

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 472 720**

51 Int. Cl.:

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 519/00 (2006.01)

A61K 31/4743 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.06.2011 E 11730844 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.03.2014 EP 2588468**

54 Título: **Compuestos heterocíclicos y su uso como inhibidores de actividad PI3K**

30 Prioridad:

01.07.2010 US 360743 P

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

02.07.2014

73 Titular/es:

**AMGEN INC. (100.0%)
One Amgen Center Drive
Thousand Oaks, CA 91320-1799, US**

72 Inventor/es:

LUCAS, BRIAN

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 472 720 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos heterocíclicos y su uso como inhibidores de actividad PI3K

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional estadounidense n.º 61/360.743, presentada el 1 de julio de 2010.

La presente invención se refiere, en general, a enzimas fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K) y, más particularmente, a inhibidores selectivos de la actividad PI3K y a métodos de uso de tales materiales.

10

Antecedentes de la invención

La señalización celular mediante fosfoinosítidos fosforilados en 3' ha estado implicada en una variedad de procesos celulares, por ejemplo, transformación maligna, señalización por factores de crecimiento, inflamación e inmunidad (véase Rameh *et al.*, J. Biol Chem, 274:8347-8350 (1999) para una revisión). La enzima responsable de generar estos productos de señalización fosforilados, fosfatidilinositol 3-cinasa (PI 3-cinasa; PI3K), se identificó originariamente como una actividad asociada con oncoproteínas virales y tirosina cinasas receptoras de factores de crecimiento que fosforila fosfatidilinositol (PI) y sus derivados fosforilados en el hidroxilo en 3' del anillo de inositol (Panayotou *et al.*, Trends Cell Biol 2:358-60 (1992)).

20

Los niveles de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3), el producto primario de la actividad de PI 3-cinasa, aumentan tras el tratamiento de células con una variedad de estímulos. Esto incluye señalización a través de receptores para la mayoría de factores de crecimiento y muchos estímulos inflamatorios, hormonas, neurotransmisores y antígenos, y por tanto la activación de PI3K representa un evento, si no el más prevalente, de transducción de señales asociado con la activación de receptores de la superficie celular de mamíferos (Cantley, Science 296:1655-1657 (2002); Vanhaesebroeck *et al.* Annu. Rev. Biochem, 70: 535-602 (2001)). Por tanto, la activación de PI 3-cinasa está implicada en una amplia gama de respuestas celulares incluyendo crecimiento, migración, diferenciación y apoptosis celular (Parker *et al.*, Current Biology, 5:577-99 (1995); Yao *et al.*, Science, 267:2003-05 (1995)). Aunque no se han caracterizado completamente las dianas posteriores de lípidos fosforilados generados tras la activación de PI 3-cinasa, se sabe que las proteínas que contienen dominios de homología de Pleckstrin (PH) y dominios de tipo dedo FYVE se activan cuando se unen a diversos lípidos de fosfatidilinositol (Stemmark *et al.*, J Cell Sci, 112:4175-83 (1999); Lemmon *et al.*, Trends Cell Biol, 7:237-42 (1997)). Se han estudiado dos grupos de efectores de PI3K que contienen dominios PH en el contexto de la señalización de células inmunitarias, miembros de la familia de las tirosina cinasas TEC y las serina/treonina cinasas de la familia AGC. Los miembros de la familia Tec que contienen dominios PH con selectividad aparente por PtdIns (3,4,5)P₃ incluyen Tec, Btk, Itk y Etk. La unión de PH a PIP₃ es crítica para la actividad tirosina cinasa de los miembros de la familia Tec (Schaeffer y Schwartzberg, Curr. Opin. Immunol. 12: 282-288 (2000)). Los miembros de la familia AGC que están regulados por PI3K incluyen la cinasa dependiente de fosfoinosítidos (PDK1), AKT (también denominada PKB) y determinadas isoformas de proteína cinasa C (PKC) y cinasa S6. Existen tres isoformas de AKT y la activación de AKT está fuertemente asociada con señales de supervivencia y proliferación dependientes de PI3K. La activación de AKT depende la fosforilación por PDK1, que también tiene un dominio PH selectivo para 3-fosfoinosítido para su reclutamiento en la membrana donde interacciona con AKT. Otros sustratos de PDK1 importantes son PKC y cinasa S6 (Deane y Fruman, Annu. Rev. Immunol. 22:2563-598 (2004)). *In vitro*, algunas isoformas de proteína cinasa C (PKC) se activan directamente por PIP₃. (Burgering *et al.*, Nature, 376:599-602 (1995)).

45

En la actualidad, la familia de enzimas PI 3-cinasas se ha dividido en tres clases basándose en sus especificidades de sustrato. Las PI3K de clase I pueden fosforilar fosfatidilinositol (PI), fosfatidilinositol-4-fosfato y fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP2) para producir fosfatidilinositol-3-fosfato (PIP), fosfatidilinositol-3,4-bifosfato y fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato, respectivamente. Las PI3K de clase II fosforilan PI y fosfatidilinositol-4-fosfato, mientras que las PI3K de clase III sólo pueden fosforilar PI.

50

La purificación inicial y la clonación molecular de PI 3-cinasa reveló que era un heterodímero que consiste en las subunidades p85 y p110 (Otsu *et al.*, Cell, 65:91-104 (1991); Hiles *et al.*, Cell, 70:419-29 (1992)). Desde entonces, se han identificado cuatro PI3K de clase I distintas, designadas como PI3K α , β , δ y γ , consistiendo cada una en una subunidad catalítica de 110 kDa diferenciada y una subunidad reguladora. Más específicamente, tres de las subunidades catalíticas, es decir, p110 α , p110 β y p110 δ , interaccionan cada una con la misma subunidad reguladora, p85; mientras que p110 γ interacciona con una subunidad reguladora distinta, p101. Tal como se describe a continuación, los patrones de expresión de cada una de estas PI3K en células y tejidos humanos también son distintos. Aunque se ha acumulado una gran cantidad de información en los últimos tiempos sobre las funciones celulares de PI 3-cinasas en general, no se entienden completamente los papeles desempeñados por las isoformas individuales.

60

Se ha descrito la clonación de p110 α bovina. Se identificó esta proteína como relacionada con la proteína de *Saccharomyces cerevisiae*: Vps34p, una proteína implicada en el procesamiento vacuolar de proteínas. También se mostró que el producto de p110 α recombinante estaba asociado con p85 α , para producir una actividad PI3K en

65

células COS-1 transfectadas. Véase Hiles *et al.*, Cell, 70, 419-29 (1992).

La clonación de una segunda isoforma de p110 humana, designada como p110 β , se describe en Hu *et al.*, Mol Cell Biol, 13:7677-88 (1993). Se dice que esta isoforma se asocia con p85 en células, y se expresa de manera ubicua, ya que se ha encontrado ARNm de p110 β en numerosos tejidos humanos y de ratón así como en células endoteliales de vena umbilical humana, células T de leucemia humana Jurkat, células de riñón embrionario humano 293, fibroblastos 3T3 de ratón, células HeLa y células de carcinoma de vejiga de rata NBT2. Tal amplia expresión sugiere que esta isoforma es muy importante en rutas de señalización.

La identificación de la isoforma p110 δ de PI 3-cinasa se describe en Chantry *et al.*, J Biol Chem, 272:19236-41 (1997). Se observó que la isoforma p110 δ humana se expresa de modo restringido de tejido. Se expresa a altos niveles en linfocitos y tejidos linfoides y se ha mostrado que desempeña un papel clave en la señalización mediada por PI 3-cinasa en el sistema inmunitario (Al-Alwan *et al.* JI 178: 2328-2335 (2007); Okkenhaug *et al.* JI, 177: 5122-5128 (2006); Lee *et al.* PNAS, 103: 1289-1294 (2006)). También se ha mostrado que P110 δ se expresa a menores niveles en células de mama, melanocitos y células endoteliales (Vogt *et al.* Virology, 344: 131-138 (2006) y por ello ha estado implicada en conferir propiedades migratorias selectivas a células de cáncer de mama (Sawyer *et al.* Cancer Res. 63:1667-1675 (2003)). También pueden encontrarse detalles referentes a la isoforma P110 δ en las patentes estadounidenses n.ºs 5.858.753; 5.822.910; y 5.985.589. Véanse también, Vanhaesebroeck *et al.*, Proc Nat. Acad Sci USA, 94:4330-5 (1997), y la publicación internacional WO 97/46688.

En cada uno de los subtipos de PI3K α , β , y δ , la subunidad p85 actúa para localizar PI 3-cinasa en la membrana plasmática mediante la interacción de su dominio SH2 con residuos de tirosina fosforilados (presentes en un contexto de secuencia apropiado) en proteínas diana (Rameh *et al.*, Cell, 83:821-30 (1995)). Se han identificado cinco isoformas de p85 (p85 α , p85 β , p55 γ , p55 α y p50 α) codificadas por tres genes. Transcritos alternativos del gen Pik3r1 codifican para las proteínas p85 α , p55 α y p50 α (Deane y Fruman, Annu. Rev. Immunol. 22: 563-598 (2004)). p85 α se expresa de manera ubicua mientras que p85 β se encuentra principalmente en el cerebro y los tejidos linfoides (Volinia *et al.*, Oncogene, 7:789-93 (1992)). Parece requerirse la asociación de la subunidad p85 a las subunidades catalíticas p110 α , β o δ de PI 3-cinasa para la actividad catalítica y estabilidad de estas enzimas. Además, la unión de proteínas Ras también regula por incremento la actividad PI 3-cinasa.

La clonación de p110 γ reveló aún más complejidad dentro de la familia de enzimas de PI3K (Stoyanov *et al.*, Science, 269:690-93 (1995)). La isoforma p110 γ está estrechamente relacionada con p110 α y p110 β (identidad del 45-48% en el dominio catalítico), pero tal como se indica no hace uso de p85 como subunidad de selección como diana. En su lugar, p110 γ se une a la subunidad reguladora p101 que también se une a las subunidades $\beta\gamma$ de proteínas G heterotrimericas. La subunidad reguladora p101 para PI3K γ se clonó originariamente en cerdos, y se identificó posteriormente el ortólogo humano (Krugmann *et al.*, J Biol Chem, 274:17152-8 (1999)). Se sabe que la interacción entre la región N-terminal de p101 con la región N-terminal de p110 γ activa PI3K γ a través de G $\beta\gamma$. Recientemente, se ha identificado un homólogo de p101, p84 o p87^{PIKAP} (proteína adaptadora de PI3K γ de 87 kDa) que se une a p110 γ (Voigt *et al.* JBC, 281: 9977-9986 (2006), Suire *et al.* Curr. Biol. 15: 566-570 (2005)). p87^{PIKAP} es homóloga a p101 en zonas que se unen a p110 γ y G $\beta\gamma$ y también media la activación de p110 γ de manera posterior a receptores acoplados a proteínas G. A diferencia de p101, p87^{PIKAP} se expresa altamente en el corazón y puede ser crucial en la función cardiaca de PI3K γ .

Un polipéptido de PI3K activo de manera constitutiva se describe en la publicación internacional WO 96/25488. Esta publicación da a conocer la preparación de una proteína de fusión quimérica en la que se fusiona un fragmento de 102 residuos de p85 conocido como la región inter-SH2 (iSH2) a través de una región ligadora al extremo N-terminal de p110 murina. El dominio iSH2 de p85 aparentemente puede activar la actividad PI3K de manera comparable a p85 intacta (Klippel *et al.*, Mol Cell Biol, 14:2675-85 (1994)).

Por tanto, las PI 3-cinasas pueden definirse por su identidad de aminoácidos o por su actividad. Miembros adicionales de esta familia génica creciente incluyen lípido y proteína cinasas relacionadas de manera más distante incluyendo Vps34 TOR1, y TOR2 de *Saccharomyces cerevisiae* (y sus homólogos de mamífero tales como FRAP y mTOR), el producto del gen de la ataxia-telangiectasia (ATR) y la subunidad catalítica de proteína cinasa dependiente de ADN (ADN-PK). Véase en general, Hunter, Cell, 83:1-4 (1995).

PI 3-cinasa también está implicada en varios aspectos de la activación de leucocitos. Se ha mostrado que una actividad PI 3-cinasa asociada a p85 se asocia físicamente con el dominio citoplasmático de CD28, que es una molécula coestimuladora importante para la activación de células T en respuesta a antígeno (Pages *et al.*, Nature, 369:327-29 (1994); Rudd, Immunity, 4:527-34 (1996)). La activación de células T a través de CD28 disminuye el umbral para la activación por antígeno y aumenta la magnitud y duración de la respuesta proliferativa. Estos efectos están vinculados a aumentos en la transcripción de varios genes incluyendo interleucina-2 (IL2), un importante factor de crecimiento de células T (Fraser *et al.*, Science, 251:313-16 (1991)). La mutación de CD28 de manera que ya no puede interactuar con PI 3-cinasa conduce a un fallo para iniciar la producción de IL2, lo que sugiere un papel crítico para la PI 3-cinasa en la activación de células T.

- Inhibidores específicos frente a miembros individuales de una familia de enzimas proporcionan herramientas inestimables para descifrar las funciones de cada enzima. Dos compuestos, LY294002 y wortmanina, se han usado ampliamente como inhibidores de PI 3-cinasa. Sin embargo, estos compuestos son inhibidores de PI3K inespecíficos, ya que no distinguen entre los cuatro miembros de las PI 3-cinasas de clase I. Por ejemplo, los valores de CI_{50} de wortmanina frente a cada una de las diversas PI 3-cinasas de clase I están en el intervalo de 1-10 nM. De manera similar, los valores de CI_{50} para LY294002 frente a cada una de estas PI 3-cinasas es de aproximadamente 1 μ M (Fruman *et al.*, *Ann Rev Biochem*, 67:481-507 (1998)). Así, la utilidad de estos compuestos en el estudio de los papeles de PI 3-cinasas de clase I individuales es limitada.
- Basándose en estudios que usan wortmanina, existen evidencias de que también se requiere la función de PI 3-cinasa para algunos aspectos de la señalización de leucocitos a través de receptores acoplados a proteínas G (Thelen *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 91:4960-64 (1994)). Además, se ha mostrado que wortmanina y LY294002 bloquean la migración de neutrófilos y la liberación de superóxido. Sin embargo, en la medida en que estos compuestos no distinguen entre las diversas isoformas de PI3K, sigue estando poco claro a partir de estos estudios qué isoforma o isoformas de PI3K particulares están implicadas en estos fenómenos y qué funciones realizan las diferentes enzimas PI3K de clase I en tejidos tanto normales como enfermos en general. La coexpresión de varias isoformas de PI3K en la mayor parte de los tejidos ha producido confusión en los esfuerzos por segregar las actividades de cada enzima hasta hace poco.
- Se ha hecho un avance en la separación de las actividades de las diversas isozimas de PI3K recientemente con el desarrollo de ratones manipulados genéticamente que permitió el estudio de ratones con deficiencia de isoforma específica y con inserción de cinasa inactiva y el desarrollo de inhibidores más selectivos para algunas de las diferentes isoformas. Se han generado ratones con deficiencia en p110 α y p110 β y ambas son letales en fase embrionaria y puede obtenerse escasa información de estos ratones por lo que respecta a la expresión y función de p110 alfa y beta (Bi *et al.* *Mamm. Genome*, 13:169-172 (2002); Bi *et al.* *J. Biol. Chem.* 274:10963-10968 (1999)). Más recientemente, se generaron ratones con inserción de cinasa inactiva p110 α con una única mutación puntual en el motivo DFG del bolsillo de unión a ATP (p110 α D^{933A}) que afecta a la actividad cinasa pero conserva la expresión de cinasa p110 α mutante. A diferencia de los ratones con deficiencia, el enfoque de inserción conserva la estequiometría completa de señalización, las funciones de andamiaje e imita los enfoques de molécula pequeña de manera más realista que los ratones con deficiencia. De manera similar a los ratones KO para p110 α , los ratones homocigotos p110 α D^{933A} son letales en fase embrionaria. Sin embargo, los ratones heterocigotos son viables y fértiles pero presentan una señalización gravemente reducida mediante proteínas sustrato del receptor de insulina (IRS), mediadores clave de la acción de insulina, factor de crecimiento similar a insulina-1 y leptina. La capacidad de respuesta defectuosa a estas hormonas conduce a hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa, hiperfagia, aumento de la adiposidad y reducción del crecimiento global en heterocigotos (Foukas, *et al.* *Nature*, 441: 366-370 (2006)). Estos estudios revelaron un papel definido, no redundante, para p110 α como intermediario en la señalización de IGF-1, insulina y leptina que no se sustituye por otras isoformas. Habrá que esperar a la descripción de los ratones con inserción de cinasa inactiva p110 β para comprender adicionalmente la función de esta isoforma (se han producido ratones pero aún no se ha publicado; Vanhaesebroeck). Se han generado ratones tanto con deficiencia como con inserción de cinasa inactiva p110 γ y muestran de manera global fenotipos similares y leves con defectos principales en la migración de células del sistema inmunitario innato y un defecto en el desarrollo tímico de células T (Li *et al.* *Science*, 287: 1046-1049 (2000), Sasaki *et al.* *Science*, 287: 1040-1046 (2000), Patrucco *et al.* *Cell*, 118: 375-387 (2004)).
- De manera similar a p110 γ , se han preparado ratones con deficiencia e inserción de cinasa inactiva PI3K delta y son viables con fenotipos leves y similares. Los ratones con inserción mutantes p110 δ ^{D910A} demostraron un papel importante para delta en el desarrollo y la función de células B, con células B de la zona marginal y células B1 CD5+ casi indetectables, y señalización de receptores de antígenos de células B y T (Clayton *et al.* *J. Exp. Med.* 196:753-763 (2002); Okkenhaug *et al.* *Science*, 297: 1031-1034 (2002)). Se han estudiado los ratones p110 δ ^{D910A} extensamente y se han dilucidado los diversos papeles que desempeña delta en el sistema inmunitario. Las respuestas inmunitarias dependientes de células T e independientes de células T se ven gravemente atenuadas en p110 δ ^{D910A} y se ven afectadas la secreción de citocinas tipo TH1 (INF- γ) y TH2 (IL-4, IL-5) (Okkenhaug *et al.* *J. Immunol.* 177: 5122-5128 (2006)). También se ha descrito recientemente un paciente humano con una mutación en p110 δ . Un chico taiwanés con una inmunodeficiencia primaria de células B y una gamma-hipoglobulinemia de etiología previamente desconocida presentaba una sustitución de un único par de bases, m.3256G por A en el codón 1021 en el exón 24 de p110 δ . Esta mutación dio como resultado una sustitución de aminoácidos de cambio de sentido (E por K) en el codón 1021, que está ubicado en el dominio catalítico altamente conservado de la proteína p110 δ . El paciente no tiene otras mutaciones identificadas y su fenotipo concuerda con la deficiencia en p110 δ en ratones en la medida en que se ha estudiado. (Jou *et al.* *Int. J. Immunogenet.* 33: 361-369 (2006)).
- Se han desarrollado compuestos de molécula pequeña selectivos para la isoforma con éxito variable para todas las isoformas de PI3 cinasa de clase I (Ito *et al.* *J. Pharm. Exp. Therapeut.*, 321:1-8 (2007)). Se desean inhibidores para alfa debido a que se han identificado mutaciones en p110 α en varios tumores sólidos; por ejemplo, una mutación por amplificación de alfa está asociada con el 50% del cáncer de ovario, cuello uterino, pulmón y mama y se ha descrito una mutación de activación en más del 50% de los cánceres de intestino y el 25% de mama (Hennessy *et al.* *Nature*

