realizaciones caracterizadas como se prefieren más arriba o más abajo pueden ser reemplazadas con una definición más específica, llevando así a una realización más preferida de la invención, respectivamente).

Cuando se usa la forma plural (por ejemplo, compuestos, sales, preparaciones farmacéuticas, enfermedades y similares) esto incluye el singular (por ejemplo un compuesto individual, una sal individual, una preparación

farmacéutica individual, una enfermedad individual y similares). "Un compuesto" no excluye que (por ejemplo en una formulación farmacéutica) esté presente más de un compuesto de la fórmula (I) (o una sal del mismo).

Las sales son preferiblemente sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula (I) si portan grupos formadores de sales. Ácidos/bases requeridos para formar las sales son conocidos en general en el sector.

- 5 Las siguientes definiciones generales se aplicarán en esta especificación, a menos que se especifique otra cosa: halógeno (o halo) denota flúor, bromo, cloro o yodo, en particular flúor, cloro. Grupos y unidades estructurales sustituidos con halógeno, tales como alquilo sustituido por halógeno (halogenoalquilo) pueden ser mono-, poli- o perhalogenados.

- 10 Heteroátomos son átomos diferentes a carbono e hidrógeno, preferiblemente nitrógeno (N), oxígeno (O) o azufre (S), en particular nitrógeno.

- 15 "Alquilo" se refiere a un grupo alquilo de cadena recta o cadena ramificada, e incluye alquilo C_{1-7} y más preferiblemente alquilo C_{1-4} . Tales grupos alquilo incluyen, por ejemplo, metilo, etilo, n- o iso-propilo, n-, iso-, sec- o tert-butilo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, dándose particular preferencia a metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo y iso-butilo. Alquilo puede ser no sustituido o sustituido. Los sustituyentes de ejemplo incluyen, pero no se limitan a hidroxilo, alcoxi, halógeno (especialmente fluoro), amino y amino disustituido, amino sustituido mono- o dialquilo, acetilamino, morfolinilo, arilo. Un ejemplo de un alquilo sustituido es trifluorometilo. Cicloalquilo también puede ser un sustituyente para alquilo. Un ejemplo de tal caso es la unidad estructural (alquil)-cicloalquilo, tal como (alquil)-ciclopropilo o (alquil)-ciclobutilo, e.g. metil-ciclopropilo o metil-ciclobutilo. Un ejemplo más específico de una unidad estructural (alquilo)-cicloalquilo incluye un tipo geminal de patrón de sustitución, por ejemplo, 1-alquilo cicloalquilo, tal como 1-metilo ciclopropilo. Otro ejemplo de cicloalquilo como sustituyente para alquilo es alcandinil-cicloalquilo, tal como alcandinilo ciclopropilo, por ejemplo $-CH_2$ -ciclopropilo, alquilo C_1-C_7 es alquilo con desde e incluyendo 1 hasta e incluyendo 7 átomos de carbono, preferiblemente desde e incluyendo 1 hasta e incluyendo 4 átomos de carbono (alquilo C_1-C_4) y es lineal o ramificado; preferiblemente, alquilo inferior es butilo, tal como n-butilo, sec-butilo, isobutilo, tert-butilo, propilo, tal como n-propilo o isopropilo, etilo o preferiblemente metilo.

- 25 Cada parte alquilo de los otros grupos como "alcoxi", "alcoxialquilo", "alcoxycarbonilo", "alcoxycarbonialquilo", "alquilsulfonilo", "alquilsulfoxilo", "alquilamino", "halogenoalquilo" tendrán el mismo significado como se describió en la definición anteriormente mencionada de "alquilo".

- 30 "Cicloalquilo- C_{3-7} " se refiere a un carbociclo saturado o parcialmente saturado, monocíclico, policíclico fusionado o espiro policíclico, de 3 a 7 átomos de anillo por carbociclo. Ejemplos ilustrativos de grupos cicloalquilo incluyen las siguientes unidades estructurales: ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo, C_3-C_7 -cicloalquilo puede ser sustituidos o no sustituidos; sustituyentes de ejemplo se proveen en la definición para alquilo. Un cicloalquilo C_3-C_7 también puede estar sustituido sobre otros grupos, por ejemplo, sobre un grupo alquilo.

- 35 "Arilo" se refiere a un sistema de anillo aromático carbocíclico insaturado, preferiblemente que tiene un sistema de anillo de no más de 16 átomos de carbono, especialmente no más de 10 átomos de carbono, por ejemplo que tiene de 6 a 16, preferiblemente de 6 a 10 átomos de carbono de anillo, es preferiblemente mono- o bicíclico, y es no sustituido o sustituido. Por ejemplo, arilo es fenilo no sustituido o sustituido.

- 40 "Heterociclilo" se refiere a un radical heterocíclico que es insaturado (en particular insaturado al máximo, por ejemplo, que porta el máximo número posible de dobles enlaces conjugados en los anillos), por ejemplo heteroarilo), saturado o parcialmente saturado en el anillo de enlazamiento y es preferiblemente un anillo monocíclico o en un aspecto más amplio de la invención bicíclico; tiene 3-16 átomos de anillo, más preferiblemente 4-10 átomos de anillo, donde al menos en el enlace de anillo al radical de la molécula de la fórmula (I) uno o más, preferiblemente 1-4 átomos de anillo, especialmente uno o dos átomos de anillo son un heteroátomo seleccionado del grupo consistente de nitrógeno, oxígeno y azufre; el anillo de enlazamiento que tiene preferiblemente 4-12 átomos de anillo, especialmente 4-7 átomos de anillo, por ejemplo 6-10 átomos de anillo, especialmente para heteroarilo, tal como 5, 6, 9 o 10 átomos de anillo. El heterociclilo puede ser no sustituido o sustituido por uno o más, especialmente 1 a 3, sustituyentes seleccionados independientemente del grupo consistente de alquilo o los sustituyentes definidos anteriormente para alquilo sustituido y/o de uno o más de los siguientes sustituyentes: oxo ($=O$), tiocarbonilo ($=S$), imino ($=NH$), imino-alquilo inferior, y para heteroarilos que contienen nitrógeno, incluyendo N-óxidos de los mismos.

- 50 "Tratamiento" incluye tratamiento profiláctico (preventivo) y terapéutico, así como el retardo de la progresión de una enfermedad o trastorno.

- 55 "Enfermedades mediadas por PI3 quinasa" (especialmente enfermedades mediadas por PI3K alfa) son especialmente tales desordenes que responden de una manera beneficiosa (por ejemplo mejora de uno o más síntomas, retardo de la aparición de una enfermedad, hasta cura temporal o completa de una enfermedad) a la inhibición de una PI3 quinasa, especialmente la inhibición de la PI3Kalfa (donde las enfermedades que se van a tratar incluyen aquellas que muestran mutación somática de PIK3CA o mutaciones de la línea germinal o mutaciones somáticas de PTEN). Las enfermedades que se van a tratar incluyen específicamente enfermedades

proliferativas tales como enfermedades tumorales, incluyendo tumores sólidos, leucemias, glioblastoma, cáncer de seno y cáncer de próstata.

"Sales" (las cuales, lo que se entiende por "o sales del mismo" o "o una sal del mismo"), pueden estar presentes solas o en mezcla con el compuesto libre de la fórmula I y son preferiblemente sales farmacéuticamente aceptables. Los grupos formadores de sales en un compuesto de la fórmula (I) son grupos o radicales que tienen propiedades básicas o ácidas. Los compuestos que tienen al menos un grupo básico o al menos un radical básico, por ejemplo, amino; un grupo amino secundario no formador de un enlace peptídico o un radical piridilo, pueden formar sales de adición ácidas, por ejemplo, con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o un ácido fosfórico; o con ácidos carboxílicos orgánicos o sulfónicos adecuados, por ejemplo, ácidos alifáticos mono- o dicarboxílicos, tales como ácido trifluoroacético, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido hidroximaleico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico o ácido oxálico; o aminoácidos, tales como arginina o lisina; ácidos aromáticos carboxílicos, tales como ácido benzoico; ácido 2-fenoxibenzoico; ácido 2-acetoxibenzoico; ácido salicílico; ácido 4-aminosalicílico; ácidos carboxílicos aromáticos-alifáticos, tales como ácido mandélico o ácido cinámico; ácidos heteroaromáticos carboxílicos, tales como ácido nicotínico o ácido isonicotínico, ácidos alifáticos sulfónicos, tales como ácido metano, etano o 2-hidroxietanosulfónico; o ácidos sulfónicos aromáticos, por ejemplo ácido benceno-, p-tolueno- o naftalen-2-sulfónico. Cuando hay presentes varios grupos básicos pueden formarse sales de adición mono- o poliácidas. Los compuestos de la fórmula (I) que tienen grupos ácidos, un grupo carboxi o un grupo hidroxi fenólico, pueden formar sales metálicas o de amonio, tales como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, por ejemplo, sales de sodio, potasio, magnesio o calcio; o sales de amonio con amoniaco o aminas orgánicas adecuadas, tales como monoaminas terciarias, por ejemplo trietilamina o tri(2-hidroxietil)-amina, o bases heterocíclicas, por ejemplo, *N*-etil-piperidina o *N,N'*-dimetilpiperazina. Las mezclas de sales son posibles. Los compuestos de la fórmula (I) que tienen grupos tanto ácidos como básicos pueden formar sales internas.

Para propósitos de aislamiento o purificación también es posible utilizar sales farmacéuticamente no aceptables, por ejemplo, picratos o percloratos. Para uso terapéutico, solo se emplean sales farmacéuticamente aceptables o los compuestos libres (cuando sean aplicables en la forma de preparaciones farmacéuticas), y por lo tanto estos son preferidos. A la vista de la relación cercana entre los compuestos novedosos en forma libre y los que están en forma de sus sales, incluyendo aquellas sales que pueden ser utilizadas como intermedios, por ejemplo en la purificación o identificación de los compuestos novedosos, cualquier referencia a los compuestos libres aquí anteriormente y de aquí en adelante debe entenderse como referencia también a las sales correspondientes, según sea apropiado y conveniente.

Los compuestos de la presente invención también pueden formar solvatos e hidratos, y como tales cualquier referencia a un compuesto de la fórmula (I) se entiende por lo tanto como referencia también al correspondiente solvato y/o hidrato del compuesto de la fórmula (I), según sea apropiado y conveniente.

Combinación, se refiere bien sea a una combinación fija en una forma de dosificación unitaria, o un conjunto de partes para la administración combinada donde un compuesto de la fórmula I y un asociado de combinación (por ejemplo, otro fármaco como se explica más adelante, también denominado como "agente terapéutico" o "coagente") puede ser administrado independientemente en el mismo momento o separadamente dentro de un intervalo de tiempo, especialmente cuando estos intervalos de tiempo permiten que los asociados de combinación muestren un efecto cooperativo, por ejemplo, sinérgico. Los términos "coadministración" o "administración combinada" o similares tal como se utilizan aquí pretenden abarcar la administración del asociado de combinación seleccionado a un sujeto individual que así lo requiere (por ejemplo un paciente), y pretenden incluir regímenes de tratamiento en los cuales los agentes no se administran necesariamente mediante la misma ruta de administración o al mismo tiempo. El término "combinación farmacéutica" tal como se utiliza aquí significa un producto que resulta de la mezcla o combinación de más de un ingrediente activo e incluye tanto combinaciones fijas como no fijas de los ingredientes activos. El término "combinación fija" significa que los ingredientes activos, por ejemplo, un compuesto de la fórmula I y un asociado de combinación, se administran ambos a un paciente simultáneamente en la forma de una entidad o dosificación individual. El término "combinación no fija" significa que los ingredientes activos, por ejemplo un compuesto de la fórmula I y un asociado de combinación, se administran ambos a un paciente como entidades separadas bien sea simultáneamente, concurrentemente o secuencialmente sin límites específicos de tiempo; en donde tal administración provee niveles efectivos terapéuticamente de los dos componentes en el cuerpo del paciente. Esto último se aplica también a la terapia de cóctel, por ejemplo, la administración de tres o más ingredientes activos.

En realizaciones preferidas, las cuales se prefieren independientemente, colectivamente, o en cualquier combinación o subcombinación, la invención se relaciona con un compuesto de la fórmula I, en forma de base libre o en forma de sal, en donde los sustituyentes son como se define aquí.

Como se muestra en la fórmula I, el sustituyente alfa-amida está en la posición 2 sobre el anillo de pirrolidina y la estereoquímica en esta posición es como se dibuja.

El anillo A es preferiblemente un anillo heterocíclico de 5 a 6 miembros no sustituido o sustituido (preferiblemente un heteroarilo) que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de N, S u O, en general al menos un heteroátomo es N.

- 5 Más preferiblemente, el anillo A se selecciona de un anillo de piridina no sustituido o sustituido, anillo de pirimidina no sustituido o sustituido, anillo de tiazol no sustituido o sustituido, anillo de pirazol no sustituido o sustituido o anillo de oxazol no sustituido o sustituido. Más preferible es un anillo de piridina no sustituido o sustituido, anillo de pirimidina no sustituido o sustituido o un anillo de tiazol no sustituido o sustituido.

Preferiblemente, el anillo A está fusionado al resto de la molécula de la fórmula I a través de átomos de carbono del anillo A.

- 10 El anillo A está sustituido preferiblemente por uno, dos o tres grupos R^2 , preferiblemente dos grupos R^2 , lo más preferiblemente un grupo R^2 , seleccionado independientemente en cada aparición de,

alquilo C_1 - C_7 no sustituido o sustituido;

amino no sustituido o sustituido;

cicloalquilo C_3 - C_7 no sustituido o sustituido.

Preferiblemente, R^2 es seleccionado de

- 15 alquilo C_1 - C_7 no sustituido;

di(C_1 - C_7 -alquil)amino;

C_1 - C_7 -alquilo sustituido una o más veces por C_3 - C_7 -cicloalquilo o halo (preferiblemente fluoro);

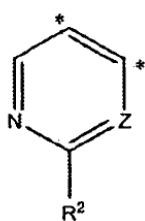
C_3 - C_7 -cicloalquilo no sustituido;

- 20 C_3 - C_7 -cicloalquilo el cual es sustituido una o más veces por halo (preferiblemente fluoro), (halo- C_1 - C_7 -alquil) o C_1 - C_7 -alquilo;

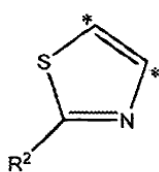
Más preferiblemente, R^2 es seleccionado de metilo, t-butilo, dietilamino, ciclopropilmetilo, 2-fluoro-1,1-dimetiletilo o 2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etilo.

En otra realización, R^2 es seleccionado de metilo, t-butilo, dietilamino, ciclopropilmetilo o 2-fluoro-1,1-dimetiletilo.

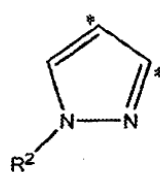
El anillo A es seleccionado más preferiblemente de A1 o A2 o A3 o A4 o A5 o A6:



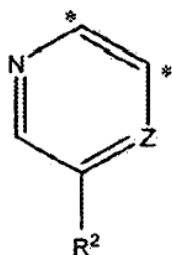
A1



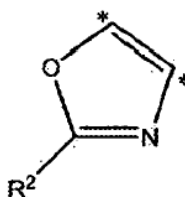
A2



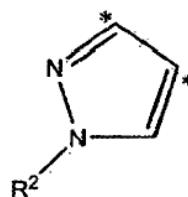
A3



A4



A5



A6

25

en donde,

Z es N o CH y R² se define como se indicó más arriba.

Preferiblemente, el anillo A es seleccionado de A1 o A2.

X-Y preferiblemente representa (CH₂)_r o O(CH₂)_t en donde,

r es 1, 2 o 3;

5 t es 1 o 2;

X-Y más preferiblemente representa (CH₂)_r o O(CH₂)_t en donde r es 2 y t es 1. Para eliminar dudas, esto es, X-Y es preferiblemente -CH₂-CH₂- o -O-CH₂- tal como en el último caso, la X en X-Y es la O en -O-CH₂-.

R¹ preferiblemente representa, en cada aparición,

halo;

10 hidroxi;

fenilo no sustituido o sustituido;

di(C₁-C₇-alquil)amino;

alquilo C₁-C₇ no sustituido;

15 C₁-C₇-alquilo el cual es sustituido una o más veces por hidroxi, C₁-C₇-alcoxi, di(C₁-C₇-alquil)amino, di-(perdeuteroC₁-C₇-alquil)amino, fenilo, morfolinilo, acetilamino, o N-(C₁-C₇-alquil)-N-(fenilC₁-C₇-alquil) amino, y en donde independientemente cada fenilo puede ser mono o polisustituido por halo.

R¹ más preferiblemente representa, en cada aparición,

fluoro;

hidroxi;

20 fenilo no sustituido;

dimetilamino;

metilo;

25 metilo, el cual es sustituido una o más veces (preferiblemente sustituido una vez) por hidroxi, metoxi, dimetilamino, di-(perdeuterometil)amino, fenilo, morfolinilo, acetilamino, o N-(metil)-N-(fenilmetil)amino, y en donde independientemente cada fenilo puede ser mono o polisustituido por fluoro.

R¹ lo más preferiblemente representa, en cada aparición,

fluoro;

hidroxi;

fenilo no sustituido;

30 dimetilamino;

metilo;

hidroxi metilo;

metoxi metilo;

dimetilamino metilo;

35 di-(perdeuterometil)amino metilo;

bencilo;

morfolin-4-ilo metilo;

N-acetilamino metilo;

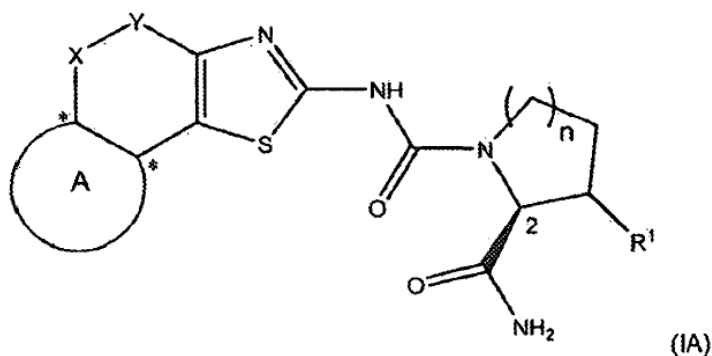
N-(metil)-*N*-(3-fluoro-fenilmetil)amino metilo.

5 Una realización de la presente invención incluye compuestos de la fórmula I en donde n es 0 o 1. Preferiblemente, n es 1.

Otra realización de la presente invención incluye compuestos de la fórmula I donde q es 0, esto es, en donde el anillo heterocíclico que contiene nitrógeno está sustituido solamente por la amida en la posición 2. En esta realización, se prefiere que n sea 0 o 1, más preferiblemente 1.

10 Otra realización de la presente invención incluye compuestos de la fórmula I donde q es 1, esto es, donde el anillo heterocíclico que contiene nitrógeno está sustituido solamente por la amida en la posición 2 y un grupo R^1 individual. En esta realización se prefiere que n sea 0 o 1, más preferiblemente 1. En esta realización, el grupo R^1 puede ser sustituido en la posición 2- (esto es, en el mismo carbono en el cual está sustituido por el grupo amida) o la posición 3- o posición 4- o posición 5- del anillo heterocíclico que contiene nitrógeno.

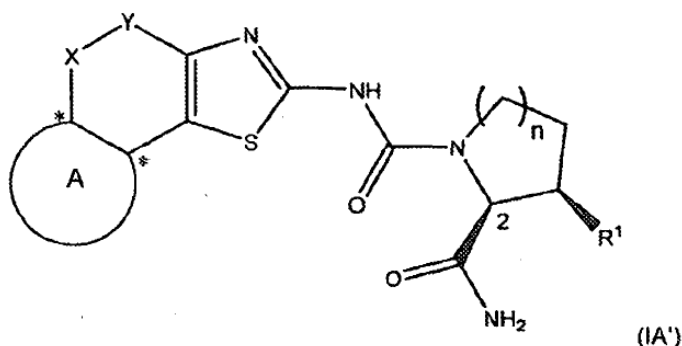
15 Preferiblemente, en esta realización, el grupo R^1 está sustituido en la posición 3 del anillo heterocíclico que contiene nitrógeno, esto es, compuestos de la fórmula IA:



donde los sustituyentes son definidos como para un compuesto de la fórmula (I).

20 Preferiblemente en los compuestos de la fórmula IA, n es 1, proveyendo así compuestos en donde el anillo heterocíclico que contiene nitrógeno es un anillo de pirrolidina, sustituido en la posición 2 por una amida que tiene la estereoquímica dibujada, y en la posición 3 por un grupo R^1 .

Preferiblemente, el grupo R^1 tiene una estereoquímica que es *cis*- a la amida en la posición 2, esto es, compuestos de acuerdo con la fórmula (IA'):

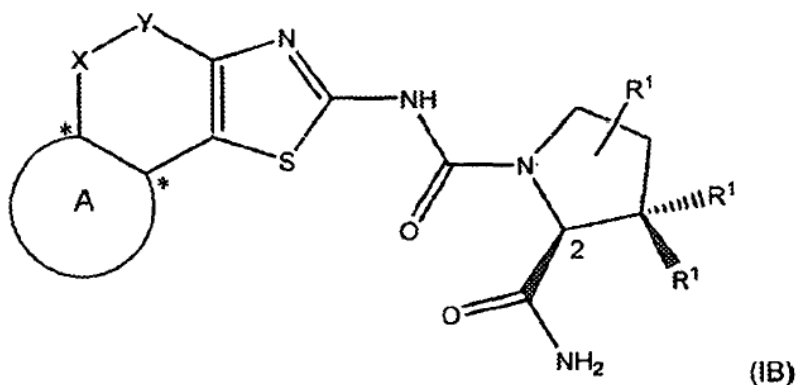


en donde los sustituyentes son como se define para el compuesto de la fórmula (I).

25 Preferiblemente en compuestos de la fórmula IA', n es 1, proveyendo así compuestos en donde el anillo heterocíclico que contiene nitrógeno es un anillo pirrolidina, sustituido en la posición 2 por una amida que tiene la estereoquímica dibujada, y en la posición 3 por un grupo R^1 que tiene la estereoquímica dibujada, así la amida y los grupos R^1 son *cis*- uno respecto al otro.

Una realización adicional de la presente invención incluye compuestos de la fórmula I donde Q es 2 o 3, así al menos dos sustituyentes R^1 están presentes, seleccionado independientemente cada R^1 de los grupos definidos como para la fórmula I aquí.

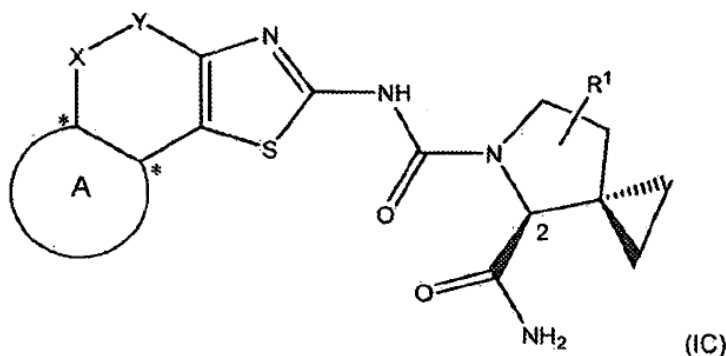
- 5 En esta realización, se prefiere que al menos cada uno de los dos R^1 esté enlazado en la posición 3 del anillo de pirrolidina, y un tercer grupo R^1 opcional, si está presente, esté enlazado en cualquier sitio del anillo heterocíclico que contiene nitrógeno. Se prefiere adicionalmente que n sea 1 y el tercer grupo R^1 , si está presente, esté enlazado en la posición 4- o 5- del anillo pirrolidina resultante, esto es, para proveer compuestos de la fórmula IB:



en donde los sustituyentes son como se define para un compuesto de la fórmula (I).

- 10 En compuestos de acuerdo con la fórmula IB, se prefiere que el tercer R^1 esté enlazado en la posición 4- del anillo pirrolidina.

Una realización adicional de la presente invención incluye compuestos de la fórmula I en donde n es 1, y en donde dos grupos R^1 están enlazados en la posición 3 del anillo pirrolidina, y junto con un alcandiilo, preferiblemente un cicloalquilo C_3-C_8 , en particular un grupo ciclopropilo, esto es, para proveer compuestos de la fórmula IC:



- 15 en donde los sustituyentes son como se define para un compuesto de la fórmula (I) y el tercer grupo R^1 es opcional, y si está presente, está enlazado preferiblemente en la posición 4- del anillo pirrolidina.

En cualquiera de las fórmulas (IA), (IA'), (IB) o (IC), también pueden aplicarse las definiciones preferidas, si no se establece otra cosa, para el anillo A, X-Y, R^1 y n.

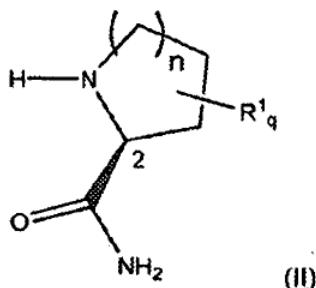
- 20 La invención se relaciona adicionalmente con profármacos farmacéuticamente aceptables de un compuesto de fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC).

La invención se relaciona con metabolitos farmacéuticamente aceptables de un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC).

- 25 La invención se relaciona especialmente con los compuestos de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) dadas en los Ejemplos, así como con los métodos de manufactura descritos aquí.

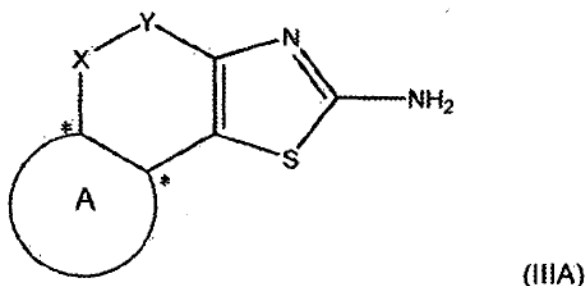
La presente solicitud también divulga procesos para la producción de un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC). En principio todos los procesos conocidos que convierten dos aminas diferentes en un derivado urea correspondiente son adecuados y pueden ser aplicados utilizando el material de partida respectivo.

Así, la solicitud en particular divulga un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II

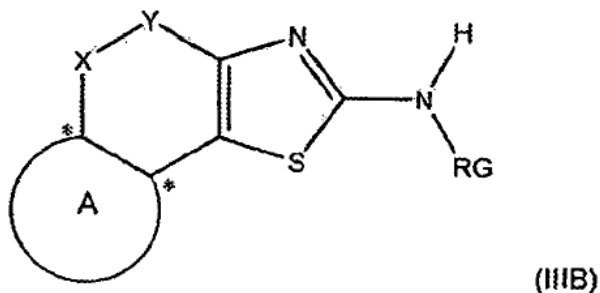


5

en donde los sustituyentes son como se definió anteriormente, bien con un compuesto de la fórmula IIIA



en donde los sustituyentes son como se definió anteriormente, en presencia de un agente activador ("método A") o con un compuesto de fórmula IIIB



10

en donde R^1 es como se definió anteriormente; RG representa un grupo reactivo (tal como imidazolilcarbonylo) ("método B"), opcionalmente en cada caso en presencia de un diluyente y opcionalmente en presencia de un auxiliar de reacción y recuperación del compuesto resultante de la fórmula I en forma libre o en forma de una sal y,

15

convertir opcionalmente un compuesto de la fórmula I obtenible de acuerdo con el método A o el método B en un compuesto diferente de la fórmula I, y/o convertir una sal obtenible de un compuesto de la fórmula I en una sal diferente del mismo, y/o convertir un compuesto libre obtenible de la fórmula I en una sal del mismo, y/o separar un isómero obtenible de un compuesto de la fórmula I a partir de uno o más isómeros diferentes obtenibles de la fórmula 1.

Condiciones de reacción

20

El proceso puede llevarse a cabo de acuerdo con métodos conocidos en la técnica, o como se divulgan más adelante en los Ejemplos. Por ejemplo, un compuesto de la fórmula II puede hacerse reaccionar con un compuesto de la fórmula IIIA o IIIB en un solvente, por ejemplo dimetilformamida, en presencia de una base, por ejemplo una amina orgánica, por ejemplo trietilamina.

Cuando se dan temperaturas aquí anteriormente o de aquí en adelante, "aproximadamente" tiene que ser agregado, puesto que son típicamente tolerables desviaciones menores de los valores numéricos dados, por ejemplo, variaciones de $\pm 10\%$.

- 5 Todas las reacciones pueden tener lugar en presencia de uno o más diluyentes y/o solventes. Los materiales de partida pueden ser utilizados en cantidades equimolares; alternatively, un compuesto puede ser utilizado en exceso, por ejemplo, para funcionar como un solvente o para desplazar el equilibrio o para acelerar en general las ratas de reacción.

- 10 Los auxiliares de reacción, tales como ácidos, bases o catalizadores pueden ser agregados en cantidades adecuadas, como se conoce en el sector, según sean requeridos por una reacción y en línea con procedimientos conocidos en general.

Grupos protectores

- 15 Si es necesario proteger uno o más otros grupos funcionales, por ejemplo carboxi, hidroxí, amino, sulfhidrílo y similares en un material de partida como se describe aquí o en cualquier otro precursor, puesto que no toman parte en la reacción o perturban la reacción, estos son tales grupos como los utilizados usualmente en la síntesis de compuestos peptídicos, y también de cefalosporinas y penicilinas, así como de derivados de ácidos nucleicos y azúcares. Grupos protectores son tales grupos que no están presentes más en los compuestos finales una vez que han sido retirados, mientras que los grupos que permanecen como sustituyentes no son grupos protectores en el sentido utilizado aquí grupos que son agregados en un material de partida o etapa intermediaria y retirados para obtener un compuesto final. También en el caso de conversiones de un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) en un compuesto diferente de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC), los grupos protectores pueden ser introducidos y retirados, si es útil o requerido.

- 25 Los grupos protectores pueden estar presentes ya en precursores y deberían proteger los grupos funcionales relacionados frente a reacciones secundarias indeseadas, tales como acilaciones, eterificaciones, esterificaciones, oxidaciones, solvolisis y reacciones similares. Es una característica de los grupos protectores que ellos tienden por sí mismos, fácilmente, esto es, sin reacciones secundarias indeseadas, a eliminarse, típicamente por acetólisis, protonólisis, solvolisis, reducción, fotólisis o también por actividad enzimática, por ejemplo bajo condiciones análogas a condiciones fisiológicas, y que no están presentes en los productos finales. El especialista sabe, o puede establecer fácilmente, qué grupos protectores son adecuados con las reacciones mencionadas antes y más adelante.

- 30 La protección de tales grupos funcionales por tales grupos protectores, los grupos protectores en sí mismos, y sus reacciones de eliminación se describen por ejemplo en trabajos estándar de referencia, tales como J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry". Plenum Press, London y New York 1973, in T. W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, in "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross y J. Meienhofer), Academic Press, London y New York 1981, in "Methoden der organischen Chemie" (Métodos of organic chemistry), Houben Weilo, 4th edition, Volume 1511, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, in H.-D. Jakubke y H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide. Proteine" (Amino acids, peptides, proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, y Basel 1982, y in Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of carbohydrates: monosaccharides y derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974.

Reacciones y conversiones opcionales

- 40 Un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) puede ser convertido en un compuesto diferente de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC).

- 45 En un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) en donde un sustituyente porta un sustituyente amino o alquilo C₁-C₇ amino, el amino puede ser convertido en acilamino, por ejemplo, alcanoilamino C₁-C₇ por reacción con un halogenuro C₁-C₇ correspondiente, por ejemplo, un cloruro correspondiente, en presencia de una base nitrogenada terciaria, tal como trietilamina o piridina, en la ausencia o presencia de un solvente apropiado, tal como cloruro de metileno, por ejemplo a temperaturas en el rango de -20 a 50°C, por ejemplo, a aproximadamente temperatura ambiente.

- 50 Las sales de un compuesto de fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) con un grupo formador de sales pueden ser preparadas de una manera conocida per se. Las sales de adición ácida de los compuestos de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) pueden ser obtenidas así por tratamiento con un ácido o con un reactivo de intercambio aniónico adecuado. Una sal con dos moléculas ácidas (por ejemplo un dihalogenuro de un compuesto de fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC)) también puede ser convertido en una sal con una molécula de ácido por compuesto (por ejemplo un monohalogenuro); esto puede hacerse calentando hasta fusión, o por ejemplo calentando como sólido bajo alto vacío a temperatura elevada, por ejemplo de 130 a 170°C, una molécula del ácido que está siendo expelido por molécula de un compuesto de fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC). Las sales pueden ser convertidas usualmente en compuestos libres, por ejemplo, por tratamiento con compuestos básicos adecuados, por ejemplo, con carbonatos

de metales alcalinos, hidrogenocarbonatos de metales alcalinos, o hidróxidos de metales alcalinos, típicamente carbonato de sodio o hidróxido de sodio.

Las mezclas estereoisoméricas, por ejemplo mezclas de diastereómeros, pueden ser separadas en sus correspondientes isómeros en una manera conocida per se por medio de métodos de separación adecuados. Las mezclas diastereoméricas por ejemplo pueden ser separadas en sus diastereómeros individuales por medio de cristalización fraccionada, cristalografía, distribución en solventes y procedimientos similares. Esta separación puede tener lugar bien sea a nivel de un compuesto de partida o en un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) mismo. Los enantiómeros pueden ser separados a través de la formación de sales diastereoméricas, por ejemplo por formación de sales con un ácido quiral enantiómero puro, o por medio de cromatografía, por ejemplo por HPLC, utilizando sustratos cromatográficos con ligandos quirales.

Debe hacerse énfasis en que las reacciones análogas a las conversiones mencionadas aquí pueden tener lugar también al nivel de intermediarios apropiados (y son por lo tanto útiles en la preparación de los materiales de partida correspondientes).

Materiales de partida:

Los materiales de partida de las fórmulas II y III, así como otros materiales de partida mencionados aquí, por ejemplo más adelante, pueden ser preparados de acuerdo con o en analogía con métodos que son conocidos en la técnica, son conocidos en la técnica y/o están disponibles comercialmente. Hasta ahora puesto que no se describe particularmente la producción de los materiales de partida, los compuestos son bien sea conocidos o pueden ser preparados de manera análoga a métodos conocidos en la técnica, por ejemplo en WO 05/021519 o WO 04/096797, o como se divulga aquí más adelante. Materiales de partida novedosos, así como procesos para la preparación de los mismos, son de la misma forma una realización de la presente invención. En las realizaciones preferidas, se utilizan tales materiales de partida y las reacciones escogidas se seleccionan de tal forma que permitan la obtención de los compuestos preferidos.

En los materiales de partida (incluyendo intermediarios) que también pueden ser utilizados y/o obtenidos como sales cuando sea apropiado y expeditivo, los sustituyentes son preferiblemente como se definió para un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'). (IB) y/o (IC).

Composiciones farmacéuticas, usos y métodos de tratamiento. La presente invención también se relaciona con compuestos de fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) tal como se divulga aquí para uso como agentes farmacéuticos. La presente invención incluye en una realización composiciones que comprenden un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC), por ejemplo para uso humano o veterinario, por ejemplo, cuando la inhibición de PI3K está indicada. En una realización, la invención se relaciona con compuestos para uso en el tratamiento de enfermedades proliferativas celulares tales como un tumor (benigno o maligno) y/o crecimiento celular canceroso, por ejemplo mediado por PI3K. Las enfermedades pueden incluir aquellas que muestren mutación somática de PIK3CA o mutaciones en la línea germinal o alguna mutación somática de PTEN. En particular, los compuestos pueden ser útiles en el tratamiento de cánceres humanos o animales (por ejemplo murínicos), incluyendo, por ejemplo, sarcoma; pulmón; bronquios; próstata; seno (incluyendo cánceres de seno esporádicos y pacientes de enfermedad de Cowden); páncreas; cáncer gastrointestinal; colon; recto; carcinoma de colon; adenoma colorrectal; tiroides; hígado; ducto biliar intrahepático; hepatocelular; glándula adrenal; estómago; gástrico; glioma; glioblastoma; endométrico; melanoma; riñón; pelvis renal; vejiga urinaria; corpus uterino; cervix uterina; vagina; ovario; mieloma múltiple; esófago; una leucemia; leucemia mielogenosa aguda; leucemia mielogenosa crónica; leucemia linfocítica; leucemia mieloide; cerebro; un carcinoma del cerebro; cavidad oral y faringe; laringe; intestino delgado; linfoma no Hodgkin; melanoma; adenoma vellosa del colon; una neoplasia; una neoplasia de carácter epitelial; linfomas; un carcinoma mamario; carcinoma de células basales; carcinoma de células escamosas; queratosis actínica; enfermedades tumorales, incluyendo tumores sólidos; un tumor de cuello o cabeza; policitemia vera; trombocitemia esencial; y mielofibrosis con metaplasia mieloide.