Reviews, 4: 988-1004 (2005)). Yamanouchi ha desarrollado un compuesto YM-024 que inhibe alfa y delta de manera equipotente y es selectivo 8 y 28 veces con respecto a beta y gamma respectivamente (Ito *et al.* J. Pharm. Exp. Therapeut., 321:1-8 (2007)).

5 P110 β está implicada en la formación de trombos (Jackson *et al.* Nature Med. 11: 507-514 (2005)) y se ha pensado después en inhibidores de molécula pequeña específicos para esta isoforma para la indicación que implica trastornos de la coagulación (TGX-221: 0,007 μ M en beta; selectivo 14 veces con respecto a delta y selectivo más de 500 veces con respecto a gamma y alfa) (Ito *et al.* J. Pharm. Exp. Therapeut., 321:1-8 (2007)).

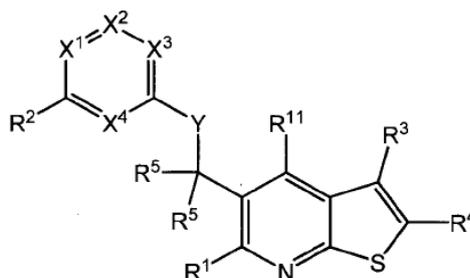
10 Están desarrollándose compuestos selectivos para p110 γ por varios grupos como agentes inmunosupresores para la enfermedad autoinmunitaria (Rueckle *et al.* Nature Reviews, 5: 903-918 (2006)). Cabe señalar que se ha mostrado que AS 605240 es eficaz en un modelo de ratón de artritis reumatoide (Camps *et al.* Nature Medicine, 11: 936-943 (2005)) y retrasa la aparición de la enfermedad en un modelo de lupus sistémico eritematoso (Barber *et al.* Nature Medicine, 11: 933-935 (2005)).

15 También se han descrito recientemente inhibidores selectivos de delta. Los compuestos más selectivos incluyen los inhibidores de quinazolinona-purina (PIK39 y IC87114). IC87114 inhibe p110 δ en el rango nanomolar alto (triple dígito) y tiene una selectividad mayor de 100 veces frente a p110 α , es selectivo 52 veces frente a p110 β pero carece de selectividad frente a p110 γ (aproximadamente 8 veces). No muestra actividad frente a ninguna proteína cinasa sometida a prueba (Knight *et al.* Cell, 125: 733-747 (2006)). Usando compuestos selectivos para delta o ratones manipulados genéticamente (p110 δ^{D910A}) se mostró que además de desempeñar un papel clave en la activación de células B y T, delta también está implicada parcialmente en la migración de neutrófilos y estallido respiratorio en neutrófilos sensibilizados y conduce a un bloqueo parcial de la desgranulación de mastocitos mediada por antígeno-IgE (Condliffe *et al.* Blood, 106: 1432-1440 (2005); Ali *et al.* Nature, 431: 1007-1011 (2002)). Así, p110 δ se está perfilando como un importante mediador de muchas respuestas inflamatorias clave que también se sabe que participan en estados inflamatorios aberrantes, incluyendo pero sin limitarse a enfermedad autoinmunitaria y alergia. Para respaldar esta idea, existe un conjunto creciente de datos de validación objetivo de p110 δ derivados de estudios que usan tanto herramientas genéticas como agentes farmacológicos. Por tanto, usando el compuesto IC 87114 selectivo para delta y los ratones p110 δ^{D910A} , Ali *et al.* (Nature, 431: 1007-1011 (2002)) han demostrado que delta desempeña un papel crítico en un modelo murino de enfermedad alérgica. En ausencia de delta funcional, se reduce significativamente la anafilaxia cutánea pasiva (ACP) y puede atribuirse a una reducción en la desgranulación y activación de mastocitos inducida por alérgeno-IgE. Además, se ha mostrado que la inhibición de delta con IC 87114 mejora significativamente la inflamación y enfermedad en un modelo murino de asma que usa inflamación de las vías respiratorias inducida por ovoalbúmina (Lee *et al.* FASEB, 20: 455-465 (2006)). Estos datos utilizando compuesto en ratones mutantes p110 δ^{D910A} usando el mismo modelo de inflamación alérgica de las vías respiratorias fueron corroborados por un grupo diferente (Nashed *et al.* Eur. J. Immunol. 37:416-424 (2007)).

20 Existe la necesidad de una caracterización adicional de la función de PI3K δ en entornos inflamatorios y autoinmunitarios. Además, la comprensión de PI3K δ requiere elaboración adicional de las interacciones estructurales de p110 δ , tanto con su subunidad reguladora como con otras proteínas en la célula. También sigue habiendo la necesidad de inhibidores de PI3K delta más potentes y selectivos o específicos, para evitar la posible toxicología asociada con la actividad sobre las isozimas p110 alfa (señalización de insulina) y beta (activación de plaquetas). En particular, se desean inhibidores de PI3K δ selectivos o específicos para investigar adicionalmente el papel de esta isozima y para el desarrollo de productos farmacéuticos superiores para modular la actividad de la isozima.

Sumario

La presente invención comprende una nueva clase de compuestos que tienen la fórmula general



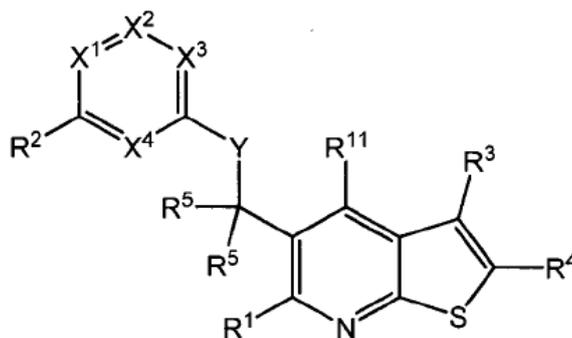
que son útiles para inhibir la actividad biológica de PI3K δ humana. Otro aspecto de la invención es proporcionar compuestos que inhiben PI3K δ selectivamente mientras que tienen relativamente baja potencia inhibidora frente a las otras isoformas de PI3K. Otro aspecto de la invención es proporcionar métodos de caracterización de la función

de PI3K δ humana. Otro aspecto de la invención es proporcionar métodos de modulación selectiva de la actividad de PI3K δ humana, y fomentando de ese modo el tratamiento médico de enfermedades mediadas por disfunción de PI3K δ . Otros aspectos y ventajas de la invención resultarán fácilmente evidentes para el experto habitual en la técnica.

5

Descripción detallada

Un aspecto de la invención se refiere a compuestos que tienen la estructura:



10

o cualquier sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que:

X^1 es C(R¹⁰) o N;

15

X^2 es C(R⁶) o N;

X^3 es C(R⁷) o N;

20

X^4 es C(R¹⁰) o N;

Y es N(R⁸), CR^aR^a, S u O;

25

R¹ se selecciona de H, halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-CO₂R^a, -NR^a-alk C₂₋₆-SO₂R^b, -CH₂C(=O)R^a, -CH₂C(=O)OR^a, -CH₂C(=O)NR^aR^a, -CH₂C(=NR^a)NR^aR^a, -CH₂OR^a, -CH₂OC(=O)R^a, -CH₂OC(=O)NR^aR^a, -CH₂OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -CH₂O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -CH₂O-alk C₂₋₆-OR^a, -CH₂SR^a, -CH₂S(=O)R^a, -CH₂S(=O)₂R^b, -CH₂S(=O)₂NR^aR^a, -CH₂S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -CH₂S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -CH₂S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -CH₂NR^aR^a, -CH₂N(R^a)C(=O)R^a, -CH₂N(R^a)C(=O)OR^a, -CH₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -CH₂N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -CH₂N(R^a)S(=O)₂R^a, -CH₂N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -CH₂NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -CH₂NR^a-alk C₂₋₆-OR^a, -CH₂NR^a-alk C₂₋₆-CO₂R^a y -CH₂NR^a-alk C₂₋₆-SO₂R^b; o R¹ es un anillo monocíclico de 3, 4, 5, 6 ó 7 miembros o bicíclico de 8, 9, 10 u 11 miembros unido directamente, con unión a alk C₁₋₄, con unión a O-alk C₁₋₂, con unión a alk C₁₋₂-O, con unión a N(R^a) o con unión a O saturado, parcialmente saturado o insaturado que contiene 0, 1, 2, 3 ó 4 átomos seleccionados de N, O y S, pero que no contiene más de un átomo de O o S, sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-CO₂R^a y -NR^a-alk C₂₋₆-SO₂R^b, en el que los átomos de carbono disponibles del anillo están sustituidos adicionalmente con 0, 1 ó 2 grupos oxo o tioxo, y en el que el anillo está sustituido adicionalmente con 0 ó 1 grupo unido directamente, con unión a SO₂, con unión a C(=O) o con unión a CH₂ seleccionado de fenilo, piridilo, pirimidilo, morfolino, piperazinilo, piperadinilo, pirrolidinilo, ciclopentilo, ciclohexilo todos los cuales están sustituidos además con 0, 1, 2 ó 3 grupos seleccionados de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -NR^aR^a y -N(R^a)C(=O)R^a;

50

R² se selecciona de un anillo monocíclico de 5, 6 ó 7 miembros o bicíclico de 8, 9, 10 u 11 miembros saturado, parcialmente saturado o insaturado que contiene 0, 1, 2, 3 ó 4 átomos seleccionados de N, O y S, pero que no contiene más de un O o S, en el que los átomos de carbono disponibles del anillo están sustituidos con 0, 1 ó 2 grupos oxo o tioxo, en el que el anillo está sustituido con 0 ó 1 sustituyentes R², y el anillo está sustituido

adicionalmente con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a; o R³ se selecciona de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a;

R³ se selecciona de H, halo, nitro, ciano, alk C₁₋₄, O-alk C₁₋₄, O-haloalk C₁₋₄, NH-alk C₁₋₄, N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄, C(=O)NH₂, C(=O)NH-alk C₁₋₄, C(=O)N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄, N(H)C(=O)-alk C₁₋₄, N(alk C₁₋₄)C(=O)-alk C₁₋₄ y haloalk C₁₋₄;

R⁴ se selecciona de H, halo, nitro, ciano, alk C₁₋₄, O-alk C₁₋₄, O-haloalk C₁₋₄, NH-alk C₁₋₄, N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄, C(=O)NH₂, C(=O)NH-alk C₁₋₄, C(=O)N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄, N(H)C(=O)-alk C₁₋₄, N(alk C₁₋₄)C(=O)-alk C₁₋₄ y haloalk C₁₋₄;

R⁵ es, independientemente, en cada caso, H, halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄ o alk C₁₋₆ sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de halo, ciano, OH, O-alk C₁₋₄, alk C₁₋₄, haloalk C₁₋₃, O-alk C₁₋₄, NH₂, NH-alk C₁₋₄ y N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄; o ambos grupos R⁵ forman juntos un espiroalk C₃₋₆ sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de halo, ciano, OH, O-alk C₁₋₄, alk C₁₋₄, haloalk C₁₋₃, O-alk C₁₋₄, NH₂, NH-alk C₁₋₄ y N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄;

R⁶ se selecciona de halo, ciano, OH, O-alk C₁₋₄, alk C₁₋₄, haloalk C₁₋₃, O-alk C₁₋₄, NHR⁹, N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄, -C(=O)OR^a, -C(=O)N(R^a)R^a, -N(R^a)C(=O)R^b y un anillo heterocíclico de 5 ó 6 miembros saturado o parcialmente saturado que contiene 1, 2 ó 3 heteroátomos seleccionados de N, O y S, en el que el anillo está sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de halo, ciano, OH, oxo, O-alk C₁₋₄, alk C₁₋₄, haloalk C₁₋₃, O-alk C₁₋₄, NH₂, NH-alk C₁₋₄ y N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄;

R⁷ se selecciona de H, halo, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a y alk C₁₋₆, en los que el alk C₁₋₆ está sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de halo, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a, y el alk C₁₋₆ está sustituido adicionalmente con 0 ó 1 anillos monocíclicos de 5, 6 ó 7 miembros saturados, parcialmente saturados o insaturados que contienen 0, 1, 2, 3 ó 4 átomos seleccionados de N, O y S, pero que no contienen más de un O o S, en los que los átomos de carbono disponibles del anillo están sustituidos con 0, 1 ó 2 grupos oxo o tioxo, en los que el anillo está sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, nitro, ciano, alk C₁₋₄, O-alk C₁₋₄, O-haloalk C₁₋₄, NH-alk C₁₋₄, N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄ y haloalk C₁₋₄; o R⁷ y R⁸ forman juntos un puente -C=N- en el que el átomo de carbono está sustituido con H, halo, ciano, o un anillo monocíclico de 5, 6 ó 7 miembros saturado, parcialmente saturado o insaturado que contiene 0, 1, 2, 3 ó 4 átomos seleccionados de N, O y S, pero que no contiene más de un O o S, en el que los átomos de carbono disponibles del anillo están sustituidos con 0, 1 ó 2 grupos oxo o tioxo, en el que el anillo está sustituido con 0, 1, 2, 3 ó 4 sustituyentes seleccionados de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a; o R⁷ y R⁹ forman juntos un puente -N=C- en el que el átomo de carbono está sustituido con H, halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, OR^a, NR^aR^a, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a o -S(=O)₂NR^aR^a;

R⁸ es H, alk C₁₋₆, C(=O)N(R^a)R^a, C(=O)R^b o haloalk C₁₋₄;

R⁹ es H, alk C₁₋₆ o haloalk C₁₋₄;

R¹⁰ es independientemente en cada caso H, halo, alk C₁₋₃, haloalk C₁₋₃ o ciano;

R¹¹ se selecciona de H, halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^b, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a;

R^a es independientemente, en cada caso, H o R^b; y

R^b es independientemente, en cada caso, fenilo, bencilo o alk C₁₋₆, estando el fenilo, bencilo y alk C₁₋₆ sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de halo, alk C₁₋₄, haloalk C₁₋₃, -O-alk C₁₋₄, -NH₂, -NH-alk C₁₋₄ y -N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, X¹ es N.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, X⁴ es N.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, X¹ es N y X⁴ es N.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, Y es N(R⁸).