En otras realizaciones, la condición o trastorno (por ejemplo, mediados por PI3K) se selecciona del grupo consistente de: una hiperproliferación epidérmica, hiperplasia de la próstata, una neoplasia, una neoplasia de carácter epitelial, síndrome de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Dudos o síndrome de Bannayan-Zonana, asma, COPD, ARDS, síndrome de Loffler, neumonía eosinofílica, infestación parasítica (en particular metazoaria) (incluyendo eosinofilia tropical), aspergilosis broncopulmonar, poliarteritis nodosa (incluyendo síndrome de Churg-Strauss), granuloma eosinofílico, trastornos relacionados con eosinófilos que afectan las vías respiratorias ocasionados por reacción a fármacos, psoriasis, dermatitis por contacto, dermatitis atópica, alopecia areata, eritema multiforme, dermatitis herpetiformis, escleroderma, vitiligo, angitis por hipersensibilidad, urticaria, penfigoide buloso, lupus eritematoso, penfisus, epidermolisis bulosa adquirida, trastornos hematológicos autoinmunes (por ejemplo, anemia hemolítica, anemia aplásica, anemia pura de glóbulos rojos y trombocitopenia idiopática), lupus eritematoso sistémico, policondritis, escleroderma, granulomatosis de Wegener, dermatomiositis, hepatitis activa crónica, miastenia gravis, síndrome de Steven-Johnson, enfermedad celíaca idiopática, enfermedad autoinmune inflamatoria de los intestinos (por ejemplo, colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn), oftalmopatía endocrina, enfermedad de

Grave, sarcoidosis, alveolitis, neumonitis por hipersensibilidad crónica, esclerosis múltiple, cirrosis biliar primaria, uveítis (anterior y posterior), fibrosis pulmonar intersticial, artritis psoriática, glomerulonefritis, enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, hipertensión, trombosis venosa profunda, apoplejía, infarto del miocardio, angina inestable, tromboembolismo, embolismo pulmonar, enfermedades tromboticas, isquemia arterial aguda, oclusiones trombóticas periféricas, y enfermedades de las arterias coronarias, lesiones por reperfusión, retinopatía, tales como retinopatía diabética o retinopatía inducida por oxígeno hiperbárico, y condiciones caracterizadas por presión intraocular elevada o secreción de humor acuoso ocular, tales como glaucoma.

Para los anteriores usos la dosis requerida desde luego variará dependiendo del modo de administración, la condición particular que se va a tratar y el efecto deseado. En general, se indica que resultados satisfactorios se obtienen sistémicamente en dosis diarias desde aproximadamente 0.03 a 10.0 mg/kg por peso corporal. Una dosificación diaria indicada en mamíferos mayores, por ejemplo humanos está en el rango de aproximadamente 0.5 mg a aproximadamente 1 g, administrados convenientemente, por ejemplo, en dosis divididas de hasta cuatro veces al día o en forma retardada. Formas de dosificación unitarias adecuadas para administración oral comprenden de cerca de 0.1 a 500 mg de ingrediente activo.

Los compuestos de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) pueden ser administrados por cualquier ruta convencional, en particular por vía entérica, por ejemplo por vía oral, por ejemplo en la forma de tabletas o cápsulas, o por vía parenteral, por ejemplo en la forma de soluciones o suspensiones inyectables, tópicamente, por ejemplo en la forma de lociones, geles, ungüentos o cremas, por inhalación, por vía intranasal, o en forma de supositorio.

Los compuestos de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) pueden ser administrados en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo como se indicó anteriormente. Tales sales pueden ser preparadas de manera convencional y exhiben el mismo orden de actividad que los compuestos libres.

Consecuentemente, la invención también provee:

- un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) en la forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable para uso como agente farmacéutico, por ejemplo en cualquiera de los métodos tales como se indican aquí, en particular para el uso en una o más enfermedades mediadas por fosfatidilinositol 3-quinasa.

- el uso de un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) en la forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable en cualquiera de los métodos indicados aquí, en particular para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de una o más enfermedades mediadas por fosfatidilinositol 3-quinasa.

La PI3K sirve como segundo nódulo mensajero que integra rutas de señalización paralelas, surgiendo la evidencia de que la combinación de un inhibidor de PI3K con inhibidores de otras rutas puede ser útil en el tratamiento de cáncer y enfermedades proliferativas en humanos. Aproximadamente 20-30% de los cánceres de seno humanos sobreexpresan Her-2/neu-ErbB2, el objetivo del fármaco trastuzumab. Aunque el trastuzumab ha demostrado respuestas durables en algunos pacientes que expresan el Her2/neu-ErbB2, solamente un subconjunto de estos pacientes responde. Trabajos recientes han indicado que esta velocidad de respuesta limitada puede ser mejorada sustancialmente mediante la combinación de trastuzumab con inhibidores de PI3K o de la ruta de PI3K/AKT (Chan et al., Breast Can. Res. Treat. 91:187 (2005), Woods Ignatoski et al., Brit. J. Cancer 82:666 (2000), Nagata et al., Cancer Cell 6:117 (2004)).

Una variedad de enfermedades malignas humanas expresan mutaciones activadoras a niveles incrementados de Her1/EGFR y se ha desarrollado un cierto número de anticuerpos e inhibidores de moléculas pequeñas contra el receptor de tirosina quinasa incluyendo tarceva, gefitinib y erbitux. Sin embargo, mientras que los inhibidores de EGFR demuestran actividad antitumoral en ciertos tumores humanos (por ejemplo, NSCLC), fracasan en incrementar la supervivencia del paciente en todos los pacientes con tumores que expresan EGFR. Esto puede ser racionalizado por el hecho de que muchos objetivos corriente abajo de la Her1/EGFR son mutados o desregulados a altas frecuencias en una variedad de enfermedades malignas, incluyendo la ruta de PI3K/Akt. Por ejemplo, el gefitinib inhibe el crecimiento de una línea celular de adenocarcinoma en ensayos in vitro. No obstante, pueden seleccionarse subclones de estas líneas que son resistentes al gefitinib que demuestran activación incrementada de la ruta de PI3K/Akt. La subregulación o inhibición de esta ruta hace que los subclones resistentes sean sensibles al gefitinib (Kokubo et al., Brit. J. Cancer 92:1711 (2005)). Adicionalmente, en un modelo in vitro de cáncer de seno con una línea celular que aloja una mutación PTEN y sobreexpresa la inhibición EGFR de tanto la ruta PI3K/Akt como EGFR produjo un efecto sinérgico (She et al., Cancer Cell 8:287-297(2005)). Estos resultados indican que la combinación de gefitinib e inhibidores de la ruta de PI3K/Akt sería una estrategia terapéutica atractiva en cáncer.

La combinación del AEE778 (un inhibidor de Her-2/neu/ErbB2, VEGFR y EGFR) y RAD001 (un inhibidor de mTOR, un objetivo corriente abajo del Akt) produce una eficacia combinada mayor que solos o en un modelo de xenoinjerto de glioblastoma (Goudar et al., Mol. Cancer. Ther. 4:101-112 (2005)).

Los antiestrógenos, tales como tamoxifén, inhiben el crecimiento del cáncer de seno a través de la inducción de una detención del ciclo celular que requiere la acción del inhibidor del ciclo celular p27kip. Recientemente, se ha

demostrado que la activación de la ruta de la quinasa Ras-Raf-MAP altera el estatus de fosforilación de p27kip de tal forma que su actividad inhibitoria en la detención del ciclo celular se atenúa, contribuyendo de esta manera a la resistencia antiestrógenos (Donovan, et al, J. Biol. Chem. 276:40888, (2001)). Según lo reportan Donovan et al., la inhibición de la señalización de MAPK a través del tratamiento con el inhibidor de MEK reversa el estatus de fosforilación aberrante de p27 en líneas celulares de cáncer de seno refractarias a las hormonas y haciendo así restaura la sensibilidad de las hormonas. De la misma forma, la fosforilación de p27kip por Akt también aboga su papel para detener el ciclo celular (Viglietto y col., Nat. Med.. 8:1145 (2002)).

De acuerdo con lo anterior, la presente invención provee, en un aspecto adicional, compuestos de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) para uso en el tratamiento de cánceres dependientes de hormonas, tales como cánceres de seno y próstata. Mediante este uso, se busca reversar la resistencia a las hormonas vista comúnmente en estos cánceres con agentes anticancerígenos convencionales.

En cánceres hematológicos, tales como leucemia mielogenosa crónica (CML), la translocación cromosómica es responsable de la tirosina quinasa BCR-Abl activada constitutivamente. Los pacientes afligidos responden a imatinib, una pequeña molécula inhibidora de tirosina quinasa, como resultado de la inhibición de la actividad Abl de quinasa. Sin embargo, muchos pacientes con enfermedad en estado avanzado responden inicialmente al imatinib, pero luego relapsan entonces debido a mutaciones que confieren resistencia en el dominio de la Abl quinasa. Estudios in vitro han demostrado que el BCR-Ab1 emplea la ruta de Ras-Raf quinasa para disparar sus efectos. Además, la inhibición de más de una quinasa en la misma ruta provee una protección adicional contra mutaciones que confieren resistencia.

De acuerdo con lo anterior, en otro aspecto, la presente invención provee los compuestos de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) para uso en combinación con al menos un agente seleccionado del grupo de inhibidores de quinasa, tales como Gleevec®, en el tratamiento de cánceres hematológicos, tales como leucemia mielogenosa crónica (CML). Mediante este uso, se busca reversar o evitar la resistencia a dicho al menos un agente adicional.

Debido a que la activación de la ruta PI3K/Akt induce la supervivencia celular, la inhibición de la ruta en combinación con terapias que inducen la apoptosis en células cancerosas, incluyendo radioterapia y quimioterapia, dará como resultado respuestas mejoradas (Ghobrial et al., CA Cancer J. Clin 55:178-194 (2005)). Como ejemplo, la combinación del inhibidor de PI3 quinasa con carboplatino demostró efectos sinérgicos tanto en proliferación in vitro como en pruebas de apoptosis así como en eficacia en tumores in vivo en un modelo de xenoinjerto de cáncer de ovario (Westfall y Skinner, Mol. Cancer Ther. 4:1764-1771 (2005)).

Además del cáncer y las enfermedades proliferativas, hay evidencia acumulada de que los inhibidores de PI3 quinazas de clase 1A y 1B sería terapéuticamente útiles en otras áreas de enfermedades. La inhibición de p110β, el producto isoforme de PI3K del gen PIK3CB, ha demostrado estar involucrado en la activación de plaquetas inducidas por desgarramiento (Jackson et al., Nature Medicine 11:507-514(2005)). Así, un inhibidor de PI3K que inhibe p110β sería útil como agente individual o en combinación en una terapia antitrombótica. La isoforma p110δ, el producto del gen de PIK3CD, es importante en la función y diferenciación de las células B (Clayton et al., J. Exp. Med. 196:753-763 (2002)), respuestas a antígenos de células T dependientes e independientes (Jou et al., Mol. Cell. Biol. 22:8580-8590 (2002)) y diferenciación de mastocitos (Ali et al., Nature 431:1007-1011 (2004)). Así, se espera que los inhibidores p110δ sean útiles en el tratamiento de enfermedades autoinmunes impulsadas por células B y asma. Finalmente, la inhibición de p110γ, el producto isoforme del gen PIK3CG, da como resultado una respuesta reducida en células T pero no en B (Reif et al., J. Immunol. 173:2236-2240 (2004)) y su inhibición demuestra eficacia en modelos animales de enfermedades autoinmunes (Camps et al., Nature Medicine 11:936-943 (2005), Barber et al., Nature Medicine 11:933-935 (2005)).

La invención provee adicionalmente composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC), junto con un excipiente farmacéutico aceptable adecuado para administración a un sujeto humano o animal, bien sea solo o junto con otro agente terapéutico, por ejemplo, otro agente anticáncer.

En particular, las composiciones serán formuladas juntas como una terapia de combinación o administradas separadamente. Los agentes anticáncer adecuados para uso con un compuesto de la fórmula I incluyen, pero no se limitan a, uno o más compuestos seleccionados del grupo consistente de inhibidores de quinasa, antiestrógenos, antiandrógenos, otros inhibidores, fármacos quimioterapéuticos contra el cáncer, agentes alquilantes, agentes quelantes, modificadores de la respuesta biológica, vacunas contra el cáncer, agentes para terapia antisentido como se define a continuación:

A. Inhibidores de Quinasa: Los inhibidores de quinasa para uso como agentes anticáncer en conjunción con un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) incluyen inhibidores de las quinazas del Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR) tales como moléculas pequeñas de quinazolina, por ejemplo gefitinib (US 5457105, US 5616582, y US 5770599), ZD-6474 (WO 01/32651), erlotinib (Tarceva®, US 5,747,498 y WO 96/30347), y lapatinib (US 6,727,256 y WO 02/02552); inhibidores de quinasa del Receptor de Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGFR), incluyendo SU-11248 (WO 01/60814), SU 5416 (US 5,883,113 y WO 99/61422), SU 6668 (US

- 5,883,113 y WO 99/61422), CHIR-258 (US 6,605,617 y US 6,774,237), vatalanib o PTK-787 (US 6,258,812), VEGF-Trap (WO 02/57423), B43-Genistein (WO-09606116), fenretinide (ácido retinoico p-hidroxifenilamina) (US 4,323,581), IM-862 (WO 02/62826), bevacizumab o Avastin® (WO 94/10202), KRN-951, 3-[5-(metilsulfonilpiperadina metil)-indolil]-quinolona, AG-13736 y AG-13925, pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazinas, ZK-304709, Veglin®, VMDA-3601, EG-004, CEP-701 (US 5,621,100), Cand5 (WO 04/09769); inhibidores de la tirosina quinasa Erb2 tales como pertuzumab (WO 01/00245), trastuzumab, y rituximab; inhibidores de proteína quinasa Akt, tales como RX-0201; inhibidores de Proteína Quinasa C (PKC), tales como LY-317615 (WO 95/17182), y perifosina (US 2003171303); inhibidores de quinasa Raf/Map/MEK/Ras incluyendo sorafenib (BAY 43-9006), ARQ-350RP, LERafAON, BMS-354825 AMG-548, y otros divulgados en WO 03/82272; inhibidores de la quinasa del Receptor de Factor de Crecimiento de Fibroblastos (FGFR); inhibidores de la Quinasa Dependiente de Células (CDK), incluyendo CIC-202 o roscovitina (WO 97/20842 y WO 99/02162); inhibidores de quinasa del Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGFR) tales como CHIR-258, 3G3 mAb, AG-13736, SU-11248 y SU6668; e inhibidores de quinasa Bcr-Abl y proteínas de fusión como STI-571 o Gleevec® (imatinib).
- 15 B. Antiestrógenos: Agentes que tienen el estrógeno como objetivo para uso en terapia anticáncer en conjunción con un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) incluyen Moduladores del Receptor de Estrógeno Selectivo (SERM) incluyendo tamoxifén, toremifene, raloxifene; inhibidores de aromatasa incluyendo Arimidex® o anastrozole; Subreguladores del Receptor de Estrógeno (ERD) incluyendo Faslodex® o fulvestrant.
- 20 C. Antiandrógenos: Agentes que apuntan a andrógenos para uso en terapia anticáncer en conjunción con un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) incluyendo flutamida, bicalutamida, finasteride, aminoglutetamida, ketoconazol, y corticosteroides.
- 25 D. Otros inhibidores: Otros inhibidores para uso como agentes anticáncer en conjunción con un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) incluyen inhibidores de la proteína farnesilo transferasa incluyendo tipifarnib o R-115777 (US 2003134846 y WO 97/21701), BMS-214662, AZD-3409, y FTI-277; inhibidores de topoisomerasa incluyendo merbarone y diflomotecan (BN-80915); inhibidores de la proteína de asa de quinesina mitótica (KSP) incluyendo SB-743921 y MKI-833; moduladores del proteasoma tales como bortezomib o Velcade® (US 5,780,454), XL-784; e inhibidores de la ciclooxigenasa 2 (COX-2) incluyendo fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID).
- 30 E. Fármacos Quimioterapéuticos contra el Cáncer: Agentes quimioterapéuticos contra el cáncer en particular para uso como agentes anticáncer en conjunción con un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) incluyen anastrozol (Arimidex®), bicalutamida (Casodex®), bleomicina sulfato (Blenoxano®), busulfan (Myleran®), busulfan inyección (Busulfex®), capecitabine (Xeloda®), N4-pentoxycar l-5-desoxi-5-fluorocitidina, carboplatino (Paraplatin®), carmustine (BiCNU®), clorambucilo (Leukeran®), cisplatino (Platinol®), cladribine (Leustatin®), ciclofosfamida (Cytosan® o Neosar®), cytarabine, citosina arabinósido (Cytosar-U®), cytarabine liposoma inyección (DepoCyt®), dacarbazina (DTIC-Dome®), dactinomicina (Actinomicina D, Cosmegan), daunorubicin clorhidrato (Cerubidine®), daunorubicin citrato liposoma inyección (DaunoXome®), dexametasona, docetaxel (Taxotere®, US 2004073044), doxorubicin clorhidrato (Adriamicina®, Rubex®), etoposide (Vepesid®), fludarabine fosfato (Fludara®), 5-fluorouracilo (Adrucil®, Efudex®), flutamida (Eulexin®), tezacitibine, Gemcitabine (difluorodesoxiciditine), hidroxiurea (Hidrea®), Idarubicin (Idamicina®), ifosfamida (IFEX®), irinotecan (Camptosar®), L-asparaginase (ELSPAR®), leucovorin calcio, melphalan (Alkeran®), 6-mercaptopurina (Purinathol®), metotrexato (Folex®), mitoxantrona (Novantrone®), mylotarg, paclitaxel (Taxol®), phoenix (Yttrium90/MX-DTPA), pentostatin, polifeprosan 20 con implante de carmustina (Gliadel®), tamoxifen citrato (Nolvadex®), teniposide (Vumon®), 6-tioguanina, tiotepa, tirapazamina (Tirazone®), topotecan clorhidrato para inyección (Hycamptin®), vinblastina (Velban®), vincristina (Oncovin®), y vinorelbina (Navelbine®).
- 35 40 F. Agentes Alquilantes: Agentes alquilantes para uso en conjunción con un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) incluyen VNP-40101M o doretizine, oxaliplatino (US 4,169,846, WO 03/24978 y WO 03/04505), glufosfamida, mafosfamida, etopophos (US 5,041,424), prednimustine; treosulfan; busulfan; irofluven (acylfulvene); penclomedine; pirazoloacridina (PD-115934); O6-bencilguanina; decitabine (5-aza-2-desoxiciditina); brostallicin; mitomicina C (MitoExtra); TLK-286 (Telcyta®); temozolomide; trabectedin (US 5,478,932); AP-5280 (Formulación de platinato de Cisplatino); porfiromicina; y clearazide (mecloretamina).
- 45 G. Agentes Quelantes: Agentes quelantes para uso en conjunción con un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) incluyen tetratiomolibdato (WO 01/60814); RP-697; Chimeric T84.66 (cT84.66); gadofosveset (Vasovist®); deferoxamina; y bleomicina opcionalmente en combinación con electroporación (EPT).
- 50 H. Modificadores de la Respuesta Biológica: Modificadores de la respuesta biológica, tales como moduladores inmunes, para uso en conjunción con un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) incluyen estaurosporina y análogos macrocíclicos de la misma incluyendo UCN-01, CEP-701 y midostaurin (see WO 02/30941, WO 97/07081, WO 89/07105, US 5,621,100, WO 93/07153, WO 01/04125, WO 02/30941, WO 93/08809, WO 94/06799, WO 00/27422, WO 96/13506 y WO 88/07045); squalamina (WO 01/79255); DA-9601 (WO 98/04541 y US 6,025,387); alemtuzumab; interferones (e.g. IFN-a, IFN-b etc.); interleuquinas, específicamente IL-2 o aldesleuquina así como IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, variantes biológicas activas de las mismas que
- 55

tiene secuencias de aminoácidos superiores al 70% de la secuencia humana nativa; altretamina (Hexalen®); SU 101 o leflunomide (WO 04/06834 y US 6,331,555); imidazoquinolinas tales como resiquimod y imiquimod (US 4,689,338, 5,389,640, 5,268,376, 4,929,624, 5,266,575, 5,352,784, 5,494,916, 5,482,936, 5,346,905, 5,395,937, 5,238,944, y 5,525,612); y SMIPs, incluyendo benzazoles, antraquinonas, tiosemicarbazonas, y triptantrinas (WO 04/87153, WO 04/64759, y WO 04/60308).

I. Vacunas Contra el Cáncer: Vacunas anticáncer para uso en conjunción con un compuesto de fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) incluyen Avicine® (Tetrahedron Lett. 26:2269-70 (1974)); oregovomab (OvaRex®); Theratope® (STn-KLH); Melanoma Vaccines; GI-4000 series (GI-4014, GI-4015, y GI-4016), los cuales están dirigidos a cinco mutaciones en la proteína Ras; GlioVax-1; MelaVax; Advexin® o INGN-201 (WO 95/12660); Sig/E7/LAMP-1, encoding HPV-16 E7; MAGE-3 Vaccine o M3TK (WO 94/05304); HER-2VAX; ACTIVE, el cual estimula las células T específicas para tumores; vacuna contra el cáncer GM-CSF; y vacunas basadas en *Listeria monocitogenes*.

J. Terapia Antisentido: Agentes anticáncer para uso en conjunción con un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) también incluyen composiciones antisentido, tales como AEG-35156 (GEM-640); AP-12009 y AP-11014 (oligonucleótidos antisentido específicos para TGF-beta2); AVI-4126; AVI-4557; AVI-4472; oblimersen (Genasense®); JFS2: aprinocarsen (WO 97/29780); GTI-2040 (un oligo antisentido de ARNm de R2 ribonucleótido reductasa) (WO 98/05769); GTI-2501 (WO 98/05769); oligodesoxinucleótidos antisentido de c-Raf encapsulados en liposomas (LErafAON) (WO 98/43095); y Sirna-027 (ARNm de VEGFR-1 direccionado a terapias basadas en ARNi).

Un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) también puede ser combinado en una composición farmacéutica con sustancias farmacéuticas broncodilatadoras o antihistamínicas. Tales fármacos broncodilatadores incluyen agentes anticolinérgicos o antimuscarínicos, en particular glicopirrolato, bromuro de ipratropio, bromuro de oxitropio, y bromuro de tiotropio, OrM3, acilidinio, CHF5407, GSK233705 y agonistas del adrenoreceptor β -2 tales como salbutamol, terbutalina, salmeterol, carmeterol, milveterol y especialmente, indacaterol y formoterol. Sustancias farmacéuticas antihistamínicas coterapéuticas incluyen clorhidrato de cetirizina, fumarato de clemastina, prometazina, loratadine, desloratadine, difenhidramina y clorhidrato de fexofenadina.

La invención provee en un aspecto adicional una combinación que comprende un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) y uno o más compuestos que son útiles para el tratamiento de una enfermedad trombolítica, una enfermedad cardíaca, apoplejía, etc. Tales compuestos incluyen aspirina, una estreptoquinasa, un activador del plasminógeno de los tejidos, una uroquinasa, un anticoagulante, fármacos antiplaquetas (por ejemplo, PLAVIX®; bisulfato de clopidogrel), una estatina (LIPITOR o Atorvastatina calcio), ZOCOR (simvastatina), Crestor (rosuvastatina), etc.), un bloqueador Beta (por ejemplo atenolol), NORVASC (amlodipina besilato), y un inhibidor de ACE (por ejemplo lisinopril).

La invención provee en un aspecto adicional una combinación que comprende un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) y uno o más compuestos que son útiles para el tratamiento de la antihipertensión. Tales compuestos incluyen inhibidores de ACE, agentes que hacen disminuir los lípidos tales como estatinas, LIPITOR (Atorvastatina calcio), bloqueadores de los canales de calcio tales como NORVASC (besilato de amlodipina).

La invención provee en un aspecto adicional una combinación que comprende un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) y uno o más compuestos seleccionados del grupo consistente de fibratos, bloqueadores beta, inhibidores de NEPI, antagonistas del receptor de angiotensina-2 e inhibidores de la agregación de plaquetas.

La invención provee en un aspecto adicional una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) y un compuesto adecuado para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo artritis reumatoide. Tal compuesto puede ser seleccionado del grupo consistente de inhibidores de TNF- α , tales como anticuerpos monoclonales anti-TNF- α (tales como REMICADE, CDP-870) y D2E7 (HUMIRA) y moléculas de fusión de inmunoglobulina del receptor TNF (tales como ENBREL), inhibidores de IL-1, antagonistas del receptor de IL-1 soluble R α (por ejemplo inhibidores de KINERET o ICE), agentes antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDS), piroxicam, diclofenac, naproxen, flurbiprofen, fenoprofen, ketoprofen, ibuprofen, fenamates, ácido mefenámico, indometacin, sulindac, apazone, pirazonas, fenilbutazona, aspirina, inhibidores de COX-2 (tales como CELEBREX (celecoxib), PREXIGE (lumiracoxib)), inhibidores de metaloproteasa (preferiblemente inhibidores selectivos de MMP-13), inhibidores p2X7, inhibidores α 2 α , NEUROTIN, pregabalin, metotrexato en dosis baja, leflunomide, hidroxicloroquina, dpenicilamina, auranofina u oro parenteral u oral.

La invención provee en un aspecto adicional una combinación que comprende un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) y un compuesto adecuado para el tratamiento de osteoartritis. Tal compuesto puede ser seleccionado del grupo consistente de agentes antiinflamatorios estándar no esteroideos (de aquí en adelante NSAID) tales como piroxicam, diclofenaco, ácidos propiónicos tales como naproxen, flurbiprofen, fenoprofen, ketoprofeno e ibuprofeno, fenamatos tales como ácido mefenámico, indometacina, sulindac, apazona, pirazonas tales como fenilbutazona, salicilatos tales como aspirina, inhibidores de COX-2 tales como celecoxib, valdecoxib, lumiracoxib y etoricoxib, analgésicos y terapias intraarticulares tales como corticosteroides y ácidos hialurónicos tales como hyalgan y synvisc.

La invención provee en un aspecto adicional una combinación que comprende un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) y un agente antiviral y/o un compuesto antisepsis. Tal agente antiviral puede ser seleccionado del grupo consistente de Viracept, AZT, aciclovir y famciclovir. Tales compuestos antisepsis pueden ser seleccionados del grupo consistente de Valant.

- 5 La invención provee en un aspecto adicional una combinación que comprende un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) y uno o más agentes seleccionados del grupo consistente de agentes CNS tales como antidepresivos (sertraline), y fármacos antiparkinson (tales como deprenilo, L-dopa, Requip, inhibidores de Mirapex: MAOB (tales como selegina y rasagilina); inhibidores de comP (tales como Tasmar); inhibidores de A-2; inhibidores de la retoma de dopamina; antagonistas de NMDA; agonistas de nicotina, agonistas de dopamina; e inhibidores de óxido nítrico sintasa neuronal).

10 La invención provee en un aspecto adicional una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) y uno o más fármacos anti-Alzheimer. Such anti-Alzheimer. El fármaco puede ser seleccionado del grupo consistente de donepezilo, tacrine, $\alpha 2$ inhibitors, NEUROTIN, pregabalin, inhibidores COX-2, propentofillina o metrifonato.

- 15 La invención provee en un aspecto adicional una combinación que comprende un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) y agentes de anosteoporosis y/o un agente inmunosupresor. Tales agentes para la osteoporosis pueden ser seleccionados del grupo consistente de EVISTA (clorhidrato de raloxifeno), droloxifene, tasofoxifene o fosomax. Tales agentes inmunosupresores pueden ser seleccionados del grupo consistente de FK-506 y rapamicina.

- 20 En otro aspecto de las realizaciones preferidas, se divulgan aquí y proveen kits que incluyen uno o más compuestos de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) y un asociado de combinación. Kits representativos incluyen un compuesto inhibidor de PI3K (por ejemplo un compuesto de fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC)) y un inserto de empaque u otra etiqueta que incluya instrucciones para tratar una enfermedad proliferativa celular administrando una cantidad inhibidora de PI3K del compuesto.

- 25 En general, los compuestos de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) serán administrados en una cantidad terapéuticamente efectiva por cualquiera de los modos aceptados de administración para agentes que sirven para propósitos similares. La cantidad real del compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC), esto es el ingrediente activo, dependerá de numerosos factores tales como la severidad de la enfermedad que se va a tratar, la edad y la salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto usado, la ruta y forma de administración y otros factores. El fármaco puede ser administrado más de una vez al día, preferiblemente una o dos veces al día. Todos estos factores están dentro de la capacidad del médico a cargo. Cantidades terapéuticamente efectivas del compuesto de las fórmulas I pueden variar desde aproximadamente 0.05 hasta aproximadamente 50 mg por kilogramo de peso corporal del receptor por día; preferiblemente de forma aproximada 0.1-25 mg/kg/día, más preferiblemente, desde aproximadamente 0.5 hasta 10 mg/kg/día. Así, para administración a una persona de 70 kg, el rango de dosificación estaría más probablemente alrededor de 35-70 mg por día.

- 35 En general, los compuestos de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) pueden ser administrados como composiciones farmacéuticas por una cualquiera de las siguientes rutas: administración oral, sistémica (por ejemplo transdérmica, intranasal o por supositorio), o parenteral (por ejemplo, intramuscular, intravenosa o subcutánea). La manera preferida de administración es oral utilizando un régimen de dosificación diaria que puede ser ajustado de acuerdo con el grado de aflicción. Las composiciones pueden tomar la forma de tabletas, píldoras, cápsulas, semisólidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, soluciones, suspensiones, elixires, aerosoles o cualquier otra composición apropiada. Otra forma preferida para administrar compuestos de la fórmula I es inhalación. Este es un método efectivo para administrar un agente terapéutico directamente en el tracto respiratorio.

- 40 La selección de la formulación depende de diversos factores tales como modo de administración del fármaco y la biodisponibilidad de la sustancia fármaco. Para administración a través de inhalaciones, el compuesto puede ser formulado como una solución líquida, suspensiones, propelentes de aerosol o polvo seco y cargado en un dispensador adecuado para administración. Hay varios tipos de dispositivos para inhalación farmacéutica: inhaladores nebulizadores, inhaladores de dosis medidas (MDI) e inhaladores de polvo seco (DPI). Los dispositivos de nebulizador producen una corriente de aire a alta velocidad que hace que los agentes terapéuticos (los cuales están formulados en una forma líquida) se asperjan en forma de una niebla que es llevada hacia el tracto respiratorio del paciente. Los MDI típicamente son una formulación empacada con un gas comprimido. Al accionarlo, el dispositivo descarga una cantidad medida del agente terapéutico mediante gas comprimido, permitiendo así un método confiable de administrar una cantidad fija de agente. El DPI dispensa agentes terapéuticos en la forma de un polvo de flujo libre que puede ser dispersado en la corriente de aire que inspira el paciente, durante la respiración mediante el dispositivo. Con el fin de alcanzar un polvo de flujo libre, el agente terapéutico se formula con un excipiente tal como lactosa. Una cantidad medida del agente terapéutico se almacena en forma de cápsula y se dispensa con cada accionamiento.

La invención también se relaciona con formulaciones en donde el tamaño de partícula de un compuesto de la fórmula I está entre 10 - 1000 nm, preferiblemente 10 - 400 nm. Tales formulaciones farmacéuticas han sido desarrolladas especialmente para fármacos que muestran pobre biodisponibilidad con base en el principio de que la biodisponibilidad puede ser incrementada incrementando el área superficial, esto es, disminuyendo el tamaño de partícula. Por ejemplo, La US 4,107,288 describe una formulación farmacéutica que tiene partículas en el rango de tamaño de 10 a 1000 nm en el cual el material activo está soportado sobre una matriz entrecruzada de macromoléculas. La US 5,145,684 describe la producción de una formulación farmacéutica en la cual la sustancia fármaco es pulverizada a nanopartículas (partículas de tamaño promedio de 400 nm) en presencia de un modificador superficial y luego se dispersan en un medio líquido para dar una formulación farmacéutica que exhibe biodisponibilidad notablemente alta. Ambos documentos se incluyen como referencia.

En un aspecto adicional, la invención provee composiciones farmacéuticas que comprenden una (cantidad terapéuticamente efectiva) de un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC), y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Excipientes aceptables son no tóxicos, auxilian en la administración, no afectan adversamente el beneficio terapéutico del compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC). Tal excipiente puede ser cualquier sólido, líquido, semisólido o en el caso de una composición en aerosol, cualquier excipiente gaseoso que esté disponible en general para una persona experimentada en la técnica.

Excipientes farmacéuticos sólidos incluyen almidón, celulosa, talco, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, sílica gel, estearato de magnesio, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, cloruro de sodio, leche desengrasada, y similares .

Excipientes líquidos y semisólidos pueden ser seleccionados de glicerol, propilen glicol, agua, etanol y diversos aceites, incluyendo de petróleo, de origen animal, vegetal o sintético, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, etc. Vehículos líquidos preferidos, particularmente para soluciones inyectables, incluyen agua, solución salina, dextrosa acuosa y glicoles. Se pueden utilizar gases comprimidos para dispersar un compuesto de las fórmulas I en forma de aerosol. Gases inertes adecuados para este propósito son nitrógeno, dióxido de carbono, etc. Otros excipientes farmacéuticos adecuados y sus formulaciones se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences, edited by E. W. Martin (Mack Publishing Company, 18th ed., 1990). La cantidad del compuesto en una formulación puede variar dentro del rango completo empleado por las personas experimentadas en la técnica. Típicamente, la formulación contendrá, en una base de porcentaje en peso (% p) aproximadamente 0.01-99,99% p de un compuesto de fórmula I con base en la formulación total, siendo el balance de uno o más excipientes farmacéuticos adecuados. Preferiblemente, el compuesto está presente en un nivel de aproximadamente 1-80% en peso.

La invención se relaciona adicionalmente con composiciones farmacéuticas que comprenden (esto es contienen o consisten de) al menos un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable (tal como un vehículo y/o un diluyente) pueden ser manufacturados de manera convencional mezclando los componentes.

Composiciones farmacéuticas combinadas que comprenden un compuesto de las fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable y adicionalmente que comprenden un asociado de combinación (bien sea una forma de unidad de dosificación o como un conjunto de partes) en asociación con al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptables pueden ser manufacturados de manera convencional mezclando con un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable dichos ingredientes activos.

Consecuentemente, la invención provee en aspectos adicionales

■ una composición farmacéutica combinada, por ejemplo para uso con cualquier método descrito aquí, que comprende un compuesto de la fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con un diluyente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable.

■ una composición farmacéutica combinada que comprende un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable como ingrediente activo; uno o más materiales portadores y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente una o más sustancias farmacéuticas adicionales. Tal composición farmacéutica combinada puede estar en la forma de una forma de dosificación unitaria o como un conjunto de partes.

■ una composición farmacéutica combinada que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable y una segunda sustancia fármaco, para administración simultánea o secuencial.

■ una combinación farmacéutica, por ejemplo un kit, que comprende a) un primer agente que es un compuesto de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) como se divulga aquí, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y b) al menos un coagente, por ejemplo como se indicó anteriormente; por lo tanto tal kit puede comprender instrucciones para su administración.

- 5 Los siguientes ejemplos de compuestos de las fórmulas (I), (IA), (IA'), (IB) y/o (IC) ilustran la invención sin limitar el alcance de la misma. Se describen los métodos para preparar tales compuestos.

Las temperaturas se miden en grados Celsius. A menos que se indique otra cosa, las reacciones tienen lugar a temperatura ambiente y los MS se obtienen con ESI. Se usan los siguientes métodos de HPLC/MS en la preparación y análisis de los Intermediarios y Ejemplos:

- 10 Métodos A1 a A3 (LCMS: HPLC/MS analítica):

Sistema: Agilent, 1100 Series con Waters Micromass ZQ 2000 ESI⁺ y/o ESI-

Columna: XBridge C18, 3 x 30 mm, 2.5 micron

Temperatura: 50°C

Eluyente A: H₂O, que contiene 5% de CH₃CN y 0.8% de HCOOH

- 15 Eluyente B: CH₃CN, que contiene 0.6% de HCOOH

Rata de flujo: 1.2-2.4 mL/min

Método A1: método Polar4a_p_100-900 y método Polar4a_pn_100-900:

Gradiente: 0 - 2.9 min: 1 % a 95% de B

Método A2: método Fast4_p_100-900 y método Fast4a_pn_100-900:

- 20 Gradiente: 0 - 2.4 min: 10% a 95% de B

Método A3: método Slow4a_pn_100-900:

Gradiente: 0 - 4.4 min: 5% a 95% de B

- 25 Método B (HPLC preparativa) Instrumento: Sistema Waters HPLC preparativa, columna: Sunfire™ Prep C18 OBD™ 5 micron 30 X 100 mm, temperatura: 25°C, eluyente: gradiente de 5 - 100% CH₃CN en TFA acuoso al 0,05% 20 minutos, rata de flujo: 30 ml/minuto, detección: UV 254 nm.

Método C (HPLC preparativa) Instrumento: Sistema Waters HPLC preparativa, columna: Sunfire™ Prep C18 OBD™ 5 micron 30 X 100 mm, temperatura: 25 °C, eluyente: gradiente de 5 - 50% CH₃CN en TFA acuoso al 0,05% 20 minutos, rata de flujo: 30 ml/minuto, detección: UV 254 nm.

- 30 Método D (HPLC analítica): Gradiente lineal 2-100% CH₃CN (0.1%TFA) y H₂O (0.1 % TFA) in 5 min + 1.5 min 100% CH₃CN (0.1%TFA); detección at 215 nm, rata de flujo 1 mUmin at 30 °C. Columna: Nucleosilo 100-3 C18 (70 x 4mm)

Método E (HPLC preparativa/MS) Instrumento Sistema Gilson HPLC preparativa, columna: Sunfire™ Prep C18 OBD™ 5 micron 30 X 100 mm, temperatura: 25°C, eluyente: gradiente de 5 - 100A CH₃CN en TFA acuoso al 0,05% 20 minutos, rata de flujo: 30 ml/minuto, detección: UV 254 nm.