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, Y es N(H).

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R¹ es un anillo monocíclico de 5, 6 ó 7 miembros o bicíclico de 8, 9, 10 u 11 miembros saturado, parcialmente saturado o insaturado unido directamente que contiene 0, 1, 2, 3 ó 4 átomos seleccionados de N, O y S, pero que no contiene más de un átomo de O o S, sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a, en el que los átomos de carbono disponibles del anillo están sustituidos adicionalmente con 0, 1 ó 2 grupos oxo o tioxo.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R¹ es un anillo monocíclico de 6 miembros insaturado unido directamente que contiene 0, 1, 2, 3 ó 4 átomos seleccionados de N, O y S, pero que no contiene más de un átomo de O o S, sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a-SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R¹ es fenilo, piridilo o pirimidinilo, todos los cuales están sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R¹ es fenilo sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R¹ es fenilo, piridilo o pirimidinilo, todos los cuales están sustituidos con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alk C₁₋₆ y haloalk C₁₋₄.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R¹ es fenilo que está sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alk C₁₋₆ y haloalk C₁₋₄.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R² es H.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R³ se selecciona de H y halo.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R⁴ se selecciona de H y halo.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R³ y R⁴ son ambos H.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R⁵ es, independientemente, en cada caso, H,

halo, alk C₁₋₆ y haloalk C₁₋₄.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, un R⁵ es H y el otro R⁵ es alk C₁₋₆.

5 En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, un R⁵ es H y el otro R⁵ es metilo.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, un R⁵ es H y el otro R⁵ es (R)-metilo.

10 En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, un R⁵ es H y el otro R⁵ es (S)-metilo.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R⁶ es NHR⁹.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R⁷ es ciano.

15 En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R⁷ y R⁸ forman juntos un puente -C=N- en el que el átomo de carbono está sustituido con H, halo, ciano, o un anillo monocíclico de 5, 6 ó 7 miembros saturado, parcialmente saturado o insaturado que contiene 0, 1, 2, 3 ó 4 átomos seleccionados de N, O y S, pero que no contiene más de un O o S, en el que los átomos de carbono disponibles del anillo están sustituidos con 0, 1 ó 2 grupos oxo o tioxo, en el que el anillo está sustituido con 0, 1, 2, 3 ó 4 sustituyentes seleccionados de halo, alk C₁₋₆,
 20 haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a,
 -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a,
 -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a,
 -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-
 25 NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a.

25 En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R⁷ y R⁹ forman juntos un puente -N=C- en el que el átomo de carbono está sustituido con H, halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, OR^a, NR^aR^a, -C(=O)R^a,
 -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a.

30 En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R⁷ y R⁹ forman juntos un puente -N=C- en el que el átomo de carbono está sustituido con H o halo.

En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R¹¹ se selecciona de H, halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄ y ciano.

35 En otra realización, junto con las realizaciones anteriores y siguientes, R¹¹ se selecciona de H, halo y alk C₁₋₆.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método de tratamiento de estados o trastornos mediados por PI3K.

40 En determinadas realizaciones, el estado o trastorno mediado por PI3K se selecciona de artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, osteoartritis, artritis psoriásica, psoriasis, enfermedades inflamatorias y enfermedades autoinmunitarias. En otras realizaciones, el estado o trastorno mediado por PI3K se selecciona de enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, hipertensión, trombosis venosa profunda, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, angina inestable, tromboembolia, embolia pulmonar, enfermedades tromboticas, isquemia arterial
 45 aguda, oclusiones tromboticas periféricas y arteriopatía coronaria. En todavía otras realizaciones, el estado o trastorno mediado por PI3K se selecciona de cáncer, cáncer de colon, glioblastoma, carcinoma de endometrio, cáncer hepatocelular, cáncer de pulmón, melanoma, carcinoma de células renales, carcinoma de tiroides, linfoma celular, trastornos linfoproliferativos, cáncer de pulmón de células pequeñas, carcinoma de pulmón de células escamosas, glioma, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino y leucemia. En
 50 aún otra realización, el estado o trastorno mediado por PI3K se selecciona de diabetes tipo II. En todavía otras realizaciones, el estado o trastorno mediado por PI3K se selecciona de enfermedades respiratorias, bronquitis, asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica. En determinadas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

55 Otro aspecto de la invención se refiere al tratamiento de artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, osteoartritis, artritis psoriásica, psoriasis, enfermedades inflamatorias o enfermedades autoinmunitarias que comprende la etapa de administrar un compuesto según cualquiera de las realizaciones anteriores.

60 Otro aspecto de la invención se refiere al tratamiento de artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, osteoartritis, artritis psoriásica, psoriasis, enfermedades inflamatorias y enfermedades autoinmunitarias, trastornos inflamatorios del intestino, trastornos inflamatorios oculares, trastornos inflamatorios o inestables de la vejiga, afecciones cutáneas con componentes inflamatorias, estados inflamatorios crónicos, enfermedades autoinmunitarias, lupus eritematoso sistémico (LES), miastenia grave, artritis reumatoide, encefalomielite diseminada aguda, púrpura trombocitopénica idiopática, esclerosis múltiple, síndrome de Sjogren y anemia hemolítica autoinmunitaria, estados alérgicos e hipersensibilidad, que comprende la etapa de administrar un compuesto según cualquiera de las realizaciones
 65 anteriores o siguientes.

Otro aspecto de la invención se refiere al tratamiento de cánceres que están mediados, dependen de o están asociados con actividad de p110δ, que comprende la etapa de administrar un compuesto según cualquiera de las realizaciones anteriores o siguientes.

5 Otro aspecto de la invención se refiere al tratamiento de cánceres que se seleccionan de leucemia mieloide aguda, síndrome mielodisplásico, enfermedades mieloproliferativas, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda de células T, leucemia linfoblástica aguda de células B, linfoma no Hodgkin, linfoma de células B, tumores sólidos y cáncer de mama, que comprende la etapa de administrar un compuesto según cualquiera de las realizaciones anteriores o siguientes.

10 Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las realizaciones anteriores y un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

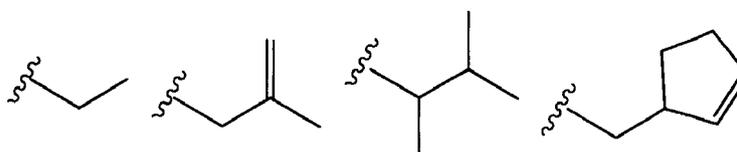
15 Otro aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto según cualquiera de las realizaciones anteriores como medicamento.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto según cualquiera de las realizaciones anteriores en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, osteoartritis, artritis psoriásica, psoriasis, enfermedades inflamatorias y enfermedades autoinmunitarias.

20 Los compuestos de esta invención pueden tener en general varios centros asimétricos y se representan normalmente en forma de mezclas racémicas. Esta invención pretende abarcar mezclas racémicas, mezclas parcialmente racémicas y enantiómeros y diastereómeros independientes.

25 A menos que se especifique de otro modo, se aplican las siguientes definiciones a los términos que se encuentran en la memoria descriptiva y las reivindicaciones:

30 “alk C_{α-β}” significa un grupo grupo alk que comprende un mínimo de α y un máximo de β átomos de carbono en una relación ramificada, cíclica o lineal o cualquier combinación de las tres, en el que α y β representan número enteros. Los grupos alk descritos en esta sección también pueden contener uno o dos dobles o triples enlaces. Los ejemplos de alk C₁₋₆ incluyen, pero no se limitan a los siguientes:



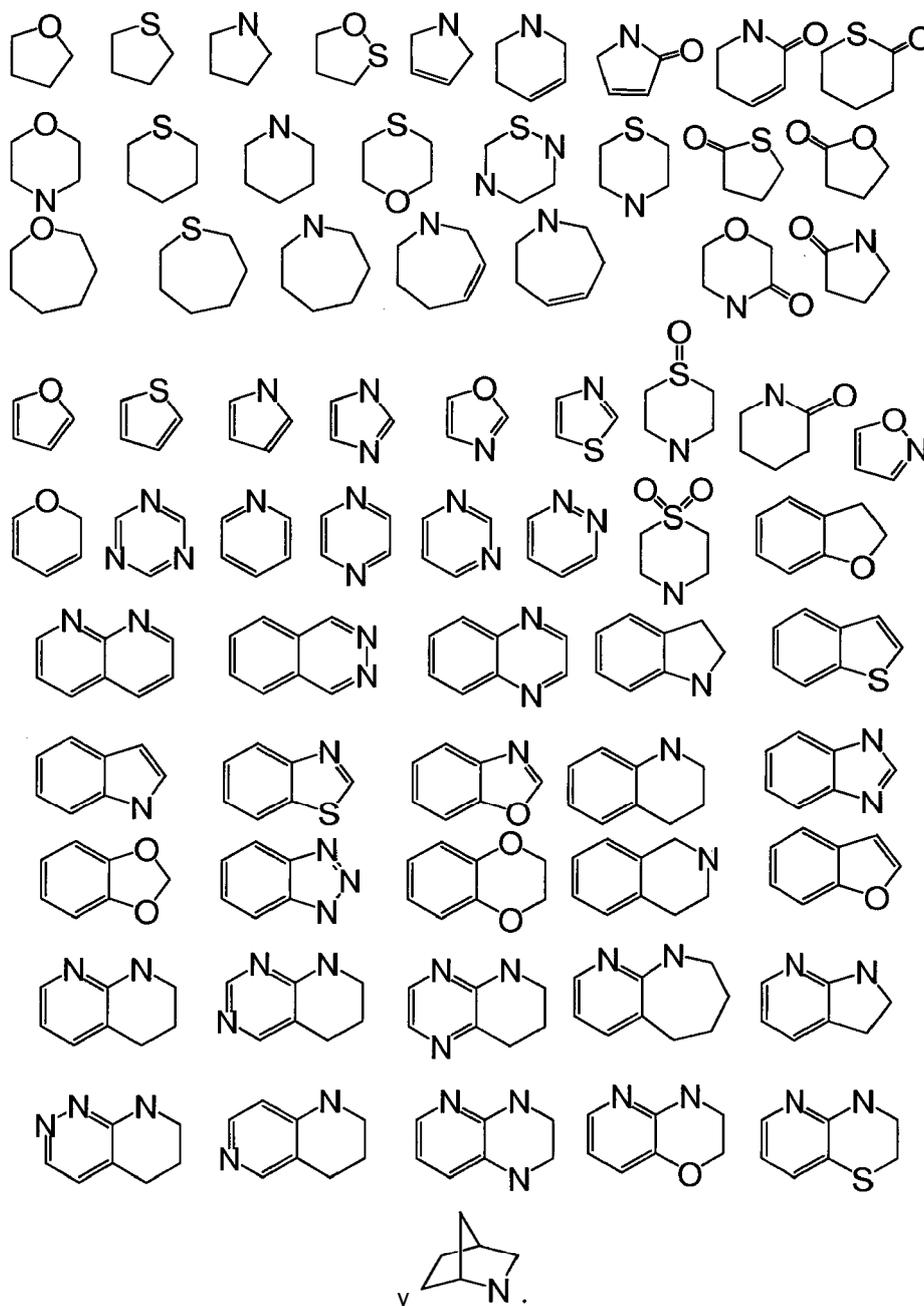
35 “Grupo benzo”, solo o en combinación, significa el radical divalente C₆H₄=, una representación del cual es -CH=CH-CH=CH-, que cuando se une de manera vecinal a otro anillo forma un anillo de tipo benceno, por ejemplo tetrahidronaftileno, indol y similares.

40 Los términos “oxo” y “tioxo” representan los grupos =O (como en carbonilo) y =S (como en tiocarbonilo), respectivamente.

“Halo” o “halógeno” significa un átomo de halógeno seleccionado de F, Cl, Br e I.

45 “Haloalk C_{v-w}” significa un grupo alk, tal como se describió anteriormente, en el que cualquier número (al menos uno) de los átomos de hidrógeno unidos a la cadena de alk se sustituyen por F, Cl, Br o I.

50 “Heterociclo” significa un anillo que comprende al menos un átomo de carbono y al menos otro átomo seleccionado de N, O y S. Ejemplos de heterociclos que pueden encontrarse en las reivindicaciones incluyen, pero no se limitan a, los siguientes:



5 “Átomos de nitrógeno disponibles” son aquellos átomos de nitrógeno que son parte de un heterociclo y se unen mediante dos enlaces sencillos (por ejemplo piperidina), dejando un enlace externo disponible para sustitución con, por ejemplo, H o CH₃.

10 “Sal farmacéuticamente aceptable” significa una sal preparada mediante medios convencionales, y se conocen bien por los expertos en la técnica. Las “sales farmacológicamente aceptables” incluyen sales básicas de ácidos inorgánicos y orgánicos, incluyendo pero sin limitarse a ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido málico, ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido maleico, ácido salicílico, ácido benzoico, ácido fenilacético, ácido mandélico y similares. Cuando los compuestos de la invención incluyen una función ácida tal como un grupo carboxilo, entonces los expertos en la técnica conocen bien pares catiónicos farmacéuticamente aceptables adecuados para el grupo carboxilo e incluyen cationes alcalinos, alcalinotérreos, de amonio, de amonio cuaternario y similares. Para ejemplos adicionales de “sales farmacológicamente aceptables”, véanse las citadas anteriormente y Berge *et al.*, J. Pharm. Sci. 66:1 (1977).

20 “Saturado, parcialmente saturado o insaturado” incluye sustituyentes saturados con hidrógenos, sustituyentes completamente insaturados con hidrógenos y sustituyentes parcialmente saturados con hidrógenos.

“Grupo saliente” se refiere en general a grupos fácilmente desplazables por un nucleófilo, tal como un nucleófilo de amina, tiol o alcohol. Tales grupos salientes se conocen bien en la técnica. Los ejemplos de tales grupos salientes incluyen, pero no se limitan a, N-hidroxisuccinimida, N-hidroxibenzotriazol, haluros, triflatos, tosilatos y similares. Se indican grupos salientes preferidos en el presente documento cuando sea apropiado.

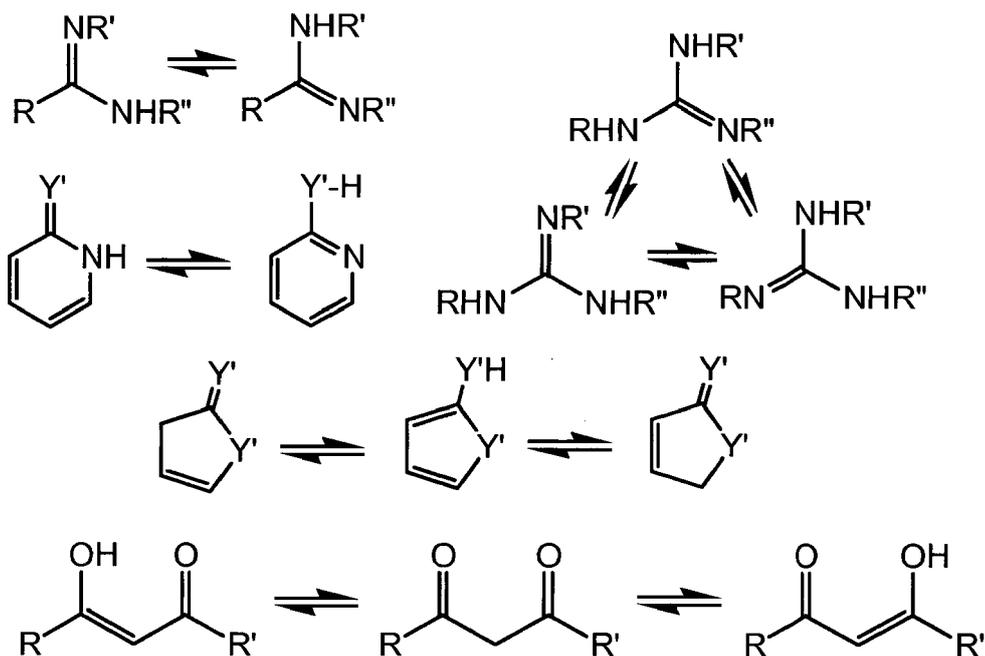
“Grupo protector” se refiere en general a grupos bien conocidos en la técnica que se usan para impedir que grupos reactivos seleccionados, tales como carboxilo, amino, hidroxilo, mercapto y similares, experimenten reacciones no deseadas, tales como nucleófilas, electrófilas, de oxidación, reducción y similares. Se indican grupos protectores preferidos en el presente documento cuando sea apropiado. Los ejemplos de grupos protectores de amino incluyen, pero no se limitan a, aralk, aralk sustituido, cicloalqueniil-alk y cicloalqueniil-alk sustituido, alilo, alilo sustituido, acilo, alcocixarbonilo, aralcocixarbonilo, sililo y similares.

Los ejemplos de aralk incluyen, pero no se limitan a, bencilo, orto-metilbencilo, tritilo y benzhidrilo, que pueden estar opcionalmente sustituidos con halógeno, alk, alcoxilo, hidroxilo, nitro, acilamino, acilo y similares, y sales, tales como sales de fosfonio y amonio. Los ejemplos de grupos arilo incluyen fenilo, naftilo, indanilo, antraceniilo, 9-(9-fenilfluoreniilo), fenantrenilo, durenilo y similares. Los ejemplos de radicales cicloalqueniil-alk o cicloalqueniil-alk sustituido, tienen preferiblemente 6-10 átomos de carbono, incluyen, pero no se limitan a, ciclohexeniil-metilo y similares. Los grupos acilo, alcocixarbonilo y aralcocixarbonilo adecuados incluyen benciloxicarbonilo, t-butoxicarbonilo, iso-butoxicarbonilo, benzoilo, benzoilo sustituido, butirilo, acetilo, trifluoroacetilo, tricloroacetilo, ftaloilo y similares. Puede usarse una mezcla de grupos protectores para proteger el mismo grupo amino, tal como un grupo amino primario puede protegerse mediante tanto un grupo aralk como un grupo aralcocixarbonilo. Los grupos protectores de amino también pueden formar un anillo heterocíclico con el nitrógeno al que están unidos, por ejemplo, 1,2-bis(metilen)benceno, ftalimidilo, succinimidilo, maleimidilo y similares y en los que estos grupos heterocíclicos pueden incluir además anillos de arilo y cicloalk colindantes. Además, los grupos heterocíclicos pueden estar mono-, di- o tri-sustituidos, tales como nitroftalimidilo. También pueden protegerse grupos amino frente a reacciones no deseadas, tales como oxidación, a través de la formación de una sal de adición, tal como clorhidrato, ácido toluenosulfónico, ácido trifluoroacético y similares. Muchos de los grupos protectores de amino son también adecuados para proteger grupos carboxilo, hidroxilo y mercapto. Por ejemplo, grupos aralk. Los grupos alk también son grupos adecuados para proteger grupos hidroxilo y mercapto, tales como terc-butilo.

Grupos protectores de sililo son átomos de silicio opcionalmente sustituidos con uno o más grupos alk, arilo y aralk. Los grupos protectores de sililo adecuados incluyen, pero no se limitan a, trimetilsililo, trietilsililo, triisopropilsililo, terc-butildimetilsililo, dimetilfenilsililo, 1,2-bis(dimetilsilil)benceno, 1,2-bis(dimetilsilil)etano y difenildimetilsililo. La sililación de un grupo amino proporciona grupos mono- o disililamino. La sililación de compuestos de aminoalcohol puede conducir a un derivado de N,N,O-trisililo. La eliminación de la función sililo de una función silil éter se logra fácilmente mediante tratamiento con, por ejemplo, un reactivo de hidróxido de metal o fluoruro de amonio, o bien como etapa de reacción diferenciada o bien *in situ* durante una reacción con el grupo alcohol. Agentes de sililación adecuados son, por ejemplo, cloruro de trimetilsililo, cloruro de terc-butildimetilsililo, cloruro de fenildimetilsililo, cloruro de difenildimetilsililo o sus productos de combinación con imidazol o DMF. Los expertos en la técnica conocen bien métodos para la sililación de aminas y la eliminación de grupos protectores de sililo. Los expertos en la técnica de la química orgánica también conocen bien métodos de preparación de estos derivados de amina a partir de los aminoácidos, amidas de aminoácido o ésteres de aminoácido correspondientes incluyendo química de aminoácidos/ésteres de aminoácido o aminoalcohol.

Se eliminan los grupos protectores en condiciones que no afectarán a la parte restante de la molécula. Estos métodos se conocen bien en la técnica e incluyen hidrólisis ácida, hidrogenólisis y similares. Un método preferido implica la eliminación de un grupo protector, tal como la eliminación de un grupo benciloxicarbonilo mediante hidrogenólisis utilizando paladio sobre carbono en un sistema de disolventes adecuado tal como un alcohol, ácido acético, y similares o mezclas de los mismos. Puede eliminarse un grupo protector de t-butoxicarbonilo utilizando un ácido inorgánico u orgánico, tal como HCl o ácido trifluoroacético, en un sistema de disolventes adecuado, tal como dioxano o cloruro de metileno. Puede neutralizarse fácilmente la aminosal resultante para producir la amina libre. Puede eliminarse un grupo protector de carboxilo, tal como metilo, etilo, bencilo, terc-butilo, 4-metoxifenilmetilo y similares, en condiciones de hidrólisis e hidrogenólisis bien conocidas por los expertos en la técnica.

Debe indicarse que los compuestos de la invención pueden contener grupos que pueden existir en formas tautoméricas, tales como grupos amidina y guanidina cíclicos y acíclicos, grupos heteroarilo sustituidos con heteroátomos (Y' = O, S, NR), y similares, que se ilustran en los siguientes ejemplos:



y aunque se nombre, describa, presente y/o reivindique una forma en el presente documento, se pretende que todas las formas tautoméricas estén incluidas inherentemente en tal nombre, descripción, presentación y/o reivindicación.

5

También se dan a conocer profármacos de los compuestos de esta invención. Un profármaco es un compuesto activo o inactivo que se modifica químicamente a través de acción fisiológica *in vivo*, tal como hidrólisis, metabolismo y similares, para dar un compuesto de esta invención tras la administración del profármaco a un paciente. Los expertos en la técnica conocen bien la idoneidad y las técnicas implicadas en la preparación y el uso de profármacos. Para un comentario general de profármacos que implican ésteres véanse Svensson and Tunek Drug Metabolism Reviews 165 (1988) y Bundgaard Design of Prodrugs, Elsevier (1985). Los ejemplos de un anión carboxilato enmascarado incluyen una variedad de ésteres, tales como alk (por ejemplo, metilo, etilo), cicloalk (por ejemplo, ciclohexilo), aralk (por ejemplo, bencilo, p-metoxibencilo) y alkcarboniloxialk (por ejemplo, pivaloiloximetilo). Se han enmascarado aminas como derivados sustituidos con arilcarboniloximetilo que se escinden por esterazas *in vivo* liberando el fármaco libre y formaldehído (Bunggaard J. Med. Chem. 2503 (1989)). Además, se han enmascarado fármacos que contienen un grupo NH ácido, tal como imidazol, imida, indol y similares, con grupos N-aciloximetilo (Bundgaard Design of Prodrugs, Elsevier (1985)). Se han enmascarado grupos hidroxilo como ésteres y éteres. El documento EP 039.051 (Sloan y Little, 4/11/81) da a conocer profármacos de ácido hidroxámico-base de Mannich, su preparación y uso.

15

20

25

La memoria descriptiva y las reivindicaciones contienen listados de especies que usan el lenguaje "seleccionado de ... y ..." y "es ... o ..." (denominados a veces grupos de Markush). Cuando se usa este lenguaje en esta solicitud, a menos que se indique de otro modo, pretende incluir el grupo en su totalidad, o cualquier elemento individual del mismo, o cualquier subgrupo del mismo. El uso de este lenguaje es simplemente para fines de abreviar y no pretende limitar en modo alguno la eliminación de elementos o subgrupos individuales, según sea necesario.

30

La presente invención también incluye compuestos marcados isotópicamente, que son idénticos a los citados en el presente documento, excepto en el hecho de que se sustituyen uno o más átomos por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico diferente de la masa atómica o el número másico que se encuentra habitualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{16}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl .

35

40

Los compuestos de la presente invención que contienen los isótopos mencionados anteriormente y/u otros isótopos de otros átomos están dentro del alcance de esta invención. Determinados compuestos marcados isotópicamente de la presente invención, por ejemplo aquéllos en los que se incorporan isótopos radiactivos tales como ^3H y ^{14}C , son útiles en ensayos de distribución tisular de sustratos y/o fármacos. Se prefieren particularmente los isótopos tritados, es decir, ^3H y carbono-14, es decir, ^{14}C , por su facilidad de preparación y detección. Además, la sustitución por isótopos más pesados tales como deuterio, es decir, ^2H , pueden proporcionar determinadas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo aumento de la semivida *in vivo* o reducción de los requerimientos de dosificación y así, pueden preferirse en algunas circunstancias. Los compuestos marcados isotópicamente de esta invención pueden prepararse en general sustituyendo un reactivo no marcado isotópicamente por un reactivo marcado isotópicamente disponible fácilmente.

Parte experimental

Se usan las siguientes abreviaturas:

5

ac.- acuoso

BINAP - 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo

10

conc. – concentrado

DCM – diclorometano

DIAD - azodicarboxilato de diisopropilo

15

DMF - N,N-dimetilformamida

Et₂O- dietil éter

20

EtOAc - acetato de etilo

EtOH - alcohol etílico

h - hora(s)

25

min – minutos

MeOH - alcohol metílico

30

MsCl - cloruro de metanosulfonilo

ta - temperatura ambiente

sat. – saturado

35

THF - tetrahidrofurano

General

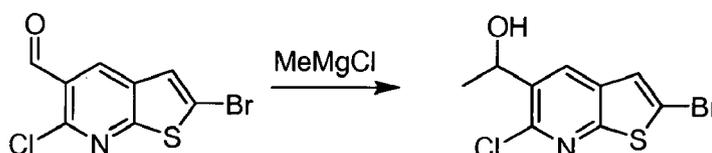
40

Los reactivos y disolventes usados a continuación pueden obtenerse de fuentes comerciales. Los espectros de ¹H-RMN se registraron en espectrómetros de RMN Bruker 400 MHz y 500 MHz. Se tabulan los picos significativos en orden: multiplicidad (s, singlete; d, doblete; t, triplete; q, cuartete; m, multiplete; s a, singlete ancho), constante(s) de acoplamiento en hercios (Hz) y número de protones. Se notifican los resultados de la espectrometría de masas como la razón de masa con respecto a la carga, seguido por la abundancia relativa de cada ion (entre paréntesis). Se realizó análisis de espectrometría de masas de ionización por electropulverización (ESI) en un espectrómetro de masas de electropulverización CL/EMD serie 1100 de Agilent. Pudieron analizarse todos los compuestos en el modo de ESI positiva usando acetonitrilo:agua con el 0,1% de ácido fórmico como el disolvente de suministro. Se llevó a cabo HPLC analítica de fase inversa usando un aparato serie 1200 de Agilent en una columna de 5 μm Eclipse XDB-C18 (4,6 x 150 mm) de Agilent como fase estacionaria y eluyendo con acetonitrilo:agua con el 0,1% de TFA. Se llevó a cabo HPLC semiprep. de fase inversa usando un aparato serie 1100 de Agilent en una columna de 10 μm C18 Gemini™ (250 x 21,20 mm) de Phenomenex como fase estacionaria y eluyendo con acetonitrilo:H₂O con el 0,1% de TFA.

55

Ejemplo 1

1-(2-Bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol

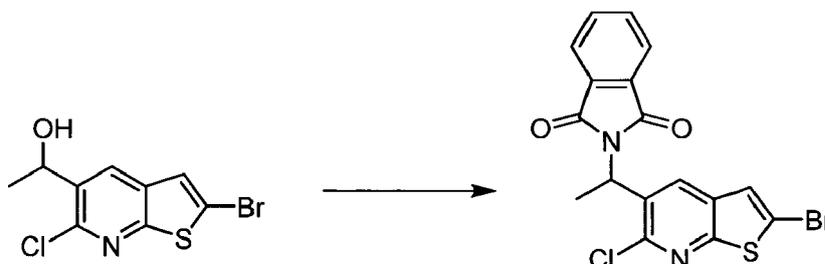


60

A una disolución de 2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-carbaldehído (2,4 g, 8,7 mmol) (Meth-Cohn, O. Narine B.

Tetrahedron Lett., 1978, 2045) en THF (50 ml) a -20°C se le añadió cloruro de metilmagnesio (3,04 ml de 3 N en THF, 9,1 mmol) gota a gota. Se agitó la reacción a -20°C durante 45 minutos y luego se extinguió con 25 ml de NH₄Cl (sat.) y 25 ml de agua. Se diluyó la reacción con éter y se separaron las fases. Se lavó la fase orgánica con salmuera y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna proporcionó 1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol. CL/EM (M+1, hallado = 293,8). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,21 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 5,32 (qd, J = 6,3, 2,7 Hz, 1H), 2,19 (s a, 1H), 1,55 (d, J = 6,3 Hz, 3H) ppm.

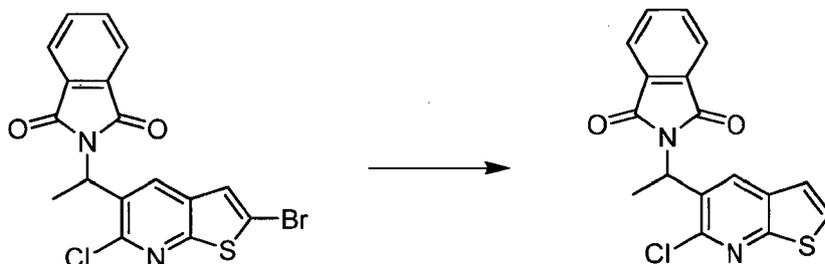
2-(1-(2-Bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona



A un matraz de fondo redondo que contenía 1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol (2,0 g, 6,8 mmol), ftalimida (1,2 g, 8,2 mmol, 1,2 eq.) y trifetilfosfina (2,15 g, 8,2 mmol) se le añadió THF (45 ml). Se enfrió la disolución hasta 0°C y se le añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD, 1,6 ml, 8,2 mmol, 1,2 eq.). Se permitió que se calentase la reacción hasta temperatura ambiente.

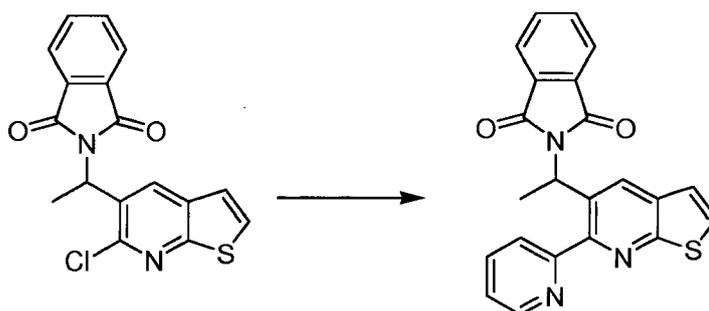
Después de 1 h, se consideró que la reacción era completa mediante CL/EM. Se eliminó el disolvente a vacío y se redisolvió el residuo en éter y se lavó con agua. Se sometió la fase acuosa a retroextracción con éter. Se lavaron las fases de éter combinadas con salmuera y se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía en columna usando EA al 15% en hexanos proporcionando 2-(1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona. CL/EM (M+1, hallado = 422,8). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,40 (s, 1H), 7,82 (m, 2H), 7,72 (m, 2H), 5,92 (q, J = 7,0 Hz, 1H), 1,92 (d, J = 7,0 Hz, 3H) ppm.

2-(1-(6-Clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona:



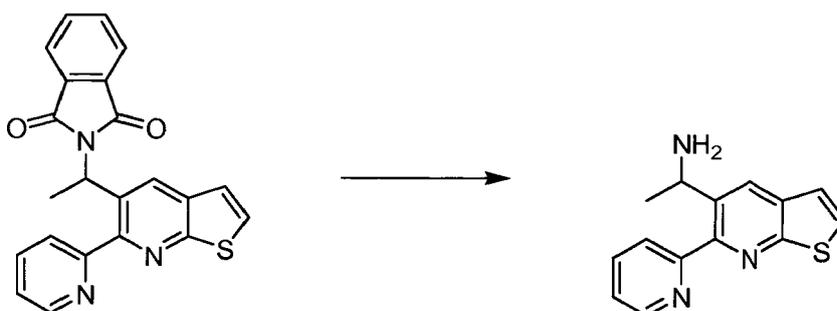
En un aparato de hidrogenación, se combinaron 2-(1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona (800 mg, 1,9 mmol) y paladio al 5% sobre carbono (151 mg). Se purgó el recipiente de reacción con nitrógeno y se añadieron 60 ml de acetato de etilo, 15 ml de etanol y 15 gotas de HCl concentrado. Se presurizó el recipiente de reacción con gas hidrógeno hasta 50 psi. Después de 4 días, se purgó el aparato con nitrógeno y se filtró el contenido a través de Celite. Se lavó la capa de Celite™ con acetato de etilo proporcionando una disolución naranja. Se eliminó el disolvente en el rotavapor y se redisolvió en diclorometano. Se le añadió gel de sílice (3,2 g) a la disolución en diclorometano y se eliminó el disolvente en el rotavapor. Se transfirió el gel de sílice a la cabeza de una columna de cromatografía y se eluyó con acetato de etilo al 15% en hexanos proporcionando 2-(1-(6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona y se recuperó 2-(1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona. CL/EM (M+1, hallado = 343,0). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,52 (s, 1H), 7,82 (m, 2H), 7,72 (m, 2H), 7,54 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 7,32 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 5,95 (q, J = 7,0 Hz, 1H), 1,95 (d, J = 7,0 Hz, 3H) ppm.