- 35 Método F (HPLC analítica) Instrumento: Shimadzu SIL-10A, Método: Gradiente lineal 2-100% CH₃CN (0.1%TFA) y H₂O (0.1% TFA) en 4 min + 2 min 100% CH₃CN (0.1 %TFA): regreso a -100% CH₃CN (0.1%TFA) en 3 min.; detección a 215 nm, rata de flujo 2 mL/min at RT. Columna: Nucleosil OD-5-100 C18 (150 x 4.6 mm)

Método G (HPLC analítica) Instrumento:

Sistema: Agilent 1100 Series

Columna: HP Hypersilo BDS C18, 4 x 125 mm, 5 micron

- 40 Temperatura: 25°C

Eluyente A: H₂O, que contiene 0.1% v/v TFA

Eluyente B: CH₃CN, que contiene 0.1% v/v TFA

Gradiente: 10% → 100% B in 5 min, 2.5 min con 100% B, luego → 10% B in 1 min

Rata de flujo: 1.5 mL/min

Detección: UV 215 nm

5 Método H (HPLC analítica) Instrumento:

Sistema: Agilent 1100 Series

Columna: Macherey-Nagel Nucleosilo 100-3 C18HD, 4 x 125 mm, 3 micron

Temperatura: 30°C

Eluyente A: H₂O, que contiene 0.1% v/v TFA

10 Eluyente B: CH₃CN, que contiene 0.1% v/v TFA

Gradiente: 2% → 100% B in 7 min, 2 min con 100% B, luego → 2% B en 1 min

Rata de flujo: 1.0 mL/min

Detección: UV 215 nm

Método I (LCMS: HPLC analítica/MS):

15 Sistema: Waters Acquity UPLC con Waters Micromass ZQ 2000 ESI+/-

Columna: Acquity HSS T3 C18, 2.1 x 50 mm, 1.8 micron

Temperatura: 50 °C

Eluyente A: H₂O, que contiene 0.05% v/v HCOOH y 3.75 mM acetato de amonio

Eluyente B: CH₃CN, que contiene 0.04% HCOOH

20 Gradiente: 2% → 98% B in 4.3 min, 0.7 min con 98% B, luego → 2% B in 0.1 min y 0.9 min con 2% B

Rata de flujo: 1.0 mUmin

Método J (LCMS: HPLC analítica/MS):

Sistema: Agilent 1100 Series; MS: G1946D

Columna: Symmetry C8, 2.1 x 50mm, 3.5 micron

25 Eluyente A: H₂O, que contiene 0.1% v/v HCOOH

Eluyente B: CH₃CN, que contiene 0.1% v/v HCOOH

Gradiente: 0 - 3.3 min: 5% to 95% of B

Rata de flujo: 1.0 mUmin

Método K (LCMS: HPLC analítica/MS):

30 Sistema: Waters Acquity UPLC

Columna: Acquity HSS T3 C18, 2.1 x 50 mm, 1.8 micron

Eluyente A: H₂O, que contiene 0.05% v/v HCOOH y 0.05% acetato de amonio

Eluyente B: acetonitrilo, que contiene 0.04% HCOOH

Gradiente: 2% → 98% B in 1.7 min, 0.45 min con 98% B, luego → 2% B in 0.04 min

Rata de flujo: 1.2 ml/min

Método L (LCMS: HPLC analítica/MS):

Sistema: Waters Aquity UPLC; MS: Waters AQ Detector

5 Columna: Aquity HSS, 1.8 mm 2.1 x 50mm, 3/pk

Eluyente A: H₂O, que contiene 0.1 % v/v HCOOH

Eluyente B: CH₃CN, que contiene 0.1% v/v HCOOH

Gradient; 0-1.5 min: 10% to 95% of B, luego 1 min: 95% B

Rata de flujo: 1.2 mL/min

10 ESI-MS:

Instrumentoo Micromass Platform II

Eluyente: MeOH al 15% v/v en H₂O que contiene 0.2% v/v de una solución de hidróxido de amonio al 25%

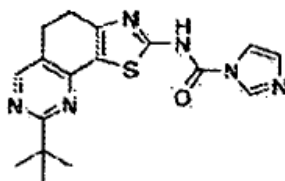
Rata de flujo: 0.05 mL/min

En los siguientes ejemplos, se usan las abreviaturas dadas a continuación:

atm.	atmósfera
CDI	1,1'-carbonildiimidazol
CH ₃ CN	acetonitrilo
DAST	Trifluoruro de dietilaminoazufre
DCE	1,2-dicloroetano
DCM	Diclorometano
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	dimetilo sulfóxido
Et ₂ O	dietilo éter
EtOAc	Acetato de etilo
EtOH	Etanol
eq	Equivalente
h	Horas
H ₂ O	Agua
HPLC	Cromatografía Líquida de Alto rendimiento
HV	Alto vacío
LCMS	Cromatografía líquida acoplada con espectrometría de masas
LiHMDS	litio bis(trimetilsilil)amida
MeOH	metanol

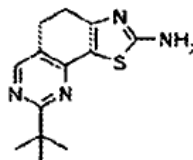
mL	mililitro
min	minuto
MS-ESI	Espectrometría de masas con ionización por electroaspersión
MW	Microondas
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
NH ₄ Cl	Cloruro de amonio
RM	Mezcla de reacción
R _f	Relación de frentes en TLC
rt	Temperatura ambiente
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TLC	Cromatografía de capa delgada
t _R	Tiempo de retención
UV	Ultravioleta

Intermediario A: Ácido Imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida



- 5 8-tert-Butil-4,5-dihidro-triazolo[4,5-h]quinazolin-2-ilamina (Etapa A.1, 0.319 g, 1.225 mmol) y CDI (278 mg, 1.715 mmol) fueron agregados a DCM (5 ml) y DMF (0.25 ml) bajo una atmósfera de argón. Después de 18 horas el residuo fue enfriado a 4°C y el precipitado fue recolectado por filtración. El sólido fue secado a 50°C en alto vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo pálido. LCMS:: t_R 0,95 min y M+H 319.0 (el método A2) para éster metílico del ácido (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-carbámico; el producto de la reacción del compuesto del título con MeOH durante la preparación de la muestra como solución en MeOH.

Etapa A.1: 8-tert-Butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-ilamina



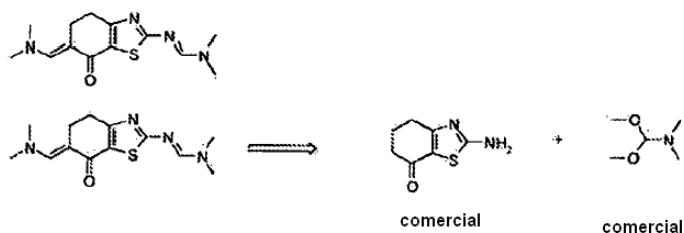
- 10 El intermediario A.1 fue obtenido por dos rutas diferentes. Ambas rutas parten de 2-amino-5,6-dihidro-4H-benzotiazol-7-ona y se describen a continuación:

Ruta 1:

- 15 A una mezcla de N'-(6-[1-dimetilamino-met-(E)-iliden]-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-benzotiazol-2-yl)-N,N-dimetil-formamidina (Etapa A.2, 2.2 g, 7.90 mmol) en 2-metoxietanol (20 mL) se agregó a temperatura ambiente hidróxido

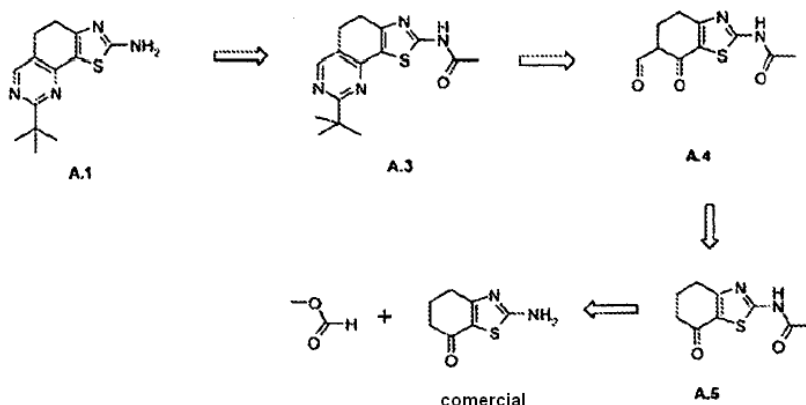
de sodio (1.185 g, 29.6 mmol) y clorhidrato de 2,2-dimetil-propionamidina (1.620 g, 11.85 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a 125°C durante 3 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue diluida con MeOH, adsorbida sobre sílica gel y purificada por cromatografía instantánea (CombiFlash® Companion sistema®, con columna de sílica gel RediSep®, eluyente: DCM / MeOH / Amoniaco 95:5:0.5). LC: t_R 3.64 min (método D). MS: M+H = 261. 1H -NMR in DMSO- d_6 : 8.24 (s, 1H); 7.70 (s, 2H); 2.89 - 2.84 (m, 2H); 2.76 - 2.71 (m, 2H); 1.28 (s, 9H).

Etapa A.2: N'-{6-[1-Dimetilamino-met-(E)-iliden]-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-benzotiazol-2-yl}-N,N-dimetil-formamidina



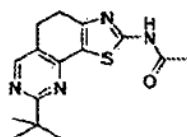
Una suspensión de 2-amino-5,6-dihidro-4H-benzotiazol-7-ona (3.5 g, 20.81 mmol) en dimetoximetildimetilamina (12 mL, 90 mmol) fue calentada a 100°C con agitación durante 65 horas. La mezcla de reacción fue evaporada entonces hasta sequedad in vacuo y el residuo fue suspendido en EtOAc. Después de 1 hora a 4°C, se retiró el sólido por filtración, se lavó con EtOAc y luego se secó bajo alto vacío a 60°C para dar el producto del título puro en forma de cristales color marrón. LC: t_R 3.25 min (método D). MS: M+H = 279. 1H -NMR in DMSO- d_6 : 8.40 (s, 1H); 7.23 (s, 1H); 3.15 (s, 3H); 3.05 (s, 6H); 2.97 (s, 3H); 2.91 (t, 2H); 2.67 (t, 2H).

Ruta 2:



Se agregó carbonato de potasio (0.434 g, 3.14 mmol) a una mezcla de N-(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-acetamida (Etapa A.3, 0.38 g, 1.257 mmol) en MeOH. La mezcla de reacción fue agitada a 50°C durante 52 horas, luego se enfrió hasta temperatura ambiente y se evaporó al vacío para dar una masa roja. Se agregó agua (20 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas adicionales. La suspensión roja fue enfriada entonces a 4°C y filtrada para dar después del secado bajo alto vacío el compuesto del título en forma de un sólido color beige. LCMS: t_R 0.99 min y M+H = 261 (método A3). 1H -NMR in DMSO- d_6 , 400 MHz): 8.24 (s, 1H); 7.70 (s, 2H); 2.89 - 2.84 (m, 2H); 2.76 - 2.71 (m, 2H); 1.28 (s, 9H).

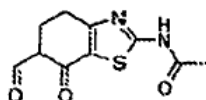
Etapa A.3: N-(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-acetamida



Se agregó piridina (13 mL) a N-(6-enformil-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-benzotiazol-2-il)-acetamida (Etapa A. 4, 3.05 g, 12.8 mmol) y clorhidrato de tert-butilamidina (1.788 g, 12.8 mmol) y la mezcla se calentó en un recipiente cerrado a 160°C durante 6.5 horas. Después de enfriar la mezcla de reacción se filtró para dar un sólido. El licor madre de la

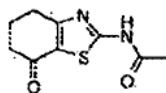
filtración fue evaporado para dar material sólido adicional. Los sólidos combinados fueron triturados repetidamente con CH₃CN caliente y los licores madre de CH₃CN caliente fueron evaporados para dar un sólido que demostró ser predominantemente el producto del título. El producto crudo fue disuelto en cerca de 10 ml de una solución de DMSO al 10% en MeOH para dar una solución naranja ligeramente turbia que se filtró y agregó gota a gota a agua (100 ml) a temperatura ambiente con agitación. El sólido precipitado fue recolectado por filtración para dar el compuesto del título en forma de un sólido naranja. LCMS: t_R 1.37 min y M+H = 303.0 (método A3). ¹H-NMR in DMSO-d₆, 400 MHz: 12.40 (s, 1H); 8.44 (s, 1H); 2.88 - 3.00 (m, 4H); 2.17 (s, 3H); 1.32 (s, 9H).

Etapa A.4: N-(6-Formil-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-benzotiazol-2-il)-acetamida



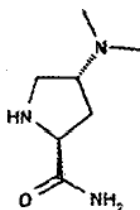
- 10 Se agregó solución de LiHMDS (1 M, 27.7 mL) a lo largo de 10 minutos a una suspensión de N-(7-oxo-4,5,6,7-tetrahydrobenzotiazol-2-il)-acetamida (Etapa A.5, 2.0 g, 9.23 mmol) en THF seco (20 mL) enfriado a -78°C bajo una atmósfera de argón. La mezcla de reacción fue agitada entonces a -78°C durante 2.5 horas y se agregó formiato de metilo (2.308 ml, 36.9 mmol) gota a gota durante 30 minutos. La mezcla de reacción fue calentada entonces lentamente hasta temperatura ambiente y luego se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente.
- 15 La mezcla de reacción fue vertida en HCl 1 M acuoso (70 ml) y extraída 3 X con DCM, secada sobre Na₂SO₄ y evaporada para dar el compuesto del título en forma de un sólido. HPLC: t_R 3.65 min (método D). MS: M-H = 237. ¹H-NMR en DMSO-d₆ (400 MHz): 12.50 (s, br, 1H); 7.55 (s, 1H); 2.90 - 2.60 (m, 4H); 2.15 (s, 3H).

Etapa A.5: N-(7-Oxo-4,5,6,7-tetrahidro-benzotiazol-2-il)-acetamida



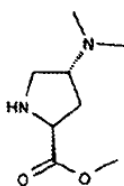
- 20 A anhídrido acético (80 mL) se agregó a temperatura ambiente 2-amino-5,6-dihidro-4H-benzotiazol-7-ona (10 g, 59.4 mmol) y la suspensión resultante fue calentada a reflujo. Después de 1.75 horas de agitación a reflujo, la mezcla de reacción se dejó enfriar con agitación y se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente antes de enfriar con un baño de hielo/NaCl, y se recolectó un sólido por filtración. El sólido fue triturado entonces dos veces con acetona en reflujo (10 mL luego 15 mL) antes de filtrar y secar bajo vacío a 40°C para dar el producto del título, en forma de un sólido beige.
- 25 HPLC: t_R 3.47 min (método D). MS: M-H = 211.1. ¹H-NMR in DMSO-d₆ (600 MHz): 12.55 (s, br, 1 H); 2.84 (t, 2H); 2.48 (t, 2H); 2.17 (s, 3H); 2.065 (qt, 2H).

Intermediario B: amida del ácido (2S,4R)-4-Dimetilamino-pirrolidin-2-carboxílico



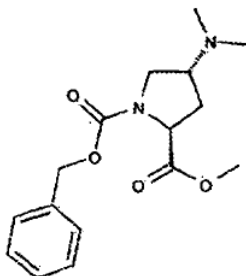
- 30 Una solución de metilo éster del ácido (2S,4R)-4-dimetilamino-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa B.1, 225 mg) y amoníaco 7 M en MeOH (7 mL) se dejó durante 18 horas a temperatura ambiente en un recipiente sellado. La evaporación y trituración con Et₂O dio el compuesto del título en forma de un sólido blanco.

Etapa B.1 Metilo éster del ácido (2S,4R)-4-Dimetilamino-pirrolidin-2-carboxílico



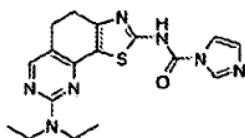
Una mezcla de 1-bencilo éster 2-metilo éster del ácido (2S,4R)-4-dimetilamino-pirrolidin-1,2-dicarboxílico (Etapa B.2, 420 mg), paladio al 10% sobre carbono (80 mg) y MeOH (10 mL) fue agitada durante 16 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. La filtración y evaporación dieron el compuesto del título el cual fue utilizado sin purificación en las siguientes etapas.

5 Etapa B.2 1- bencilo éster 2-metilo éster del ácido (2S,4R)-4-Dimetilamino-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



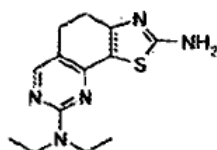
10 Se agregó cianoborohidruro de sodio (200 mg) a una mezcla de 1-bencilo éster 2-metilo éster de ácido (2S,4R)-4-amino-pirrolidin-1,2-dicarboxílico (400 mg), formalina (0.68 ml), ácido acético (0.72 ml), trietilamina (0.2 ml) y MeOH (2 ml) y la mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue sometida a partición entre DCM y solución acuosa de NaHCO₃, evaporándose las capas de DCM y purificándose por cromatografía de fase normal, eluyente; gradiente de EtOAc a 20% de EtOH en EtOAc, para dar el componente activo en UV predominante. El material sometido a cromatografía fue tomado con HCl 1 M, lavado con Et₂O 2X, la fase acuosa se basificó con NaHCO₃, se extrajo 3X con Et₂O, se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó para dar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido.

15 Intermediario C: Ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida



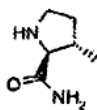
20 A una mezcla de 2-amino-8-N,N-dietilamino-4,5-dihidrotiazolo[4,5-h]quinazolina (Etapa C.1, 1 g, 3.63 mmol) en DCM (35 mL) se agregó CDI (1.178 g, 7.26 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 90 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, el sólido fue recolectado por filtración para dar el compuesto del título. HPLC: t_R 4.11 min (método D). MS: M+H = 334 for metilo éster del ácido (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-carbámico como producto de la reacción del compuesto del título con MeOH.

Etapa C.1: 2-Amino-8-dietilamino-4,5-dihidrotiazolo[4,5-h]quinazolina



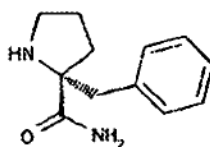
25 A N'-[6-[1-dimetilamino-met-(E)-iliden]-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-benzotiazol-2-yl]-N,N-dimetil-formidina (Etapa A.2, 1 g, 3.59 mmol) en 2-metoxietanol (10 mL) se agregó NaOH (0.539 g, 13.47 mmol) y N,N-dietilguanidina (0.454 g, 3.94 mmol) bajo argón a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue agitada durante 3.5 h a 125°C y luego enfriada hasta temperatura ambiente. Después de la evaporación in vacuo el residuo fue disuelto en HCl 0.1 M (50 mL) y lavado con EtOAc. La capa acuosa fue entonces basificada con NaOH 6 N y extraído 3 X con EtOAc. Las capas orgánicas fueron secadas sobre Na₂SO₄, se evaporaron y se secaron bajo alto vacío a 60°C para dar el compuesto del título en forma de cristales naranja. LC: t_R 3.60 min (método D). MS: M+H = 276. 1 H-NMR in DMSO-d₆: 7.91 (s, 1H); 7.59 (s, 2H); 3.50 (q, 4H); 2.69 (dd, 4H); 1.07 (t, 6H).

Intermediario D: amida del ácido (2S,3S)-3-Metil-pirrolidin-2-carboxílico



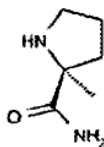
- 5 Se agregó una solución 4 M de HCl en 1,4-dioxano (1.5 mL) a una suspensión de ácido (2S,3S)-3-metilpirrolidin-2-carboxílico (0.5 g) en EtOH (5 mL) a temperatura ambiente y la mezcla se calentó a reflujo durante 20 horas. La mezcla de reacción fue evaporada y se agregó una solución 7 M de amoníaco en MeOH (5.6 mL). La mezcla de reacción fue mantenida a temperatura ambiente durante 6 días y luego evaporada, el residuo fue triturado con MeOH (0.5 mL) y filtrado y lavado con MeOH frío (2 mL) para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco. ¹H-NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): 8.06 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 3.60 (d, 1H), 3.25-3.14 (m, 2H), 2.24-2.15 (m, 1H), 2.09-1.98 (m, 1H), 1.57-1.45 (m, 1H), 1.13 (d, 3H).

Intermediario E: Amida del ácido (R)-2-Bencil-pirrolidin-2-carboxílico



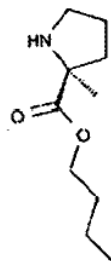
- 10 Una mezcla de (3R,7aR)-7a-bencil-3-triclorometil-tetrahidro-pirrol[1,2-c]oxazol-1-ona (1.40 g, preparada como se describe por Wang y Germanas Synlett 1999, 33-36.) y amoníaco 7 M en MeOH (15 ml) fue calentada a 50°C durante 3 días en un recipiente sellado. La mezcla de reacción enfriada fue evaporada entonces y triturada con cloroformo para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco.

- 15 Intermediario F Amida del ácido (S)-2-Metil-pirrolidin-2-carboxílico



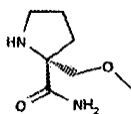
- 20 Una solución de butilo éster del ácido (S)-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa F.1, 2.3 g) en una solución 7 M de amoníaco en MeOH (22.2 ml) fue calentada en una bomba a 70°C durante 10 días. La evaporación de la mezcla de reacción y la trituración con hexanos (20 mL) dio el compuesto del título en forma de un sólido blancuzco. ¹H-NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): 7.40 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 2.95-2.84 (m, 1H), 2.72-2.60 (m, 1H), 2.06-1.95 (m, 1H), 1.66-1.44 (m, 2H), 1.42-1.30 (m, 1 H), 1.22 (s, 3H).

Etapa F.1: Butilo éster del ácido (S)-2-Metil-pirrolidin-2-carboxílico



- 25 Se agregó HCl concentrado (2 ml) a una suspensión de ácido (S)-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico (2 g) en butan-1-ol (50 ml) el cual fue calentado a 60°C durante 18 horas y luego a reflujo durante 4 días. Se evaporó la mezcla de reacción, se sometió a partición entre NaHCO₃ acuoso saturado y DCM, se extrajo 3X con DCM, se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó. El aceite aislado fue destilado con kugelrohr a 10 mbar para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro claro de la fracción que destila a una temperatura de horno de 100-120°C.

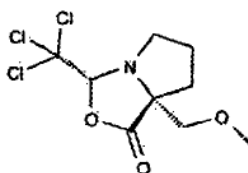
Intermediario G: Amida del ácido (R)-2-Metoximetil-pirrolidin-2-carboxílico



Una mezcla de (3R,7aR)-7a-metoximetil-3-triclorometil-tetrahidro-pirrol[1,2-c]oxazol-1-ona (Etapa G.1, 0.6 g) y amoníaco 7 M en MeOH (6 mL) fue almacenada a temperatura ambiente durante dos días en un recipiente sellado. La mezcla de reacción fue luego evaporada para dar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido en

5

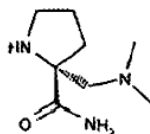
Etapa G.1: (3R,7aR)-7a-Metoximetil-3-triclorometil-tetrahidro-pirrol[1,2-c]oxazol-1-ona



Una solución de 1M de diisopropilamida de litio en una mezcla 3:5 de hexanos/THF (8.25 ml) fue agregada gota a gota a (3R,7aS)-3-triclorometil-tetrahidro-pirrol[1,2-c]oxazol-1-ona (1.51 g, preparada como lo describen Wang y Germanas Synlett 1999, 33-36.) en THF (5 ml) a -78°C. Después de agitar durante 30 minutos a -78°C se agregó metoximetilcloruro (1.14 ml). La mezcla de reacción luego se dejó calentar a -30 °C over 3 h y se agregó agua. La capa acuosa se extrajo con DCM, las capas orgánicas combinadas se evaporaron y el residuo fue purificado entonces por cromatografía de fase normal, eluyendo con DCM, lo que dio el compuesto del título como un aceite amarillo pálido.

10

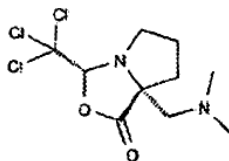
15 Intermediario H: Amida del ácido (R)-2-Dimetilaminometil-pirrolidin-2-carboxílico



Una mezcla de (3R,7aR)-7a-dimetilaminometil-3-triclorometil-tetrahidro-pirrol[1,2-c]oxazol-1-ona (Etapa H.1, 0.26 g) y amoníaco 7 M en MeOH (4 mL) fue calentada a 50°C durante 3 días en un recipiente sellado. La mezcla de reacción enfriada fue evaporada entonces para dar el compuesto del título en forma de un aceite color pardo que fue utilizado sin purificación adicional. MS: M+H = 172.1.

20

Etapa H.1: (3R,7aR)-7a-Dimetilaminometil-3-triclorometil-tetrahidro-pirrol[1,2-c]oxazol-1-ona

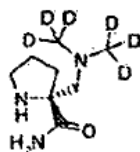


Una solución 1 M de diisopropilamida de litio en una mezcla 3:5 de hexanos/THF (8.25 ml) fue agregada gota a gota a (3R,7aS)-3-triclorometil-tetrahidro-pirrol[1,2-c]oxazol-1-ona (1.51 g, preparada como lo describen Wang y Germanas Synlett 1999, 33-36.) en THF (5 ml) a -78°C. Después de agitar durante 30 minutos a -78°C se agregó sal de Eschenmoser (2.78 g). La mezcla de reacción se dejó entonces calentar hasta -40°C con agitación vigorosa durante 1 hora y se mantuvo durante al menos 2 horas a -40°C. Se agregó entonces agua y la capa acuosa extraída con DCM, las capas orgánicas combinadas secadas sobre Na2SO4 y evaporadas. El residuo fue purificado entonces por cromatografía de fase normal eluyendo con un gradiente de DCM a EtOAc al 20% en DCM para dar el

25

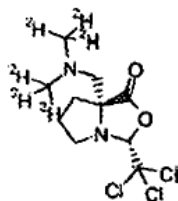
30

Intermediario 1: Amida del ácido d₆-(R)-2-Dimetilaminometil-pirrolidin-2-carboxílico



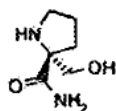
5 d_6 -(3R,7aR)-7a-Dimetilaminometil-3-triclorometil-tetrahidro-pirrolol[1,2-c]oxazol-1-ona (Etapa I.1, 440 mg, 1.430 mmol) fue disuelta en amoníaco en MeOH (10.2 ml, 71.4 mmol) en un recipiente sellado y calentado a 75°C durante 5 días. La mezcla de reacción se evaporó y trituró 2X con CHCl_3 para dar el producto del título en forma de un sólido marrón pálido.

Etapa I.1: d_6 -(3R,7aR)-7a-Dimetilaminometil-3-triclorometil-tetrahidro-pirrolol[1,2-c]oxazol-1-ona



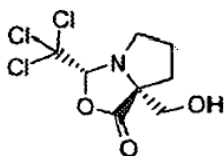
10 (3R,7aR)-1-Oxo-3-triclorometil-dihidro-pirrolol[1,2-c]oxazole-7a-carbaldehído (obtenida como se describe en J. Org. Chem. 2006, 71(1), 97-102, 1 g, 3.67 mmol), dimetilamina- d_7 en THF (1.0 mL, 14.09 mmol), ácido acético (0.525 mL, 9.17 mmol) y DCE (4 mL) fueron combinados bajo argón y se agregó porción a porción triacetoxiborohidruro de sodio (1.089 g, 5.14 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas la mezcla de reacción fue tomada en DCM, y sometida a partición con NaOH 1 M extrayendo una vez más con DCM. Las capas orgánicas fueron combinadas, luego lavadas dos veces con agua antes de ser secadas sobre Na_2SO_4 . La solución fue evaporada hasta la mitad de su volumen y se agregó HCl 1 M en H_2O , las capas se separaron y la capa acuosa se lavó dos veces con DCM. El pH de las capas acuosas fue ajustado a aproximadamente 8 con solución saturada de Na_2CO_3 y se extrajo tres veces con DCM. Las capas orgánicas fueron secadas sobre Na_2SO_4 y evaporadas, para dar el producto deseado del título en forma de un aceite amarillo pálido.

Intermediario J: Amida del ácido (R)-2-Hidroximetil-pirrolidin-2-carboxílico



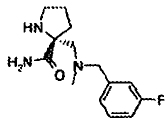
20 Se agregó (3R,7aR)-7a-Hidroximetil-3-triclorometil-tetrahidro-pirrolol[1,2-c]oxazol-1-ona (Etapa J.1, 308 mg, 1.122 mmol) a amoníaco 7 M en MeOH (8.014 mL, 56.1 mmol) bajo argón y se calentó a 75°C en un recipiente sellado durante 72 horas y luego se evaporó para dar el compuesto del título en forma de un aceite pardo pálido viscoso que fue utilizado sin purificación adicional.

Etapa J.1: (3R,7aR)-7a-Hidroximetil-3-triclorometil-tetrahidro-pirrolol[1,2-c]oxazol-1-ona.



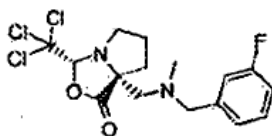
25 Se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (544 mg, 2.57 mmol) a (3R,7aR)-1-oxo-3-triclorometil-dihidropirrolol[1,2-c]oxazole-7a-carbaldehído (obtenido como se describe en J. Org. Chem. 2006, 71(1), 97-102, 500 mg, 1.835 mmol) en DCE (4 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente luego se tomó en DCM, la capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre Na_2SO_4 y se evaporó. El producto crudo fue purificado utilizando una columna de sílica gel con 20 g de RediSep® (eluyente DCM a MeOH al 10% en DCM) para dar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido claro.

Intermediario K: Amida del ácido (R)-2-[(3-Fluoro-bencil)-metil-amino]-metil-pirrolidin-2-carboxílico



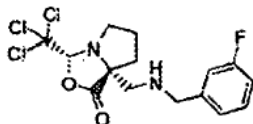
- 5 (3R,7aR)-7a-[[[(3-Fluoro-bencil)-metil-amino]-metil]-3-triclorometil-tetrahidropirrolol[1,2-c]oxazol-1-ona (Etapa K.1, 385 mg, 0.973 mmol) se agregó así al amoníaco 7 M en MeOH (6.950 mL, 48.7 mmol) bajo argón y se calentó en un recipiente sellado a 50°C durante 6 días y luego a 75°C durante 5 días. La mezcla de reacción fue entonces evaporada y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea utilizando una columna de sílica gel RediSep® de 12 g (eluyente MeOH al 5% en DCM) para dar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo.

Etapa K.1: (3R,7aR)-7a-[[[(3-Fluoro-bencil)-metil-amino]-metil]-3-triclorometil-tetrahidro-pirrolol[1,2-c]oxazol-1-ona



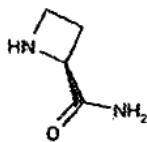
- 10 Se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (889 mg, 4.19 mmol) a una mezcla de (3R,7aR)-7a-[(3-fluoro-bencilamino)-metil]-3-triclorometil-tetrahidro-pirrolol[1,2-c]oxazol-1-ona (Etapa K.2, 400 mg, 1.048 mmol), formaldehído (37% en H₂O, 0.102 mL, 1.36 mmol) y ácido acético (0.150 mL, 2.62 mmol) en DCE (4 mL) bajo una atmósfera de argón. Después de 2 horas a temperatura ambiente la mezcla de reacción fue sometida a partición entre DCM y agua. Las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre Na₂SO₄ y evaporadas para dar el compuesto del título en forma de un aceite pardo pálido que fue utilizado sin purificación adicional.

- 15 Etapa K.2: (3R,7aR)-7a-[(3-Fluoro-bencilamino)-metil]-3-triclorometil-tetrahidro-pirrolol[1,2-c]oxazol-1-ona



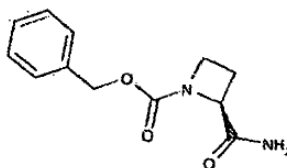
- 20 Se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (544 mg, 2.57 mmol) a (3R,7aR)-1-oxo-3-triclorometil-dihidropirrolol[1,2-c]oxazole-7a-carbaldehído (obtenida como se describe en J. Org. Chem. 2006, 71(1), 97-102, 500 mg, 1.835 mmol), 3-fluorobencilamina (0.251 mL, 2.20 mmol) y ácido acético (0.263 mL, 4.59 mmol) en DCE (4 mL) bajo una atmósfera de argón. La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 3 horas, luego sometida a partición entre agua y DCM, siendo la combinada orgánica secada sobre Na₂SO₄ y evaporada para dar el compuesto del título en forma de un aceite de amarillo pálido que fue utilizado sin purificación adicional.

Intermediario L: Amida del ácido (S)-Azetidin-2-carboxílico



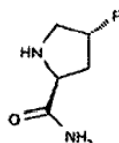
- 25 Una mezcla de bencilo éster del ácido (S)-2-carbamoil-azetidin-1-carboxílico (Etapa L.1, 1.8 g) y paladio al 10% sobre carbono (0.2 g) en MeOH (25 ml) fue agitado bajo una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 5 horas. La filtración y evaporación dio el compuesto del título el cual fue utilizado sin purificación subsiguiente.

Etapa L.1: Éster bencílico del ácido (S)-2-Carbamoil-azetidin-1-carboxílico



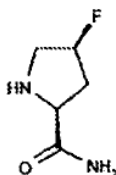
5 Una mezcla de 1-bencilo éster 2-metilo éster del ácido (S)-azetidín-1,2-dicarboxílico (2.5 g) y amoníaco 7 M en MeOH (10 ml) fue mantenida a temperatura ambiente durante 18 horas en un recipiente sellado. La mezcla de reacción fue evaporada para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco el cual fue utilizado sin purificación adicional. MS: M+H 235.1 y M-H 233.1.

Intermediario M: Amida del ácido (2S,4R)-4-fluoro-pirrolidin-2-carboxílico



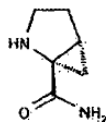
10 Una solución 1.25 M de HCl en EtOH (2.3 ml) fue agregada a una suspensión de ácido (2S,4R)-4-fluoro-pirrolidin-2-carboxílico (0.25 g) en EtOH (2 ml) a temperatura ambiente y la mezcla se calentó durante 62 horas a 55°C. La mezcla de reacción fue evaporada y se agregó una solución 7 M de amoníaco en MeOH (5.6 ml). La mezcla de reacción fue mantenida a temperatura ambiente durante 36 horas y luego evaporada, triturándose el residuo con MeOH (0.5 ml) y filtrado para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco. ¹H-NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): 7.68 (s, 1 H), 7.37 (s, 1H), 5.30 (d, 1H), 3.96 (t, 1H), 3.40-3.12 (m, 2H), 2.48-2.31 (m, 1H), 2.02-1.81 (m, 1H).

Intermediario N: amida del ácido (2S,4S)-4-Fluoro-pirrolidin-2-carboxílico



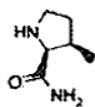
15 Una mezcla de tert butilo éster del ácido (2S,4S)-2-carbamoyl-4-fluoro-pirrolidin-1-carboxílico (1.0 g), HCl concentrado (0.6 ml) y 1-butanol (10 ml) se calentó durante 48 horas a 50°C. La mezcla de reacción fue evaporada y sometida a partición en DCM y NaHCO₃ acuoso, las capas de DCM fueron secadas sobre Na₂SO₄ y evaporadas. Se agregó una solución de amoníaco 7 M en metanol (10 ml) al residuo y la mezcla fue almacenada durante 60 horas a temperatura ambiente en un recipiente sellado. La evaporación y trituración con EtOH dio el compuesto del título en forma de un sólido blanco.

Intermediario O: Amida del ácido (1S,5R)-2-Aza-biciclo[3.1.0]hexano-1-carboxílico



25 Una mezcla de etilo éster del ácido (1S,5R)-2-aza-biciclo[3.1.0]hexano-1-carboxílico (2.5 g, preparado por el procedimiento de Hercouet Tetrahedron Asymmetry 1996, 7, 1267-1268.) y amoníaco 7 M en MeOH (20 ml) se calentó en un recipiente sellado a 80°C durante 5 días. La mezcla de reacción enfriada fue evaporada y triturada con hexanos/DCM para dar el compuesto del título como un sólido beige. ¹H-NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): 7.15 (s, 1H), 7.04 (s, 1 H), 3.00 - 2.91 (m, 1 H), 2.67 (q, 1H), 1.94 - 1.83 (m, 1 H), 1.74 - 1.67 (m, 1 H), 1.64 - 1.55 (m, 1H), 1.38 - 1.31 (m, 1 H), 0.90 (t, 1H)).

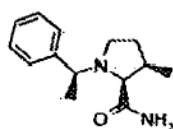
30 Intermediario P: Amida del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidona-2-carboxílico



5

La amida del ácido (2S,3R)-3-Metil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa P.1, 1.1 g, 4.76 mmol) y Pd sobre carbón al 10% (0.101 g, 0.947 mmol) en MeOH (20 mL) fueron agitados bajo una atmósfera de H₂. Durante 46 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue filtrada entonces a través de un Filtro de Membrana Fluoropore (0.2 µm FG) y evaporado. El residuo fue disuelto en DCM y evaporado hasta sequedad para dar el compuesto del título en forma de cristales blancos. MS: M+H = 129.0. ¹H-NMR (d₆-DMSO, 600 MHz): 7.34 (s, br, 1H), 7.10 (s, br, 1H), 3.48 (d, 1H), 3.0.2 - 2.97 (m, 1H), 2.80 - 2.75 (m, 1H), 2.35- 2.28 (m, 1 H), 1.88 - 1.81 (m, 1H), 1.39 - 1.32 (m, 1H), 0.83 (d, 3H).

Etapa P.1: Amida del ácido (2S,3R)-3-Metil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico



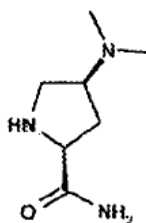
10

15

20

Se agregó trimetilaluminio en tolueno (2 M, 3.23 mL) gota a gota a una mezcla de cloruro de amonio (0.346 g, 6.47 mmol) en tolueno (3.2 mL) a 0°C bajo una atmósfera de argón, con la formación de gas metano. La mezcla de reacción se dejó calentar entonces hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos adicionales antes de agregar lentamente éster metílico del ácido (2S,3R)-3-metil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico (preparado como se describe en Tetr. Lett. 1997, 38 (1), 85-88; 1.6 g, 6.47 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 56 horas, se agregó entonces HCl 1 M con enfriamiento y la mezcla de reacción se lavó 3 X con DCM. La fase acuosa fue basificada con Na₂CO₃, extraída 3X con DCM y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄. La evaporación dio el compuesto del título en forma de un aceite amarillento. MS: M+H = 233.2. HPLC: t_R 3.17 min (método D). ¹H-NMR (d₆-DMSO, 600 MHz): 7.37 - 7.33 (m, 2H), 7.30 (t, 2H), 7.25 (s, br, 1H), 7.21 (t, 1H), 7.12 (s, br, 1H), 3.55 (q, 1H), 3.40 (d, 1H), 2.71 (t, 1H), 2.28- 2.22 (m, 1H), 2.21 - 2.16 (m, 1H), 1.71 (qt, 1H), 1.38 - 1.31 (m, 1H), 1.21 (d, 3H), 0.90 (d, 3H).