2-(1-(6-(Piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona:



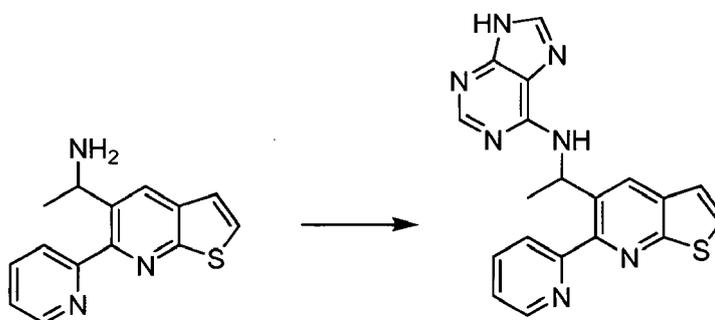
5 Se disolvió una mezcla de 2-(1-(6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona (300 mg, 0,875 mmol), 2-(tributylestannil)piridina (340 μ l, 1,05 mmol, 1,2 eq.) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (101 mg, 0,0875 mmol, 0,1 eq.) en 10 ml de dioxano bajo nitrógeno. Se calentó la reacción hasta 100°C durante 2 días, se enfrió hasta ta y se concentró a vacío. La purificación mediante cromatografía en columna usando acetato de etilo / hexanos proporcionó 2-(1-(6-(piridin-2-il)-tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona. CL/EM (M+1, hallado = 386,0). 1 H-RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,69 (s, 1H), 8,66 (ddd, J = 4,9, 1,6, 0,8 Hz, 1H), 7,76 (td, J = 7,8, 1,8 Hz, 1H), 7,73-7,62, serie de m, 5H), 7,57 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 7,31 (ddd, J = 7,2, 4,7, 1,4 Hz, 1H), 6,33 (q, J = 7,2 Hz, 1H), 1,99 (d, J = 7,2 Hz, 3H) ppm.

10 1-(6-(Piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etanamina



15 Se formó una suspensión espesa de 2-(1-(6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona (220 mg, 0,57 mmol) en etanol (5 ml). A esta suspensión espesa se le añadió hidrato de hidrazina (500 μ l, 10,3 mmol, 18 eq.). Se calentó la reacción hasta 60°C durante 2 h, entonces se enfrió hasta ta y se filtró. Se concentró el filtrado y se redisolvió en acetato de etilo y agua. Se separaron las fases y se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró a vacío proporcionando 1-(6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etanamina (134 mg, rendimiento del 91,9%). 1 H-RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,69 (ddd, J = 4,7, 1,6, 0,8 Hz, 1H), 8,39 (s, 1H), 7,87 (m, 2H), 7,57 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 7,34 (ddd, J = 6,8, 5,1, 2,0, 1H), 7,31 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 4,63 (q, J = 6,7 Hz, 1H), 1,44 (d, J = 6,7 Hz, 3H) ppm.

25 N-(1-(6-(Piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)-9H-purin-6-amina:



30 A un matraz de reacción que contenía 1-(6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etanamina (134 mg, 0,525 mmol), 6-cloropurina (97 mg, 0,63 mmol, 1,2 eq.) y diisopropiletilamina (137 μ l, 0,79 mmol, 1,5 eq.) se le añadió 5 ml de n-butanol. Se calentó la reacción hasta 110°C durante 24 h, entonces se enfrió hasta ta y se concentró a vacío. Se disolvió el residuo en acetato de etilo (~50 ml) con calor y sonicación, entonces se lavó con 5 ml de agua y 5 ml de salmuera. Se secó la fase orgánica sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna usando un gradiente del 0-80% de (DCM:MeOH: NH_4OH 90:9:1) en diclorometano proporcionó N-(1-(6-

(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)-9H-purin-6-amina racémica. El espectro de RMN a temperatura ambiente en CDCl_3 existe como una mezcla aproximadamente 3:1 de isómeros. $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,80 (d a, $J = 4,3$ Hz, 0,75 H), 8,73 (d a, $J = 3,1$ Hz, 0,25 H), 8,55 (s, 0,25 H), 8,36-8,26 (serie de m, 1,75 H), 8,15-8,03 (serie de m, 1,5 H), 7,93 (s a, 0,75 H), 7,88 (m, 1,4 H), 7,56 (m, 0,5 H), 7,55 (d, $J = 5,9$ Hz, 0,75 H), 7,37 (dd, $J = 6,6, 5,1$ Hz, 0,75 H), 7,26 (d, $J = 5,9$ Hz, 0,75 H), 7,20 (d, $J = 5,9$ Hz, 0,25 H), 6,65 (m, 0,25 H), 6,35 (m, 0,25 H), 6,15 (s a, 0,75 H), 1,55 (d, $J = 7,0$ Hz, 2,25 H), 1,35 (d, $J = 6,3$ Hz, 0,75 H) ppm. CL/EM (M+1, hallado = 374,0). La separación mediante CFS quiral del racemato proporcionó los enantiómeros individuales, (S)-N-(1-(6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)-9H-purin-6-amina y (R)-N-(1-(6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)-9H-purin-6-amina.

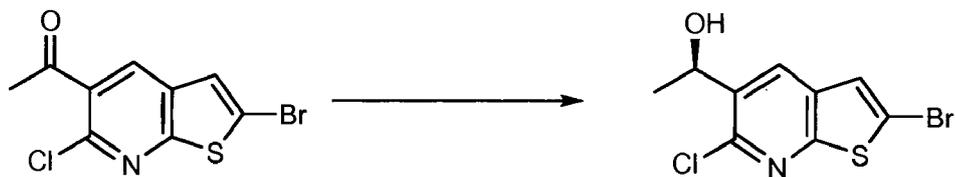
10 Ejemplo 2

1-(2-Bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol:



Se disolvió una porción de 2,2 g (7,5 mmol) de 1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)-etanol en tolueno y se trató con dióxido de manganeso (6,5 g, 75 mmol, 10 eq.). Se calentó la mezcla hasta 90°C durante la noche, entonces se enfrió hasta ta y se filtró a través de Celite™. Se enjuagó la torta de filtración con tolueno y se concentró proporcionando material bruto. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna usando acetato de etilo en hexanos proporcionando 1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol. CL/EM (M+1, hallado = 291,9). $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,17 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 2,75 (s, 3H) ppm.

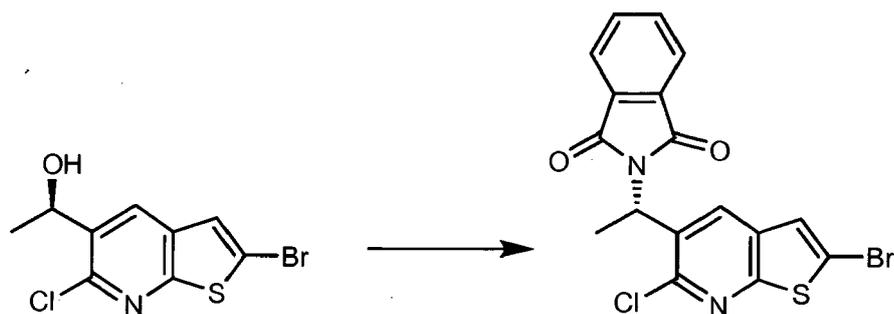
(R)-1-(2-Bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol:



En 30 ml de THF se disolvió (+)-DIP-Chloride(TM) (3,3 g, 10,2 mmol, 2,2 eq.) y se enfrió la disolución resultante hasta -55°C . A esta disolución se le añadió 1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol en 10 ml de THF mediante cánula, seguido por un enjuagado con 10 ml de THF. Se permitió que se calentase la reacción hasta TA lentamente durante la noche y luego se extinguió con 5 ml de acetona y Na_2CO_3 sat. al 50%. Después de agitar durante 1 h, se diluyó la reacción con acetato de etilo (100 ml) y se transfirió a un embudo de decantación. Se lavó la fase orgánica con 2 x 50 ml de Na_2CO_3 sat. al 50%, 2 x 50 ml de agua y 2 x 50 ml de salmuera.

Se secó la fase orgánica sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró. Se logró la purificación del producto bruto formando una suspensión espesa en 20 ml de agua y 50 ml de hexanos. Se filtró el sólido resultante y se secó durante la noche proporcionando un polvo blanco puro, (R)-1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol. HPLC quiral (Chiralcel-AD, isopropanol al 30% / hexanos) = e.e. del 92%. $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,22 (s, 1H), 7,31 (s, 1H), 5,32 (dq, $J = 5,9, 3,5$ Hz, 1H), 2,17 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H), 1,56 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H) ppm.

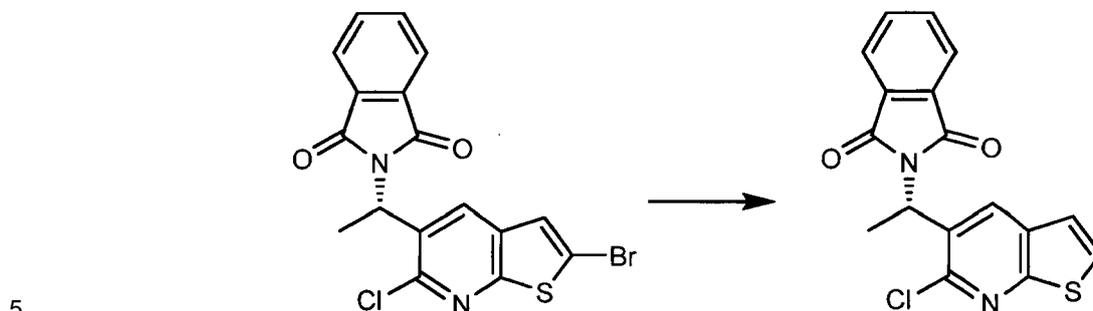
(S)-2-(1-(2-Bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona:



Se obtuvo (S)-2-(1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona a partir de (R)-1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol de la manera descrita para 2-(1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona racémica. CL/EM (M+1, hallado = 423,0). $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,40 (s, 1H), 7,82

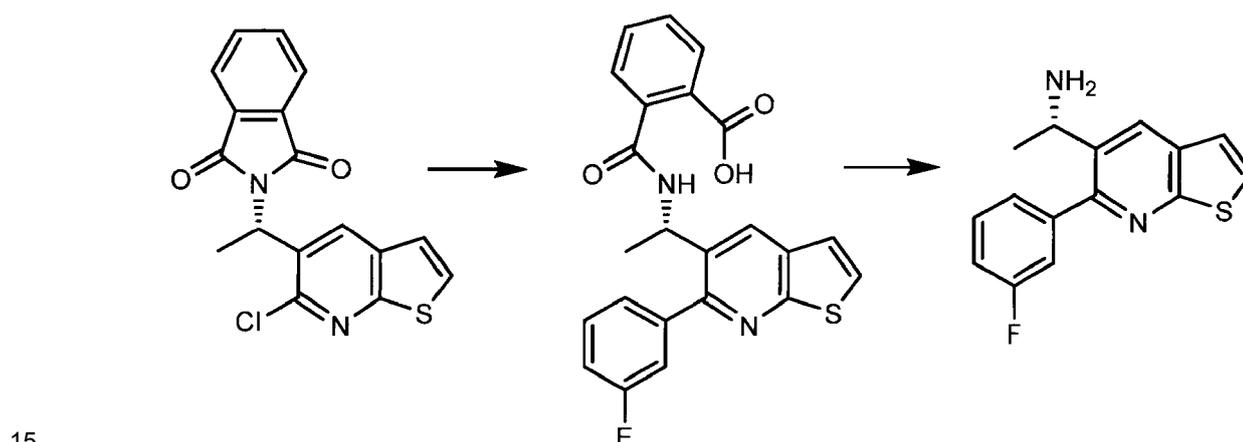
(m, 2H), 7,72 (m, 2H), 5,92 (q, $J = 7,0$ Hz, 1H), 1,92 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H) ppm.

(S)-2-(1-(6-Clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona:



10 Se obtuvo (S)-2-(1-(6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona a partir de (S)-2-(1-(2-bromo-6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona de la manera descrita para 2-(1-(6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona racémica. CL/EM (M+1, hallado = 343,0). $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,52 (s, 1H), 7,82 (m, 2H), 7,72 (m, 2H), 7,54 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 5,95 (q, $J = 7,0$ Hz, 1H), 1,95 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H) ppm.

(S)-1-(6-(3-Fluorofenil)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etanamina:

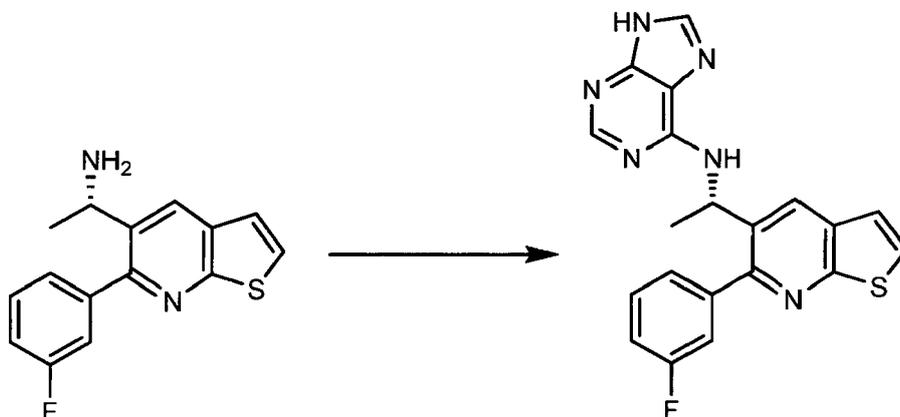


20 En un matraz de reacción de fondo redondo de 25 ml se combinó tetrakis(trifenil)-fosfina-paladio (0) (25 mg, 22 μmol), ácido 3-fluorofenilborónico (67 mg, 481 μmol), carbonato de sodio (232 mg, 2188 μmol) y (S)-2-(1-(6-clorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona (150 mg, 438 μmol). Se purgó el matraz de reacción con nitrógeno antes de la adición de 4 ml de acetonitrilo:agua 3:1. Se calentó la reacción hasta 90°C durante tres días, tiempo después del cual la reacción no era completa. Se sometió la reacción a tratamiento final eliminando el disolvente y repartiéndola entre 10 ml de diclorometano y 10 ml de agua. Se separó la fase de diclorometano y se extrajo con 10 ml de Na_2CO_3 sat. al 50%. Se ajustó el pH de las fases ac. combinadas a 1 usando 20 ml de HCl 1 N, formándose un sólido blanco. Se le añadió diclorometano para disolver el sólido y se separó la fase orgánica. Se extrajo la fase ac. dos veces con 10 ml de diclorometano y se secaron las fases orgánicas combinadas sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron. Se disolvió el material bruto en 3 ml de MeCN y 1 ml de agua. A esto se le añadió 115 mg de Na_2CO_3 , 35 mg de ácido 3-fluorofenilborónico y 13 mg de tetrakis-trifenilfosfina. Se calentó la reacción hasta 90°C durante la noche, entonces se enfrió hasta temperatura ambiente y se sometió a tratamiento final como anteriormente. Se sometió a cromatografía en columna (DCM:MEOH) proporcionando ácido 2-(((S)-1-(6-(3-fluorofenil)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)carbamoil)benzoico. Entonces se disolvió el producto en 3 ml de etanol y se trató con HCl concentrado (118 μl , 1427 μmol). Se calentó la reacción hasta 80°C durante 2 días, tiempo después del cual se le añadió una carga adicional de HCl (118 μl , 1427 μmol) y se calentó a 80°C durante 1 día. Se enfrió la reacción hasta ta y se diluyó con 6 ml de agua. Se ajustó el pH de la disolución a 10 usando NaOH 1 N. Se extrajo la reacción con diclorometano y se secó la fase orgánica sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. Se trató el residuo con 2 ml de etanol, formándose una suspensión. A esta suspensión se le añadió monohidrato de hidrazina (71 μl , 1427 μmol). Después de agitar a 60°C durante 2 h, se enfrió la reacción hasta ta y se diluyó con acetato de etilo, se filtró y se concentró. Se disolvió el residuo en 20 ml de acetato de etilo y se lavó con 1 x 3 ml de agua y 1 x 3 ml de salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró, se concentró proporcionando (1S)-1-(6-(3-fluorofenil)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etanamina en bruto. CL/EM (M+1, hallado = 273,0).