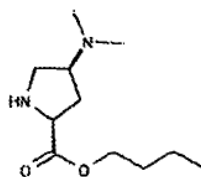
Intermediario Q: Amida del ácido (2S,4S)-4-Dimetilamino-pirrolidin-2-carboxílico



25

Una solución de butilo éster del ácido (2S,4S)-4-dimetilamino-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa Q.1, 326 mg) y amoníaco 7 M en MeOH (8 ml) fue dejada en reposo durante 18 horas a temperatura ambiente en un recipiente sellado. La filtración, evaporación y trituración con Et₂O/MeOH dio el compuesto del título en forma de un sólido beige.

Etapa Q.1: Butilo éster del ácido (2S,4S)-4-Dimetilamino-pirrolidin-2-carboxílico

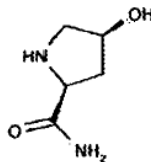


30

Se agregó HCl concentrado (0.3 ml) a una mezcla de dihidroclorhidrato de metilo éster del ácido (2S,4S)-4-dimetilamino-pirrolidin-2-carboxílico (400 mg) y 1-butanol (4 ml) y se calentó durante 18 horas a 115°C. Después de enfriar la mezcla de reacción fue evaporada y sometida a partición entre DCM y solución de NaHCO₃ acuosa y las

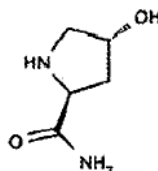
capas de DCM se secaron y se evaporaron para dar el compuesto del título en forma de un aceite color marrón que fue utilizado sin purificación adicional.

Intermediario R: Amida del ácido (2S,4S)-4-Hidroxi-pirrolidin-2-carboxílico



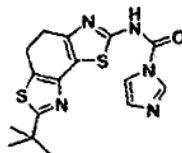
- 5 Una solución de clorhidrato de metilo éster del ácido (2S,4S)-4-hidroxi-pirrolidin-2-carboxílico (1 g) en una solución 7M de amoníaco en MeOH (10 ml) fue agitada durante 18 horas y luego evaporada y triturada con Et₂O. El residuo fue disuelto en el volumen mínimo de MeOH caliente y dejado en reposo a 4°C durante 4 horas. El compuesto del título fue aislado por filtración en forma de un sólido blanco.

Intermediario S: Amida del ácido (2S,4R)-4-hidroxi-pirrolidin-2-carboxílico



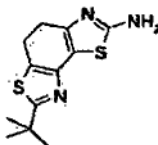
- 10 Una solución de bencilo éster del ácido (2S,4R)-4-hidroxi-pirrolidin-2-carboxílico (1 g) en amoníaco 880 (5 ml) se agitó durante 18 horas y luego se evaporó y trituró con Et₂O para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco. ¹H-NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): 9.15 (s, br, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 5.56 (s, 1 H), 4.40 (s, 1 H), 4.27-4.16 (m, 1H), 3.27 (d, 1H), 3.02 (d, 1H), 2.33-2.19 (m, 1H), 1.89-1.76 (m, 1H).

- 15 Intermediario T: Ácido imidazol-1-carboxílico (7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida



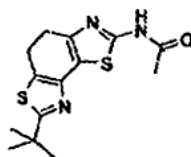
Se disolvió 7-tert-Butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-ilamina (Etapa T.1, 175 mg, 0.659 mmol) en DCM (10 mL), se agregó entonces CDI (297 mg, 1.648 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El compuesto del título fue aislado por filtración, lavado con DCM y secado bajo HV.

- 20 Etapa T.1: 7-tert-Butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-ilamina



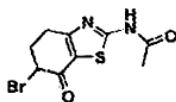
- 25 N-(7-tert-Butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-acetamida (Etapa T.2, 225 mg, 0.732 mmol) fue disuelta en EtOH (10 ml), se agregó entonces HCl al 36% (1.48 g, 14.64 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a reflujo. Después de 18 horas a reflujo la mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y ajustada a pH 8-9 mediante la adición de solución acuosa de bicarbonato de sodio al 5%, se extrajo con EtOAc, y lavó dos veces con H₂O. La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ y evaporada para dar el producto del título (t_R 4.408 min (Método F)).

Etapa T.2: N-(7-tert-Butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-acetamida



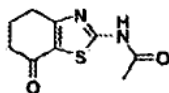
Se disolvió N-(6-Bromo-7-oxo-4,5,6,7-tetrahydro-benzotiazol-2-il)-acetamida (Etapa T.3, 473 mg, 1.635 mmol) en MeOH (10 mL), se agregaron 2,2-dimetiltio propionamida (230 mg, 1.962 mmol) y fosfomolibdato de amonio (307 mg, 0.164 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a 25°C durante 20 horas. La mezcla de reacción fue dejada entonces en reposo durante 2 días antes de agitar a 50°C durante 24 horas. La mezcla fue extraída con EtOAc/H₂O. Las capas orgánicas fueron secadas sobre Na₂SO₄ y evaporadas. El material crudo fue sometido a cromatografía con 30 g de sílica gel, eluyente DCM/ MeOH= 99:1. Las fracciones que contenían el producto fueron evaporadas y liofilizadas desde dioxano para dar 225 mg del compuesto del título en forma de un sólido blanco (M+H = 308; M-H = 306; t_R 5.525 min (Método F)).

Etapa T.3: N-(6-Bromo-7-oxo-4,5,6,7-tetrahydro-benzotiazol-2-il)-acetamida



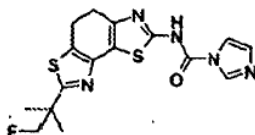
Se disolvió N-(7-Oxo-4,5,6,7-tetrahydro-benzotiazol-2-il)-acetamida (Etapa T.4, 2.286 g, 10.87 mmol) en AcOH (60 ml), luego se agregó bromo (1.74 g, 10.87 mmol) disuelto en AcOH (10 mL) lentamente y la mezcla de reacción fue calentada a 75°C durante 20 horas. El color cambió de rojo a beige. La mezcla se evaporó y el residuo se disolvió en MeOH (10 ml) y precipitó con H₂O. La mezcla fue filtrada y secada sobre HV. El material crudo fue sometido a cromatografía con MPLC C18H₂O 0,1% TFA / CH₃CN 0.1% TFA, gradiente 0-50%. Las fracciones que contenían el producto fueron neutralizadas con NaHCO₃, extraídas con EtOAc y liofilizadas desde dioxano para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (M+H = 291; M-H = 289; t_R 4.29 (Método F)). ¹H-NMR (d₅-DMSO, 600.13 MHz) 12.75 (s, 1 H) 4.95 (t, 1 H). 2.95-2.84 (m, 2H), 2.62-2.52 (m, 1H), 2.40-2.30 (m, 1H), 2.20 (s, 3H).

Etapa T.4: N-(7-Oxo-4,5,6,7-tetrahydro-benzotiazol-2-il)-acetamida



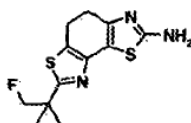
A anhídrido acético (80 mL) se agregó a temperatura ambiente 2-amino-5,6-dihidro-4H-benzotiazol-7-ona (10 g, 59.4 mmol) y la suspensión amarilla se calentó hasta reflujo. Después de 1.75 horas en agitación a esta temperatura, la mezcla de reacción se dejó enfriar con agitación y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después de enfriar adicionalmente con un baño de hielo/NaCl, se filtró la suspensión. El sólido fue sometido entonces dos veces a reflujo con acetona (10 ml y luego 15 ml) y se filtró. El sólido resultante fue secado bajo vacío a 40°C durante la noche para producir el compuesto del título en forma de un sólido beige (HPLC: t_R 3.47 min (Método A3), M-H = 211.1), ¹H-NMR in DMSO-d₆ (600 MHz): 12.55 (s, br, 1 H); 2.84 (t, 2H); 2.48 (t, 2H); 2.17 (s, 3H); 2.065 (qt, 2H)).

Intermediario U: Ácido imidazol-1-carboxílico (7-(2-fluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida



Se disolvió 7-(2-Fluoro-1,7-dimetil-etil)-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-lamina (Etapa U.1 61.6 mg, 0.217 mmol) en DCM (2 mL), y se agregó CDI (297 mg, 1.648 mmol) para dar una solución incolora clara. La mezcla de reacción se dejó en reposo durante la noche a temperatura ambiente para dar una suspensión blanca. La mezcla fue enfriada a 4°C durante 1 hora y luego se filtró, se lavó con DCM y se secó bajo vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (análisis de una muestra en MeOH; M+H = 342.0 mostró producto de carbamato de metilo en MS; t_R 2.14 min (Método A3)).

Etapa U.1 7-(2-Fluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-lamina



Se disolvió 3-Fluoro-2,2-dimetiltiopropionamida (Etapa U.2, 394 mg, 2.331 mmol) en EtOH, se agregaron N-(6-bromo-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-benzotiazol-2-il)-acetamida (Etapa T.3, 473 mg, 1.635 mmol) y fosfomolibdato de amonio (80 mg, 0.042 mmol) para dar una suspensión amarilla. La mezcla de reacción fue calentada a reflujo para dar una suspensión azul-verde oscura. La mezcla de reacción fue agitada a 65°C durante 3 días. La mezcla de reacción fue filtrada y el filtrado se evaporó. El residuo fue tomado en DMF y purificado por HPLC preparativo (método E). Las fracciones que contenían el producto fueron combinadas y evaporadas para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (M+H = 284.1; t_R 1.30 min (Método A3)).

Etapa U.2 3-Fluoro-2,2-dimetil-tiopropionamida



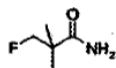
El compuesto del título fue preparado por el procedimiento de Boys, M. L.; Downs, V. L. *Synth. Commun.* 2006, 36, 295. Se agregó hidrato de hidrógeno sulfuro de sodio (3.89 g, 69.4 mmol, higroscópico) a una solución de 3-fluoro-2,2-dimetil-propionitrilo (Etapa U.3, 1.17 g, 11.57 mmol) y clorhidrato de dietilo amina (7.61 g, 69.4 mmol) en 1,4-dioxano (7 mL) y H₂O (7 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue calentada a 55°C y luego agitada durante 3 días a esta temperatura. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo 5X con EtOAc (50 ml). Las capas orgánicas fueron secadas sobre Na₂SO₄ y se evaporaron para dar un aceite naranja. Se agregó entonces DCM (5 ml) para dar una suspensión blanca. La suspensión fue filtrada y el filtrado fue purificado con cromatografía instantánea sobre sílica gel eluyendo con DCM. Las fracciones que contenían el producto fueron evaporadas para dar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (M+H = 136.1, M-H = 134.1; t_R 0.69 min (Método A3)). ¹⁹F-NMR (d₆-DMSO, 400 MHz 218ppm (t, 1F)).

Etapa U.3 3-Fluoro-2,2-dimetil-propionitrilo



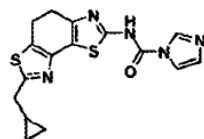
Se combinaron 3-Fluoro-2,2-dimetil-propionamida (Etapa U.4, 1.82 g, 15.28mmol) y pentóxido de fósforo (2.168 g, 15.28 mmol) para dar un polvo blanco de flujo libre el cual fue calentado con un baño de aceite a una temperatura de baño de 180°C durante 50 minutos bajo una atmósfera de argón. Se aplicó entonces lentamente un vacío de 300 mbar destilando un aceite incoloro claro móvil el cual formó un sólido ceroso de bajo punto de fusión por reposo del compuesto del título. ¹⁹F-NMR (d₆-DMSO, 400 MHz 219.5 ppm (t, 1F)).

Etapa U.4 3-Fluoro-2,2-dimetil-propionamida



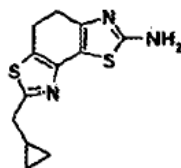
Se agregó fluoruro de 3-Fluoro-2,2-dimetil-propionilo (DE3326874 y DE3611195, 2.5 g, 20.47 mmol) a 0°C a una mezcla de amoníaco acuoso (10 ml) y THF (20 ml). La mezcla de reacción se dejó entonces calentar hasta temperatura ambiente y se dejó en reposo durante la noche a temperatura ambiente. El volumen fue reducido en un 50% bajo vacío para dar una suspensión blanca espesa. La suspensión fue extraída con DCM/H₂O. Las capas orgánicas fueron secadas sobre Na₂SO₄ y evaporadas para dar el compuesto del título en forma de un sólido cristalino blanco.

Intermediario V: Ácido imidazol-1-carboxílico (7-ciclopropilmetil-4,5-dihidro-benzo [1,2-;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida



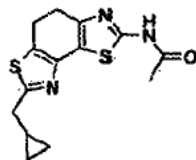
7-Ciclopropilmetil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-ilamina (Etapa V.1, 72 mg, 0.273 mmol) fue disuelta en 5 mL de DCM, se agregó CDI (73.9 mg, 0.410 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. Se agregó CDI adicional (37 mg, 0.205 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas adicionales. La mezcla fue filtrada, lavada con DCM y el filtrado fue evaporado para dar el compuesto del título (M+H = 322.1; M-H = 320.2 MS-ES en MeOH muestra el producto carbamato de metilo).

Etapa V.1 7-Ciclopropilmetil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-ilamina



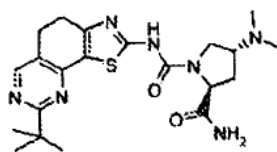
N-(7-Ciclopropilmetil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-acetamida (Etapa V.2, 180 mg, 0.589 mmol) se disolvió en EtOH (10 mL) y se agregó HCl al 36% (1.193g, 11.79 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 90°C durante 16 horas luego se enfrió y se extrajo con EtOAc/H₂O. La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ y se evaporó. Los materiales crudos fueron sometidos a cromatografía con MPLC C18 H₂O 0.1% TFA, gradiente 0-50%. Las fracciones que contenían el producto fueron neutralizadas con NaHCO₃, extraídas con EtOAc y liofilizadas desde dioxano para dar el compuesto del título (M+H = 264.2; M-H = 262.1; t_R 4.183 min (Método F)).

Etapa V.2 N-(7-Ciclopropilmetil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-acetamida



N-(6-Bromo-7-oxo-4,5,6,7-tetrahydro-benzotiazol-2-il)-acetamida (Etapa T.3, 347 mg, 1.200 mmol) fue disuelta en MeOH (10 mL) y 2-ciclopropil-tioacetamida (Can.J.Chem 1995 Vol.73 1468-1477, 166 mg, 1.440 mmol) y se agregó fosfomolibdato de amonio (225 mg, 0.120 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 20 horas y luego se calentó a 50°C durante 3 horas, 60°C durante 2 horas y luego se sometió a reflujo durante 24 horas. La mezcla de reacción fue sometida a partición entre EtOAc/H₂O. La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ y evaporada. El material crudo fue sometido a cromatografía con HPLC C18 H₂O 0.1% TFA/ CH₃CN 0.1 % TFA, gradiente 0-50%. Las fracciones que contenían el producto fueron neutralizadas con NaHCO₃, extraídas con EtOAc y liofilizadas desde dioxano para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (M+H = 306.2; M-H = 304.2; t_R 5.12 min (Método F)).

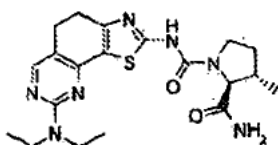
Ejemplo 1: 2-amida 1-1(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo [4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,4R)-4-Dimetilamino-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



A una solución de ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A, 45.1 mg, 0.127 mmol) en DMF (1 mL) se agregó amida del ácido (2S,4R)-4-dimetilamino-pirrolidin-2-carboxílico (intermediario B, 22 mg, 0.140 mmol) y trietilamina (0.053 mL, 0.382 mmol). La mezcla de reacción fue agitada entonces a temperatura ambiente durante 17 horas y purificada por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron combinadas y eluidas a través de un cartucho de 300 mg de Bond Elut -

SCX. El cartucho fue luego lavado con una solución 7 M de amoníaco en MeOH y evaporado para dar el compuesto del título. MS: M+H = 444. HPLC: t_R 3.17 min (método D).

Ejemplo 2: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico

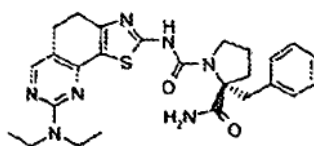


5

Una mezcla de amida del ácido (2S,3S)-3-metil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario D, 6.24 mg, 0.049 mmol), ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 18 mg, 0.049 mmol) y trietilamina (0.020 mL, 0.146 mmol) en DMF (0.4 mL) fue agitada a temperatura ambiente durante 6 horas. La mezcla de reacción fue purificada entonces directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron luego filtradas a través de un cartucho de 300 mg de Bond Elut SCX-. El cartucho fue luego eluido con una solución de amoníaco 7 M en MeOH y el eluyente se evaporó para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. MS: M+H = 430.1. HPLC: t_R 3.72 min (método D). 1H -NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): 11.05 (s, 1 H); 8.04 (s, 1H); 7.44 (s, br, 1 H); 6.95 (s, br, 1H); 3.78 (s, br, 1 H); 3.60 - 3.50 (m, 6H); 2.82 (s, br, 4H); 2.18 (s, br, 1H); 2.03 (s, br, 1H); 1.55 (s, br, 1H); 1.10 (t, 6H); 1.05 (d, 3H).

10

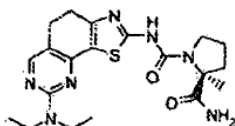
Ejemplo 3: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-Bencil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



A una mezcla de ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 50 mg, 0.135 mmol) en DMF (1 mL) se agregó amida del ácido (R)-2-bencil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario E, 33.2 mg, 0.162 mmol) y trietilamina (0.057 mL, 0.406 mmol). La mezcla de reacción fue agitada durante 21 horas a 40°C y luego se purificó directamente con HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho de 300 mg de Bond Elut - SCX. El cartucho fue eluido entonces con solución de amoníaco 7 M en MeOH y evaporado para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. MS: M+H = 506.1. HPLC: t_R 4.38 min (método D).

20

Ejemplo 4: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-2-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico

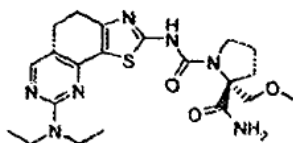


A una mezcla de ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 15 mg, 0.203 mmol) en DMF (2 mL) se agregó amida del ácido (S)-2-metil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario F, 39 mg, 0.305 mmol) y trietilamina (0.085 mL, 0.609 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a 40°C durante 17 horas y luego se purificó directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho de 300 mg de Bond Elut - SCX. Después el cartucho fue luego eluido con solución de amoníaco 7 M en MeOH y se evaporó para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo MS: M+H = 430.2. HPLC: t_R 3.80 min (método D).

30

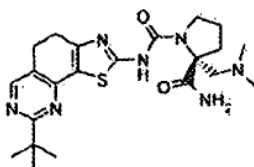
Ejemplo 5: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo [4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-Metoximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico

35



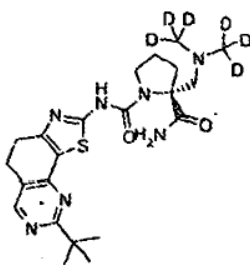
Una mezcla de ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 75 mg, 0.203 mmol), amida del ácido (R)-2-metoximetil-pirrolidin-2-carboxílico (intermediario G, 35.3 mg, 0.223 mmol) y trietilamina (0.085 mL, 0.609 mmol) en DMF (2 mL) se agitó durante 6 horas a 40°C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se disolvió en MeOH (1 mL) y se purificó directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho de 300 mg de Bond Elut - SCX. El cartucho fue eluido entonces con solución de amoníaco 7 M en MeOH y se evaporó para dar el producto del título en forma de un sólido amarillo. MS: M+H = 460.1. HPLC: t_R 3.94 min (método D).

- 10 **Ejemplo 6:** 2-amida 1-((8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo [4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-Dimetilaminometil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



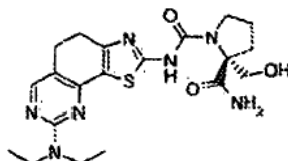
Ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,6-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A, 132 mg, 0.372 mmol) fue agregado a una mezcla de amida del ácido (R)-2-dimetilaminometil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario H, 70 mg, 0.409 mmol) y Trietilamina (0.155 mL, 1.115 mmol) en DMF (1 mL) a temperatura ambiente. Después de 18 horas se agregó MeOH (0.5 mL), la mezcla de reacción se filtró a través de un filtro de membrana de PTFE y se purificó por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron combinadas y evaporadas para eliminar el CH₃CN y luego se basificaron mediante la adición de NaHCO₃ sólido para dar un precipitado amarillo blancuzco. Después de enfriar a 4°C, el sólido fu recolectado por filtración y luego purificado adicionalmente por HPLC preparativa (método C). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho de 300 mg de Bond Elut - SCX. El cartucho fue luego eluido con una solución de amoníaco 7 M en solución de MeOH y se evaporó para dar el producto del título en forma de un vidrio amorfo amarillo. LCMS: t_R 0.98 min y M+H = 458.1 (método A3). ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): 8.28 (s, 1H); 3.92 - 3.82 (m, 1H); 3.67 - 3.44 (m, 2H); 3.04 - 2.88 (m, 4H); 2.85 - 2.71 (m, 1 H); 2.56 (s, br, 6H); 2.29 - 2.19 (m, 1 H); 2.08 -1.87 (m, 3H); 1.37 (s, 9H).

- 25 **Ejemplo 7:** 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido d₆-(R)-2-Dimetilaminometil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



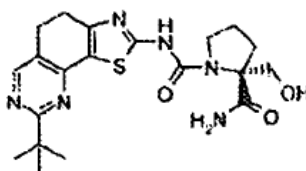
Ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A, 91 mg, 0.256 mmol) y trietilamina (0.036 mL, 0.256 mmol) fueron agregados a amida del ácido d₆-(R)-2-dimetilaminometil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario I, 50 mg, 0.282 mmol) suspendido en DMF (2 mL) bajo una atmósfera de argón. La mezcla de reacción fue luego agitada durante for 2.75 horas a 40°C y luego purificada directamente por HPLC preparativa dos veces (método B y luego método C). Cada vez, las fracciones que contenían el producto fueron combinadas y eluidas a través de un cartucho de 300 mg de Bond Elut 300 - SCX. El cartucho fue luego eluido con una solución de amoníaco 7 M en MeOH y se evaporó para dar un sólido amarillo. El sólido fue suspendido en DCM, filtrado y secado in vacuo para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. LCMS: t_R 1.21 min y M+H = 464.0 (método A1).

Ejemplo 8: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo [4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-Hidroximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



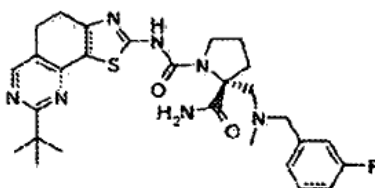
5 Ácido Imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5,h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 50 mg, 0.135 mmol) fue agregado a una mezcla de amida del ácido (R)-2-hidroximetil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario J, 25.4 mg, 0.176 mmol) y trietilamina (0.047 mL, 0.338 mmol) en DMF (1 mL) a temperatura ambiente. Después de 18 horas a temperatura ambiente la mezcla de reacción fue filtrada a través de una membrana de PTFE y purificada por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron combinadas y filtradas a través de un cartucho Bond Elut - SCX. El cartucho fue entonces eluido con una solución de amoníaco 7 M en MeOH y evaporada para dar un vidrio naranja que fue recrystalizado desde MeOH/agua para producir el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. LCMS: t_R 1.09 min y $M+H = 446.0$ (método A3).

Ejemplo 9: 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h] quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-Hidroximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



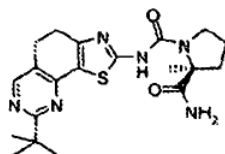
15 Ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A, 124 mg, 0.350 mmol) fue agregado a una mezcla de amida del ácido (R)-2-hidroximetil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario J, 63 mg, 0.350 mmol) y trietilamina (0.049 mL, 0.350 mmol) en DMF (2 mL). La mezcla de reacción fue agitada durante 2 horas a 40°C luego se dejó en reposo durante 18 horas a temperatura ambiente y luego se purificó directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho de 300 mg de Bond Elut - SCX. El cartucho fue luego eluido con una solución 7 M de amoníaco en MeOH y se evaporó para dar un sólido amarillo. El sólido aislado fue suspendido entonces en DCM, filtrado y secado para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo/blancuzco pálido. LCMS: t_R 1.31 min y $M+H = 430.9$ (método A1).

25 **Ejemplo 10:** 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-[(3-Fluorobencil)-metil-aminol-metil]-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



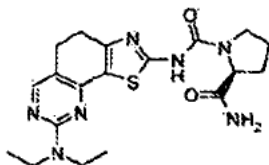
30 Ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A, 40.1 mg, 0.113 mmol) y trietilamina (0.047 mL, 0.339 mmol) fueron agregados a amida del ácido (R)-2-[(3-fluorobencil)-metil-amino]-metil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario K, 30 mg, 0.113 mmol) suspendido en DMF (1 mL) a temperatura ambiente bajo argón. La mezcla de reacción fue agitada durante 2.5 h a 40°C y luego purificada directamente por HPLC (método C). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho de 300 mg Bond Elut - SCX. el cartucho fue eluido con una solución de amoníaco 7 M en MeOH y evaporado hasta dar un sólido amarillo. El sólido fue triturado con DCM, filtrado y secado para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo pálido. LCMS: t_R 0.81 min y $M+H = 552.3$ (método A2).

35 **Ejemplo 11:** 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-2-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



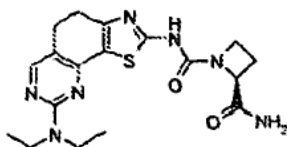
La amida del ácido (S)-2-Metil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario F, 22.14 mg, 0.169 mmol) y trietilamina (0.035 mL, 0.254 mmol) fueron agregadas a ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A, 30 mg, 0.085 mmol) en DMF (1 mL) bajo argón a temperatura ambiente. Después de agitar durante 16 horas a temperatura ambiente la mezcla de reacción fue purificada directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho de 300 mg de Bond Elut - SCX. El cartucho luego fue eluido con una solución 7 M de amoniaco en MeOH y evaporado para dar el compuesto del título en forma de un sólido cristalino amarillo. MS: M+H = 415.1. HPLC: t_R -3.73 min (método D).

Ejemplo 12: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-Pirrolidin-1,2-dicarboxílico



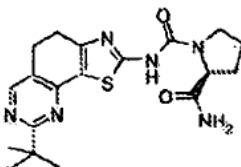
Amida del ácido (S)-Pirrolidin-2-carboxílico (148 mg, 1.299 mmol) y trietilamina (0.272 mL, 1.949 mmol) se agregaron a ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 240 mg, 0.65 mmol) y DMF (1 ml) bajo argón a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue agitada durante 15.5 horas a temperatura ambiente y luego purificada con HPLC preparativa (método C). Las fracciones que contenían el producto fueron combinadas y filtradas a través de un cartucho Bond Elut – SCX. El cartucho fue luego eluido con una solución 7 M de amoniaco en MeOH y evaporado para dar el compuesto del título en forma de cristales naranja. MS: M+H = 416.1 HPLC: t_R 3.56 min (método D).

Ejemplo 13: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-Azetidin-1,2-dicarboxílico



Una mezcla de amida del ácido (S)-azetidin-2-carboxílico (intermediario L, 26.4 mg, 0.264 mmol), ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 75 mg, 0.203 mmol) y trietilamina (0.085 mL, 0.609 mmol) en DMF (2 mL) fue agitado a 40°C durante 2 horas. La mezcla de reacción fue purificada entonces directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho de 300 mg Bond Elut – SCX. El cartucho fue eluido entonces con una solución 7 M de amoniaco en MeOH y evaporado para dar el compuesto del título en forma de un sólido cristalino blanco. MS: M+H = 442.1. HPLC: t_R 3.56 min (método D).

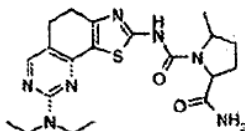
Ejemplo 14: 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-Pirrolidin-1,2-dicarboxílico



La amida del ácido (S)-Pirrolidin-2-carboxílico (16 mg, 0.14 mmol) fue agregada a una mezcla de ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A, 45 mg, 0.127 mmol) y

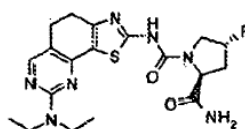
triethylamina (0.053 mL, 0.381 mmol) en DMF (1 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente, luego se evaporó y el residuo se cristalizó desde MeOH y agua. El compuesto del título fue recolectado por filtración. MS: M+H = 401.1 (MS-ESI). ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): 8.31 (s, 1H), 4.46 (d, 1H), 3.77 - 3.54 (m, 2H), 3.08 - 2.90 (m, 4H), 2.33 - 2.23 (m, 1 H), 2.13 - 2.00 (m, 3H), 1.38 (s, 9H)).

- 5 **Ejemplo 15:** 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido 5-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



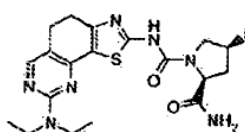
- 10 A una suspensión de ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 75 mg, 0.203 mmol) en DMF (2 mL) se agregó amida del ácido 5-metil-pirrolidin-2-carboxílico (preparado como se describe en *Arch. Pharm.*, 1936, 274, 40; 39 mg, 0.305 mmol) y triethylamina (0.085 mL, 0.609 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a 40°C durante 2.5 horas y luego purificada directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho Bond Elut - SCX. El cartucho fue entonces eluido con una solución 7 M de amoníaco en MeOH, evaporado y el residuo triturado con DCM para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. LCMS: t_R 0.77 min y M+H = 430.0 (método A2).

- 15 **Ejemplo 16:** 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h] quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,4R)-4-Fluoro-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



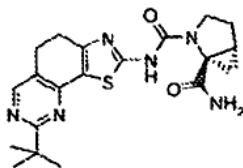
- 20 Al ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 75 mg, 0.203 mmol) en DCM (2 mL) se agregó la amida del ácido (2S,4R)-4-fluoro-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario M, 40.2 mg, 0.305 mmol) y triethylamina (0.085 mL, 0.609 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a 40°C durante 17.5 horas y luego purificado directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho Bond Elut - SCX. El cartucho luego fue eluido con una solución de amoníaco 7 M en MeOH y evaporada para dar el compuesto del título como un sólido amarillo. HPLC: t_R 3.66 min (método D). MS: M+H = 434.1.

- 25 **Ejemplo 17:** 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h] quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,4S)-4-Fluoro-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



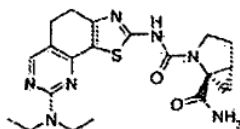
- 30 A ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 17 mg, 0.046 mmol) en DMF (0.4 mL) se agregó amida del ácido (2S,4S)-4-fluoro-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario M, 6.08 mg, 0.046 mmol) y triethylamina (0.019 mL, 0.138 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a 40°C durante 17 horas y luego se purificó directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho Bond Elut - SCX. El cartucho fue eluido entonces con una solución 7 M de amoníaco en MeOH y evaporada para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. HPLC: t_R 3.55 min (método D). MS: M+H = 434.1.

- 35 **Ejemplo 18:** 1-amida 2-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo [4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (1S,5R)-2-Aza-biciclo[3.1.0]hexano-1,2-dicarboxílico



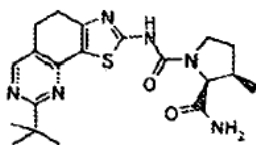
La amida del ácido (1S,5R)-2-Aza-biciclo[3.1.0]hexano-1-carboxílico (Intermediario O, 208 mg, 1.65 mmol) fue agregada a una mezcla en agitación de la amida (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida del ácido imidazol-1-carboxílico (Intermediario A, 532 mg, 1.5 mmol) y trietilamina (0.627 mL, 4.50 mmol) en DMF (4 mL) a temperatura ambiente. Después de 56 y 80 horas se agregaron porciones adicionales de amida del ácido (1S,5R)-2-aza-biciclo[3.1.0]hexano-1-carboxílico (Intermediario O, 104 mg, 0.825 mmol) y la mezcla de reacción se dejó en reposo durante 18 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue filtrada entonces a través de una membrana de PTFE y se purificó por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho de Bond Elut - SCX. El cartucho fue eluido entonces con solución de amoníaco 7 M en MeOH y se evaporó. El residuo fue purificado por una segunda vez por HPLC preparativa (método B) y aislado de la misma manera. El producto crudo fue entonces recrystalizado desde una mezcla 1:1 de agua: MeOH para dar el compuesto del título en forma de un sólido cristalino amarillo. LCMS: t_R 1.22 min y $M+H = 413.1$ (método A3). 1H -NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz): 11.22 (s, 1H), 8.40 (s, 1H); 7.33 (s, br, 1H); 7.05 (s, br, 1H); 3.97 - 3.84 (m, 1H); 3.64 - 3.52 (m, 1H); 3.01 - 2.83 (m, 4H); 2.28 - 2.13 (m, 1H); 1.95 - 1.74 (m, 3H); 1.33 (s, 9H); 1.04 - 0.97 (m, 1H)).

Ejemplo 19: 1- amida 2-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (1S,5R)-2-Aza-biciclo[3.1.0]hexano-1,2-dicarboxílico



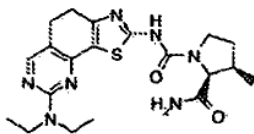
A ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 75 mg, 0.203 mmol) en DCM (2 mL) se agregó amida del ácido (1S,5R)-2-aza-biciclo[3.1.0]hexano-1-carboxílico (Intermediario O, 38.4 mg, 0.305 mmol) y trietilamina (0.085 mL, 0.609 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a 40°C durante 17.5 horas y luego purificada directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron eluidas a través de un cartucho Bond Elut - SCX. El cartucho fue eluido entonces con una solución 7 M de amoníaco en MeOH y evaporado para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. HPLC: t_R 3.73 min (método D). MS: $M+H = 428.1$.

Ejemplo 20: 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h] quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



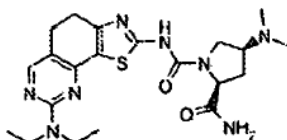
Al ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A, 60 mg, 0.169 mmol) en DMF (1 mL) se agregó amida del ácido (2S,3R)-3-metil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario P, 32.5 mg, 0.254 mmol) y trietilamina (0.071 mL, 0.508 mmol). La mezcla de reacción fue agitada bajo argón durante 2 horas a temperatura ambiente y luego se purificó directamente por HPLC preparativa (método B). El CH_3CN fue evaporado a partir de las fracciones que contenían el producto y el líquido remanente se eluyó entonces a través de un cartucho Bond Elut - SCX. El cartucho fue eluido entonces con una solución de amoníaco 7 M en MeOH y evaporado. El residuo fue triturado en metanol y el compuesto del título fue recolectado en forma de cristales blancos después de la filtración y secado. HPLC: t_R 3.66 (método D). MS: $M+H = 495.1$. 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz): 7.96 (s, 1H), 4.04 (d, 1H), 3.47 (t, 1H), 3.18 (q, 1H), 2.71 - 2.67 (m, 2H), 2.64 - 2.58 (m, 2H), 2.24 - 2.15 (m, 1H), 1.76 (s, br, 1H), 1.53, (s, br, 1H), 1.03 (s, 9H), 0.78 (d, 3H).

Ejemplo 21: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h] quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



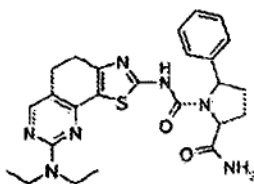
5 A ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 82 mg, 0.222 mmol) en DMF (1.5 mL) se agregó bajo argón amida del ácido (2S,3R)-3-metil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario P, 42.7 mg, 0.333 mmol) y trietilamina (0.093 mL, 0.666 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se purificó directamente por HPLC preparativa (método B). El CH₃CN fue eliminado bajo vacío de las fracciones que contenían el producto y la solución remanente fue eluida a través de un cartucho Bond Elut - SCX. El cartucho fue eluido entonces con una solución 7 M de amoníaco en MeOH, evaporado y el residuo triturado con metanol para dar el compuesto del título en forma de un sólido cristalino blanco. HPLC: t_R 3.74 (método D). MS: M+H = 430.1. ¹H-NMR (CD₃OD, 600 MHz): 7.62 (s, 1 H), 4.03 (d, 1H), 3.46 (t, 1H), 3.26 (q, 4H), 3.17 (q, 1H), 2.54 (s, 4H), 2.24 - 2.15 (m, 1H), 1.80 - 1.72 (m, 1H), 1.58 - 1.47 (m, 1H), 0.83 (t, 6H), 0.77 (d, 3H).

Ejemplo 22: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo [4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,4S)-4-Dimetilamino-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



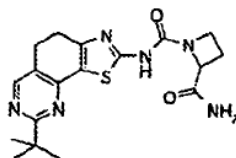
15 Al ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 60 mg, 0.162 mmol) en DMF (1.5 mL) se agregó amida del ácido (2S,4S)-4-dimetilamino-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario Q, 28.1 mg, 0.179 mmol) y trietilamina (0.068 mL, 0.487 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a 40°C durante 17 horas y luego se purificó directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron pasadas a través de un cartucho Bond Elut - SCX. El cartucho fue luego eluido con una solución de amoníaco 7 M en MeOH. La solución fue evaporada para dar el compuesto del título. HPLG: t_R 3.23 min (método D). MS: M+H = 459.1.

Ejemplo 23: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido 5-Fenil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



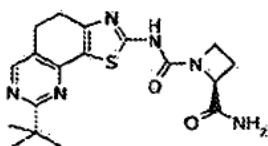
25 A una suspensión de ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 65 mg, 0.176 mmol) en DMF= (2 mL) se agregó amida del ácido 5-fenil-pirrolidin-2-carboxílico (preparada como se describe en la patente de los Estados Unidos 3164597, Ejemplo 42, 50.2 mg, 0.264 mmol) y trietilamina (0.074 mL, 0.528 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a 40°C durante 2 horas y luego purificada directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron pasadas a través de un cartucho Bond Elut - SCX. El cartucho fue eluido entonces con una solución de amoníaco 7 M en MeOH. La solución fue evaporada y el residuo fue triturado en DCM para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. LCMS: t_R 0.99 min y M+H = 492.0 (método A2).