35

40

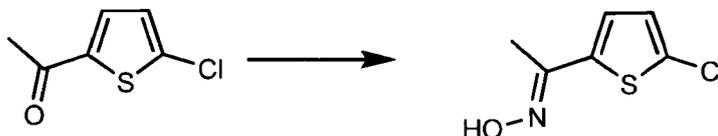
N-((S)-1-(6-(3-Fluorofenil)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)-9H-purin-6-amina:



- 5 En un matraz de reacción se combinó (1S)-1-(6-(3-fluorofenil)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etanamina (39 mg, 143 μ mol), 6-cloropurina (24 mg, 158 μ mol), base de Hunig (38 μ l, 215 μ mol) y n-butanol (1,5 ml). Se calentó la disolución hasta 110°C. Después de 24 h, se eliminó el disolvente y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna usando un gradiente del 0-70% de (CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH 90:9:1) en CH₂Cl₂ proporcionando N-((S)-1-(6-(3-fluorofenil)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)-9H-purin-6-amina. ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,90 (s a, 1H), 8,51 (s a, 1H), 8,34 (s a, 1H), 8,10 (m, 2H), 7,88 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 7,59 (m, 3H), 7,45 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 7,30 (t a, J = 6,3 Hz, 1H), 5,60 (s a, 1H), 1,44 (d a, J = 5,1 Hz, 3H) ppm. CL/EM (M+1, hallado = 391,1).

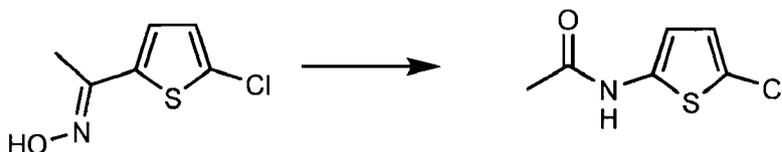
Ejemplo 3

15 Oxima de (E)-1-(5-clorotiofen-2-il)etanona:



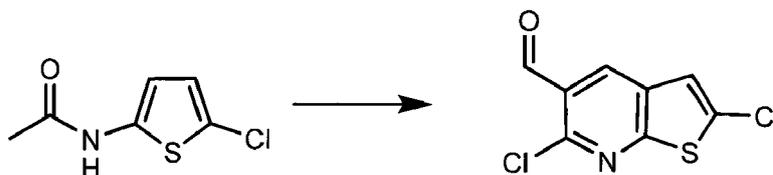
- 20 Se combinaron 1-(5-clorotiofen-2-il)etanona (100g, 622 mmol), clorhidrato de hidroxilamina (47,6 g, 685 mmol, 1,1 eq.) y acetato de sodio (56,2 g, 685 mmol, 1,1 eq.) en 1 l de etanol y 300 ml de agua. Se calentó la reacción a reflujo. Después de 3 h, se enfrió la reacción hasta ta y se concentró. Se formó una suspensión espesa del residuo en 500 ml de agua durante la noche, se filtró y se secó proporcionando el sólido bruto. Se purificó mediante extracción del sólido con diclorometano caliente, enfriamiento hasta ta y filtración para retirar el material de partida sin reaccionar. Se formó una suspensión espesa del sólido en diclorometano caliente varias veces para extraer el sólido enriquecido en el compuesto que eluyó en primer lugar (oxima E) (DCM al 100%) después de concentración. Se purificó el material altamente cristalino mediante cromatografía en columna usando diclorometano al 100% proporcionando oxima de (E)-1-(5-clorotiofen-2-il)etanona. RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,31 (s, 1H), 7,21 (d, J = 3,9 Hz, 1H), 7,07 (d, J = 3,9 Hz, 1H), 2,12 (s, 3H) ppm.

30 N-(5-Clorotiofen-2-il)acetamida:



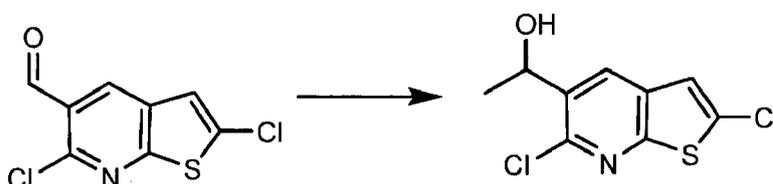
- 35 Se disolvió oxima de (E)-1-(5-clorotiofen-2-il)etanona (10,7 g, 60,9 mmol) en 180 ml de acetona. A esta disolución se le añadió cloruro de 4-metilbenceno-1-sulfonilo (11,61 g, 60,9 mmol, 1 eq.) e hidróxido de sodio (2,437 g, 60,9 mmol, 1 eq.) en 61 ml de agua a 0°C. Se permitió que se calentase la reacción hasta ta a lo largo de 1 h. Después de 3 h, se calentó la reacción hasta 60°C durante 1,5 h. Después de enfriar hasta ta, se eliminó el disolvente a vacío. Se disolvió el residuo en acetato de etilo (300 ml) y se lavó con agua, NaHCO₃ sat. y salmuera. Se secó la fase orgánica sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. Se formó una suspensión espesa del residuo en 60 ml de diclorometano caliente, se enfrió hasta 0°C y se filtró proporcionando N-(5-clorotiofen-2-il)acetamida como un polvo gris. RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,34 (s, 1H), 6,83 (d, J = 3,9, 1H), 6,42 (d, J = 3,9 Hz, 1H), 2,05 (s, 3H) ppm.

2,6-Diclorotieno [2,3-b]piridin-5-carbaldehído:



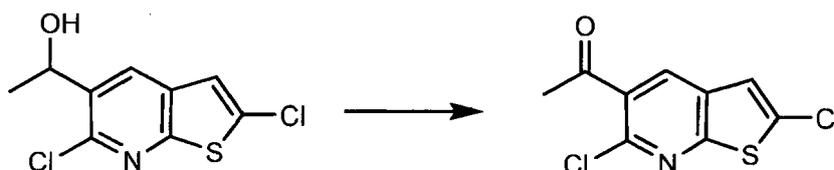
5 A tricloruro de fosforilo (32,8 ml, 359 mmol) a 0°C se le añadió N,N-dimetil-formamida (11,90 ml, 154 mmol) gota a gota. Después de agitar durante 20 min, se calentó la disolución hasta ta durante 30 min y se le añadió N-(5-clorotiofen-2-il)acetamida (9 g, 51,2 mmol) como un sólido. Se calentó la mezcla hasta 75°C durante 4 h, se enfrió hasta ta y se vertió en 500 g de hielo-agua. Se agitó la reacción extinguida en un baño de hielo durante 30 minutos y se filtró. Se secó el sólido a vacío durante la noche proporcionando el sólido bruto. Se extrajo el sólido bruto con acetato de etilo en ebullición y se decantó para separarlo de su alquitrán insoluble. Se concentró la fase orgánica y se recristalizó el residuo en acetato de etilo proporcionando el producto puro. Se hicieron pasar las aguas madre a través de un lecho de gel de sílice y se recristalizaron en acetato de etilo proporcionando producto adicional, 2,6-diclorotieno[2,3-b]piridin-5-carbaldehído. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 10,50 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 7,25 (s, 1H) ppm.

15 1-(2,6-Diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol:



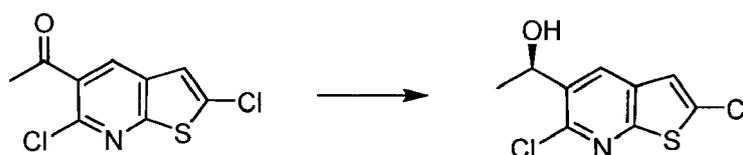
20 A un matraz de reacción que contenía 2,6-diclorotieno[2,3-b]piridin-5-carbaldehído (5,1 g, 21,97 mmol) en 300 ml de THF a -20°C se le añadió cloruro de metilmagnesio, disolución 3,0 M en tetrahidrofurano (7,69 ml, 23,07 mmol) gota a gota. Después de 1 h, se le añadió una carga adicional de 0,7 ml de MeMgCl. Después de 15 min, se extinguió la reacción mediante la adición de 50 ml de NH₄Cl sat. y 50 ml de agua. Después de calentar hasta ta, se le añadió acetato de etilo y se separó la fase orgánica y se lavó con agua y salmuera. Se secó la fase orgánica sobre MgSO₄, se filtró y se concentró proporcionando 1-(2,6-diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)-etanol. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,19 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 5,32 (qdd, J = 6,3, 3,5, 0,8 Hz, 1H), 2,07 (J = 3,5 Hz, 1H), 1,56 (d, J = 6,6 Hz, 3H) ppm.

25 1-(2,6-Diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanona:



30 A una disolución de 1-(2,6-diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol (5 g, 20,15 mmol) en 200 ml de tolueno anhidro se le añadió MnO₂ (14 g, 161 mmol). Se calentó la reacción a reflujo durante la noche, se enfrió hasta ta, se filtró a través de Celite™ y se enjuagó con acetato de etilo. La concentración y purificación mediante cromatografía en columna proporcionaron 1-(2,6-diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanona. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,15 (s, 1H), 7,19 (s, 1H), 2,75 (s, 3H) ppm.

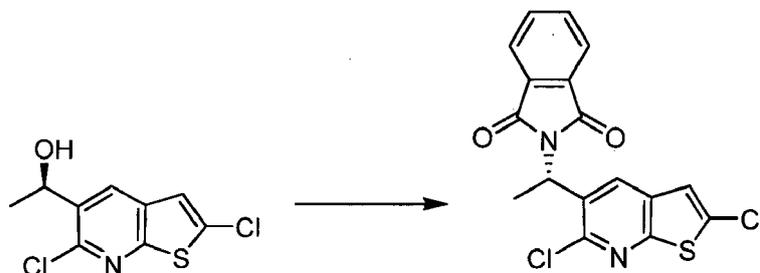
35 (R)-1-(2,6-Diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol:



40 Se disolvió 1-(2,6-diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanona (3,6 g, 14,63 mmol) en THF (100 ml) y se enfrió hasta -55°C en un baño de hielo seco / MeCN. A esta disolución se le añadió una disolución de (+)-DIP-Chloride(TM) (10,32 g, 32,2 mmol) en THF gota a gota. Se permitió que se calentase la reacción lentamente hasta ta durante la noche y se extinguió mediante la adición de 10 ml de acetona y 50 ml de Na₂CO₃ sat. al 50%. Se agitó la reacción durante 1 h y se diluyó con 400 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con 2 x 100 ml de Na₂CO₃ sat. al 50%, 2 x 100 ml

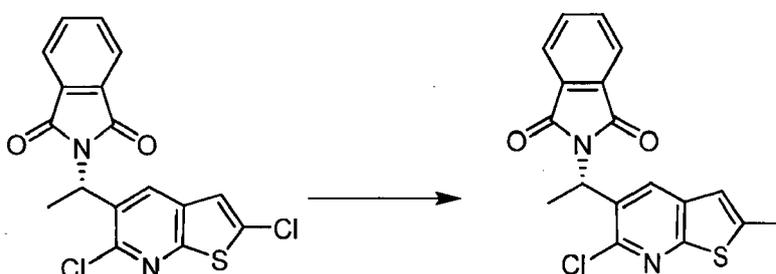
de agua y 2 x 100 ml de salmuera. Se secó la reacción sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró. Se formó una suspensión espesa del residuo en 100 ml de agua / 200 ml de hexanos durante 3 h para formar un prec. blanco que se filtró y se secó proporcionando (R)-1-(2,6-diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etanol. Se halló que el exceso enantiomérico determinado mediante HPLC quiral era = 99%. $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,19 (d, $J = 0,8$ Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 5,32 (qdd, $J = 6,3, 3,5, 0,8$ Hz, 1H), 2,07 ($J = 3,5$ Hz, 1H), 1,56 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H) ppm.

(S)-2-(1-(2,6-Diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona:



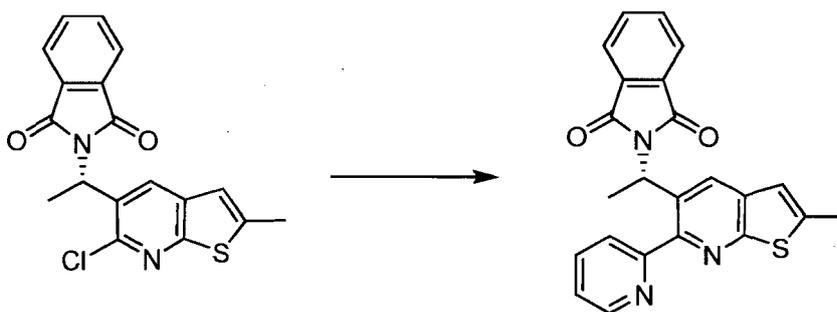
En un matraz de reacción se combinó ftalimida (1,530 g, 10,40 mmol), trifenilfosfina (2,73 g, 10,40 mmol), (R)-1-(2,6-diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)-etanol (2,15 g, 8,66 mmol) y tetrahidrofurano (57,8 ml). Se enfrió la reacción hasta 0°C y se le añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (2,043 ml, 10,40 mmol). Se retiró la reacción del baño de hielo y se permitió que se calentase hasta ta y se agitase durante la noche. Se diluyó la reacción con acetato de etilo y se lavó con NaHCO_3 y salmuera. Se secó la fase orgánica sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró. La purificación usando acetato de etilo al 5-10% en hexanos proporcionó (S)-2-(1-(2,6-diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona. $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,37 (s, 1H), 7,82 (m, 2H), 7,73 *m, 2H), 7,18 (s, 1H), 5,90 (q, 7,3 Hz, 1H), 1,90 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H) ppm.

(S)-2-(1-(6-Cloro-2-metiltieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona:



En un recipiente para microondas se combinó carbonato de potasio (183 mg, 1,325 mmol), trimetilboroxina (0,018 ml, 0,133 mmol), (S)-2-(1-(2,6-diclorotieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona (100 mg, 0,265 mmol), tetrakis-trifenil-fosfina-paladio (0) (45,9 mg, 0,040 mmol) y 2,5 ml de DMF. Se sometió la reacción a calentamiento mediante microondas durante 30 min a 120°C . Después de enfriar, se disolvió la reacción en acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna proporcionó la (S)-2-(1-(6-cloro-2-metiltieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona impura (30 mg, 0,084 mmol, rendimiento del 31,7%). $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,31 (s, 1H), 7,81 (m, 2H), 7,71 (m, 2H), 6,95 (q, 1,2 Hz, 1H), 5,91 (q, $J = 6,8$ Hz, 1H), 2,60 (d, $J = 1,2$ Hz, 3H), 1,91 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H) ppm.

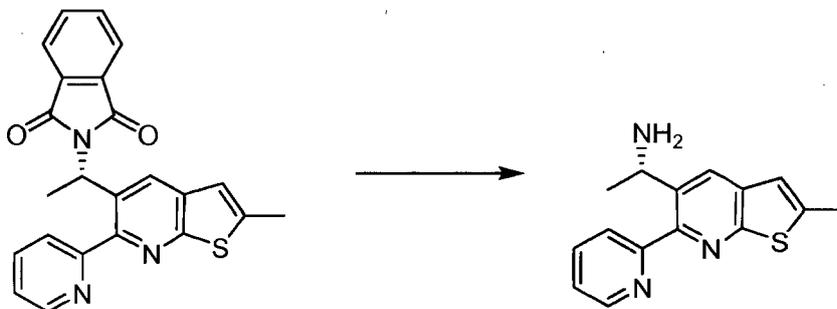
(S)-2-(1-(2-Metil-6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona:



En un recipiente de reacción se combinó 2-(1,1,1-tributylestannil)piridina (0,124 ml, 0,370 mmol), tetrakis-trifenilfosfina (0) (35,6 mg, 0,031 mmol), (S)-2-(1-(6-cloro-2-metiltieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona

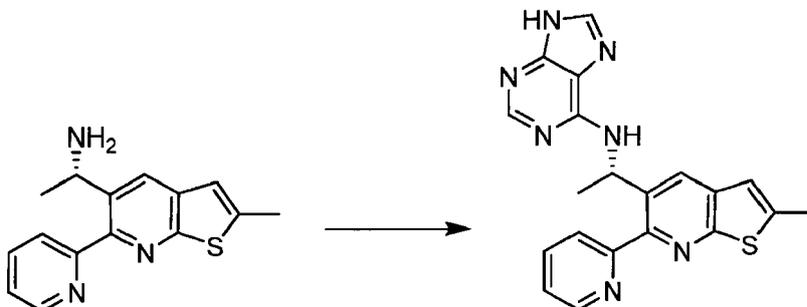
(110 mg, 0,308 mmol) en dioxano (3 ml). Se calentó la reacción hasta 100°C durante 2 d, se enfrió hasta ta y se diluyó con acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con NaHCO₃ y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna proporcionó (S)-2-(1-(2-metil-6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,64 (ddd, J = 4,7, 1,8, 0,8 Hz, 1 H), 7,72 (td, J = 7,8, 2,0 Hz, 1H), 7,67 (m, 3H), 7,62 (m, 2H), 7,29 (ddd, J = 7,4, 4,9, 1,6 Hz, 1H), 6,98 (q, J = 1,4 Hz, 1H), 6,30 (q, J = 7,0 Hz, 1H), 2,60 (d, J = 1,2 Hz, 3H), 1,97 (d, J = 7,2 Hz, 3H) ppm.