Ejemplo 24: 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido Azetidin-1,2-dicarboxílico



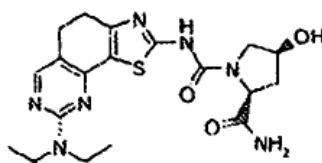
A una solución de ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A, 100 mg, 0.282 mmol) en DMF (2 mL) se agregó amida del ácido azetidin-2-carboxílico (56.5 mg, 0.564 mmol) y trietilamina (0.118 mL, 0.846 mmol). La mezcla de reacción fue agitada bajo atmósfera de argón a temperatura ambiente durante 16 horas y luego se purificó directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron pasadas a través de un cartucho Bond Elut – SCX. El cartucho fue eluido entonces con una solución de amoníaco 7 M en MeOH. La solución fue evaporada y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea sobre sílica gel, eluyendo con DCM / MeOH 95:5 que contenía 0.5% 880 HN₃ para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. HPLC: t_R 3.55 min (método D). MS: M+H = 387.1.

Ejemplo 25: 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-Azetidin-1,2-dicarboxílico



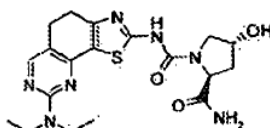
La amida del ácido (S)-Azetidin-2-carboxílico (Intermediario L, 68.1 mg, 0.680 mmol) fue agregada a una mezcla en agitación de ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A, 241 mg, 0.680 mmol) y trietilamina (0.284 mL, 2.040 mmol) en DMF (3 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se dejó en reposo durante 66 horas a temperatura ambiente y luego se purificó directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron evaporadas para retirar el CH₃CN y luego se basificaron con NaHCO₃. La fase acuosa fue extraída entonces 4X con MeOH al 10% en DCM, las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron para dar un sólido que fue triturado con MeOH/agua para dar el compuesto del título en forma de un sólido cristalino blancuzco. LCMS: t_R 1.08 min y M+H = 386.9 (método A3).

Ejemplo 26: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,4S)-4-Hidroxi-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



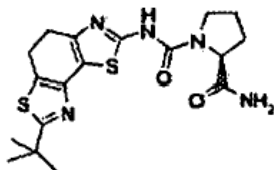
A una suspensión de ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 75 mg, 0.203 mmol) en DMF (2 mL) se agregó amida del ácido (2S,4S)-4-hidroxi-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario R, 39.6 mg, 0.305 mmol) y trietilamina (0.113 mL, 0.812 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a 40°C durante 2.5 horas y luego se purificó directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron pasadas a través de un cartucho Bond Elut - SCX. El cartucho fue eluido entonces con una solución de amoníaco 7 M en MeOH. La solución fue evaporada para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. HPLC: t_R 3.44 min (método D). MS: M+H = 432.1.

Ejemplo 27: 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,4R)-4-Hidroxi-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



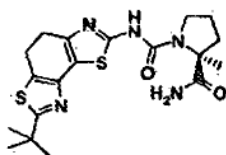
A una suspensión de ácido imidazol-1-carboxílico (8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario C, 75 mg, 0.203 mmol) en DMF (2 mL) se agregó amida del ácido (2S,4R)-4-hidroxi-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario S, 39.6 mg, 0.305 mmol) y trietilamina (0.113 mL, 0.812 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 4.5 horas y luego se purificó directamente por HPLC preparativa (método B). Las fracciones que contenían el producto fueron pasadas a través de un cartucho Bond Elut - SCX. EL cartucho fue eluido entonces con una solución de amoníaco 7 M en MeOH. La solución fue evaporada y el residuo fue recrystalizado en DCM para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. HPLC: t_R 3.31 min (método D). MS: M+H = 432.1.

Ejemplo 28: 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (S)-Pirrolidin-1,2-dicarboxílico



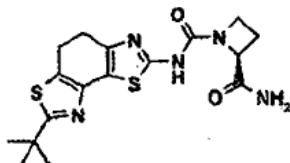
Se agregaron L-Prolinamida (59.4 mg, 0.521 mmol) y TEA (0.121 mL, 0.868 mmol) a ácido imidazol-1-carboxílico (7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida (Intermediario T, 156 mg, 0.434 mmol) en DMF (1 mL). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 10 minutos. La mezcla fue extraída con EtOAc/H₂O. La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ y evaporada. El material crudo fue sometido a cromatografía con MPLC C18 H₂O 0.1% TFA / CH₃CN 0.1% TFA, gradiente 0-50%. Las fracciones que contenían el producto fueron neutralizadas con NaHCO₃, extraídas con EtOAc y liofilizadas desde dioxano para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (M+H = 406; M-H = 404; t_R 4.75 min (Método F). ¹H-NMR (d₆-DMSO, 600.13 MHz) 10.80 (s, 1H) 7.40 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 4.30 (s, 1H) 3.65-3.55 (m 1H), 3.48-3.38 (m, 1H), 3.10 (t, 2H), 2.94 (t, 2H), 2.14-2.05 (m, 1H), 1.95-1.78 (m, 3H), 1.40 (s, 9H)).

Ejemplo 29: 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d'] bistiazol-2-il)-amida] del ácido (S)-2-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



La amida del ácido (S)-2-Metil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario F, 7.7 mg, 0.060 mmol) y TEA (0.014 mL, 0.100 mmol) fueron agregados a ácido imidazol-1-carboxílico (7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-yl)-amida (Intermediario T, 18 mg, 0.050 mmol) en DMF (3 mL). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 10 minutos, luego extraída con EtOAc/H₂O. La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ y evaporada. El material crudo fue sometido a cromatografía con MPLC C18 H₂O 0.1% TFA / CH₃CN 0.1% TFA, gradiente 0-50%. Las fracciones que contenían producto fueron neutralizadas con NaHCO₃, extraídas con EtOAc y liofilizadas desde dioxano para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco. (M+H = 420; M-H = 418; t_R 4.875 min (Método F). ¹H-NMR (d₆-DMSO, 600.13 MHz) 10.60 (s, br, 1 H) 7.68 (s, 1H), 6.86 (s, 1 H), 3.68-3.60 (m 1H), 3.60-3.50 (m 1 H), 3.08 (t, 2H), 2.90 (t, 2H), 2.10-1.98 (m, 1H), 1.94-1.68 (m, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.37 (s, 9H)).

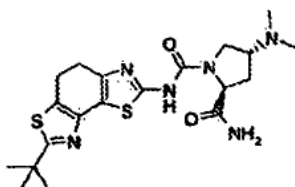
Ejemplo 30: 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (S)-Azetidin-1,2-dicarboxílico



La amida del ácido (S)-Azetidin-2-carboxílico (Intermediario L, 37.1 mg, 0.370 mmol) y TEA (0.14 mL, 1.010 mmol) se agregaron a ácido imidazol-1-carboxílico (7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida (Intermediario T, 121 mg, 0.337 mmol) en DMF (2 mL). La mezcla de reacción fue agitada durante 5 minutos y luego dejada en reposo durante 2 días a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue filtrada y purificada directamente por HPLC preparativa (método E). Las fracciones que contenían producto se fueron combinadas y

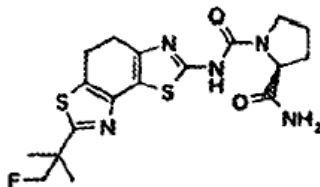
filtradas a través de cartucho de 300 mg Bond Elute - SCX. El cartucho fue lavado entonces con solución de amoníaco 7 M en MeOH (2 ml). El filtrado fue evaporado para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (M+H = 391.8; M-H = 389.8; t_R 1.84 min (Método A3). 1H -NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz) 11.12 (s, 1H) 7.52 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 4.74-4.62 (m, 1H), 3.92 (t, 2H), 3.08 (t, 2H), 2.90 (t, 2H), 2.46-2.36 (m, 1H), 2.18-2.02 (m, 1H), 1.39 (s, 9H)).

Ejemplo 31: 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo [1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,4R)-4-Dimetilamino-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



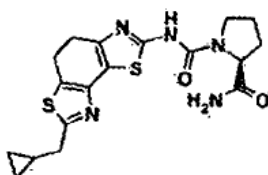
La amida del ácido (2S,4R)-4-Dimetilamino-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario B, 9.33 mg, 0.059 mmol) y TEA (0.019 ml, 0.135 mmol) fueron agregados a ácido imidazol-1-carboxílico (7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida (Intermediario T, 19.4 mg, 0.054 mmol) en DMF (1 ml). La mezcla de reacción fue agitada durante 5 minutos y luego se dejó en reposo durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue filtrada y purificada directamente por HPLC preparativa (método E). Las fracciones que contenían el producto fueron combinadas y filtradas a través de un cartucho de 300 mg Bond Elute - SCX. El cartucho fue luego lavado con solución de amoníaco 7 M en MeOH. El filtrado fue evaporado para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (M+H = 449.1; M-H = 447.3; t_R 1.47 min (Método A3). 1H -NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz) 7.40 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 4.44-4.25 (m, 1H), 3.86-3.76 (m, 1H), 3.35-3.25 (m, 1H), 3.08 (t, 2H), 2.92 (t, 2H), 2.96-2.78 (m, 1H), 1.18 (s, br, 6H), 2.08-1.85 (m, 2H), 1.38 (s, 9H)).

Ejemplo 32: 2-amida 1-[(7-(2-fluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-benzo[1,2-d; 3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (S)-Pirrolidin-1,2-dicarboxílico



Se agregaron L-Prolinamida (23.98 mg, 0.210 mmol) y TEA (0.080 mL, 0.573 mmol) al ácido imidazol-1-carboxílico [7-(2-fluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida (Intermediario U, 72.1 mg, 0.191 mmol) en DMF (1 mL). La mezcla de reacción fue agitada durante 5 minutos y luego dejada en reposo durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue evaporada y triturada con MeOH (2 mL) y H₂O (1 mL). La mezcla fue enfriada a 4°C. La suspensión fue filtrada y lavada con MeOH/H₂O=2:1 fría y el sólido secado bajo alto vacío a 40°C para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (M+H = 424.0; M-H = 422.1; t_R 1.7 min (Método A3). 1H -NMR (d_6 -DMSO, 400MHz) 7.19 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 4.58 (s, 1H) 4.44 (s, 1 H), 4.28 (s, br, 1H) 3.64-3.50 (m, 1 H), 3.48-3.38 (m, 1H), 3.10 (t, 2H), 2.92 (t, 2H), 2.18-1.98 (m, 1H), 1.94-1.78 (m, 3H), 1.38 (s, 6H) ^{19}F -NMR (d_6 -DMSO, 600.13 MHz) 219 ppm (t, 1F)).

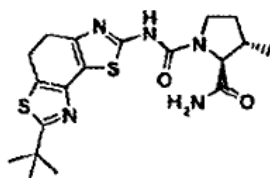
Ejemplo 33: 2-amida 1-[(7-ciclopropilmetil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d'] bistiazol-2-il)-amida] del ácido (S)-Pirrolidin-1,2-dicarboxílico



Se agregaron L-Prolinamida (16.7 mg, 0.147 mmol) y TEA (0.027 mL, 0.196 mmol) a ácido imidazol-1-carboxílico (7-ciclopropilmetil-4,5-dihidro-benzo [1,2;-3,4-d']bistiazol-2-il)-amida (Intermediario V, 35 mg, 0.098 mmol) en DMF (1.5 mL). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 15 minutos y luego extraída con EtOAc/H₂O. La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ y evaporada. El material crudo fue sometido a

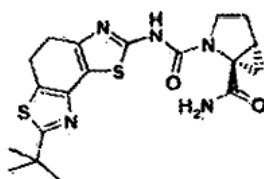
5 cromatografía con MPLC C18 H₂O 0.1% TFA / CH₃CN 0.1% TFA, gradiente 0-50%. Las fracciones que contenían el producto fueron neutralizadas con NaHCO₃, extraídas con EtOAc y liofilizadas desde dioxano para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (M+H = 404; M-H = 402; t_R 4.49 min (Método F). ¹H-NMR (d₆-DMSO, 600.13 MHz) 10.78 (s, 1H) 7.40 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 4.28 (s, br, 1H) 3.65-3.55 (m, 1H), 3.48-3.38 (m, 1H), 3.08 (t, 2H), 2.97 (t, 2H), 2.84 (d, 2H), 2.14-2.04 (m, 1H), 1.93-1.72 (m, 3H), 1.10 (q, 1H), 0.60-0.50 (m, 2H), 0.40-0.38 (m, 2H)).

Ejemplo 34: 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d'] bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



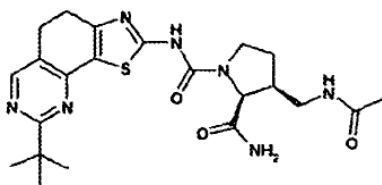
10 La amida del ácido (2S,3S)-3-Metil-pirrolidin-2-carboxílico (Intermediario D, 13.37 mg, 0.104 mmol) y TEA (0.039 mL, 0.278 mmol) fueron agregados a ácido imidazol-1-carboxílico (7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida (Intermediario T, 25 mg, 0.070 mmol) en DMF (2 mL). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego extraída con EtOAc/H₂O. La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ y evaporada. El material crudo fue liofilizado desde dioxano sin purificación adicional para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (M+H = 420.1; M-H = 418.1; t_R 4.85 min (Método F). ¹H-NMR (d₆-DMSO, 600.13 MHz) 10.78 (s, br, 1 H) 7.44 (s, br, 1H), 6.97 (s, br, 1H), 3.90-3.70 (m, 1H) 3.62-3.42 (m, 2H), 3.08 (t, 2H), 2.94 (t, 2H), 2.22-2.12 (m, 1H), 2.06-1.94 (m, 1H), 1.58-1.48 (m, 1 H), 1.39 (s, 9H). 1.04 (d, 3H)).

Ejemplo 35: 1-amida 2-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo [1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (1S,5R)-2-Aza-biciclo[3.1.0]hexano-1,2-dicarboxílico



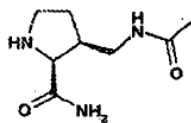
20 El compuesto del título fue sintetizado de manera similar a lo descrito para el Ejemplo 34 utilizando el intermediario O en lugar del intermediario D. (M+H =418.0; M-H = 416.1; t_R 4.90 min (Método F). ¹H-NMR (d₆-DMSO, 600.13 MHz) 10.78 (s, br, 1H) 7.40 (s, br, 1 H), 7.06 (s, br, 1H), 3.92-3.82 (m, 1H) 3.62-3.52 (m, 1H), 3.08 (t, 2H), 2.94 (t, 2H), 2.26-2.14 (m, 1H), 1.92-1.72 (m, 3H), 1.39 (s, 9H), 1.05-0.95 (m, 1H)).

25 **Ejemplo 36:** 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-(Acetilamino-metil)-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



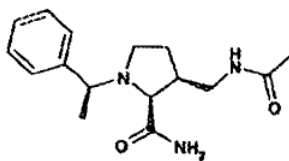
30 Se agregó trietilamina (0.339 mmol) a una solución de ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidrotiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A) (0.113 mmol) y amida del ácido (2S,3S)-3-(acetilamino-metil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapla 36.1) (0.135 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 85 minutos, la mezcla de reacción fue concentrada. El residuo fue purificado por cromatografía en columna de sílica gel seguida por trituración con Et₂O para producir el compuesto del título en forma de un sólido amarillo. HPLC: t_R = 4.20 min (método H); LCMS: t_R = 1.48 min, [M+H]⁺ 472 (método I); TLC: R_f = 0.14 (9:1 CH₂Cl₂/MeOH); ¹H-NMR (d₆-DMSO, 600 MHz): 11.15 (br s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.81 (br s, 1H), 7.53 (br s, 1H), 7.13 (br s, 1 H), 4.28 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 3.25 (m, 1H), 2.98 (m, 2H), 2.93 (m, 3H), 2.42 (m, 1 H), 2.02 (m, 1H), 1.82 (s, 3H), 1.74 (m, 1H), 1.33 (s, 9H).

35 Etapa 36.1: Amida del ácido (2S,3S)-3-(Acetilamino-metil)-pirrolidin-2-carboxílico



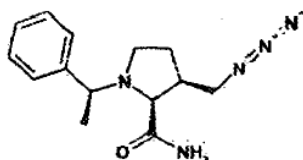
Una mezcla de amida del ácido (2S,3S)-3-(acetilamino-metil)-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 36.2) (0.48 mmol) y Pd al 10% sobre carbón, humedecido con 50% de agua (Aldrich 330108) (0.096 mmol) en MeOH (5 L) fue hidrogenada durante 6.5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue filtrada entonces a través de un Filtro de Membrana Fluoropore (0,2 μ m FG) y evaporada. El residuo fue disuelto en CH₂Cl₂ y evaporado hasta sequedad para producir el compuesto del título en forma de un sólido blancuzco. ESI-MS: [M+H]⁺ 186; TLC: R_f = 0.08 (200:20:1 CH₂Cl₂/MeOH/conc. NH₄OH).

Etapa 36.2: Amida del ácido (2S,3S)-3-(Acetilamino-metil)-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico



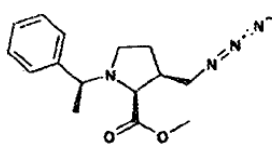
Se agregó ácido tioacético (2.312 mmol) a amida del ácido (2S,3S)-3-azidometil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 36.3) (0.578 mmol) a temperatura ambiente con la formación de gas nitrógeno. Después de agitar durante 16 horas, la mezcla de reacción fue diluida con Et₂O, los sólidos fueron retirados por filtración y el filtrado fue concentrado. El residuo fue purificado por cromatografía en columna de sílica gel para producir el compuesto del título en forma de un aceite amarillo claro (olor a tío). HPLC: t_R = 3.71 min (método H); LC-MS: t_R = 0.64 min, [M+H]⁺ 290 (método I); TLC: R_f = 0.38 (200:20:1 CH₂Cl₂/MeOH/conc. NH₄OH).

Etapa 36.3: Amida del ácido (2S,3S)-3-Azidometil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico



Se agregó trimetilaluminio en tolueno (2 M, 15.95 mmol) gota a gota a una mezcla de NH₄Cl (15.95 mmol) en tolueno: (2 mL) a 0°C con la formación de gas metano. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente, y se agitó durante 15 minutos adicionales y luego se trató lentamente con una solución de metilo éster del ácido (2S,3S)-3'-azidometil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 36.4) (7.98 mmol) en tolueno (8 mL). Se agregó reactivo adicional dado a partir de NH₄Cl (15.95 mmol) en tolueno (2 mL) y trimetilaluminio en tolueno (2 M, 15.95 mmol) a 0°C después de 18 horas. Después de agitar durante 44 horas, la mezcla se enfrió a 0°C, se detuvo con HCl 1 M y luego se lavó con CH₂Cl₂ (3 X). La fase acuosa se basificó con una solución saturada de 1:1 de NaHCO₃/solución saturada de sal de Rochelle y se extrajo con THF (10 X). Las capas orgánicas combinadas fueron secadas (Na₂SO₄), filtradas y concentradas. El residuo se purificó utilizando una columna de sílica gel RediSep® para producir el compuesto del título en forma de un aceite amarillo. HPLC: t_R = 2.50 min (método G); ESI-MS: [M+H]⁺ 274; TLC: R_f = 0.26 (3:1 Hex/EtOAc).

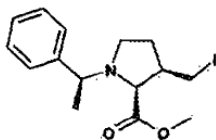
Etapa 36.4: Metilo éster del ácido (2S,3S)-3-Azidometil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico



Se agregó azida de sodio (5.34 mmol) a una solución de metilo éster del ácido (2S,3R)-3-iodometil-1-((S)-1-feniletíl)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 36.5) (3.56 mmol) en DMF (30 mL) a temperatura ambiente. Después de 18 horas, la

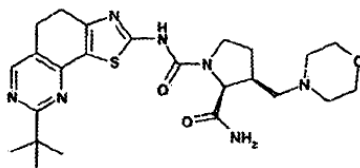
mezcla de reacción fue vertida sobre agua y extraída con MTBE (2X). Las fases orgánicas combinadas fueron lavadas con salmuera, secadas (Na_2SO_4), filtradas y concentradas. El residuo fue purificado utilizando una columna de sílica gel RediSep® para producir el compuesto del título en forma de un aceite marrón. HPLC: t_R = 3.26 min (método G); ESI-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 289.

5 Etapa 36.5: Metilo éster del ácido (2S,3R)-3-Iodometil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico



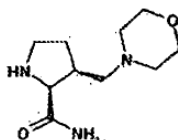
10 Una solución de metilo éster del ácido [but-3-enil-((S)-1-fenil-etil)-amino]-acético [432555-77-6] (20.22 mmol) en THF (10 mL) fue agregada lentamente a una solución de diisopropilamida de litio (24.26 mmol) en hexanos/THF 1:2 (30 mL) a -78°C . La mezcla de reacción se calentó a 0°C , se agitó durante 1 hora y luego se reenfrió a -78°C . Se agregó una solución de bromuro de zinc (50.5 mmol) en Et_2O (40 mL) y la mezcla de reacción se calentó entonces hasta temperatura ambiente. Después de agitar durante 1 hora, la mezcla se enfrió a 0°C y se agregó yodo (22.24 mmol) en porciones. La mezcla de reacción fue agitada a 0°C durante 2 horas y a temperatura ambiente durante otras 2 horas, se diluyó con Et_2O y luego se lavó sucesivamente con una solución saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y una solución saturada de NH_4Cl . Las capas acuosas fueron luego retroextraídas con Et_2O . Las fases orgánicas combinadas fueron secadas (Na_2SO_4), filtradas y concentradas. El residuo fue purificado por cromatografía de columna en sílica gel para producir el compuesto del título en forma de un aceite rojo. HPLC: t_R = 3.46 min (método G); ESI-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 374.

Ejemplo 37: 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Morfolin-4-ilmetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



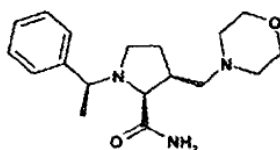
20 Se agregó trietilamina (0.423 mmol) a una solución de ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidrotiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A) (0.141 mmol) y amida del ácido (2S,3S)-3-(acetilamino-metil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 37.1) (0.155 mmol) en DMF (0.5 mL) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 3 horas la mezcla de reacción fue concentrada. El residuo fue purificado por cromatografía de columna en sílica gel para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco. HPLC: t_R = 4.04 min (método H); LCMS: t_R = 1.36 min, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 500 (método I); TLC: R_f = 0.09 (19:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$), $^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO, 600 MHz): 11.15 (br s, 1 H), 8.39 (m, 1H), 7.37 (br s, 1H), 7.05 (s, 1H), 4.27 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 3.59 (m, 4H), 3.42 (m, 1H), 2.97 (m, 2H), 2.90 (m, 2H), 2.58 (m, 1H), 2.38 (m, 4H), 2.35 (m, 1H), 2.17 (m, 1H), 2.02 (m, 1 H), 1.75 (m, 1H), 1.32 (s, 9H).

Etapa 37.1: Amida del ácido (2S,3S)-3-Morfolin-4-ilmetil-pirrolidin-2-carboxílico



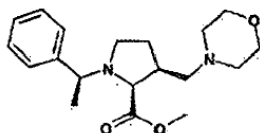
30 Una mezcla de amida del ácido (2S,3S)-3-morfolin-4-ilmetil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 37.2) (1.046 mmol) y Pd al 10% sobre carbón, se humedeció con agua al 50% (Aldrich 330108) (0.105 mmol) en MeOH (5 mL) se hidrogenó durante 6.5 horas a temperatura ambiente. Las mezclas de reacción fueron filtradas entonces a través de un Filtro de Membrana Fluoropore (0.2 μm FG) y se evaporaron. El residuo fue disuelto en CH_2Cl_2 y se evaporó hasta sequedad para producir el compuesto del título en forma de un aceite incoloro. ESI-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 214; TLC: R_f = 0.14 (200:20:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{conc. NH}_4\text{OH}$).

Etapa 37.2: Amida del ácido (2S,3S)-3-Morfolin-4-ilmetil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico



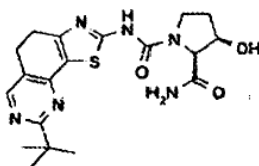
Se agregó trimetilaluminio en tolueno (2 M, 2.89 mmol) gota a gota a una mezcla de NH_4Cl (2.89 mmol) en tolueno (3 mL) a 0°C con la formación de gas metano. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta la temperatura ambiente, se agitó durante 15 minutos adicionales y luego se trató lentamente con una solución de metilo éster del ácido (2S,3S)-3-morfolin-4-ilmetil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidina-2-carboxílico (Etapa 37.3) (1.444 mmol) en tolueno (9 mL). Se agregó reactivo adicional preparado a partir de NH_4Cl (2.89 mmol) en tolueno (2 mL) y trimetilaluminio en tolueno (2 M, 2.89 mmol) a 0°C después de 18 horas. Después de agitar durante 60 horas, la mezcla fue enfriada a 0°C , se detuvo con HCl 1 M y se lavó con CH_2Cl_2 (3X). La fase acuosa se basificó con una solución saturada de 1:1 de NaHCO_3 /solución saturada de sal de Rochelle y se extrajo con THF (10 X). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), filtraron y concentraron. El residuo fue purificado por cromatografía en columna de sílica gel para producir el compuesto del título en forma de un aceite amarillo. HPLC: $t_R = 2.18$ min (método G); ESIMS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 318.

Etapa 37.3: Metilo éster del ácido (2S,3S)-3-Morfolin-4-ilmetil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidina-2-carboxílico



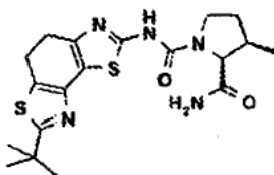
Una mezcla de metilo éster del ácido (2S,3R)-3-iodometil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidina-2-carboxílico (Etapa 36.5) (7.07 mmol), K_2CO_3 (21.22 mmol) y morfolina (10.61 mmol) en CH_3CN (24 mL) se agitó a 50°C durante 62 horas. La mezcla de reacción fue vertida sobre hielo agua y extraída con EtOAc (3X). Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas sucesivamente con agua y salmuera, secadas (Na_2SO_4), filtradas y concentradas. El residuo fue purificado usando una columna de sílica gel RediSep® para producir el compuesto del título en forma de un aceite amarillo. HPLC: $t_R = 2.56$ min (método G); ESI-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 333.

Ejemplo 38: 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5'-h] quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Hidroxipirrolidina-1,2-dicarboxílico



El compuesto del título fue sintetizado utilizando la metodología descrita para el Ejemplo 20 utilizando amida del ácido (2S,3R)-3-hidroxipirrolidina-2-carboxílico (H. Fukushima et al. Bioorg. Med. Chem. 2004, 12, 6053; H. Ji et al. J. Med. Chem. 2006, 49(21), 6254) en vez del intermediario P. LCMS: $t_R = 1.45$ min, $\text{M}+\text{H} = 417.0$, $\text{M}-\text{H}=415$ (método J). $^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO, 600.13 MHz): 12-11 (s, br, 1H) 8.4 (s, 1H), 7.2-6.9 (m, 2H), 5.2 (s, 1H), 4.4 (s, 1H), 4.25 (s, br, 1H), 3.6 (m, 1H); 3.45 (m, 1H), 2.95 (m, 2H), 2.9 (m, 2H), 2.0 (m, 1H), 1.9 (m, 1H), 1.3 (s, 9H).

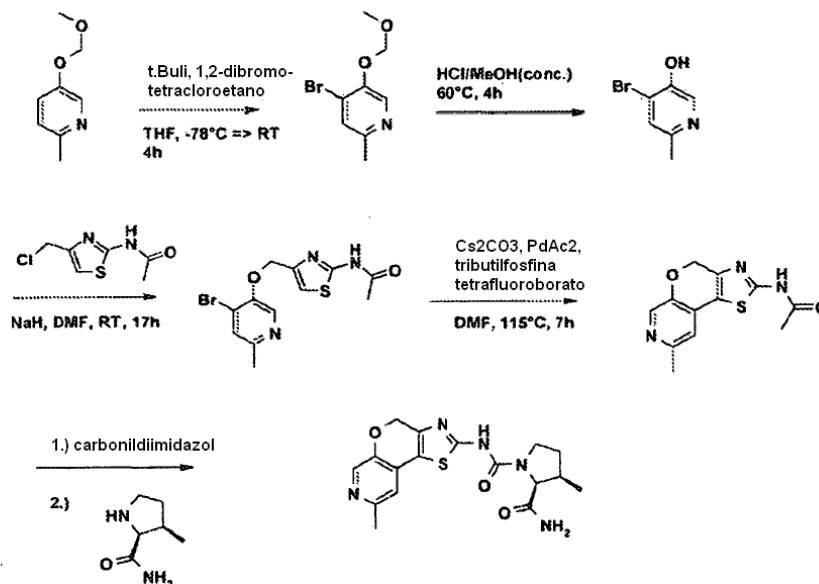
Ejemplo 39: 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d,3,4-d'] bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metilpirrolidina-1,2-dicarboxílico



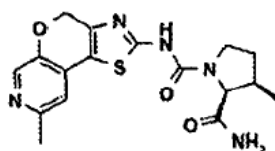
El compuesto del título fue sintetizado utilizando la metodología descrita para el Ejemplo 34 usando amida del ácido (2S,3R)-3-metilpirrolidin-2-carboxílico (Intermediario P) en vez del intermediario D.

LCMS: $t_R = 1.32$ min, $M+H = 420.0$, $M-H = 418.1$ (método J). 1H -NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz): 10.65 (s, br, 1 H) 7.39 (s, br, 1H), 6.99 (s, br, 1H), 4.2 (m, 1H), 3.67 (t, 1H), 3.3 (m, 1H), 3.08 (t, 2H), 2.93 (t, 2H), 2.38 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.7 (m, 1 H), 1.39 (s, 9H), 0.97 (d 3H).

Esquema de síntesis

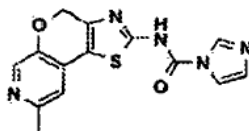


Ejemplo 40: 2-amida 1-[(8-metil-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



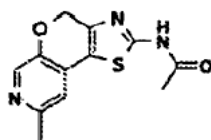
10 El compuesto del título fue preparado partiendo de ácido imidazol-1-carboxílico (8-metil-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-amida (Etapa 40.1) utilizando la metodología de síntesis descrita en la preparación del Ejemplo 20. LCMS: $t_R = 0.29$ min, $M+H = 374.0$, $M-H = 372$ (método J). 1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz): 7.9 (s, 1H), 7.0 (s, 1H), 5.27 (s, 2H), 4.38 (d, 1H), 3.8 (dd, 1H), 3.5 (m, 1H), 2.5 (m, 1H), 2.4 (s, 1 H), 2.08 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.12 (d, 3H).

15 Etapa 40.1: Ácido Imidazol-1-carboxílico (8-metil-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-amida



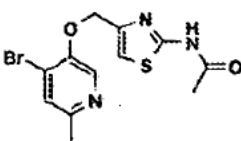
Se preparó ácido imidazol-1-carboxílico (8-metil-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-amida a partir de N-(8-metil-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-acetamida (Etapa 40.2) utilizando la metodología de síntesis descrita para la preparación del intermediario A.

20 Etapa 40.2: N-(8-metil-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-acetamida



Una mezcla de 463 mg (1.53 mmol) N-[4-(4-bromo-6-metil-piridin-3-iloximetil)-tiazol-2-il]-acetamida (Etapa 40.3), 900 mg (2.71 mmol) de carbonato de cesio, 30.4 mg (0.135 mmol) de acetato de paladio y 81 mg (0.271 mmol) tetrafluoroborato de tributilfosfina en 3 mL de DMF se agitó a 115°C durante 7 horas bajo argón. Luego la mezcla de reacción fue vertida sobre agua, se agregó EtOAc y después de una filtración sobre una capa de medio Hyflo Super Gel (Fluka 56678), el filtrado fue extraído con EtOAc (2X). Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua y salmuera, secadas (MgSO₄) y filtradas. El filtrado fue concentrado in vacuo para dejar un residuo que fue purificado sobre sílica gel (= -100% EtOAc en heptano) para producir 93 mg del compuesto del título en forma de un sólido. LCMS: t_R = 0.27 min, M+H = 262, M-H 260 (método J).

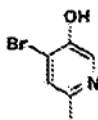
10 Etapa 40.3: N-[4-(4-Bromo-6-metil-piridin-3-iloximetil)-tiazol-2-il]-acetamida



A una solución de 270 mg (1.44 mmol) 4-bromo-6-metil-piridin-3-ol (Etapa 40.4) en DMF (5 mL), se agregaron 44.8 mg de NaH (1.87 mmol) y esta mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se agregaron 301 mg (1.58 mmol) de 2-acetamido-4-(clorometil)-1,3-tiazol (Apollo OR15549) y la agitación se continuó a temperatura ambiente durante otras 17 horas. La mezcla de reacción fue vertida sobre agua y extraída con EtOAc (2X). Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua y salmuera, secadas (MgSO₄) y filtradas. El filtrado fue concentrado in vacuo para dejar 350 mg del compuesto del título (sólido blanco) considerado suficientemente puro sin purificación adicional. LCMS: t_R = 1.36 min, M+H = 342 (79Br), 344 (81Br) (método J).

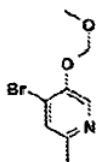
15

Etapa 40.4: 4-Bromo-6-metil-piridin-3-ol



Se disolvieron 920 mg (3.05 mmol) de 4-bromo-5-metoximetoxi-2-metil-piridina (Etapa 40.5) en 5 mL de MeOH, se agregó HCl concentrado (1 mL, 12 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Mientras se concentraba la muestra in vacuo, el compuesto del título cristalizó (en forma de clorhidrato). La filtración produjo 570 mg de cristales blancos. ¹H-NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): 8.19 (s, 1 H), 8.04 (s, 1H), 2.53 (s, 3H).

25 Etapa 40.5: 4-Bromo-5-metoximetoxi-2-metil-piridina

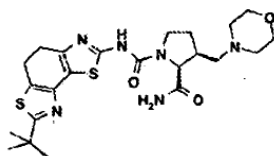


Una solución de 1000 mg (6.53 mmol) 5-metoximetoxi-2-metil-piridina (J.-P. Behr et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003, 13(10), 1713) en 10 mL de THF fue enfriada a -78°C, en donde se agregaron 4.03 mL (6.85 mmol) de t-BuLi (solución 1.7M en pentano). La mezcla resultante fue agitada bajo argón durante 1 hora, luego se agregaron 2.126 g (6.53 mmoles) de 1,2-dibromotetracloroetano (en 5 mL de THF). La agitación se continuó durante 1 hora a -78°C y la mezcla de reacción fue calentada a temperatura ambiente. Se agregó solución saturada de NH₄Cl y la mezcla acuosa fue extraída con EtOAc (2X). Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con H₂O y salmuera, secadas (MgSO₄) y filtradas. El filtrado fue concentrado in vacuo para dejar un residuo que fue purificado sobre sílica gel (EtOAc / hexano = 1:1) para producir 920 mg del compuesto del título en forma de un aceite. LCMS: t_R = 0.29 min, M+H = 232 (79Br), 234 (81Br) (método J).

30

35

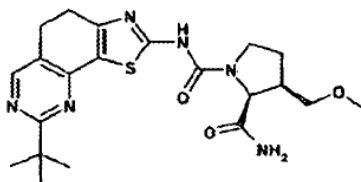
Ejemplo 41: 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Morfolin-4-ilmetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



5 El compuesto del título fue sintetizado utilizando la metodología descrita por el Ejemplo 34 usando amida del ácido (2S,3S)-3-morfolin-4-ilmetil-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 37.1) en vez del intermediario D.

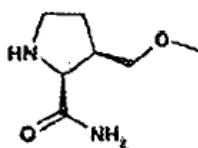
LCMS: t_R = 0.68 min, $M+H$ = 505.3.0, $M-H$ = 503.2 (método J). 1H -NMR (d_6 -DMSO, 600.13 MHz): 10.65 (s, b, 1H), 7.4 (s, b, 1H), 7.05 (s, b, 1H), 4.3 (s, b, 1H), 3.7 (m, 1H), 3.6 (m, 4H), 3.3 (m, 1H), 3.1 (t, 2H), 2.9 (t, 2H), 2.6 (m, 1H), 2.4 (m, 1H), 2.35 (m, 4H), 2.15 (m, 1H), 2.0 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.35 (s, 9H),

10 **Ejemplo 42:** 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo [4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metoximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



15 Se agregó trietilamina (0.525 mmol) a una solución de ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidrotiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (Intermediario A) (0.175 mmol) y amida del ácido (2S,3R)-3-metoximetil-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 42.1) (0.192 mmol) en DMF (0.7 mL) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 3 horas, la mezcla de reacción fue concentrada. El residuo fue purificado por cromatografía en columna de sílica gel para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco. HPLC: t_R = 2.84 min (método G); LCMS: t_R = 1.71 min, $[M+H]^+$ 445 (método I); TLC: R_f = 0.41 (19:1 $CH_2Cl_2/MeOH$); 1H -NMR (d_6 -DMSO, 600 MHz): 11.15 (br s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.42 (br s, 1H), 7.05 (br s, 1H), 4.27 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.42 (m, 1H), 3.24 (s, 3H), 3.16 (m, 1H), 2.98 (m, 2H), 2.91 (m, 2H), 2.54 (m, 1H), 2.03 (m, 1H), 1.77 (m, 1H), 1.32 (s, 9H).

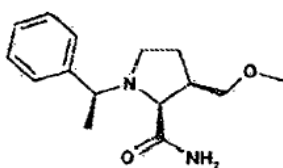
20 Etapa 42.1: amida del ácido (2S,3R)-3-Metoximetil-pirrolidin-2-carboxílico



El compuesto del título fue preparado en analogía con el procedimiento descrito en la Etapa 37.1 pero se usó amida del ácido (2S,3R)-3-metoximetil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 42.2) en lugar de la amida del ácido (2S,3S)-3-morfolin-4-ilmetil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico

25 El compuesto del título fue obtenido en forma de un sólido blanco. ESI-MS: $[M+H]^+$ 159.

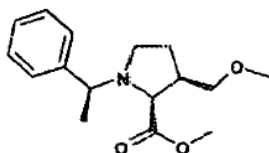
Etapa 42.2: Amida del ácido (2S,3R)-3-Metoximetil-1-((S)-1-fenil-etil)-piroplidin-2-carboxílico



El compuesto del título fue preparado en analogía con el procedimiento descrito en la Etapa 37.2 pero se utilizó éster metílico del ácido (2S,3R)-3-metoximetil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 42.3) en lugar de éster metílico del ácido (2S,3S)-3-morfolin-4-ilmetil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico.

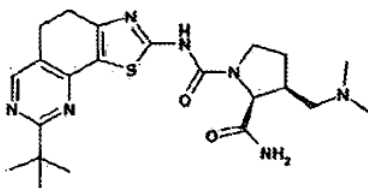
- 5 El compuesto del título fue obtenido en forma de un aceite amarillo. HPLC: t_R = 2.35 min (método G); LC-MS: t_R = 0.47 min, $[M+H]^+$ 263 (método K); TLC: R_f = 0.05 (1:1 Heptanes/EtOAc).

Etapa 42.3: éster metílico del ácido (2S,3R)-3-Metoximetil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico



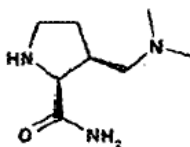
- 10 Una mezcla de (3aR,6aS)-1-((S)-1-fenil-etil)-hexahidro-furo[3,4-b]pirrol-6-ona [805246-48-4] (17.05 mmol), KOH (71.60 mmol) y yodometano (68.20 mmol) en tolueno (79 mL) fue agitada a 80°C durante 1.5 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se sometió a partición entre agua y MTBE. La capa acuosa fue extraída con MTBE (3X). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), filtraron y concentraron. El residuo fue purificado por cromatografía de columna en sílica gel para producir el compuesto del título en forma de un aceite amarillo. HPLC: t_R = 2.98 min (método G); LC-MS: t_R = 0.69 min, $[M+H]^+$ 278 (método K); TLC: R_f = 0.25 (1:3 Heptanes/EtOAc).

- 15 **Ejemplo 43:** 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Dimetilaminometil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



- 20 Se agregó trietilamina (0.305 mmol) a una solución de ácido imidazol-1-carboxílico (8-tert-butil-4,5-dihidrotiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida (intermediario A) (0.102 mmol) y amida del ácido (2S,3S)-3-dimetilaminometil-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 43.1) (0.102 mmol) en DMF (0.3 mL) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 0.5 horas, la mezcla de reacción se concentró y se secó durante la noche bajo vacío a 50°C. El residuo fue suspendido en EtOAc (1 mL), se filtró y secó bajo vacío para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco. HPLC: t_R = 4.01 min (método H); LCMS: t_R = 1.33 min, $[M+H]^+$ 458 (método I); TLC: R_f = 0.08 (4:1 CH_2Cl_2 /MeOH); 1H -NMR (d_6 -DMSO, 600 MHz): 11.14 (br s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.42 (br s, 1H), 7.06 (br s, 1H), 4.27 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 3.42 (m, 1H), 2.98 (m, 2H), 2.90 (m, 2H), 2.52 (m, 1H), 2.33 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.18 (s, 6H), 2.01 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.32 (s, 9H).
- 25

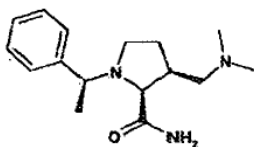
Etapa 43.1: Amida del ácido (2S,3S)-3-Dimetilaminometil-pirrolidin-2-carboxílico



- 30 El compuesto del título fue preparado en analogía con el procedimiento descrito en la Etapa 37.1 pero se usó la amida del ácido (2S,3S)-3-dimetilaminometil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 43.2) en lugar de la amida del ácido (2S,3S)-3-morfolin-4-ilmetil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico. También, la hidrogenación se llevó a cabo bajo una presión de 4 bar.

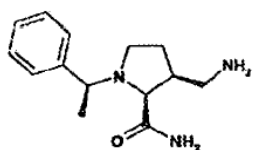
El compuesto del título fue obtenido en forma de un aceite amarillo. ESI-MS: $[M+H]^+$ 172.

Etapa 43.2: Amida del ácido (2S,3S)-3-Dimetilaminometil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico



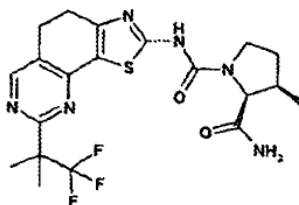
5 Una mezcla de amida del ácido (2S,3S)-3-aminometil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 43.3) (0.418 mmol), cianoborohidruro de sodio (2.86 mmol) y formaldehído acuoso al 37% (2.14 mmol) en MeOH (3.3 mL) se agitó a 55°C durante 16 horas. La mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y concentrada. El residuo fue purificado usando una columna de sílica gel RediSep® para producir el compuesto del título en forma de una espuma blanca. HPLC: t_R 3.59 min (método H); LC-MS: t_R = 0.86 min, $[M+H]^+$ 276 (método I); TLC: R_f = 0.13 (9:1 $CH_2Cl_2/MeOH$).

Etapa 43.3: Amida del ácido (2S,3S)-3-Aminometil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico



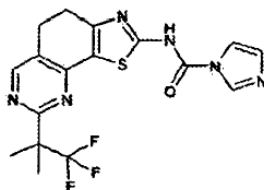
10 Una mezcla de la amida del ácido (2S,3S)-3-azidometil-1-((S)-1-fenil-etil)-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 36.3) (0.723 mmol) y trifenilfosfina (0.867 mmol) en THF (3 mL) fue agitada a temperatura ambiente durante 25 horas. La mezcla de reacción fue concentrada para producir el compuesto del título crudo en forma de un sólido marrón claro. HPLC: t_R 3.53 min (método H); ESI-MS: $[M+H]^+$ 248.

15 **Ejemplo 44:** 2-amida 1-[[8-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il]-amida} del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



20 Se agregó trietilamina (1.714 mmol) a una solución de ácido imidazol-1-carboxílico [8-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il]-amida (Etapa 44.1) (0.490 mmol) y amida del ácido (2S,3R)-3-metil-pirrolidin-2-carboxílico (intermediario P) (0.979 mmol) en DMF (1.5 mL) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 1.5 horas, se concentró la mezcla de reacción. El residuo fue diluido con solución saturada de $NaHCO_3$ y se extrajo con EtOAc (2X). Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas sucesivamente con agua y salmuera, secadas (Na_2SO_4), filtradas y concentradas. El residuo fue purificado utilizando una columna en sílica gel RediSep® para producir el compuesto del título en forma de un sólido beige. HPLC: t_R = 5.77 min (método H); LCMS: t_R = 2.18 min, $[M+H]^+$ 469 (método I); TLC: R_f = 0.16 (19:1 $CH_2Cl_2/MeOH$); 1H -NMR (d_6 -DMSO, 600 MHz): 11.19 (br s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.43 (br s, 1H), 7.01 (br s, 1H), 4.18 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 3.03 (m, 2H), 2.94 (m, 2H), 2.38 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.58 (s, 6H), 0.99 (d, 3H).

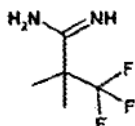
Etapa 44.1: Ácido imidazol-1-carboxílico [8-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il]-amida



El compuesto del título fue preparado en analogía con el procedimiento descrito para el Intermediario A pero en la Etapa A.3 se utilizó clorhidrato de 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propionamidina (Etapa 44.2) en lugar de clorhidrato de tert-butilamidina.

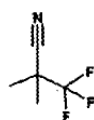
- 5 El compuesto del título fue obtenido en forma de un sólido blanco. HPLC: t_R = 6.73 min (método H); LCMS: t_R = 1.11 min, $[M+H]^+$ 373 (método J). Nota: para propósitos de caracterización, el compuesto del título fue disuelto en MeOH -> derivado carbamato de metilo.

Etapa 44.2: Clorhidrato de 3,3,3-Trifluoro-2,2-dimetil-propionamidina



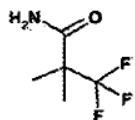
- 10 3,3,3-Trifluoro-2,2-dimetil-propionitrilo (Etapa 44.3) (12.40 mmol) fue agregado a una solución de metóxido de sodio (recién preparado a partir de 48.40 mmol de sodio metálico y 102 ml de MeOH) a temperatura ambiente. Después de 4 horas, se agregó ácido acético (48.40 mmol) y luego NH_4Cl (14.88 mmol) lentamente y la mezcla de reacción fue calentada entonces a 70°C durante 40 horas. Después de concentrar (40°C, 100 mbar) la mezcla de reacción, el residuo fue suspendido en acetona, filtrado y secado bajo vacío para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco. ESI-MS: $[M+H]^+$ 155.

- 15 Etapa 44.3: 3,3,3-Trifluoro-2,2-dimetil-propionitrilo



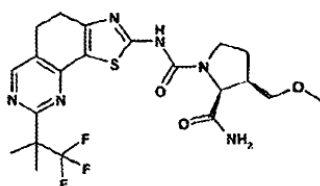
Una mezcla de 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propionamida (Etapa 44.4) (121.2 mmol) y pentóxido de fósforo (121.2 mmol) fue calentada lentamente a 200°C y se recolectó el destilado resultante. El compuesto del título fue obtenido en forma de un líquido incoloro.

- 20 Etapa 44.4: 3,3,3-Trifluoro-2,2-dimetil-propionamida



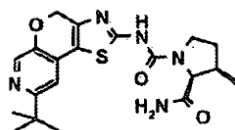
- 25 Se agregó cloruro de oxalilo (140.8 mmol) gota a gota a una solución de ácido 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propiónico [889940-13-0] (128 mmol) en CH_2Cl_2 (128 mL) a 0°C. Se agregaron unas pocas gotas de DMF hasta que se observó liberación de gas y luego se continuó la agitación durante 30 minutos. Después de calentar hasta temperatura ambiente y agitar durante una noche, la mezcla de reacción fue concentrada (40°C, 00 mbar). El residuo fue disuelto en THF (128 ml), enfriado a 0°C y luego tratado lentamente con una solución de amoníaco acuoso concentrado (64 ml). Después de agitar a 0°C durante 30 minutos y luego a temperatura ambiente durante 4 horas, la mezcla de reacción fue concentrada a la mitad de su volumen para dar una suspensión blanca espesa. Después de filtrar y secar, el compuesto del título fue obtenido en forma de un sólido blanco. ESI-MS: $[M+H]^+$ 156.

- 30 **Ejemplo 45:** 2-amida 1-[[8-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetiletil)-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il]-amida} del ácido (2S,3R)-3-Metoximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



Se agregó trietilamina (1.714 mmol) a una solución de ácido imidazol-1-carboxílico [8-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-triazolo[4,5-h]quinazolin-2-il]-amida (Etapa 44.1) (0.490 mmol) y amida del ácido (2S,3R)-3-metoximetilpirrolidin-2-carboxílico (Etapa 42.1) (0.0979 mmol) en DMF (1.5 mL) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 2 horas, la mezcla de reacción fue concentrada. El residuo fue diluido con solución saturada de NaHCO₃ y extraído con EtOAc (2X). Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas sucesivamente con agua y salmuera, secadas (Na₂SO₄), filtradas y concentradas. El residuo fue purificado utilizando una columna de sílica gel RediSep® para producir el compuesto del título en forma de un sólido beige. HPLC: t_R = 5.71 min (método H); LCMS: t_R = 2.15 min, [M+H]⁺ 499 (método I); TLC: R_f = 0.40 (19:1 CH₂Cl₂/MeOH); ¹H-NMR (d₆-DMSO, 600 MHz): 11.23 (br s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.42 (br s, 1H), 7.06 (br s, 1H), 4.27 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.42 (m, 1H), 3.24 (s, 3H), 3.16 (m, 1H), 3.03 (m, 2H), 2.94 (m, 2H), 2.55 (m, 1H), 2.03 (m, 1H), 1.77 (m, 1H), 1.58 (s, 6H).

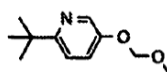
Ejemplo 46: 2-amida 1-[(8-tert-butil-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



LCMS: t_R = 0.50 min, M+H = 416. M-H = 414 (método L). ¹H-NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): 8.05 (s, 1 H), 7.37 (bs, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.97 (bs, 1H), 5.31 (s, 2H), 4.18 (m, 1H), 3.69 (dd, 1H), 3.39 (m, 1 H), 2.35 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.71 (m, 1H), 1.27 (s, 9H), 0.975 (d, 3H).

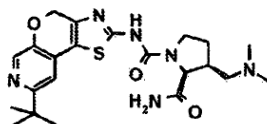
El compuesto del título fue preparado a partir de 2-tert-butil-5-metoximetoxi-piridina utilizando la metodología de síntesis descrita para la preparación del Ejemplo 40. El material de partida 2-tert-butil-5-metoximetoxi-piridina fue preparado a partir de 2-bromo-5-metoximetoxi-piridina como se describe a continuación:

2-tert-Butil-5-metoximetoxi-piridina:



6.69 g (74.7 mmol) de cianuro de cobre (I) en 15 ml de THF seco fueron enfriados a -75°C, donde se adicionaron gota a gota 149 ml (149 mmol) de una solución 1M de cloruro de tert-butilmagnesio. La agitación se continuó durante 40 minutos. Después de esto, se agregaron 4.07g (18.67 mmol) de 2-bromo-5-metoximetoxi-piridina (Zhong, W. et al. WO2008147547) disueltos en 30 ml de THF seco, gota a gota. La mezcla de reacción fue agitada a -75°C durante 1 hora y luego se dejó alcanzar la temperatura ambiente, donde se continuó la agitación durante otras 6 horas. Luego se agregaron 30 ml de amoníaco acuoso al 25% a la mezcla de reacción. La mezcla fue filtrada y extraída dos veces con CH₂Cl₂. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua, secadas (MgSO₄), filtradas y concentradas in vacuo. El residuo fue purificado por cromatografía sobre sílica gel (EtOAc, heptano) para producir 2.64 g del compuesto del título puro en forma de un aceite. LCMS: t_R = 0.55 min, M+H = 196 (método K).

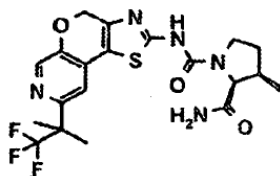
Ejemplo 47: 2-amida 1-[(8-tert-butil-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Dimetilaminometil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



El compuesto del título fue preparado utilizando la metodología de síntesis descrita para la preparación del Ejemplo 46 y usando amida del ácido (2S,3S)-3-dimetilaminometil-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 43.1) en vez de la amida del ácido (2S,3R)-3-metil-pirrolidin-2-carboxílico en la última etapa de la síntesis.

LC-MS: t_R = 0.24 min, M-H = 457 (método L). ¹H-NMR (d₆-DMSO, 400 MHz): 11.15 (bs, 1 H), 8.03 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.0 (s, 1H), 5.28 (s, 2H), 4.23 (m, 1 H), 3.65 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 2.6-2.45 (m, 2H), 2.30 (m, 1 H), 2.17 (s, 6H), 2.15 (m, 1H) 1.70 (m, 1H), 1.27 (s, 9H).

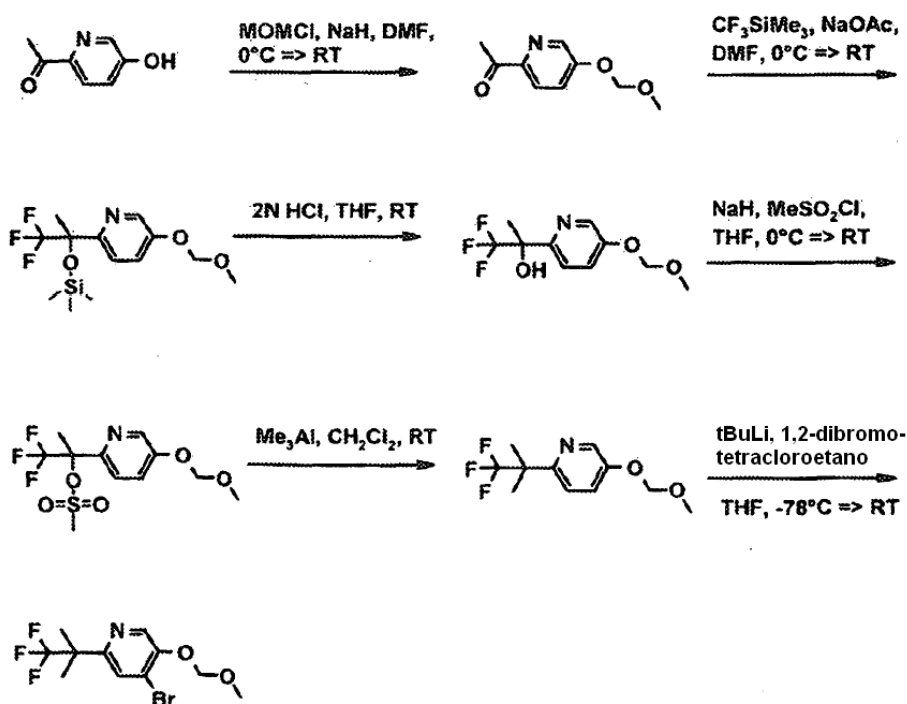
Ejemplo 48: 2-amida 1-[(8-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



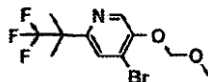
LC-MS: t_R = 1.59 min, $M+H$ = 470 (método F). 1H -NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz): 11.25 (bs, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.19 (s, 1H), 3.71 (m, 1H), ca. 3.4 (m, 1H), 2.5-2.35 (m, 1H), 1.99 (m, 1H), 1.68 (m, 1H), 1.56 (s, 6H), 0.99 (d, 3H).

- 5 El compuesto del título fue preparado partiendo de 4-bromo-5-metoximetoxi-2-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetiletil)-piridina utilizando la metodología de síntesis descrita para la preparación de los Ejemplos 40 y 42.

La 4-Bromo-5-metoximetoxi-2-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-piridina fue preparada como sigue:



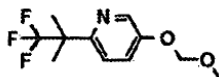
a) 4-Bromo-5-metoximetoxi-2-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-piridina:



10

El compuesto del título fue preparado utilizando la metodología de síntesis como se describe para la preparación del Ejemplo 40, etapa 40.5 en forma de un aceite. LCMS (método L): t_R = 1.26 min, $M+H$ = 328 (^{79}Br), 330 (^{81}Br)

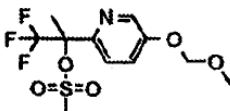
b) 5-Metoximetoxi-2-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-piridina



- 15 Se disolvieron en 20 ml de diclorometano 1.7 g (4.13 mmol) de ácido 2,2,2-trifluoro-1-(5-metoximetoxi-piridin-2-il)-1-metil- etilo éster metanosulfónico. La mezcla de reacción fue enfriada a 0°C donde se agregaron 2.065 ml (4.13 mmol) de trimetilaluminio lentamente. La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 20 horas. Después de eso se agregó agua lentamente y la mezcla fue extraída 2 veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua y salmuera, secadas ($MgSO_4$), filtradas y concentradas in vacuo. El residuo

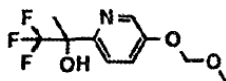
fue purificado por cromatografía sobre sílica gel (EtOAc, heptano) para producir 0.55 g de compuesto del título puro. LCMS (método L): t_R = 1.09 min, M+H = 250.

c) Ácido 2,2,2-trifluoro-1-(5-metoximetoxi-piridin-2-il)-1-metil-etilo éster metanosulfónico



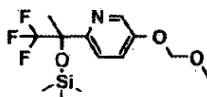
- 5 A una mezcla en agitación de 0.213 g (8.44 mmol) de hidruro de sodio en 6 ml de THF seco, se agregaron 1.06 g (4.22 mmol) de 1,1,1-trifluoro-2-(5-metoximetoxi-piridin-2-il)-propan-2-ol (disuelta en 4.9 ml de THF seco) gota a gota a 0°C. Después de terminar la adición, se continuó con la agitación durante 3 horas a temperatura ambiente. Luego se agregó cloruro de metanosulfonilo (disuelto en 7.3 ml de THF seco) a temperatura ambiente y la agitación continuó durante otras 2 horas. Luego se agregaron agua y solución saturada de NaHCO₃. La mezcla se extrajo 2 veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua y salmuera, secadas (MgSO₄), filtradas y concentradas in vacuo para producir 1.7 g del compuesto del título, el cual se utilizó directamente en la etapa siguiente. LCMS (método L): t_R = 0.96 min, M+H = 330.

d) 1,1,1-Trifluoro-2-(5-metoximetoxi-piridin-2-il)-propan-2-ol



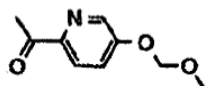
- 15 Una mezcla de 1.48 g (4.58 mmol) de 5-metoximetoxi-2-(2,2,2-trifluoro-1-metil-1-trimetilsilanilo-oxi-etil)-piridina y 5 ml de HCl 2N (10 mmol) en 15 ml de THF fue agitada a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de eso la mezcla de reacción se vertió sobre agua y se ajustó el pH de 1-2 mediante la adición de HCl 2N. La mezcla de reacción fue extraída 2 veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua y salmuera, secadas (MgSO₄), filtradas y concentradas in vacuo para producir 1.06 g del compuesto del título en forma de un aceite (pureza de 88%), el cual fue usado en la etapa siguiente sin purificación. LCMS (método L): t_R = 0.88 min, M+H = 252.

e) 5-Metoximetoxi-2-(2,2,2-trifluoro-1-metil-1-trimetilsilanilo-oxi-etil)-piridina



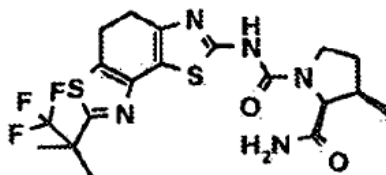
- 25 Una mezcla de 1.12 g (6.18 mmol) de 1-(5-metoximetoxi-piridin-2-il)-etanona, 1.055 g (7.42 mmol) de trimetilo (trifluormetil)silano y 0.025 g de acetato de sodio (0.309 mmol) en 9 ml de DMF se agitó durante 1 hora a 0°C y 1 hora a temperatura ambiente. Después de eso la mezcla de reacción fue vertida sobre agua y se ajustó a un pH de 1-2 con la adición de HCl 2N. La mezcla de reacción fue extraída 2 veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua y salmuera, secadas (MgSO₄), filtradas y concentradas in vacuo. El residuo fue purificado por cromatografía sobre sílica gel (EtOAc, heptano) para producir 1.87 g del compuesto del título puro en forma de un aceite. LCMS (método L): t_R = 1.38 min, M+H = 324.

f) 1-(5-Metoximetoxi-piridin-2-il)-etanona:



- 35 Se agregó NaH a una solución de 1 g (7.29 mmol) de 1-(5-hidroxi-piridin-2-il)-etanona (Anichem) en 15 ml de DMF a 0°C. Después de agitar esta mezcla durante 1 hora, se agregó 0.78 ml (8.75 mmol) MOMCl a 0°C. Luego la mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción fue vertida sobre agua y extraída 2 veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua y salmuera, secadas (MgSO₄), filtradas y concentradas in vacuo. El residuo fue purificado por cromatografía sobre sílica gel (EtOAc, heptano) para producir 1.12 g del compuesto del título en forma de un aceite. LCMS (método L): t_R = 0.66 min, M+H = 182.

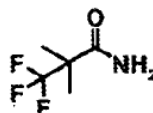
Ejemplo 49: 2-amida 1-[[7-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il]-amida} del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



LCMS: t_R = 0.97 min, $M+H$ = 474, $M-H$ = 414 (método L). 1H -NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz): 10.7 (bs, 1H), 7.37 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 4.18 (m, 1H), 3.69 (dd, 1H), 3.39 (m, 1H), 3.14 (t, 2H), 2.95 (t, 2H), 2.34 (m, 1H), 1.94 (m, 1H), 1.68 (m, 1H), 1.62 (s, 6H), 0.965 (d, 3H). El compuesto del título fue preparado a partir de 2,2-dimetil-tiopropionamida utilizando la metodología de síntesis descrita para la preparación del Ejemplo 39. El material de partida, 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetiltiopropionamida fue preparado como se describe a continuación:

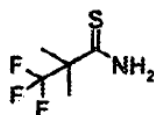
Preparación de 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-tiopropionamida:

a) 3,3,3-Trifluoro-2,2-dimetil-propionamida



Una mezcla de 2 g (12.81 mmol) de ácido 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetilpropiónico (Aldrich), 2.077 g (12.81 mmol) de carbonildiimidazol y 5.55 ml (64.1 mmol) de amoníaco acuoso en 50 ml de CH_2Cl_2 se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. Después de esto, se agregó dietilo éter y la mezcla resultante fue lavada con HCl 0.1 N, NaOH 0.1 N, agua y salmuera. La capa orgánica fue secada ($MgSO_4$), filtrada y concentrada in vacuo para producir 1.15 g del compuesto del título en forma de cristales blancos, el que fue usado en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS: $M+H$ = 156.

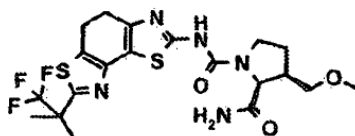
b) 3,3,3-Trifluoro-2,2-dimetil-tiopropionamida



Una mezcla de 1.05 g (6.77 mmol) de 3,3,3-trifluoro-2,2-dimetil-propionamida y 1.48 g (3.66 mmol) de reactivo de Lawesson en 32 ml de THF seco fue agitada a temperatura de reflujo durante 20 horas. Después de esto la mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y concentrada in vacuo. El residuo fue purificado por cromatografía sobre sílica gel (heptano, EtOAc) para producir 0.81 g del compuesto del título en forma de cristales blancos puros. MS: $M+H$ = 172.

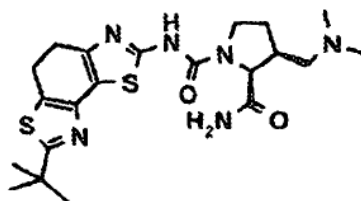
Utilizando amida del ácido (2S,3R)-3-metoximetil-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 42.1) en la última etapa de la síntesis se preparó el siguiente ejemplo de la misma manera:

Ejemplo 50: 2-amida 1-[[7-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimietiletil)-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il]-amida} del ácido (2S,3R)-3-Metoximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



LC-MS: t_R = 0.96 min, $M+H$ = 504, $M-H$ = 502 (método L). 1H -NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz): 10.76 (bs, 1H), 7.34 (bs, 1H), 7.02 (bs, 1H), 4.29 (m, 1H), 3.45 (m, 1H), 3.42 (m, 2H), 3.22 (s, 3H), 3.14 (m, 3H), 2.97 (m, 2H), 2.48 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.62 (s, 6H).

Ejemplo 51: 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Dimetilaminometil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico



El compuesto del título fue preparado usando la metodología de síntesis descrita para la preparación del Ejemplo 39 y usando amida del ácido (2S,3S)-3-dimetilaminometil-pirrolidin-2-carboxílico (Etapa 43.1) en lugar de amida del ácido (2S,3R)-3-metilpirrolidin-2-carboxílico en la última etapa de la síntesis.

LC-MS: t_R = 0.91 min, $M+H$ = 463, $M-H$ = 461 (método L). 1H -NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz): 10.7 (bs, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.01 (bs, 1H), 4.28 (m, 1H), 3.67 (dd, 1H), 3.39 (m, 1H), 3.07 (m, 2H), 2.92 (m, 2H), 2.5-2.44 (m, 2H), 2.30 (m, 1H), 2.14 (s, 6H), 1.95 (m, 1H), 1.40 (m, 1H), 1.36 (s, 9H).

Eficiencia como inhibidores de la PI3 quinasa

Prueba con PI3K KinaseGlo: Se dispensaron 50 nL de diluciones de compuesto en placas negras de 384 pozos de bajo volumen Non Binding Styrene (NBS) (Costar Cat. No. NBS#3676). Se transfirió l-a-fosfatidilinositol (PI), provisto como una solución de 10 mg/ml en metanol, a un tubo de vidrio y se secó bajo un haz de nitrógeno. Se resuspendió en OctilGlucósido al 3% (OG) por sometimiento a vortex y se almacenó a 4°C. El KinaseGlo Luminescent Kinase Assay (Promega, Madison/WI, USA) es un método de HTS homogéneo para medir la actividad de quinasa cuantificando la cantidad de ATP que permanece en solución después de una reacción con quinasa.

Se agregaron 5 μ L de una mezcla de PI/OG con el subtipo de PI3K (Tabla 1). Las reacciones con quinasa fueron iniciadas mediante la adición de 5 μ L de una mezcla de ATP que contiene en un volumen final de 10 μ L TRIS-HCl 10 mM pH 7.5, $MgCl_2$ 3mM, NaCl 50 mM, CHAPS al 0.05%, DTT 1mM y ATP 1 μ M, y sucedió a temperatura ambiente. Las reacciones se detuvieron con 10 μ L de KinaseGlo y las placas fueron leídas 10 minutos después en un lector Synergy2 utilizando un tiempo de integración de 0.1 segundos por pozo. Se agregó 2.5 μ M de un inhibidor panclass 1 PI3 de quinasa (estándar) a las placas de ensayo para generar el 100% de inhibición de la reacción de la quinasa, y el 0% de inhibición fue dado por el vehículo solvente (DMSO al 90% en agua). El estándar fue utilizado como compuesto de referencia e incluido en todas las placas de ensayo en la forma de 16 puntos de dilución en duplicado.

Tabla 1 PI3Ks por KinaseGlo: condiciones de ensayo y protocolo de reactivos

Vol (10 μ L)	Enzima (nM)	ATP (μ M)	PI/OG (μ M/mg/ml)	NaCl (mM)	Mg ²⁺ (mM)	CHAPS (%)	DTT (mM)	Tiempo (minutos)
PI3Ka	10	1	11/10	50	3	0.05	1	30
PI3K β	25	1	11/10	50	3	0.05	1	30
PI3K γ	150	1	22/20	50	3	0.05	1	90
PI3K δ	10	1	11/10	50	3	0.05	1	30
Clonación de PI3Ks								

Los constructos de PI3K α , PI3K β y PI3K δ son fusión del dominio p85 α iSH2 y las respectivas isoformas p110. El fragmento p85 α y los genes de isoformas p110 fueron generados por PCR a partir de una primera cadena ADNC generada por RT-PCR a partir de ARN comercial de placenta, testículos y cerebro como se describe más abajo. El constructo de PI3K γ fue obtenido de Roger Williams lab, MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, UK (November, 2003) y está descrito (Pacold, Michael E.; Suire, Sabine; Perisic, Olga; Lara-Gonzalez, Samuel; Davis, Colin T.; Walker, Edward H.; Hawkins, Phillip T.; Stephens, Len; Eccleston, John F.; Williams, Roger L. Crystal structure and functional analysis of Ras binding to its effector fosfoinositide 3-kinase gamma. Cell (2000), 103(6), 931-943).

Constructos y proteínas de PI3K α

PI3Kα wt	BV1075	p85iSH2(461-568)-GGGGGGGGGGG-p110α(21-1068)-His
----------	--------	---

BV1075: el constructo para Baculovirus HV-1075 fue generado por una ligación en tres partes consistente de un fragmento p85 y un fragmento p110α clonado en el vector pBlueBac4.5. El fragmento p85 fue derivado del plásmido p1661-2 digerido con Nhe/Spe. El fragmento p110α derivado de este clon fue verificado por secuenciación y utilizado en LR410 como un fragmento Spe/HindIII. Para la generación del vector de expresión LR410 del baculovirus se utilizó la reacción LR de compuerta para transferir el inserto en el pBlueBac4.5 adaptada Gateway (Invitrogen) vector. El vector de clonación pBlueBac4.5 (Invitrogen) fue digerido con el Nhe/HindIII. Esto dio como resultado el constructo PED 153.8. El componente p85 (iSH2) fue generado por PCR utilizando ORF 318 (descrito más arriba) como plantilla y un cebador de avance KAC1028 (5'-GCTAGCAT-GCGAGAATATGATAGAT-TATATGAAG-AATATACC) (SEQ ID No. 1) y dos cebadores reversos, KAC1029 (5'-GCCTC-CACCAC-CTCCGCCTG-GTTTAATGCTGTTTCATACGTTTGTG) (SEQ ID No. 2) y KAC 1039 (5'-TACTAGTC-CGCCTCCAC-CACCTCCGCCTCCACCACCTCCGCC) (SEQ ID No. 3). Los dos cebadores reversos se superponen e incorporan el enlazador 12x Gli y la secuencia terminal N en el gen p110α en el sitio SpeI. El enlazador 12x Gli reemplaza el enlazador individual Gli en el constructo BV1052. El fragmento de PCR fue clonado en pCR2.1 TOPO (Invitrogen). De los clones resultantes, se determinó que el p1661-2 era correcto por secuenciación. El plásmido fue digerido con Nhe y SpeI y el fragmento resultante fue aislado en gel y purificado para subclonación.

El fragmento de clonación p110α fue generado por digestión enzimática del clon LR410 (véase más arriba) con Spe I y HindIII. El sitio SpeI es la región de codificación del gen p110α. El fragmento resultante fue aislado en gel y purificado por subclonación. El vector de clonación, pBlueBac4.5 (Invitrogen) fue preparado por digestión enzimática con el Nhe y HindIII. El vector de corte fue purificado con una columna Qiagen y luego desfosforilado con fosfatasa alcalina de intestino de ternera (CIP) (BioLabs). Después de terminar la reacción con CIP el vector de corte fue purificado de nuevo en columna para generar el vector final. Se llevó a cabo una ligación en tres partes utilizando ligasa Roche Rapid y las especificaciones del proveedor. El plásmido final fue verificado por secuenciación.

Dominio de quinasas.

Secuencia proteínica de BV 1075:

```

1 MREYDRLYEE YTRTSQEIQM KRTAIEAFNE TIKIPFEEQCO TQERYSKYEI EKFKREGNEK
61 EIQRIMINYD KLKSRISSEII DSRRRLLEEDL KKQAAEYREI UKRMNSIKPG GGGGGGGGGG
121 GLVECLLPNG MIVTLECLRE ATLITIKHEL FKEARKYPLH QLLQDESSYI FVSVTQEAER
181 EEFEDETRRL CDLRLFQPFLL KVIEPVGNRE EKILNREIGF AIGMPVCEFD MVKDPFVQDF
241 RRNINLVCKE AVDLRDLNSP HSRAMYVYPP NVESSEPELPK HIYNKLDKGO ITVVIWVIVS
301 PNNDKQKYTL KINHDCVPEQ VIAEAIKKT RSMLLSSEQL KLCVLEYQGG YILKVCQODE
361 YFLEKYPLSQ YKYIRSCIML GRMPNMLMA KESLYSQLPM DCFIMPSYSR RISTATPYMN
421 GETSTKSLWV INSALRIKIL CATYVNVNIR DIDKIYVRTG IYHGGEPLCD NVNTQVRVPS
481 NPRWNEWLNY DIYIPDLPR ARLCLSICSV KGRKGAKKEH CPLAWGNINL FDYTDITLVSG
541 KMALNLWFPV HGLEDLENPI GVTGSNPNKE TPCLELEFDW FSSVVKFPDM SVIEEHANWS
601 VSREAGFSYS HAGLSNRIAR DNELRENDKE QIKAISTRDP LSEITEQEKD FLWSHRHYCV
661 TIPEILPKLL LSVKWNRSDE VAQMYCLVKD WPPFKPEQAM ELLDCNYPDP MVRGFVAVRCL
721 EKYLTDCKLS QYLIQLVQVL KYEQYLDNLL VRFLKKALT NQRIGHFFFW HLKSEMHNKT
781 VSQRFGLLE SYCRACGYL KHLNRQVEAM ERLINLTDIL KQEKDETQK VQMKFLVEQM
841 RRPDFMDALQ GFLSPLNPAH QLGNLRLLEC RIMSSAKRPL WLNWENPDIM SELLFQNNIE
901 IFKNGDDLRO DMLTLQIIRI MENIWQNGQL DLRLMPYQCL SIGDCVGLIE VVRNSHTIMQ
961 IQCKGGLKGA LQFNSTLHQ WLKDKNKGEI YDAAIDLFT SCAGYCVATF ILGIGDRHNS
1021 NIMVKDDGQL FHIDFGHFLD HKKKFGYKR ERVPFVLTQD FLIVISKAQ ECTKTREPER
1081 FQEMCYKAYL AIRQHANLFI NLFSSMLGSG MPQLQSFDDI AVIRKTLALD KTEQEALEYF
1141 MKQMDAHHG GWTTKMDWIF HTIKQHALNE LGGAHHHHH (SEQ ID No. 4)

```

Constructos y proteínas de PI3Kβ

PI3K β	BV949	p85iSH2(461-N58K-568)-GGGGGG-p110 β (2-1070)-His
--------------	-------	--

BV949: Los productos PCR para el dominio inter SH2 (iSH2) de las subunidades p85 PI3K α , PI3K β y PI3K δ y para la subunidad p110 β de longitud completa fueron generados y fusionados por superposición por PCR. El producto iSH2 PCR fue obtenido a partir de una primera cadena de ADNc generada por RT-PCR a partir de ARN humano comercial de placenta, testículos y cerebro (Clontech), inicialmente utilizando los cebadores gwG130-p01 (5'-CGAGAATATGATAGATTATATGAAGAAT-3') (SEQ ID No. 5) y gwG130-p02 (5'-TGGTTT-AATGCTGTTTCATACGTTTGTCAAT-3') (SEQ ID No. 6). Subsecuentemente, en una reacción de PCR secundaria se agregaron sitios y enlazantes AttB1 de recombinación Gateway en el extremo 5' y en el extremo 3' del fragmento p85 iSH2 respectivamente, utilizando cebadores gwG130-p03 (5'-GGGACAAGTT-TGTACAAAAAAGCAGGCTACGAAGGAGATATACATATGCCA-GAATATGATAGATTATATGAAGAAT-3') (SEQ ID No. 7) y gwG130-p05 (5'-ACTGAAGCATCCTCCTC-CTCCTCCT-CCTGGTTTAATGCTGTTTCATACGTTTGTGTC-3') (SEQ ID No. 8). El fragmento p110 β fue obtenido por PCR utilizando como plantilla un clon p110 β (de fuente desconocida cuya secuencia fue verificada) usando cebadores gwG130-p04 (5'-ATTAAAC-CAGGAGGAGGAGGAGGAGGATGCTT-CAGTTTCATAATGCCTCCTGCT-3') (SEQ ID No. 9) el cual contiene las secuencias enlazadoras y el extremo 5' de p110 β y gwG130-p06 (5'-AGCTCCGTGATGGTGATGGTGATGTGCTCCAGATC-TG-TAGTCTTTCCGAA-CTGTGTG-3') (SEQ ID No. 10) el cual contiene secuencias para el extremo 3' del p110- β fusionado a una etiqueta de Histidina. La proteína de fusión p85-iSH2/ p110 β fue ensamblada superponiendo por PCR una reacción de los enlazantes en el extremo 3' del fragmento iSH2 y el extremo 5' del fragmento p110 β , utilizando el cebador gwG130-p03 mencionado anteriormente y un cebador que contiene una etiqueta de Histidina superpuesta y las secuencias de recombinación de AttB2 (5'-GGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTTTAAGCTCCGTGATGGTGATGGTGA TGTGCTCC-3') (SEQ ID No. 11). El producto final fue recombinado en una reacción o Gateway (Invitrogen) en el vector donante pDONR201 (Invitrogen) para generar el clon de entrada ORF253. Este clon fue verificado por secuenciamiento y utilizado en una reacción LR Gateway (Invitrogen) para transferir el inserto en el vector adaptado pBlueBac4.5 Gateway (Invitrogen) para generación del vector de expresión de baculovirus LR280. Este LR280 tiene una mutación de aminoácido en la secuencia p85.