(S)-1-(2-Metil-6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etanamina:



Se calentó (S)-2-(1-(2-metil-6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)isoindolin-1,3-diona (60 mg, 0,150 mmol) en una suspensión espesa en 3,5 ml de etanol hasta 60°C y se le añadió monohidrato de hidrazina (73,0 μl, 1,502 mmol). Se agitó la reacción a 60°C durante 2 h, se enfrió hasta TA y se diluyó con acetato de etilo. Se filtró la reacción y se concentró. Se redisolvió el residuo resultante en acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró proporcionando (S)-1-(2-metil-6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etanamina en bruto. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,67 (ddd, J = 4,9, 2,7, 1,2 Hz, 1H), 8,19 (s, 1 H), 7,85 (m, 2H), 7,32 (ddd J = 7,0, 4,9, 1,8 Hz, 1H), 6,93 (q, J = 1,2 Hz, 1H), 4,60 (q, J = 6,6 Hz, 1H), 2,63 (d, J = 1,2 Hz, 3H), 2,20 (s a, 3H), 1,43 (d, J = 6,6 Hz, 3H) ppm. CL/EM (M+1, hallado = 270,1).

(S)-N-(1-(2-Metil-6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)-9H-purin-6-amina:



Se disolvió 6-cloropurina (26,4 mg, 0,171 mmol), (S)-1-(2-metil-6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etanamina (40 mg, 0,148 mmol) y base de Hunig (38,9 μl, 0,223 mmol) en 2 ml de n-butanol y se calentó hasta 120°C durante la noche. Se enfrió la reacción hasta ta y se purificó mediante cromatografía de fase inversa proporcionando (S)-N-(1-(2-metil-6-(piridin-2-il)tieno[2,3-b]piridin-5-il)etil)-9H-purin-6-amina. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 12,5 (s a, 1H), 8,78 (m a, 1H), 8,55-7,80 (serie de m, 6H), 7,60-7,30 (m a, 1H), 7,26 (m, 1H), 6,89 (s a, 1H), 6,40-6,00 (m a, 1H), 2,60 (s a, 3H), 1,60-1,25 (serie de M, 3H). CL/EM (M+1, hallado = 388,1).

Ensayos biológicos

Expresión recombinante de PI3K

Se coexpresaron subunidades p110 de longitud completa de PI3K α, β y δ, marcadas en el extremo N-terminal con cola de poliHis, con p85 con vectores de expresión de baculovirus en células de insecto sf9. Se purificaron heterodímeros de p110/p85 mediante cromatografía secuencial de Ni-NTA, Q-HP, Superdex-100. Se almacenaron las isozimas α, β y δ purificadas a -20°C en Tris 20 mM, pH 8, NaCl 0,2 M, glicerol al 50%, DTT 5 mM, colato de Na 2 mM. Se expresaron los residuos 114-1102 de PI3Kγ truncados, marcados en el extremo N-terminal con cola de poliHis, con baculovirus en células de insecto Hi5. Se purificó la isozima γ mediante cromatografía secuencial de Ni-NTA, Superdex-200, Q-HP. Se almacenó la isozima γ congelada a -80°C en NaH₂PO₄, pH 8, NaCl 0,2 M, etilenglicol al 1%, β-mercaptoetanol 2 mM.

	Alfa	Beta	Delta	gamma
Tris 50 mM	pH 8	pH 7,5	pH 7,5	pH 8
MgCl ₂	15 mM	10 mM	10 mM	15 mM
Colato de Na	2 mM	1 mM	0,5 mM	2 mM
DTT	2 mM	1 mM	1 mM	2 mM
ATP	1 uM	0,5 uM	0,5 uM	1 uM
PIP2	ninguna	2,5 uM	2,5 uM	ninguna
tiempo	1 h	2 h	2 h	1 h
[Enzima]	15 nM	40 nM	15 nM	50 nM

Ensayos enzimáticos *in vitro*.

5 Se realizaron ensayos en 25 μ l con las concentraciones finales anteriores de componentes en placas de polipropileno blancas (Costar 3355). El fosfoceptor de fosfatidilinositol, PtdIns(4,5)P2 P4508, procedía de Echelon Biosciences. La actividad ATPasa de las isozimas alfa y gamma no se vio muy estimulada por PtdIns(4,5)P2 en estas condiciones y por tanto se omitió del ensayo de estas isozimas. Se disolvieron los compuestos de prueba en dimetilsulfóxido y se diluyeron con diluciones en serie de tres veces. Se añadió el compuesto en DMSO (1 μ l) por
10 pocillo de prueba, y se determinó la inhibición con relación a reacciones que no contenían compuesto, con y sin enzima. Después de la incubación del ensayo a ta, se detuvo la reacción y se determinó el ATP residual mediante la adición de un volumen igual de un kit de bioluminiscencia de ATP comercial (EasyLite de Perkin Elmer) según las instrucciones del fabricante, y se detectó usando un luminómetro AnalystGT.

15 Proliferación de células B humanas estimulada por anti-IgM

Aislamiento de células B humanas:

20 Aislar PBMC de Leukopac o de sangre fresca humana. Aislar células B humanas usando el protocolo de Miltenyi y el kit de aislamiento de células B II. Se purificaron las células B humanas usando la columna AutoMacs.

Activación de células B humanas

25 Usar placa de fondo plano de 96 pocillos, sembrar en placa 50000 células B purificadas/pocillo en medio de proliferación de células B (DMEM + FCS al 5%, Hepes 10 mM, 2-mercaptoetanol 50 μ M); 150 μ l de medio contienen proteína recombinante CD40L-LZ 250 ng/ml (Amgen) y anticuerpo anti-IgM humana 2 μ g/ml (Jackson ImmunoResearch Lab. n.º 109-006-129), mezclados con 50 μ l de medio de células B que contiene inhibidores de PI3K e incubar durante 72 h en incubador a 37°C. Después de 72 h, marcar con pulsos las células B con 0,5-1 uCi de ³H-timidina/pocillo durante la noche ~18 h, y recoger las células usando el colector TOM.

30 Proliferación de células B humanas estimulada por IL-4

Aislamiento de células B humanas:

35 Aislar PBMC humanas de Leukopac o de sangre fresca humana. Aislar células B humanas usando el protocolo de Miltenyi y el kit de aislamiento de células B. Se purificaron las células B humanas mediante la columna AutoMacs.

Activación de células B humanas

40 Usar placa de fondo plano de 96 pocillos, sembrar en placa 50000 células B purificadas/pocillo en medio de proliferación de células B (DMEM + FCS al 5%, 2-mercaptoetanol 50 μ M, Hepes 10 mM). El medio (150 μ l) contiene proteína recombinante CD40L-LZ 250 ng/ml (Amgen) e IL-4 10 ng/ml (R&D System n.º 204-IL-025), mezclado con 50 - 150 μ l de medio de células B que contiene compuestos e incubar durante 72 h en incubador a 37°C. Después de 72 h, marcar con pulsos las células B con 0,5-1 uCi de ³H-timidina/pocillo durante la noche ~18 h, y recoger las células usando el colector TOM.

45 Ensayos de proliferación de PBMC humanas inducidas por antígeno específico de células T (toxoides tetánico)

50 Se preparan PBMC humanas a partir de reservas congeladas o se purifican a partir de sangre humana fresca usando un gradiente de Ficoll. Usar placa de fondo redondo de 96 pocillos y sembrar en placa 2x10⁵ PBMC/pocillo con medio de cultivo (RPMI1640 + FCS al 10%, 2-mercaptoetanol 50 uM, Hepes 10 mM). Para determinaciones de Cl₅₀, se sometieron a prueba inhibidores de PI3K desde 10 μ M hasta 0,001 μ M, en incrementos semilogarítmicos y por triplicado. Se le añadió toxoide tetánico, antígeno específico de células T (Universidad de Massachusetts Lab) a 1 μ g/ml y se incubó 6 días en incubador a 37°C. Se recogen los sobrenadantes después de 6 días para ensayo
55 ELISA de IL2, entonces se pulsan las células con ³H-timidina durante ~18 h para medir la proliferación.

Ensayos de GFP para detectar la inhibición PI3K de clase Ia y clase III

5 AKT1 (PKBa) está regulada por PI3K de clase Ia activada por mediante factores mitogénicos (IGF-1, PDGF, insulina, trombina, NGF, etc.). En respuesta a estímulos mitogénicos, AKT1 se transloca del citosol a la membrana plasmática.

Forkhead (FKHRL1) es un sustrato para AKT1. Es citoplasmática cuando se fosforila por AKT (supervivencia/crecimiento).

10 Inhibición de AKT (estasis/apoptosis) - translocación de Forkhead al núcleo

Los dominios FYVE se unen a PI(3)P. La mayoría se genera mediante la acción constitutiva de PI3K clase III

Ensayo de ondulamiento de membrana de AKT (células CHO-IR-AKT1-EGFP/GE Healthcare)

15 Lavar las células con tampón de ensayo. Tratar con compuestos en tampón de ensayo durante 1 h. Añadir insulina 10 ng/ml. Fijar después de 10 min a temperatura ambiente y obtener imágenes

Ensayo de translocación de Forkhead (células MDA MB468 Forkhead-DiversaGFP)

20 Tratar las células con compuesto en medio de crecimiento durante 1 h. Fijar y obtener imágenes.

Ensayo de PI(3)P de clase III (células U2OS EGFP-2XFYVE/GE Healthcare)

25 Lavar las células con tampón de ensayo. Tratar con compuestos en tampón de ensayo durante 1 h. Fijar y obtener imágenes.

El control para los 3 ensayos es wortmanina 10 μ M:

30 AKT es citoplasmática

Forkhead es nuclear

35 PI(3)P reducido de endosomas

Ensayo de biomarcadores: estimulación por receptores de células B de la expresión de CD69 o B7.2 (CD86)

40 Se estimuló sangre completa humana heparinizada con anti-IgD 10 μ g/ml (Southern Biotech, n.º 9030-01). Se tomaron entonces alícuotas de 90 μ l de la sangre estimulada por pocillo de una placa de 96 pocillos y se trataron con 10 μ l de diversas concentraciones de compuesto de bloque (desde 10-0,0003 μ M) diluido en IMDM + FBS al 10% (Gibco). Se incubaron las muestras juntas durante de 4 h (para la expresión de CD69) a 6 h (para la expresión de B7.2) a 37°C. Se transfirió la sangre tratada (50 μ l) a una placa de pocillos profundos, de 96 pocillos (Nunc) para la tinción de anticuerpo con 10 μ l de cada uno de CD45-PerCP (BD Biosciences, n.º 347464), CD19-FITC (BD Biosciences, n.º 340719) y CD69-PE (BD Biosciences, n.º 341652). Se transfirieron los segundos 50 μ l de la sangre tratada a una segunda placa de pocillos profundos, de 96 pocillos para la tinción de anticuerpo con 10 μ l de cada uno de CD19-FITC (BD Biosciences, n.º 340719) y CD86-PeCy5 (BD Biosciences, n.º 555666). Se realizaron todas las tinciones durante 15-30 min en la oscuridad a ta. Entonces se lisó la sangre y se fijó usando 450 μ l de disolución de lisis para FACS (BD Biosciences, n.º 349202) durante 15 min a ta. Entonces se lavaron las muestras 2 veces en PBS + FBS al 2% antes del análisis mediante FACS. Se clasificaron las muestras o bien en células doblemente
50 positivas para CD45/CD19 para la tinción de CD69, o bien células positivas para CD19 para la tinción de CD86.

Contraselección gamma: estimulación de monocitos humanos para la expresión de fosfo-AKT

55 Se mantuvo una línea celular de monocitos humanos, THP-1, en RPMI + FBS al 10% (Gibco). Un día antes de la estimulación, se contaron las células usando exclusión con azul tripano en un hemocitómetro y se suspendieron a una concentración de 1×10^6 células por ml de medios. Entonces se tomaron alícuotas de 100 μ l de células más medios (1×10^5 células) por pocillo de placas de pocillos profundos de 4-96 pocillos (Nunc) para someter a prueba ocho compuestos diferentes. Se dejaron en reposo las células durante la noche antes del tratamiento con diversas concentraciones (desde 10-0,0003 μ M) de compuesto de bloqueo. Se añadió el compuesto diluido en medios (12 μ l) a las células durante 10 min a 37°C. Se diluyó MCP-1 humana (12 μ l, R&D Diagnostics, n.º 279-MC) en medios y se añadió a cada pocillo a una concentración final de 50 ng/ml. La estimulación duró 2 min a ta. Se añadió tampón de lisis/fijación Phosflow para FACS precalentado (1 ml de 37°C) (BD Biosciences, n.º 558049) a cada pocillo. Entonces se incubaron las placas a 37°C durante unos 10-15 min adicionales. Se centrifugaron las placas a 1500 rpm durante 10 min, se retiró por aspiración el sobrenadante y se añadió 1 ml de MeOH al 90% enfriado en hielo a cada pocillo
65 con agitación vigorosa. Entonces se incubaron las placas o bien durante la noche a -70°C o bien en hielo durante

30 min antes de la tinción de anticuerpo. Se centrifugaron las placas y se lavaron 2 veces en PBS + FBS al 2% (Gibco). Se aspiró el lavado y se suspendieron las células en el tampón restante. Se añadió pAKT de conejo (50 µl, Cell Signaling, n.º 4058L) a 1:100, a cada muestra durante 1 h a ta con agitación. Se lavaron las células y se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 min. Se aspiró el sobrenadante y se suspendieron las células en el tampón restante. Se añadió anticuerpo secundario, anticuerpo de cabra anti-Alexa 647 de conejo (50 µl, Invitrogen, n.º A21245) a 1:500, durante 30 min a ta con agitación. Entonces se lavaron las células 1 vez en tampón y se suspendieron en 150 µl de tampón para análisis mediante FACS. Es necesario dispersar las células muy bien mediante pipeteo antes de aplicarlas en un citómetro de flujo. Se aplicaron las células a un aparato LSR II (Becton Dickinson) y se clasificaron con dispersión directa y lateral para determinar los niveles de expresión de pAKT en la población de monocitos.

Contraselección gamma: estimulación de monocitos para la expresión de fosfo-AKT en médula ósea de ratón

Se diseccionaron fémures de ratón de cinco ratones BALB/c hembra (Charles River Labs.) y se recogieron en medios RPMI + FBS al 10% (Gibco). Se retiró la médula ósea de ratón mediante corte de los extremos del fémur y mediante lavado con 1 ml de medios usando una aguja de calibre 25. Entonces se dispersó la médula ósea en medios usando una aguja de calibre 21. Se aumentó el volumen de medios hasta 20 ml y se contaron las células usando exclusión con azul tripano en un hemocitómetro. Entonces se aumentó la suspensión celular hasta $7,5 \times 10^6$ células por 1 ml de medios y se tomaron alícuotas de 100 µl ($7,5 \times 10^5$ células) por pocillo en placas de pocillos profundos de 4-96-pocillos (Nunc) para someter a prueba ocho compuestos diferentes. Se dejaron en reposo las células a 37°C durante 2 h antes del tratamiento con diversas concentraciones (desde 10-0,0003 µM) de compuesto de bloqueo. Se añadió el compuesto diluido en medios (12 µl) a células de médula ósea durante 10 min a 37°C. Se diluyó MCP-1 de ratón (12 µl, R&D Diagnostics, n.º 479-JE) en medios y se añadió a cada pocillo a una concentración final de 50 ng/ml. La estimulación duró 2 min a ta. Se añadió 1 ml de tampón de lisis/fijación Phosflow para FACS precalentado a 37°C (BD Biosciences, n.º 558049) a cada pocillo. Entonces se incubaron las placas a 37°C durante unos 10-15 min adicionales. Se centrifugaron las placas a 1500 rpm durante 10 min. Se retiró por aspiración el sobrenadante y se añadió 1 ml de MeOH al 90% enfriado en hielo a cada pocillo con agitación vigorosa. Entonces se incubaron las placas o bien durante la noche a -70°C o bien en hielo durante 30 min antes de la tinción de anticuerpo. Se centrifugaron las placas y se lavaron 2 veces en PBS + FBS al 2% (Gibco). Se aspiró el lavado y se suspendieron las células en el tampón restante. Se añadió entonces Fc block (2 µl, BD Pharmingen, n.º 553140) por pocillo durante 10 min a ta. Después del bloqueo, se añadieron 50 µl de anticuerpos primarios diluidos en tampón; CD11b-Alexa488 (BD Biosciences, n.º 557672) a 1:50, CD64-PE (BD Biosciences, n.º 558455) a 1:50 y pAKT de conejo (Cell Signaling, n.º 4058L) a 1:100, a cada muestra durante 1 h a TA con agitación. Se añadió tampón de lavado a las células y se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 min. Se aspiró el sobrenadante y se suspendieron las células en el tampón restante. Se añadió anticuerpo secundario; anticuerpo de cabra anti-Alexa 647 de conejo (50 µl, Invitrogen, n.º A21245) a 1:500, durante 30 min a ta con agitación. Entonces se lavaron las células 1 vez en tampón y se suspendieron en 100 µl de tampón para análisis mediante FACS. Se aplicaron las células en un aparato LSR II (Becton Dickinson) y se clasificaron en células doblemente positivas para CD11b/CD64 para determinar los niveles de expresión de pAKT en la población de monocitos.