Dominio de quinasa.

Secuencia de proteína de BV949:

```

1 MREYDRLYEE YTRTSQEIQM KRTAIEAFNE TIKIFEEQCQ TQERYSKYEI EKFKREGREK
61 EIQRIMHNYD KLSRTSEIL DSRRLLEEDL KKQAAEYREI DKRMNSIKPG GGGGGCFSTI
121 MPPAMADILD IWAVDSQIAS DGSIPVDFLL PTGIYIQLEV PREATISYIK QMLWKQVHNY
181 PMFNILMDID SYMFACVNQT AVYEELEDET RRLCDVRPFL PVLKLVTTRSC DPGEKLDSKI
241 GVLIQKGLHE FDSLKDPEVN EFRRKMRKFS EEKILSLVGL SWMDWLKQTY PPEHEPSIPE
301 NLEDKLYGK LIAVAVHFENC QDVFSFQVSP NMNPIKVNEL AIQKRLTIEG KEDEVSPYDY
361 VLQVSGRVEY VFGDHPLIQF QYIRNCVMNR ALPHFILVEC CKIKKMYEQE MIAIEAAINR
421 NSSNLPLPLP PKKTRIISHV WENNNPFQIV LVKGNKLNTF ETVKVHVVRAG LEHGTELLCK
481 TIVSSEVSGK NDHIWNEPLE FDINICDLPR MARLCFAVYA VLDKVKTKKS TKTINPSKYQ
541 TIRKAGKVHY PVAWVNTMVF DFKGQLRTGD IILHSWSSFP DELEEMLNPM GTVQTNPYTE
601 NATALHVKFP ENKKQPYYPY PFDKILIEKAA EIASSDSANV SSRGCKKFLP VLKEILDTRDP
661 LSQLCENEMD LIWTLRQDCR EIFQSLPRL LLSIKWNKLE DVAQLQALLO IWPKLPPREA
721 LELLDFNYPD QYVREYAVGC LRQMSDEELS QYLLQLVQVL KYEPFLDCAL SRFLIERALG
781 NRRIGQFLFW HLRSEVHIPA VSVQFGVILE AYCRGSVGHEM KVLKQVEAL NKLKTLNSLI
841 KLNKAVKLNRA KGKEAMHTCL KQSAAREALS DLQSPNLPCV ILSLEYVEKC KYMDSKMKPL
901 WLVIYNKVFV EDSVGVIFKN GDDLRLQDMLT LQMLRLMDLL WKEAGLDLRM LPYGCLATGD
961 RSGLIEVVST SETIADIQLN SSNVAAAAAF NKDALLNWLK EYNSGDDLDR AIEEFTLSCA
1021 CYCVASYVLG IGDRHSDNIM VKKTGQLFHI DFGHILGNFK SKFGIKRERV PFILTYDFIH
1081 VIQQCKTGNT EKFGFRFRQCC EDAYLILRRH GNLFITLFLAL MLTAGLPELT SVKDIQYLKD
1141 SLALCKSEEE ALKQFKQKFD EALRESWTK VNMMAHTVRK DYRSGANHHH HHGA (SEQ

```

ID No. 12)

Dominio de quinasa.

Construido de PI3Ky y proteína

PI3Ky	BV950	p110γ(Δ143-[Met144-1102])-His
-------	-------	-------------------------------

- 5 Construido obtenido del laboratorio de Roger Williams, MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, UK (November, 2003). Descripción del constructo en (Pacold, Michael E.; Suire, Sabine; Perisic, Olga; Lara-Gonzalez, Samuel; Davis, Colin T.; Walker, Edward H.; Hawkins, Phillip T.; Stephens, Len; Eccleston, John F.; Williams, Roger L. Crystal structure y functional analysis of Ras binding to its effector fosfoinositide 3-kinase gamma. Cell (2000), 103(6), 931-943). Los constructos carecen del aa 144 del terminal N.

Secuencia de proteínas de BV950:

```

1. MSEESQAFQR QLTALIGYDV TDVSNVHDE LEFTRRGIVT PRMAEVASRD PKLYAMHPWV
61 TSKPLPEYLW KKIANNCFI VIHRSTTSQT IKVSPDDTPG AILQSFFTKM AKKKSIMDIP
121 ESQSEQDFVL RVCGRDEYLV GETPIKNFQW VRHCLKNGEE INHVLDTPPD PALDEVKREE
181 WPLVDDCTGV TGYHEQLTIH GKDHESVFTV SLWDCDRKFR VKIRGIDIPV LPRNTDLTVF
241 VEANIQHQQQ VLCQRRITSPK PFTEEVLWNV WLEFSIKIKD LPKGALLNLQ IYCGKAPALS
301 SKASAESPSS ESKGKVRLLY YVNLILLIDHR FLLARGEYVL HMWQISGKGE DQGSFNADKL
361 TSATNPDKEN SMSISILLDN YCHPIALPKH QPTPDPEGDR VRAEMPNOQR KQLEAIATD
421 PLNPLTAEDK ELLWHFRYES LKHPKAYPKL FSSVKWQQE IVAKTYQLLA RREVWDQSAL
481 DVGLTMQLLD CNFSDENVRA IAVQKLESLE DDDVLHYLLQ LVQAVKFEPY HDSALARFLL
541 KRGLRNKRIG HFLFWFLRSE IAQSRHYQQR FAVILEAYLR GCGTAMLEDF TQOVQVIEML
601 QKVTLDIKSL SAEKYDVSSQ VISQLKQKLE NLQNSQLPES FRVPYDPGLK AGALATIEKCK
661 VMASKKKPLW LEFKCADPTA LSNETIGIIF KHGDDLQDM LILQILRIME SIWETESLDL
721 CLLPYGCIST GDKIGMIEIV KDATTIAKIQ QSTVGNTGAF KDEVLNHWLK EKSPTEEKFQ
781 AAVERFVYSC AGYCVATFVL GIGDRHNDNI MITETGNLFH IDEGHILGNY KSFLGINKER
841 VPVLTDPDFL FVMGTSGKKT SPHFQKFQDI CVKAYLALRH HTNLLIILFS MMLMTGMPQL
901 TSKEDIERYR DALTVGKNEE DAKKYFLDQI EVCRDKGWTV QFNWFLHLVL GIKQGEKHS
961 HHHHHH (SEQ ID No. 13)

```

10

Construido y proteína de PI3Kδ

PI3Kδ	BV1060	p85iSH2(461-568)-GGGGGG-p110δ(2-1044)-His
-------	--------	---

- 15 BV1060: Productos de PCR para el dominio inter SH2 (iSH2) de la subunidad p85 y para la subunidad p110δ de longitud completa se generaron y fusionaron por superposición por PCR. El producto de PCR iSH2 fue generado utilizando como plantilla el ORF318 (véase anteriormente) y los cebadores gwG130-p03 (5'- GGGACAAG-TTTGTACAAAAAGCAGGCTACGAAGGAGATATACAT-ATGC-GAGAATATGATAGATTATATGAAGAAT-3') (SEQ ID No. 7) y gwG154-p04 (5'-TCCTCCTCCT-CCTCCTC-CTGGTTTAATGCTGTTTCATACGTTTGTC-3') (SEQ ID No. 14). El fragmento p110δ fue obtenido a partir de la primera cadena de ADNc generada por RT-PCR a partir de ARN humano comercial de placenta, testículos y cerebro (Clontech), utilizando inicialmente los cebadores gwG154-p01 (5'- ATGCCCCCTGGGTGGACTGCCCAT-3') (SEQ ID No. 15) y gwG154-p02 (5'-CTACT-GCCTGT-TGTCTTTGGACACGT-3') (SEQ ID No. 16). En una reacción de PCR subsecuente se agregaron las secuencias enlazadoras y una etiqueta de Histidina en el extremo 5' y extremo 3' del fragmento de p110δ respectivamente, utilizando cebadores gw154-p03 (5'-ATTAAACCAGGAGGAGGAGGAGGAGGACCCCTGGGGTGGAC-TGCCCCATGGA-3') (SEQ ID No. 17) y gwG154-p06 (5'-AGCTCCGTGATGGTGATGGTGAT-GTGCT-CCCTGCCTGTTGTCTTTGGACACGTTGT-3') (SEQ ID No. 18). La proteína de fusión p85-iSH2/p110δ fue ensamblada en una tercera reacción de PCR por enlazadores de superposición en el extremo 3' del fragmento iSH2 y el extremo 5' del fragmento p110δ, utilizando el cebador gwG130-p03 antes mencionado y un cebador que contiene una etiqueta de Histidina superpuesta y las secuencias de recombinación AttB2 Gateway (Invitrogen) (5'-
- 20
- 25

GGG-ACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTTTAA-GCTCCGTGATGGTGATGGTGAGTGCTCC-3') (SEQ ID No. 19). Este producto final fue recombinado en una reacción o Gateway en el vector donador pDONR201 (Invitrogen) para generar el clon de entrada ORF319. Este clon fue verificado por secuenciación y usado en una reacción LR Gateway (Invitrogen) para transferir el inserto en el vector adaptado pBlueBac4.5 Gateway (Invitrogen) para la generación del vector de expresión de baculovirus LR415.

Secuencia de proteína de BV1060:

```

1  MREYDRLYEE YTRTSQEIQM KRTAIEAFNE TIKIFEEQCQ TQERYKEYI EKFKREGNEK
61  ETQRIIMHNYD KLKSRISEII DSRRLLEEDL KKQAAEYREI DKRMNSIKPG GGGGGPPGVD
121 CPMFVWTKKE NQSVVVDVLL PTGVYLNFPV SRNANLSTIK QLLWHRAYE PLFHMLSGPE
181 AYVFTCINQT AEQQELEDQ RRLCDVQPFV FVRLVAREG DRVKKLINSQ ISLLIGKGLH
241 EFDSLCDPEV NDFRAKMCQF CEEAAARRQ LGWEAWLOYS FPLQLEPSAQ TWGPGTLRLP
301 NRALLVNVKF EGSEESFTFQ VSTKDVPLAL MACALRKKAT VFRQPLVEQP EDYTLQVNGR
361 HEYLYGSYPL CQFQYICSL HSLTTPHLM VHSSSILAMR DEQSNPAPQV QKPRAKPPPI
421 PAKKPSSVSL WSLEQPFRIE LIQGSKNAD ERMKLVVQAG LFHGNEMLCK TVSSSEVSVC
481 SEPVWKQRLD FDINICDLPR MARLCFALYA VIEKAKKARS TKKSKKADC PIWANLMLF
541 DYKDQLKTGE RCLYMWPSVP DEKGELLNPT GTVRSNPNTD SAAALLICLP EVAPHPVYYP
601 ALEKILELGR HSECVHVTEE EQLQLREILE RRGSGELYEH EKDLVWKLRLH EVQEHFPEAL
661 ARLLLVTKWN KHEDVAQMLY LLCSWPELPV LSALELLDFS FPDCHVGSFA IKSLRKLTDG
721 ELFYLLQLV QVLKYESYLD CELTKFLDR ALANRKIGHF LFVHLRSEMH VPSVALRFGL
781 ILEAYCRGST HHMKVLMKQG EALSKLKALN DFVKLSSQKT PKPQTKELMH LCMRQEAYLE
841 ALSHLQSPLD PSTLLAEVCV EQCTFMDSKM KPLWIMYSNE EAGSGGSGVI IFKNGDRLRQ
901 DMLTLQMIQL MDVLWKQEGE DLRMTYPGCL FTGDRTGLE VVLRSDTIAN IQLNKSNNMAA
961 TAAFNKDALL NWLKSKNPGE ALDRAIEEFT LSCAGYCVAT YVLGIGDRHS DNIMIRESGQ
1021 LFHIDFGHFL GNFKTKFGIN RERVPIILTY DFVHVIQGGK TNNSEKPERF RGYCERAYTI
1081 LRRHGLLFLH LPALMRAAGL PELSCSKDIQ YLKDSLALGK TEEFALKHFR VKFNEALRES

```

1141 WKTKVNWLAH NVSKDNRQEL GGAHHHHHHH (SEQ ID No. 20)

Purificación de los constructos de PI3K α , PI3K β y PI3K γ

PI3K α , PI3K β y PI3K γ fueron purificados en dos etapas cromatográficas: cromatografía de afinidad inmovilizada por metal (IMAC) en una resina de sefarsa Ni (GE Healthcare) y filtración por gel utilizando una columna Superdex 200 26/60 (GE Healthcare). Todos los reguladores fueron enfriados a 4°C y se llevó a cabo la lisis con enfriamiento sobre hielo. El fraccionamiento por columna fue ejecutado a temperatura ambiente. Todos los reguladores utilizados para purificar PI3K β contenían 0.05% de Tritón X100, además de lo que se describe más adelante.

Típicamente se resuspendieron células congeladas a partir de 10 L de cultivo de células Tn5 en regulador de "Regulador de Lisis" Tris-Cl 20 mM, pH 7.5, NaCl 500 mM, glicerol al 5%, imidazol 5 mM, NaF 1 mM, ácido okadaico (OAA) 0.1 μ g/mL, BME 5 mM, 1 x cóctel inhibidor de proteasa completo -libre de EDTA (20 tabletas/1 Litro de regulador, Roche Applied Sciences), benzonasa (regulador 25U/mL, EMD Biosciences) a una relación de 1:6 v/v en pellas a relación de regulador de Lisis, y se sometieron a lisis mecánicamente propinando 20 impactos utilizando un pestillo de ajuste apretado. El lisado fue centrifugado a 45,000 g durante 30 minutos, y el sobrenadante fue cargado sobre una columna IMAC preequilibrada (3 mL de resina/100 mL de lisado). La columna fue lavada con 3-5 volúmenes de columna de Regulador de Lisis, seguido por un segundo lavado de 3-5 volúmenes de columna con Tris-Cl 20 mM, pH 7.5, NaCl 500 mM, glicerol al 5%, imidazol 45 mM, NaF 1 mM, OAA 0.1 μ g/mL, BME 5 mM, 1x cóctel inhibidor de proteasa completo – libre de EDTA. La proteína fue eluida con Tris-Cl 20 mM, pH 7.5, NaCl 0.5 M, glicerol al 5%, imidazol 250 mM, NaF 1 mM, OAA 0.1 μ g/mL, BME 5 mM, 1x cóctel inhibidor de proteasa completo – libre de EDTA. Las fracciones pertinentes fueron analizadas por SDS-PAGE y reunidas concordantemente. La proteína fue purificada adicionalmente por filtración por gel sobre una columna de Superdex 200 26/60 equilibrada en Tris-Cl 20 mM, pH 7.5, NaCl 0.5 M, glicerol al 5%, NaF 1 mM, DTT 5 mM, 1 x cóctel inhibidor de proteasa completo – libre de EDTA. Las fracciones pertinentes fueron analizadas por SDS-PAGE y reunidas concordantemente. Se agregó un volumen igual de regulador de diálisis (Tris-Cl 20 mM, pH 7.5, NaCl 500 mM,

glicerol al 50%, NaF 5 mM, DTT 5 mM) al conjunto y luego se dializó contra Regulador de Diálisis en dos cambios (un cambio durante la noche). La proteína fue almacenada a -20°C.

Purificación de PI3Kδ

- 5 El PI3Kδ fue purificado en tres etapas cromatográficas: cromatografía de afinidad inmovilizada con metal sobre una resina de Sefarosa Ni (GE Healthcare), filtración por gel utilizando una columna Superdex 200 26/60 (GE Healthcare) y finalmente en una etapa de intercambio iónico sobre una columna Q-HP (GE Healthcare). Todos los reguladores fueron enfriados a 4°C y la lisis se llevó a cabo enfriada sobre hielo. El fraccionamiento de la columna fue ejecutado a temperatura ambiente.
- 10 Se resuspendieron típicamente células congeladas a partir de 10 L de un cultivo de células Tn5 en "Regulador de Lisis" Tris-Cl 20 mM, pH 7.5, NaCl 500 mM, glicerol al 5%, imidazol 5 mM, NaF 1 mM, 0.1 µg/mL de ácido okadaico (OAA), BME 5 mM, 1 x cóctel inhibidor de proteasa completo – libre de EDTA- (20 tabletas/1 L de regulador, Roche Applied Sciences), benzonasa (25 U/mL de regulador de lisis, EMD Biosciences) a una relación de 1:10 v/v en pellas a la relación de Regulador de Lisis, y se sometieron a lisis mecánicamente propinando 20 golpes utilizando un pistilo de ajuste apretado. El lisado fue centrifugado a 45,000 g durante 30 minutos, y el sobrenadante fue cargado sobre
- 15 una columna IMAC preequilibrada (5 mL de resina/100 mL de lisado). La columna fue lavada con 3-5 volúmenes de columna de Regulador de Lisis, seguida por un segundo lavado de 3-5 volúmenes de columna con 20 mM Tris-Cl, pH 7.5, NaCl 500 mM, glicerol al 5%, imidazol 40 mM, NaF 1 mM, OAA 0.1µg/mL, BME 5 mM, 1 x cóctel de inhibidor de proteasa completo – libre de EDTA. La proteína fue eluida con Tris-Cl 20 mM, pH 7.5, NaCl 500 mM, glicerol al 5%, imidazol 250 mM, NaF 1 mM, OAA 0.1mg/mL, BME 5 mM, 1 x cóctel inhibidor de proteasa completo – libre de EDTA. Las fracciones pertinentes fueron analizadas por SDS-PAGE y reunidas concordantemente. La proteína fue purificada adicionalmente por filtración por gel sobre una Superdex 200 equilibrada con Tris-Cl 20 mM, pH 7.5, NaCl 500 mM, glicerol al 5%, NaF 1 mM, OAA 0.1µg/mL, DTT 5 mM, 1 x cóctel inhibidor de proteasa completo – libre de EDTA. Las fracciones pertinentes fueron analizadas por SDS-PAGE y reunidas concordantemente. Estas fracciones fueron diluidas 1:10 v/v de volumen de reserva a una relación de regulador con "Regulador A" Tris-Cl 20 mM, pH 8.2,
- 20 glicerol al 5%, NaF 1 mM, 0.1 µg/mL OAA, DTT 5 mM y cargadas en una columna Q-HP preparada. Después de que la carga de la muestra se completó se lavó con Regulador A y "Regulador B" al 5% Tris-Cl 20 mM, pH 8.2, NaCl 1 M, glicerol al 5% glicerol, NaF 1 mM, OAA 0.1µg/mL, DTT 5 mM con 3-5 volúmenes de columna. Se eluyó la proteína utilizando un gradiente 5%-30% de Regulador B. Típicamente la proteína eluye en NaCl aproximadamente 200 mM. Las fracciones pertinentes fueron analizadas por SDS-PAGE y reunidas concordantemente. Se agregó un volumen igual de Regulador de diálisis (Tris-Cl 20 mM, pH 7.5, NaCl 500 mM, glicerol al 50%, NaF 1 mM, OAA 0.1 µg/mL, DTT 5 mM) a la reserva y luego se dializó contra Regulador de Diálisis con dos cambios (un cambio durante la noche). La proteína fue almacenada a -20°C.
- 25
- 30

Los siguientes resultados se obtuvieron utilizando los ensayos descritos anteriormente.

Ejemplo No.	PI3Kalpha /IC50 [µmol l-1]	PI3Kbeta/ IC50 [µmol l-1]	PI3Kgamma /IC50 [µmol l-1]	PI3Kdelta /IC50 [µmol l-1]
1	0.004	1.238	0.067	0.18
2	0.0055	0.332	0.09	0.03
3	0.045	0.121	1.59	0.74
4	0.0065	0.143	0.176	0.22
5	0.0055	0.047	0.153	0.046
6	0.016	1.63	0.50	0.47
7	0.0235	3.136	0.233	0.051
8	0.0095	0.276	0.180	0.198
9	0.0085	0.087	0.141	0.072
10	0.018	0.449	0.282	0.054
11	0.005	0.047	0.129	0.018
12	0.006	0.516	0.230	0.053
13	0.009	0.277	0.104	0.118
14	0.004	0.268	0.191	0.016

(continuación)

Ejemplo No.	PI3Kalpha /IC50 [umol l-1]	PI3Kbeta/ IC50 [umol l-1]	PI3Kgamma /IC50 [umol-1]	PI3Kdelta /IC50 [umol l-1]
16	0.0055	0.297	0.074	0.060
17	0.008	0.389	0.153	0.236
18	0.0105	0.374	0.155	0.028
19	0.0055	0.588	0.123	0.077
20	0.0035	0.155	0.080	0.011
21	< 0.003	0.519	0.237	0.036
22	0.0235	6.905	0.262	1.895
24	0.007	0.135	0.098	0.024
25	0.0055	0.346	0.122	0.045
26	0.0065	0.328	0.138	0.058
27	0.0045	0.397	0.097	0.072
28	0.0155	2.035	0.336	0.331
29	0.008	0.721	1.358	0.892
30	0.023	2.135	0.119	0.294
31	0.0515	5.825	1.226	1.940
32	0.007	1.092	0.131	0.043
33	0.0695	5.079	0.909	0.860
34	0.0125	1.818	0.166	0.156
35	0.009	2.908	0.195	0.354
36	0.012	0.51	n.d.	0.04
37	0.004	0.182	n.d.	0.019
38	0.009	0.866	n.d.	0.044
39	0.013	1.612	0.334	0.265
41	0.024	3.046	n.d.	0.496
42	0.008	0.409	n.d.	0.032
43	0.005	0.771	n.d.	0.045
44	0.007	0.073	n.d.	0.049
45	0.0065	0.061	n.d.	0.024
46	0.0055	1.148	n.d.	0.157
47	0.003	6.168	n.d.	1.620
48	0.006	0.920	n.d.	0.019
49	0.004	1.248	n.d.	0.101
50	0.009	0.555	n.d.	0.113
51	0.005	3.285	n.d.	0.278
n.d. = no hecho.				

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Novartis AG

<120> 2-Carboxamida cicloamino ureas

<130> PAT053554A

5 <150> US 61/270028

<151> 2009-07-02

<160> 20

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

10 <211> 42

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Cebador para PCR

15 <400> 1

gctagcatgc gagaatatga tagattatat gaagaatata cc 42

<210> 2

<211> 45

<212> ADN

20 <213> Artificial

<220>

<223> Cebador para PCR

<400> 2

gcctccacca cctccgcctg gtttaatgct gttcatacgt ttgtc 45

25 <210> 3

<211> 42

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

30 <223> Cebador para PCR

<400> 3

tactagtccg cctccaccac ctccgcctcc accacctccg cc 42

<210> 4

<211> 1180

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

5 <223> Constructo de PI3K quinasa

<400> 4

Met	Arg	Glu	Tyr	Asp	Arg	Leu	Tyr	Glu	Glu	Tyr	Thr	Arg	Thr	Ser	Gln
1				5					10					15	

Glu Ile Gln Met Lys Arg Thr Ala Ile Glu Ala Phe Asn Glu Thr Ile
 20 25 30
 Lys Ile Phe Glu Glu Gln Cys Gln Thr Gln Glu Arg Tyr Ser Lys Glu
 35 40 45
 Tyr Ile Glu Lys Phe Lys Arg Glu Gly Asn Glu Lys Glu Ile Gln Arg
 50 55 60
 Ile Met His Asn Tyr Asp Lys Leu Lys Ser Arg Ile Ser Glu Ile Ile
 65 70 75 80
 Asp Ser Arg Arg Arg Leu Glu Glu Asp Leu Lys Lys Gln Ala Ala Glu
 85 90 95
 Tyr Arg Glu Ile Asp Lys Arg Met Asn Ser Ile Lys Pro Gly Gly Gly
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Leu Val Glu Cys Leu Leu Pro
 115 120 125
 Asn Gly Met Ile Val Thr Leu Glu Cys Leu Arg Glu Ala Thr Leu Ile
 130 135 140
 Thr Ile Lys His Glu Leu Phe Lys Glu Ala Arg Lys Tyr Pro Leu His
 145 150 155 160
 Gln Leu Leu Gln Asp Glu Ser Ser Tyr Ile Phe Val Ser Val Thr Gln
 165 170 175
 Glu Ala Glu Arg Glu Glu Phe Phe Asp Glu Thr Arg Arg Leu Cys Asp
 180 185 190
 Leu Arg Leu Phe Gln Pro Phe Leu Lys Val Ile Glu Pro Val Gly Asn
 195 200 205
 Arg Glu Glu Lys Ile Leu Asn Arg Glu Ile Gly Phe Ala Ile Gly Met
 210 215 220
 Pro Val Cys Glu Phe Asp Met Val Lys Asp Pro Glu Val Gln Asp Phe
 225 230 235 240
 Arg Arg Asn Ile Leu Asn Val Cys Lys Glu Ala Val Asp Leu Arg Asp
 245 250 255
 Leu Asn Ser Pro His Ser Arg Ala Met Tyr Val Tyr Pro Pro Asn Val
 260 265 270
 Glu Ser Ser Pro Glu Leu Pro Lys His Ile Tyr Asn Lys Leu Asp Lys

275					280					285					
Gly	Gln	Ile	Ile	Val	Val	Ile	Trp	Val	Ile	Val	Ser	Pro	Asn	Asn	Asp
290						295					300				
Lys	Gln	Lys	Tyr	Thr	Leu	Lys	Ile	Asn	His	Asp	Cys	Val	Pro	Glu	Gln
305					310					315					320
Val	Ile	Ala	Glu	Ala	Ile	Arg	Lys	Lys	Thr	Arg	Ser	Met	Leu	Leu	Ser
				325					330					335	
Ser	Glu	Gln	Leu	Lys	Leu	Cys	Val	Leu	Glu	Tyr	Gln	Gly	Lys	Tyr	Ile
			340					345					350		
Leu	Lys	Val	Cys	Gly	Cys	Asp	Glu	Tyr	Phe	Leu	Glu	Lys	Tyr	Pro	Leu
		355					360					365			
Ser	Gln	Tyr	Lys	Tyr	Ile	Arg	Ser	Cys	Ile	Met	Leu	Gly	Arg	Met	Pro
		370				375					380				
Asn	Leu	Met	Leu	Met	Ala	Lys	Glu	Ser	Leu	Tyr	Ser	Gln	Leu	Pro	Met
385					390					395					400
Asp	Cys	Phe	Thr	Met	Pro	Ser	Tyr	Ser	Arg	Arg	Ile	Ser	Thr	Ala	Thr
				405					410					415	
Pro	Tyr	Met	Asn	Gly	Glu	Thr	Ser	Thr	Lys	Ser	Leu	Trp	Val	Ile	Asn
			420					425					430		
Ser	Ala	Leu	Arg	Ile	Lys	Ile	Leu	Cys	Ala	Thr	Tyr	Val	Asn	Val	Asn
		435					440					445			
Ile	Arg	Asp	Ile	Asp	Lys	Ile	Tyr	Val	Arg	Thr	Gly	Ile	Tyr	His	Gly
		450				455					460				
Gly	Glu	Pro	Leu	Cys	Asp	Asn	Val	Asn	Thr	Gln	Arg	Val	Pro	Cys	Ser
465					470					475					480
Asn	Pro	Arg	Trp	Asn	Glu	Trp	Leu	Asn	Tyr	Asp	Ile	Tyr	Ile	Pro	Asp
				485					490					495	
Leu	Pro	Arg	Ala	Ala	Arg	Leu	Cys	Leu	Ser	Ile	Cys	Ser	Val	Lys	Gly
			500					505					510		
Arg	Lys	Gly	Ala	Lys	Glu	Glu	His	Cys	Pro	Leu	Ala	Trp	Gly	Asn	Ile
		515					520					525			
Asn	Leu	Phe	Asp	Tyr	Thr	Asp	Thr	Leu	Val	Ser	Gly	Lys	Met	Ala	Leu
		530				535					540				

Asn Leu Trp Pro Val Pro His Gly Leu Glu Asp Leu Leu Asn Pro Ile
 545 550 555 560
 Gly Val Thr Gly Ser Asn Pro Asn Lys Glu Thr Pro Cys Leu Glu Leu
 565 570 575
 Glu Phe Asp Trp Phe Ser Ser Val Val Lys Phe Pro Asp Met Ser Val
 580 585 590
 Ile Glu Glu His Ala Asn Trp Ser Val Ser Arg Glu Ala Gly Phe Ser
 595 600 605
 Tyr Ser His Ala Gly Leu Ser Asn Arg Leu Ala Arg Asp Asn Glu Leu
 610 615 620
 Arg Glu Asn Asp Lys Glu Gln Leu Lys Ala Ile Ser Thr Arg Asp Pro
 625 630 635 640
 Leu Ser Glu Ile Thr Glu Gln Glu Lys Asp Phe Leu Trp Ser His Arg
 645 650 655
 His Tyr Cys Val Thr Ile Pro Glu Ile Leu Pro Lys Leu Leu Leu Ser
 660 665 670
 Val Lys Trp Asn Ser Arg Asp Glu Val Ala Gln Met Tyr Cys Leu Val
 675 680 685
 Lys Asp Trp Pro Pro Ile Lys Pro Glu Gln Ala Met Glu Leu Leu Asp
 690 695 700
 Cys Asn Tyr Pro Asp Pro Met Val Arg Gly Phe Ala Val Arg Cys Leu
 705 710 715 720
 Glu Lys Tyr Leu Thr Asp Asp Lys Leu Ser Gln Tyr Leu Ile Gln Leu
 725 730 735
 Val Gln Val Leu Lys Tyr Glu Gln Tyr Leu Asp Asn Leu Leu Val Arg
 740 745 750
 Phe Leu Leu Lys Lys Ala Leu Thr Asn Gln Arg Ile Gly His Phe Phe
 755 760 765
 Phe Trp His Leu Lys Ser Glu Met His Asn Lys Thr Val Ser Gln Arg
 770 775 780
 Phe Gly Leu Leu Leu Glu Ser Tyr Cys Arg Ala Cys Gly Met Tyr Leu
 785 790 795 800

Lys His Leu Asn Arg Gln Val Glu Ala Met Glu Lys Leu Ile Asn Leu
 805 810 815
 Thr Asp Ile Leu Lys Gln Glu Lys Lys Asp Glu Thr Gln Lys Val Gln
 820 825 830
 Met Lys Phe Leu Val Glu Gln Met Arg Arg Pro Asp Phe Met Asp Ala
 835 840 845
 Leu Gln Gly Phe Leu Ser Pro Leu Asn Pro Ala His Gln Leu Gly Asn
 850 855 860
 Leu Arg Leu Glu Glu Cys Arg Ile Met Ser Ser Ala Lys Arg Pro Leu
 865 870 875 880
 Trp Leu Asn Trp Glu Asn Pro Asp Ile Met Ser Glu Leu Leu Phe Gln
 885 890 895
 Asn Asn Glu Ile Ile Phe Lys Asn Gly Asp Asp Leu Arg Gln Asp Met
 900 905 910
 Leu Thr Leu Gln Ile Ile Arg Ile Met Glu Asn Ile Trp Gln Asn Gln
 915 920 925
 Gly Leu Asp Leu Arg Met Leu Pro Tyr Gly Cys Leu Ser Ile Gly Asp
 930 935 940
 Cys Val Gly Leu Ile Glu Val Val Arg Asn Ser His Thr Ile Met Gln
 945 950 955 960
 Ile Gln Cys Lys Gly Gly Leu Lys Gly Ala Leu Gln Phe Asn Ser His
 965 970 975
 Thr Leu His Gln Trp Leu Lys Asp Lys Asn Lys Gly Glu Ile Tyr Asp
 980 985 990
 Ala Ala Ile Asp Leu Phe Thr Arg Ser Cys Ala Gly Tyr Cys Val Ala
 995 1000 1005
 Thr Phe Ile Leu Gly Ile Gly Asp Arg His Asn Ser Asn Ile Met
 1010 1015 1020
 Val Lys Asp Asp Gly Gln Leu Phe His Ile Asp Phe Gly His Phe
 1025 1030 1035
 Leu Asp His Lys Lys Lys Lys Phe Gly Tyr Lys Arg Glu Arg Val
 1040 1045 1050

Pro Phe Val Leu Thr Gln Asp Phe Leu Ile Val Ile Ser Lys Gly
1055 1060 1065

Ala Gln Glu Cys Thr Lys Thr Arg Glu Phe Glu Arg Phe Gln Glu
1070 1075 1080

Met Cys Tyr Lys Ala Tyr Leu Ala Ile Arg Gln His Ala Asn Leu
1085 1090 1095

Phe Ile Asn Leu Phe Ser Met Met Leu Gly Ser Gly Met Pro Glu
1100 1105 1110

Leu Gln Ser Phe Asp Asp Ile Ala Tyr Ile Arg Lys Thr Leu Ala
1115 1120 1125

Leu Asp Lys Thr Glu Gln Glu Ala Leu Glu Tyr Phe Met Lys Gln
1130 1135 1140

Met Asn Asp Ala His His Gly Gly Trp Thr Thr Lys Met Asp Trp
1145 1150 1155

Ile Phe His Thr Ile Lys Gln His Ala Leu Asn Glu Leu Gly Gly
1160 1165 1170

Ala His His His His His
1175 1180

<210> 5

<211> 28

<212> ADN

5 <213> Artificial

<220>

<223> Cebador para PCR

<400> 5

cgagaatatg atagattata tgaagaat 28

10 <210> 6

<211> 30

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

15 <223> Cebador para PCR

<400> 6

	tggtttaatg ctgttcatac gttgtcaat 30	
	<210> 7	
	<211> 76	
	<212> ADN	
5	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador para PCR	
	<400> 7	
	gggacaagtt tgtacaaaa agcaggctac gaaggagata tacatatgcg agaatatgat	60
	agattatatg aagaat	76
10	<210> 8	
	<211> 54	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
15	<223> Cebador para PCR	
	<400> 8	
	actgaagcat cctcctctc ctcctcctgg ttaatgctg ttcatacggt tgct 54	
	<210> 9	
	<211> 54	
20	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador para PCR	
	<400> 9	
25	attaaaccag gaggaggagg aggaggatgc ttcagttca taatgcctcc tgct 54	
	<210> 10	
	<211> 57	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
30	<220>	
	<223> Cebador para PCR	
	<400> 10	

agctccgtga tggatgatgg gatgtgctcc agatctgtag tcttccgaa ctgtgtg 57

<210> 11

<211> 61

<212> ADN

5 <213> Artificial

<220>

<223> Cebador para PCR

<400> 11

gggaccactt tgtacaagaa agctgggttt aagctccgtg atggtgatgg tgatgtgctc 60

c 61

10 <210> 12

<211> 1194

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Constructo de PI3K quinasa

<400> 12

Met	Arg	Glu	Tyr	Asp	Arg	Leu	Tyr	Glu	Glu	Tyr	Thr	Arg	Thr	Ser	Gln	1	5	10	15
Glu	Ile	Gln	Met	Lys	Arg	Thr	Ala	Ile	Glu	Ala	Phe	Asn	Glu	Thr	Ile	20	25	30	
Lys	Ile	Phe	Glu	Glu	Gln	Cys	Gln	Thr	Gln	Glu	Arg	Tyr	Ser	Lys	Glu	35	40	45	
Tyr	Ile	Glu	Lys	Phe	Lys	Arg	Glu	Gly	Lys	Glu	Lys	Glu	Ile	Gln	Arg	50	55	60	
Ile	Met	His	Asn	Tyr	Asp	Lys	Leu	Lys	Ser	Arg	Ile	Ser	Glu	Ile	Ile	65	70	75	80
Asp	Ser	Arg	Arg	Arg	Leu	Glu	Glu	Asp	Leu	Lys	Lys	Gln	Ala	Ala	Glu	85	90	95	
Tyr	Arg	Glu	Ile	Asp	Lys	Arg	Met	Asn	Ser	Ile	Lys	Pro	Gly	Gly	Gly	100	105	110	
Gly	Gly	Gly	Cys	Phe	Ser	Phe	Ile	Met	Pro	Pro	Ala	Met	Ala	Asp	Ile	115	120	125	
Leu	Asp	Ile	Trp	Ala	Val	Asp	Ser	Gln	Ile	Ala	Ser	Asp	Gly	Ser	Ile	130	135	140	
Pro	Val	Asp	Phe	Leu	Leu	Pro	Thr	Gly	Ile	Tyr	Ile	Gln	Leu	Glu	Val	145	150	155	160
Pro	Arg	Glu	Ala	Thr	Ile	Ser	Tyr	Ile	Lys	Gln	Met	Leu	Trp	Lys	Gln	165	170	175	
Val	His	Asn	Tyr	Pro	Met	Phe	Asn	Leu	Leu	Met	Asp	Ile	Asp	Ser	Tyr	180	185	190	
Met	Phe	Ala	Cys	Val	Asn	Gln	Thr	Ala	Val	Tyr	Glu	Glu	Leu	Glu	Asp	195	200	205	
Glu	Thr	Arg	Arg	Leu	Cys	Asp	Val	Arg	Pro	Phe	Leu	Pro	Val	Leu	Lys	210	215	220	
Leu	Val	Thr	Arg	Ser	Cys	Asp	Pro	Gly	Glu	Lys	Leu	Asp	Ser	Lys	Ile	225	230	235	240
Gly	Val	Leu	Ile	Gly	Lys	Gly	Leu	His	Glu	Phe	Asp	Ser	Leu	Lys	Asp				

				245					250								255
Pro	Glu	Val	Asn	Glu	Phe	Arg	Arg	Lys	Met	Arg	Lys	Phe	Ser	Glu	Glu		
			260					265					270				
Lys	Ile	Leu	Ser	Leu	Val	Gly	Leu	Ser	Trp	Met	Asp	Trp	Leu	Lys	Gln		
		275					280					285					
Thr	Tyr	Pro	Pro	Glu	His	Glu	Pro	Ser	Ile	Pro	Glu	Asn	Leu	Glu	Asp		
	290					295					300						
Lys	Leu	Tyr	Gly	Gly	Lys	Leu	Ile	Val	Ala	Val	His	Phe	Glu	Asn	Cys		
305					310					315					320		
Gln	Asp	Val	Phe	Ser	Phe	Gln	Val	Ser	Pro	Asn	Met	Asn	Pro	Ile	Lys		
				325					330					335			
Val	Asn	Glu	Leu	Ala	Ile	Gln	Lys	Arg	Leu	Thr	Ile	His	Gly	Lys	Glu		
			340					345					350				
Asp	Glu	Val	Ser	Pro	Tyr	Asp	Tyr	Val	Leu	Gln	Val	Ser	Gly	Arg	Val		
		355					360						365				
Glu	Tyr	Val	Phe	Gly	Asp	His	Pro	Leu	Ile	Gln	Phe	Gln	Tyr	Ile	Arg		
	370					375					380						
Asn	Cys	Val	Met	Asn	Arg	Ala	Leu	Pro	His	Phe	Ile	Leu	Val	Glu	Cys		
385					390					395					400		
Cys	Lys	Ile	Lys	Lys	Met	Tyr	Glu	Gln	Glu	Met	Ile	Ala	Ile	Glu	Ala		
				405					410					415			
Ala	Ile	Asn	Arg	Asn	Ser	Ser	Asn	Leu	Pro	Leu	Pro	Leu	Pro	Pro	Lys		
				420				425						430			
Lys	Thr	Arg	Ile	Ile	Ser	His	Val	Trp	Glu	Asn	Asn	Asn	Pro	Phe	Gln		
		435					440					445					
Ile	Val	Leu	Val	Lys	Gly	Asn	Lys	Leu	Asn	Thr	Glu	Glu	Thr	Val	Lys		
	450					455						460					
Val	His	Val	Arg	Ala	Gly	Leu	Phe	His	Gly	Thr	Glu	Leu	Leu	Cys	Lys		
465					470					475					480		
Thr	Ile	Val	Ser	Ser	Glu	Val	Ser	Gly	Lys	Asn	Asp	His	Ile	Trp	Asn		
				485					490					495			
Glu	Pro	Leu	Glu	Phe	Asp	Ile	Asn	Ile	Cys	Asp	Leu	Pro	Arg	Met	Ala		
			500					505					510				

Arg Leu Cys Phe Ala Val Tyr Ala Val Leu Asp Lys Val Lys Thr Lys
 515 520 525
 Lys Ser Thr Lys Thr Ile Asn Pro Ser Lys Tyr Gln Thr Ile Arg Lys
 530 535 540
 Ala Gly Lys Val His Tyr Pro Val Ala Trp Val Asn Thr Met Val Phe
 545 550 555 560
 Asp Phe Lys Gly Gln Leu Arg Thr Gly Asp Ile Ile Leu His Ser Trp
 565 570 575
 Ser Ser Phe Pro Asp Glu Leu Glu Glu Met Leu Asn Pro Met Gly Thr
 580 585 590
 Val Gln Thr Asn Pro Tyr Thr Glu Asn Ala Thr Ala Leu His Val Lys
 595 600 605
 Phe Pro Glu Asn Lys Lys Gln Pro Tyr Tyr Tyr Pro Pro Phe Asp Lys
 610 615 620
 Ile Ile Glu Lys Ala Ala Glu Ile Ala Ser Ser Asp Ser Ala Asn Val
 625 630 635 640
 Ser Ser Arg Gly Gly Lys Lys Phe Leu Pro Val Leu Lys Glu Ile Leu
 645 650 655
 Asp Arg Asp Pro Leu Ser Gln Leu Cys Glu Asn Glu Met Asp Leu Ile
 660 665 670
 Trp Thr Leu Arg Gln Asp Cys Arg Glu Ile Phe Pro Gln Ser Leu Pro
 675 680 685
 Lys Leu Leu Leu Ser Ile Lys Trp Asn Lys Leu Glu Asp Val Ala Gln
 690 695 700
 Leu Gln Ala Leu Leu Gln Ile Trp Pro Lys Leu Pro Pro Arg Glu Ala
 705 710 715 720
 Leu Glu Leu Leu Asp Phe Asn Tyr Pro Asp Gln Tyr Val Arg Glu Tyr
 725 730 735
 Ala Val Gly Cys Leu Arg Gln Met Ser Asp Glu Glu Leu Ser Gln Tyr
 740 745 750
 Leu Leu Gln Leu Val Gln Val Leu Lys Tyr Glu Pro Phe Leu Asp Cys
 755 760 765

Ala Leu Ser Arg Phe Leu Leu Glu Arg Ala Leu Gly Asn Arg Arg Ile
 770 775 780
 Gly Gln Phe Leu Phe Trp His Leu Arg Ser Glu Val His Ile Pro Ala
 785 790 795 800
 Val Ser Val Gln Phe Gly Val Ile Leu Glu Ala Tyr Cys Arg Gly Ser
 805 810 815
 Val Gly His Met Lys Val Leu Ser Lys Gln Val Glu Ala Leu Asn Lys
 820 825 830
 Leu Lys Thr Leu Asn Ser Leu Ile Lys Leu Asn Ala Val Lys Leu Asn
 835 840 845
 Arg Ala Lys Gly Lys Glu Ala Met His Thr Cys Leu Lys Gln Ser Ala
 850 855 860
 Tyr Arg Glu Ala Leu Ser Asp Leu Gln Ser Pro Leu Asn Pro Cys Val
 865 870 875 880
 Ile Leu Ser Glu Leu Tyr Val Glu Lys Cys Lys Tyr Met Asp Ser Lys
 885 890 895
 Met Lys Pro Leu Trp Leu Val Tyr Asn Asn Lys Val Phe Gly Glu Asp
 900 905 910
 Ser Val Gly Val Ile Phe Lys Asn Gly Asp Asp Leu Arg Gln Asp Met
 915 920 925
 Leu Thr Leu Gln Met Leu Arg Leu Met Asp Leu Leu Trp Lys Glu Ala
 930 935 940
 Gly Leu Asp Leu Arg Met Leu Pro Tyr Gly Cys Leu Ala Thr Gly Asp
 945 950 955 960
 Arg Ser Gly Leu Ile Glu Val Val Ser Thr Ser Glu Thr Ile Ala Asp
 965 970 975
 Ile Gln Leu Asn Ser Ser Asn Val Ala Ala Ala Ala Ala Phe Asn Lys
 980 985 990
 Asp Ala Leu Leu Asn Trp Leu Lys Glu Tyr Asn Ser Gly Asp Asp Leu
 995 1000 1005
 Asp Arg Ala Ile Glu Glu Phe Thr Leu Ser Cys Ala Gly Tyr Cys
 1010 1015 1020

Val	Ala	Ser	Tyr	Val	Leu	Gly	Ile	Gly	Asp	Arg	His	Ser	Asp	Asn
1025						1030					1035			
Ile	Met	Val	Lys	Lys	Thr	Gly	Gln	Leu	Phe	His	Ile	Asp	Phe	Gly
1040						1045					1050			
His	Ile	Leu	Gly	Asn	Phe	Lys	Ser	Lys	Phe	Gly	Ile	Lys	Arg	Glu
1055						1060					1065			
Arg	Val	Pro	Phe	Ile	Leu	Thr	Tyr	Asp	Phe	Ile	His	Val	Ile	Gln
1070						1075					1080			
Gln	Gly	Lys	Thr	Gly	Asn	Thr	Glu	Lys	Phe	Gly	Arg	Phe	Arg	Gln
1085						1090					1095			
Cys	Cys	Glu	Asp	Ala	Tyr	Leu	Ile	Leu	Arg	Arg	His	Gly	Asn	Leu
1100						1105					1110			
Phe	Ile	Thr	Leu	Phe	Ala	Leu	Met	Leu	Thr	Ala	Gly	Leu	Pro	Glu
1115						1120					1125			
Leu	Thr	Ser	Val	Lys	Asp	Ile	Gln	Tyr	Leu	Lys	Asp	Ser	Leu	Ala
1130						1135					1140			
Leu	Gly	Lys	Ser	Glu	Glu	Glu	Ala	Leu	Lys	Gln	Phe	Lys	Gln	Lys
1145						1150					1155			
Phe	Asp	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ser	Trp	Thr	Thr	Lys	Val	Asn	Trp
1160						1165					1170			
Met	Ala	His	Thr	Val	Arg	Lys	Asp	Tyr	Arg	Ser	Gly	Ala	His	His
1175						1180					1185			
His	His	His	His	Gly	Ala									
1190														

<210> 13

<211> 966

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Constructo de PI3K quinasa

<400> 13

ES 2 432 671 T3

Met Ser Glu Glu Ser Gln Ala Phe Gln Arg Gln Leu Thr Ala Leu Ile
 1 5 10 15

Gly Tyr Asp Val Thr Asp Val Ser Asn Val His Asp Asp Glu Leu Glu
 20 25 30

Phe Thr Arg Arg Gly Leu Val Thr Pro Arg Met Ala Glu Val Ala Ser
 35 40 45
 Arg Asp Pro Lys Leu Tyr Ala Met His Pro Trp Val Thr Ser Lys Pro
 50 55 60
 Leu Pro Glu Tyr Leu Trp Lys Lys Ile Ala Asn Asn Cys Ile Phe Ile
 65 70 75 80
 Val Ile His Arg Ser Thr Thr Ser Gln Thr Ile Lys Val Ser Pro Asp
 85 90 95
 Asp Thr Pro Gly Ala Ile Leu Gln Ser Phe Phe Thr Lys Met Ala Lys
 100 105 110
 Lys Lys Ser Leu Met Asp Ile Pro Glu Ser Gln Ser Glu Gln Asp Phe
 115 120 125
 Val Leu Arg Val Cys Gly Arg Asp Glu Tyr Leu Val Gly Glu Thr Pro
 130 135 140
 Ile Lys Asn Phe Gln Trp Val Arg His Cys Leu Lys Asn Gly Glu Glu
 145 150 155 160
 Ile His Val Val Leu Asp Thr Pro Pro Asp Pro Ala Leu Asp Glu Val
 165 170 175
 Arg Lys Glu Glu Trp Pro Leu Val Asp Asp Cys Thr Gly Val Thr Gly
 180 185 190
 Tyr His Glu Gln Leu Thr Ile His Gly Lys Asp His Glu Ser Val Phe
 195 200 205
 Thr Val Ser Leu Trp Asp Cys Asp Arg Lys Phe Arg Val Lys Ile Arg
 210 215 220
 Gly Ile Asp Ile Pro Val Leu Pro Arg Asn Thr Asp Leu Thr Val Phe
 225 230 235 240
 Val Glu Ala Asn Ile Gln His Gly Gln Gln Val Leu Cys Gln Arg Arg
 245 250 255
 Thr Ser Pro Lys Pro Phe Thr Glu Glu Val Leu Trp Asn Val Trp Leu
 260 265 270
 Glu Phe Ser Ile Lys Ile Lys Asp Leu Pro Lys Gly Ala Leu Leu Asn
 275 280 285

Leu Gln Ile Tyr Cys Gly Lys Ala Pro Ala Leu Ser Ser Lys Ala Ser
 290 295 300
 Ala Glu Ser Pro Ser Ser Glu Ser Lys Gly Lys Val Arg Leu Leu Tyr
 305 310 315 320
 Tyr Val Asn Leu Leu Leu Ile Asp His Arg Phe Leu Leu Arg Arg Gly
 325 330 335
 Glu Tyr Val Leu His Met Trp Gln Ile Ser Gly Lys Gly Glu Asp Gln
 340 345 350
 Gly Ser Phe Asn Ala Asp Lys Leu Thr Ser Ala Thr Asn Pro Asp Lys
 355 360 365
 Glu Asn Ser Met Ser Ile Ser Ile Leu Leu Asp Asn Tyr Cys His Pro
 370 375 380
 Ile Ala Leu Pro Lys His Gln Pro Thr Pro Asp Pro Glu Gly Asp Arg
 385 390 395 400
 Val Arg Ala Glu Met Pro Asn Gln Leu Arg Lys Gln Leu Glu Ala Ile
 405 410 415
 Ile Ala Thr Asp Pro Leu Asn Pro Leu Thr Ala Glu Asp Lys Glu Leu
 420 425 430
 Leu Trp His Phe Arg Tyr Glu Ser Leu Lys His Pro Lys Ala Tyr Pro
 435 440 445
 Lys Leu Phe Ser Ser Val Lys Trp Gly Gln Gln Glu Ile Val Ala Lys
 450 455 460
 Thr Tyr Gln Leu Leu Ala Arg Arg Glu Val Trp Asp Gln Ser Ala Leu
 465 470 475 480
 Asp Val Gly Leu Thr Met Gln Leu Leu Asp Cys Asn Phe Ser Asp Glu
 485 490 495
 Asn Val Arg Ala Ile Ala Val Gln Lys Leu Glu Ser Leu Glu Asp Asp
 500 505 510
 Asp Val Leu His Tyr Leu Leu Gln Leu Val Gln Ala Val Lys Phe Glu
 515 520 525
 Pro Tyr His Asp Ser Ala Leu Ala Arg Phe Leu Leu Lys Arg Gly Leu
 530 535 540
 Arg Asn Lys Arg Ile Gly His Phe Leu Phe Trp Phe Leu Arg Ser Glu

545		550		555		560
Ile Ala Gln Ser Arg	His Tyr Gln Gln Arg	Phe Ala Val Ile Leu Glu				
	565		570			575
Ala Tyr Leu Arg Gly Cys Gly Thr	Ala Met Leu His Asp Phe Thr Gln					
	580		585			590
Gln Val Gln Val Ile Glu Met Leu Gln Lys Val Thr Leu Asp Ile Lys						
	595		600			605
Ser Leu Ser Ala Glu Lys Tyr Asp Val Ser Ser Gln Val Ile Ser Gln						
	610		615			620
Leu Lys Gln Lys Leu Glu Asn Leu Gln Asn Ser Gln Leu Pro Glu Ser						
	625		630			635
Phe Arg Val Pro Tyr Asp Pro Gly Leu Lys Ala Gly Ala Leu Ala Ile						
	645		650			655
Glu Lys Cys Lys Val Met Ala Ser Lys Lys Lys Pro Leu Trp Leu Glu						
	660		665			670
Phe Lys Cys Ala Asp Pro Thr Ala Leu Ser Asn Glu Thr Ile Gly Ile						
	675		680			685
Ile Phe Lys His Gly Asp Asp Leu Arg Gln Asp Met Leu Ile Leu Gln						
	690		695			700
Ile Leu Arg Ile Met Glu Ser Ile Trp Glu Thr Glu Ser Leu Asp Leu						
	705		710			715
Cys Leu Leu Pro Tyr Gly Cys Ile Ser Thr Gly Asp Lys Ile Gly Met						
	725		730			735
Ile Glu Ile Val Lys Asp Ala Thr Thr Ile Ala Lys Ile Gln Gln Ser						
	740		745			750
Thr Val Gly Asn Thr Gly Ala Phe Lys Asp Glu Val Leu Asn His Trp						
	755		760			765
Leu Lys Glu Lys Ser Pro Thr Glu Glu Lys Phe Gln Ala Ala Val Glu						
	770		775			780
Arg Phe Val Tyr Ser Cys Ala Gly Tyr Cys Val Ala Thr Phe Val Leu						
	785		790			795
Gly Ile Gly Asp Arg His Asn Asp Asn Ile Met Ile Thr Glu Thr Gly						
	805		810			815

Asn Leu Phe His Ile Asp Phe Gly His Ile Leu Gly Asn Tyr Lys Ser
820 825 830

Phe Leu Gly Ile Asn Lys Glu Arg Val Pro Phe Val Leu Thr Pro Asp
835 840 845

Phe Leu Phe Val Met Gly Thr Ser Gly Lys Lys Thr Ser Pro His Phe
850 855 860

Gln Lys Phe Gln Asp Ile Cys Val Lys Ala Tyr Leu Ala Leu Arg His
865 870 875 880

His Thr Asn Leu Leu Ile Ile Leu Phe Ser Met Met Leu Met Thr Gly
885 890 895

Met Pro Gln Leu Thr Ser Lys Glu Asp Ile Glu Tyr Ile Arg Asp Ala
900 905 910

Leu Thr Val Gly Lys Asn Glu Glu Asp Ala Lys Lys Tyr Phe Leu Asp
915 920 925

Gln Ile Glu Val Cys Arg Asp Lys Gly Trp Thr Val Gln Phe Asn Trp
930 935 940

Phe Leu His Leu Val Leu Gly Ile Lys Gln Gly Glu Lys His Ser Ala
945 950 955 960

His His His His His His
965

<210> 14

<211> 45

<212> ADN

5 <213> Artificial

<220>

<223> Cebador para PCR

<400> 14

tcctcctcct cctcctcctg gtttaatgct gttcatagct ttgtc 45

10 <210> 15

<211> 26

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Cebador para PCR
 <400> 15
 atgccccctg ggggtggactg ccccat 26
 <210> 16
 5 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador para PCR
 10 <400> 16
 ctactgcctg ttgtctttgg acacgt 26
 <210> 17
 <211> 53
 <212> ADN
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador para PCR
 <400> 17
 attaaaccag gaggaggagg aggaggaccc cctgggggtgg actgccccat gga 53
 20 <210> 18
 <211> 56
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 25 <223> Cebador para PCR
 <400> 18
 agctccgtga tggatgatgt gatgtgtcc ctgcctgttg tctttggaca cgttgt 56
 <210> 19
 <211> 60
 30 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador para PCR

<400> 19

gggaccactt tgtacaagaa agctggggtt aagctccgtg atggatgatg tgagtgtcc 60

<210> 20

<211> 1169

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Constructo de PI3K quinasa

<400> 20

Met	Arg	Glu	Tyr	Asp	Arg	Leu	Tyr	Glu	Glu	Tyr	Thr	Arg	Thr	Ser	Gln
1				5					10					15	

Glu	Ile	Gln	Met	Lys	Arg	Thr	Ala	Ile	Glu	Ala	Phe	Asn	Glu	Thr	Ile
			20					25					30		

10

Lys Ile Phe Glu Glu Gln Cys Gln Thr Gln Glu Arg Tyr Ser Lys Glu
 35 40 45
 Tyr Ile Glu Lys Phe Lys Arg Glu Gly Asn Glu Lys Glu Ile Gln Arg
 50 55 60
 Ile Met His Asn Tyr Asp Lys Leu Lys Ser Arg Ile Ser Glu Ile Ile
 65 70 75 80
 Asp Ser Arg Arg Arg Leu Glu Glu Asp Leu Lys Lys Gln Ala Ala Glu
 85 90 95
 Tyr Arg Glu Ile Asp Lys Arg Met Asn Ser Ile Lys Pro Gly Gly Gly
 100 105 110
 Gly Gly Gly Pro Pro Gly Val Asp Cys Pro Met Glu Phe Trp Thr Lys
 115 120 125
 Glu Glu Asn Gln Ser Val Val Val Asp Phe Leu Leu Pro Thr Gly Val
 130 135 140
 Tyr Leu Asn Phe Pro Val Ser Arg Asn Ala Asn Leu Ser Thr Ile Lys
 145 150 155 160
 Gln Leu Leu Trp His Arg Ala Gln Tyr Glu Pro Leu Phe His Met Leu
 165 170 175
 Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Val Phe Thr Cys Ile Asn Gln Thr Ala Glu
 180 185 190
 Gln Gln Glu Leu Glu Asp Glu Gln Arg Arg Leu Cys Asp Val Gln Pro
 195 200 205
 Phe Leu Pro Val Leu Arg Leu Val Ala Arg Glu Gly Asp Arg Val Lys
 210 215 220
 Lys Leu Ile Asn Ser Gln Ile Ser Leu Leu Ile Gly Lys Gly Leu His
 225 230 235 240
 Glu Phe Asp Ser Leu Cys Asp Pro Glu Val Asn Asp Phe Arg Ala Lys
 245 250 255
 Met Cys Gln Phe Cys Glu Glu Ala Ala Ala Arg Arg Gln Gln Leu Gly
 260 265 270
 Trp Glu Ala Trp Leu Gln Tyr Ser Phe Pro Leu Gln Leu Glu Pro Ser
 275 280 285

Ala Gln Thr Trp Gly Pro Gly Thr Leu Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu
 290 295 300

Leu Val Asn Val Lys Phe Glu Gly Ser Glu Glu Ser Phe Thr Phe Gln
 305 310 315 320

Val Ser Thr Lys Asp Val Pro Leu Ala Leu Met Ala Cys Ala Leu Arg
 325 330 335

Lys Lys Ala Thr Val Phe Arg Gln Pro Leu Val Glu Gln Pro Glu Asp
 340 345 350

Tyr Thr Leu Gln Val Asn Gly Arg His Glu Tyr Leu Tyr Gly Ser Tyr
 355 360 365

Pro Leu Cys Gln Phe Gln Tyr Ile Cys Ser Cys Leu His Ser Gly Leu
 370 375 380

Thr Pro His Leu Thr Met Val His Ser Ser Ser Ile Leu Ala Met Arg
 385 390 395 400

Asp Glu Gln Ser Asn Pro Ala Pro Gln Val Gln Lys Pro Arg Ala Lys
 405 410 415

Pro Pro Pro Ile Pro Ala Lys Lys Pro Ser Ser Val Ser Leu Trp Ser
 420 425 430

Leu Glu Gln Pro Phe Arg Ile Glu Leu Ile Gln Gly Ser Lys Val Asn
 435 440 445

Ala Asp Glu Arg Met Lys Leu Val Val Gln Ala Gly Leu Phe His Gly
 450 455 460

Asn Glu Met Leu Cys Lys Thr Val Ser Ser Ser Glu Val Ser Val Cys
 465 470 475 480

Ser Glu Pro Val Trp Lys Gln Arg Leu Glu Phe Asp Ile Asn Ile Cys
 485 490 495

Asp Leu Pro Arg Met Ala Arg Leu Cys Phe Ala Leu Tyr Ala Val Ile
 500 505 510

Glu Lys Ala Lys Lys Ala Arg Ser Thr Lys Lys Lys Ser Lys Lys Ala
 515 520 525

Asp Cys Pro Ile Ala Trp Ala Asn Leu Met Leu Phe Asp Tyr Lys Asp
 530 535 540

Gln Leu Lys Thr Gly Glu Arg Cys Leu Tyr Met Trp Pro Ser Val Pro
545 550 555 560

Asp Glu Lys Gly Glu Leu Leu Asn Pro Thr Gly Thr Val Arg Ser Asn
565 570 575

Pro Asn Thr Asp Ser Ala Ala Ala Leu Leu Ile Cys Leu Pro Glu Val
580 585 590

Ala Pro His Pro Val Tyr Tyr Pro Ala Leu Glu Lys Ile Leu Glu Leu
595 600 605

Gly Arg His Ser Glu Cys Val His Val Thr Glu Glu Glu Gln Leu Gln
610 615 620

Leu Arg Glu Ile Leu Glu Arg Arg Gly Ser Gly Glu Leu Tyr Glu His
625 630 635 640

Glu Lys Asp Leu Val Trp Lys Leu Arg His Glu Val Gln Glu His Phe
645 650 655

Pro Glu Ala Leu Ala Arg Leu Leu Leu Val Thr Lys Trp Asn Lys His
660 665 670

Glu Asp Val Ala Gln Met Leu Tyr Leu Leu Cys Ser Trp Pro Glu Leu
675 680 685

Pro Val Leu Ser Ala Leu Glu Leu Leu Asp Phe Ser Phe Pro Asp Cys
690 695 700

His Val Gly Ser Phe Ala Ile Lys Ser Leu Arg Lys Leu Thr Asp Asp
705 710 715 720

Glu Leu Phe Gln Tyr Leu Leu Gln Leu Val Gln Val Leu Lys Tyr Glu
725 730 735

Ser Tyr Leu Asp Cys Glu Leu Thr Lys Phe Leu Leu Asp Arg Ala Leu
740 745 750

Ala Asn Arg Lys Ile Gly His Phe Leu Phe Trp His Leu Arg Ser Glu
755 760 765

Met His Val Pro Ser Val Ala Leu Arg Phe Gly Leu Ile Leu Glu Ala
770 775 780

Tyr Cys Arg Gly Ser Thr His His Met Lys Val Leu Met Lys Gln Gly
785 790 795 800

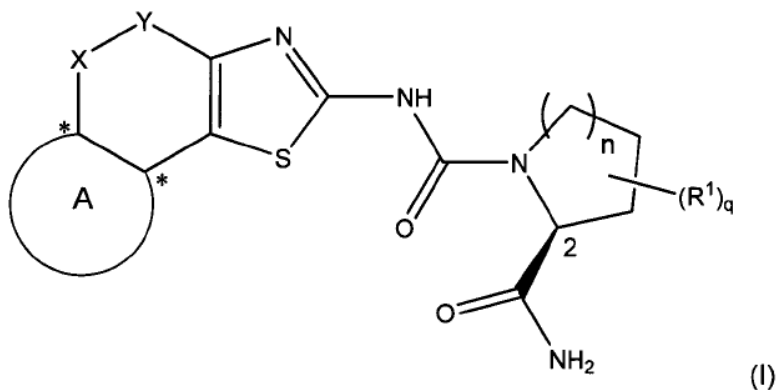
Glu Ala Leu Ser Lys Leu Lys Ala Leu Asn Asp Phe Val Lys Leu Ser

805	810	815
Ser Gln Lys Thr Pro Lys Pro Gln Thr Lys Glu Leu Met His Leu Cys 820 825 830		
Met Arg Gln Glu Ala Tyr Leu Glu Ala Leu Ser His Leu Gln Ser Pro 835 840 845		
Leu Asp Pro Ser Thr Leu Leu Ala Glu Val Cys Val Glu Gln Cys Thr 850 855 860		
Phe Met Asp Ser Lys Met Lys Pro Leu Trp Ile Met Tyr Ser Asn Glu 865 870 875 880		
Glu Ala Gly Ser Gly Gly Ser Val Gly Ile Ile Phe Lys Asn Gly Asp 885 890 895		
Asp Leu Arg Gln Asp Met Leu Thr Leu Gln Met Ile Gln Leu Met Asp 900 905 910		
Val Leu Trp Lys Gln Glu Gly Leu Asp Leu Arg Met Thr Pro Tyr Gly 915 920 925		
Cys Leu Pro Thr Gly Asp Arg Thr Gly Leu Ile Glu Val Val Leu Arg 930 935 940		
Ser Asp Thr Ile Ala Asn Ile Gln Leu Asn Lys Ser Asn Met Ala Ala 945 950 955 960		
Thr Ala Ala Phe Asn Lys Asp Ala Leu Leu Asn Trp Leu Lys Ser Lys 965 970 975		
Asn Pro Gly Glu Ala Leu Asp Arg Ala Ile Glu Glu Phe Thr Leu Ser 980 985 990		
Cys Ala Gly Tyr Cys Val Ala Thr Tyr Val Leu Gly Ile Gly Asp Arg 995 1000 1005		
His Ser Asp Asn Ile Met Ile Arg Glu Ser Gly Gln Leu Phe His 1010 1015 1020		
Ile Asp Phe Gly His Phe Leu Gly Asn Phe Lys Thr Lys Phe Gly 1025 1030 1035		
Ile Asn Arg Glu Arg Val Pro Phe Ile Leu Thr Tyr Asp Phe Val 1040 1045 1050		
His Val Ile Gln Gln Gly Lys Thr Asn Asn Ser Glu Lys Phe Glu 1055 1060 1065		

Arg	Phe	Arg	Gly	Tyr	Cys	Glu	Arg	Ala	Tyr	Thr	Ile	Leu	Arg	Arg
1070						1075					1080			
His	Gly	Leu	Leu	Phe	Leu	His	Leu	Phe	Ala	Leu	Met	Arg	Ala	Ala
1085						1090					1095			
Gly	Leu	Pro	Glu	Leu	Ser	Cys	Ser	Lys	Asp	Ile	Gln	Tyr	Leu	Lys
1100						1105					1110			
Asp	Ser	Leu	Ala	Leu	Gly	Lys	Thr	Glu	Glu	Glu	Ala	Leu	Lys	His
1115						1120					1125			
Phe	Arg	Val	Lys	Phe	Asn	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ser	Trp	Lys	Thr
1130						1135					1140			
Lys	Val	Asn	Trp	Leu	Ala	His	Asn	Val	Ser	Lys	Asp	Asn	Arg	Gln
1145						1150					1155			
Glu	Leu	Gly	Gly	Ala	His	His	His	His	His	His				
1160						1165								

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I



en donde,

5 A es un anillo arilo no sustituido o sustituido o un anillo heterocíclico sustituido fusionado al resto de la molécula en las posiciones indicadas por el símbolo *;

X-Y es (CH₂)_r o O(CH₂)_t o (CH₂)_tO en donde,

r es 1, 2 o 3;

t es 1 o 2;

10 n es 0, 1 o 2;

q es 0, 1, 2, 3 o 4;

R¹ representa, en cada aparición,

halo;

hidroxi;

15 arilo no sustituido o sustituido;

amino no sustituido o sustituido;

alquilo C₁-C₇ no sustituido;

C₁-C₇-alquiloel cual es sustituido una o más veces por hidroxi, C₁-C₇-alcoxi, amino no sustituido o sustituido, arilo o heterociclilo, y en donde arilo puede ser mono o polisustituido por halo; o

20 Dos sustituyentes R¹ sustituyentes forman juntos un alcanodiilo para formar una unidad estructural cíclica, sustituida opcionalmente por hidroxi o halo, o una sal de los mismos.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde

El anillo A es sustituido por uno, dos o tres grupos R², seleccionado independientemente en cada aparición de,

C₁-C₇-alquilo no sustituido o sustituido;

25 amino no sustituido o sustituido;

C₃-C₇-cicloalquilo no sustituido o sustituido,

o una sal de los mismos.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en donde

- R^2 es seleccionado de
- alquilo C_1-C_7 no sustituido;
- di(C_1-C_7 -alquil)amino;
- C_1-C_7 -alquilo sustituido una o más veces por C_3-C_7 -cicloalquilo o halo;
- 5 C_3-C_7 -cicloalquilo no sustituido;
- C_1-C_7 -cicloalquilo el cual es sustituido una o más veces por halo, (halo- C_1-C_7 -alquil) o C_1-C_7 -alquilo,
- o una sal de los mismos.
4. Un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde
- 10 el anillo A es un anillo de 5 o 6 miembros no sustituido o sustituido que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de N, S o O, en donde al menos un heteroátomo es N, o una sal de los mismos.
5. Un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde
- el anillo A es seleccionado de un anillo piridina no sustituido o sustituido, un anillo pirimidina no sustituido o sustituido o un anillo tiazol no sustituido o sustituido,
- o una sal de los mismos.
- 15 6. Un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde
- X-Y representa $(CH_2)_r$ o $O(CH_2)_t$ en donde r es 2 y t es 1.
7. Un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde
- R^1 representa, en cada aparición, halo;
- hidroxi;
- 20 fenilo no sustituido o sustituido;
- di(C_1-C_7 -alquil)amino;
- alquilo C_1-C_7 no sustituido;
- C_1-C_7 -alquilo el cual es sustituido una o más veces por hidroxi, C_1-C_7 -alcoxi, di(C_1-C_7 -alquil)amino, di-(perdeutero C_1-C_7 -alquil)amino, fenilo, morfolinilo, acetilamino, o N-(C_1-C_7 -alquil)-N-(fenil C_1-C_7 -alquil)amino, y en donde
- 25 independientemente cada fenilo puede ser mono o polisustituido por halo.
8. Un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde
- n es 1 y q es 1.
9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado de:
- 30 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h] quinazolin-2-il)-amida]; del ácido (2S,4R)-4-Dimetilamino-pirrolidin-1,2-dicarboxílico
- 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-Bencil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 35 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-2-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-Metoximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;

- 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-Dimetilaminometil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido d₆-(R)-2-Dimetilaminometil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 5 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-Hidroximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-Hidroximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 10 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (R)-2-[(3-Fluoro-bencil)-metil-amino]-metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-2-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-Pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-Azetidin-1,2-dicarboxílico;
- 15 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-Pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido 5-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,4R)-4-Fluoro-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 20 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,4S)-4-Fluoro-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 1-amida 2-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (1S,5R)-2-Aza-biciclo[3.1.0]hexano-1,2-dicarboxílico;
- 1-amida 2-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (1S,5R)-2-Aza-biciclo[3.1.0]hexano-1,2-dicarboxílico;
- 25 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 30 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,4S)-4-Dimetilamino-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido 5-Fenil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido Azetidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (S)-Azetidin-1,2-dicarboxílico;
- 35 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,4S)-4-Hidroxi-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-dietilamino-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,4R)-4-Hidroxi-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (S)-Pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 40 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (S)-2-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (S)-Azetidin-1,2-dicarboxílico;

- 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,4R)-4-Dimetilamino-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(7-(2-fluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (S)-Pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 5 2-amida 1-[(7-ciclopropilmetil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (S)-Pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 10 1-amida 2-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (1S,5R)-2-Aza-biciclo[3.1.0]hexano-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-(Acetilamino-metil)-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Morfolin-4-ilmetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 15 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Hidroxi-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 20 2-amida 1-[(8-metil-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Morfolin-4-ilmetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metoximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 25 2-amida 1-[(8-tert-butil-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Dimetilaminometil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 30 2-amida 1-[(8-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-tiazolo[4,5-h]quinazolin-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metoximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-tert-butil-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(8-tert-butil-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Dimetilaminometil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 35 2-amida 1-[(8-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-4H-5-oxa-1-tia-3,7-diaza-ciclopenta[a]naftalen-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(7-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 40 2-amida 1-[(7-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etil)-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,3R)-3-Metoximetil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico;
- 2-amida 1-[(7-tert-butil-4,5-dihidro-benzo[1,2-d;3,4-d']bistiazol-2-il)-amida] del ácido (2S,3S)-3-Dimetilaminometil-pirrolidin-1,2-dicarboxílico.
10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y opcionalmente un agente terapéutico adicional, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 45

11. Un compuesto de la fórmula (I), de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de una enfermedad dependiente de un lípido y/o proteína quinasa.
- 5 12. Uso de un compuesto de la fórmula (I), de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de una enfermedad dependiente de lípido y/o proteína quinasa.
13. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 11 o el uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la enfermedad es una enfermedad dependiente de una quinasa lipídica dependiente de una PI3K de Clase I.
- 10 14. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 11 o el uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la enfermedad es una enfermedad dependiente de una quinasa lipídica dependiente de una PI3K de la Clase I seleccionada del grupo consistente de PI3Kalpha, PI3Kbeta, PI3Kdelta, PI3Kgamma.
- 15 15. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 11 o el uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la enfermedad es una enfermedad proliferativa; un tumor benigno o maligno; un cáncer seleccionado de sarcoma; de pulmones; bronquios; próstata; seno (incluyendo cánceres esporádicos de seno y pacientes de enfermedad de Cowden); páncreas; cáncer gastrointestinal; de colon; recto; carcinoma de colon; adenoma colorrectal; tiroides; hígado; ducto biliar intrahepático; hepatocelular; glándula adrenal; estómago; gástrico; glioma; glioblastoma; endométrico; melanoma; riñón; pelvis renal; vejiga urinaria; corpus uterino; cérvix uterina; vagina; ovario; mieloma múltiple; esófago; una leucemia; leucemia mielogenosa aguda; leucemia mielogenosa crónica; leucemia linfocítica; leucemia mieloide; cerebro; un carcinoma del cerebro; cavidad oral y faringe; laringe; 20 intestino delgado; linfoma no Hodgkin; melanoma; adenoma de colon vellosa; una neoplasia; una neoplasia de carácter epitelial; linfomas; un carcinoma mamario; carcinoma de células basales; carcinoma de células escamosas; queratosis actínica; enfermedades tumorales, incluyendo tumores sólidos; un tumor del cuello o cabeza; policitemia vera; trombocitemia esencial; y mielofibrosis con metaplasia mieloide.