Ensayo de pAKT *in vivo*

Se administran vehículo y compuestos por v.o. (0,2 ml) mediante sonda nasogástrica (aguja de sonda nasogástrica de Popper & Sons, New Hyde Park, NY) a ratones (línea transgénica 3751, hembras, de 10-12 semanas. Amgen Inc, Thousand Oaks, CA) 15 min antes de la inyección i.v. (0,2 ml) de anti-IgM-FITC (50 µg/ratón) (Jackson Immuno Research, West Grove, PA). Después de 45 min se sacrifican los ratones dentro de una cámara de CO₂. Se extrae sangre mediante punción cardíaca (0,3 ml) (jeringas de 25 g de 1 cc, Sherwood, St. Louis, MO) y se transfiere a un vial cónico de 15 ml (Nalge/Nunc International, Dinamarca). Se fija inmediatamente la sangre con 6,0 ml de tampón de lisis/fijación BD Phosflow (BD Bioscience, San Jose, CA), se invierten 3 veces y se colocan en un baño de agua a 37°C. Se extirpó la mitad del bazo y se transfirió a un tubo Eppendorf que contenía 0,5 ml de PBS (Invitrogen Corp, Grand Island, NY). Se trituró el bazo usando una trituradora de tejido (Pellet Pestle, Kimble/Kontes, Vineland, NJ) y se fijó inmediatamente con 6,0 ml de tampón de lisis/fijación BD Phosflow, se invirtió 3 veces y se colocó en un baño de agua a 37°C. Una vez que se han recogido los tejidos, se somete el ratón a dislocación cervical y se desecha la canal. Después de 15 min, se retiran los viales cónicos de 15 ml del baño de agua a 37°C y se colocan en hielo hasta que se procesan adicionalmente los tejidos. Se filtran los bazos triturados a través de un filtro de células de 70 µm (BD Bioscience, Bedford, MA) a otro vial cónico de 15 ml y se lava con 9 ml de PBS. Se centrifugan los esplenocitos y la sangre a 2.000 rpm durante 10 min (frío) y se aspira el tampón. Se resuspenden las células en 2,0 ml de alcohol metílico al 90% frío (-20°C) (Mallinckrodt Chemicals, Phillipsburg, NJ). Se añade lentamente MeOH mientras que se agita en vórtex rápidamente el vial cónico. Entonces se almacenan los tejidos a -20°C hasta que pueden tefirse las células para análisis mediante FACS.

Inmunización de TNP de múltiples dosis

Se recogió sangre mediante extracciones retroorbitarias de ratones hembra BALB/c de 7-8 semanas de edad (Charles River Labs.) en el día 0 antes de la inmunización. Se permitió que se coagulase la sangre durante 30 min y

se centrifugó a 10.000 rpm en tubos Microtainer para suero (Becton Dickinson) durante 10 min. Se recogieron los sueros, se tomaron alícuotas en tubos Matrix (Matrix Tech. Corp.) y se almacenaron a -70°C hasta que se realizó el ELISA. Se les administró a los ratones compuesto por vía oral antes de la inmunización y en periodos de tiempo posteriores basándose en la vida de la molécula. Entonces se inmunizaron los ratones con o bien 50 µg de TNP-LPS (Biosearch Tech., n.º T-5065), 50 µg de TNP-Ficoll (Biosearch Tech., n.º F-1300) o bien 100 µg de TNP-KLH (Biosearch Tech., n.º T-5060) más alumbre al 1% (Brenntag, n.º 3501) en PBS. Se preparó la disolución de TNP-KLH más alumbre mediante inversión suave de la mezcla 3-5 veces cada 10 min durante 1 h antes de la inmunización. En el día 5, tras el último tratamiento, se sacrificaron los ratones con CO₂ y se les realizó punción cardiaca. Se permitió que se coagulase la sangre durante 30 min y se centrifugó a 10.000 rpm en tubos Microtainer para suero durante 10 min. Se recogieron los sueros, se tomaron alícuotas en tubos Matrix y se almacenaron a -70°C hasta que se realizó el análisis adicional. Entonces se midieron los niveles de IgG1, IgG2a, IgG3 e IgM específicas de TNP en los sueros mediante ELISA. Se usó TNP-BSA (Biosearch Tech., n.º T-5050) para capturar los anticuerpos específicos de TNP. Se usó TNP-BSA (10 µg/ml) para recubrir placas para ELISA de 384 pocillos (Coming Costar) durante la noche. Entonces se lavaron las placas y se bloquearon durante 1 h usando disolución de bloqueo para ELISA de BSA al 10% (KPL). Después del bloqueo, se lavaron las placas para ELISA y se diluyeron en serie muestras/patrones de suero y se permitió que se unieran a las placas durante 1 h. Se lavaron las placas y se diluyeron anticuerpos secundarios conjugados con Ig-HRP (anticuerpo de cabra anti-IgG1 de ratón, Southern Biotech n.º 1070-05, anticuerpo de cabra anti-IgG2a de ratón, Southern Biotech n.º 1080-05, anticuerpo de cabra anti-IgM de ratón, Southern Biotech n.º 1020-05, anticuerpo de cabra anti-IgG3 de ratón, Southern Biotech n.º 1100-05) a 1:5000 y se incubaron en las placas durante 1 h. Se usó disolución de TMB-peroxidasa (SureBlue Reserve TMB de KPL) para visualizar los anticuerpos. Se lavaron las placas y se permitió que se revelasen las muestras en la disolución de TMB durante aproximadamente 5-20 min dependiendo de la Ig analizada. Se detuvo la reacción con ácido sulfúrico 2 M y se leyeron las placas a una DO de 450 nm.

Para el tratamiento de enfermedades mediadas por PI3Kδ, tales como artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, osteoartritis, artritis psoriásica, psoriasis, enfermedades inflamatorias y enfermedades autoinmunitarias, los compuestos de la presente invención pueden administrarse por vía oral, por vía parental, mediante pulverización para inhalación, por vía rectal o por vía tópica en formulaciones unitarias de dosificación que contienen portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables convencionales. El término parenteral tal como se usa en el presente documento incluye técnicas de infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraesternal, o por vía intraperitoneal.

Se pretende que el tratamiento de enfermedades y trastornos en el presente documento también incluya la administración profiláctica de un compuesto de la invención, una sal farmacéutica del mismo, o una composición farmacéutica de cualquiera a un sujeto (es decir, un animal, preferiblemente un mamífero, lo más preferiblemente un ser humano) que se cree que necesita tratamiento preventivo, tal como, por ejemplo, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, osteoartritis, artritis psoriásica, psoriasis, enfermedades inflamatorias y enfermedades autoinmunitarias y similares.

El régimen de dosificación para tratar enfermedades mediadas por PI3Kδ, cáncer y/o hiperglucemia con los compuestos de esta invención y/o las composiciones de esta invención se basa en una variedad de factores, incluyendo el tipo de enfermedad, la edad, el peso, el sexo, el estado médico del paciente, la gravedad del estado, la vía de administración y el compuesto particular empleado. Por tanto, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede determinarse de manera rutinaria usando métodos convencionales. Los niveles de dosificación del orden de desde aproximadamente 0,01 mg hasta 30 mg por kilogramo de peso corporal al día, preferiblemente de desde aproximadamente 0,1 mg hasta 10 mg/kg, más preferiblemente de desde aproximadamente 0,25 mg hasta 1 mg/kg son útiles para todos los métodos de uso dados a conocer en el presente documento.

Los compuestos farmacéuticamente activos de esta invención pueden procesarse según métodos de farmacia convencional para producir agentes medicinales para la administración a pacientes, incluyendo seres humanos y otros mamíferos.

Para la administración oral, la composición farmacéutica puede estar en forma, por ejemplo, de un comprimido, cápsula, suspensión o líquido. La composición farmacéutica se prepara preferiblemente en forma de una unidad de dosificación que contiene una cantidad particular del principio activo. Por ejemplo, éstas pueden contener una cantidad de principio activo de desde aproximadamente 1 hasta 2000 mg, preferiblemente de desde aproximadamente 1 hasta 500 mg, más preferiblemente de desde aproximadamente 5 hasta 150 mg. Una dosis diaria adecuada para un ser humano u otro mamífero puede variar ampliamente dependiendo del estado del paciente y otros factores, pero, una vez más, puede determinarse usando métodos de rutina.

El principio activo también puede administrarse mediante inyección como una composición con portadores adecuados incluyendo solución salina, dextrosa o agua. El régimen de dosificación parenteral diario será de desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal total, preferiblemente de desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 10 mg/kg, y más preferiblemente de desde aproximadamente

0,25 mg hasta 1 mg/kg.

5 Pueden formularse preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones ac. u oleaginosas inyectables estériles, según la técnica conocida usando agentes de suspensión y agentes de dispersión o humectantes adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente aceptable por vía parenteral no tóxico, por ejemplo, como una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, solución de Ringer y disolución de cloruro de sodio isotónica. Además, convencionalmente se emplean aceites estériles fijos como medio de suspensión o disolvente. Con este fin puede emplearse cualquier aceite fijo insípido incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. 10 Además, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de productos inyectables.

15 Pueden prepararse supositorios para la administración rectal del fármaco mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado tal como manteca de cacao y polietilenglicoles que son sólidos a temperaturas habituales pero líquidos a la temperatura rectal y por tanto se fundirán en el recto y liberarán el fármaco.

20 Una dosis tópica adecuada de principio activo de un compuesto de la invención es de 0,1 mg a 150 mg administrados de una a cuatro, preferiblemente una o dos veces al día. Para la administración tópica, el principio activo puede comprender desde el 0,001% hasta el 10% p/p, por ejemplo, desde el 1% hasta el 2% en peso de la formulación, aunque puede comprender hasta el 10% p/p, pero preferiblemente no más del 5% p/p, y más preferiblemente desde el 0,1% hasta el 1% de la formulación.

25 Las formulaciones adecuadas para administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semilíquidas adecuadas para su penetración a través de la piel (por ejemplo, linimentos, lociones, pomadas, cremas o pastas) y gotas adecuadas para su administración al ojo, oído o nariz.

30 Para la administración, los compuestos de esta invención se combinan de manera ordinaria con uno o más adyuvantes apropiados para la vía de administración indicada. Los compuestos pueden mezclarse con lactosa, sacarosa, polvo de almidón, ésteres de celulosa de ácidos alcanoicos, ácido esteárico, talco, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de ácidos fosfórico y sulfúrico, goma arábiga, gelatina, alginato de sodio, polivinilpirrolidona y/o poli(alcohol vinílico), y prepararse como comprimidos o encapsularse para la administración convencional. Alternativamente, los compuestos de esta invención pueden disolverse en solución salina, agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol, aceite de maíz, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, goma tragacanto y/o diversos tampones. Otros adyuvantes y modos de administración se conocen bien en la técnica farmacéutica. El portador o diluyente puede incluir material de retardo temporal, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solos o con una cera, u otros materiales bien conocidos en la técnica. 35

40 Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse en forma sólida (incluyendo gránulos, polvos o supositorios) o en forma líquida (por ejemplo, disoluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener adyuvantes convencionales, tales como conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, tampones, etc.

45 Las formas de dosificación sólidas para la administración oral pueden incluir cápsulas, comprimidos, pastillas, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación también pueden comprender, como en la práctica habitual, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, por ejemplo, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos y pastillas, las formas de dosificación también pueden comprender agentes tamponantes. Los comprimidos y las pastillas pueden prepararse adicionalmente con recubrimientos entéricos.

50 Las formas de dosificación líquidas para la administración oral pueden incluir emulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables que contienen diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como agua. Tales composiciones también pueden comprender adyuvantes, tales como agentes humectantes, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.

55 Los compuestos de la presente invención pueden tener uno o más átomos de carbono asimétricos y por tanto pueden existir en forma de isómeros ópticos así como en forma de mezclas racémicas o no racémicas de los mismos. Los isómeros ópticos pueden obtenerse mediante resolución de las mezclas racémicas según procedimientos convencionales, por ejemplo, mediante la formación de sales diastereoisoméricas, mediante el tratamiento con un ácido o una base ópticamente activos. Ejemplos de ácidos apropiados son ácido tartárico, diacetiltartárico, dibenzoiltartárico, ditluoiltartárico y canforsulfónico y luego separación de la mezcla de diastereoisómeros mediante cristalización seguida por la liberación de las bases ópticamente activas de esas sales. Un procedimiento diferente para la separación de isómeros ópticos implica el uso de una columna de cromatografía quiral elegida de manera óptima para maximizar la separación de los enantiómeros. Todavía otro método disponible implica la síntesis de moléculas diastereoisoméricas covalentes haciendo reaccionar los compuestos de la invención con un ácido ópticamente puro en una forma activada o un isocianato ópticamente puro. Los diastereoisómeros sintetizados pueden separarse por medios convencionales tales como cromatografía, destilación, cristalización o 65

sublimación, y luego hidrolizarse para suministrar el compuesto enantioméricamente puro. Los compuestos ópticamente activos de la invención pueden obtenerse asimismo usando materiales de partida activos. Estos isómeros pueden estar en forma de un ácido libre, una base libre, un éster o una sal.

5 Asimismo, los compuestos de esta invención pueden existir como isómeros, es decir compuestos de la misma fórmula molecular pero en la que los átomos, unos con relación a otros, están dispuestos de diferente manera. En particular, los sustituyentes de alquileo de los compuestos de esta invención, están dispuestos e insertados normal y preferiblemente en las moléculas tal como se indica en las definiciones para cada uno de estos grupos, leyéndose de izquierda a derecha. Sin embargo, en determinados casos, un experto en la técnica apreciará que es posible
10 preparar compuestos de esta invención en los que se invierte la orientación de esos sustituyentes con relación a los demás átomos en la molécula. Es decir, el sustituyente que va a insertarse puede ser el mismo que se indicó anteriormente excepto porque se inserta en la molécula en la orientación inversa. Un experto en la técnica apreciará que ha de interpretarse que estas formas isoméricas de los compuestos de esta invención están abarcadas dentro del alcance de la presente invención.

15 Los compuestos de la presente invención pueden usarse en forma de sales derivadas de ácidos inorgánicos u orgánicos. Las sales incluyen, pero no se limitan a, las siguientes: acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, digluconato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, etanosulfonato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 2-fenil-propionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato, mesilato y undecanoato. Además los grupos que contienen nitrógeno básico pueden cuaternizarse con agentes tales como haluros de alquilo inferior, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de dialquilo, tales como sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo, haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo, haluros de aralquilo, tales como bromuros de bencilo y fenetilo, y otros. De ese modo se obtienen productos solubles o dispersables en agua o aceite.

20 Los ejemplos de ácidos que pueden emplearse para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico y ácidos orgánicos tales como ácido oxálico, ácido maleico, ácido succínico y ácido cítrico. Otros ejemplos incluyen sales con metales alcalinos o metales alcalinotérreos, tales como sodio, potasio, calcio o magnesio o con bases orgánicas.

25 También están abarcados dentro del alcance de la presente invención ésteres farmacéuticamente aceptables de un grupo que contiene hidroxilo o ácido carboxílico, incluyendo un éster metabólicamente lábil o una forma de profármaco de un compuesto de esta invención. Un éster metabólicamente lábil es uno que puede producir, por ejemplo, un aumento en los niveles en sangre o prolongar la eficacia de la forma no esterificada correspondiente del compuesto. Una forma de profármaco es una que no está en una forma activa de la molécula tal como se administra sino que se vuelve terapéuticamente activa después de cierta biotransformación o actividad *in vivo*, tal como metabolismo, por ejemplo, escisión enzimática o hidrolítica. Para un comentario general de profármacos que implican ésteres véanse Svensson y Tunek Drug Metabolism Reviews 165 (1988) y Bundgaard Design of Prodrugs, Elsevier (1985). Los ejemplos de un anión carboxilato enmascarado incluyen una variedad de ésteres, tales como alquílicos (por ejemplo, metílico, etílico), cicloalquílicos (por ejemplo, ciclohexílico), aralquílicos (por ejemplo, bencílico, p-metoxibencílico) y alquilcarbonilalquílicos (por ejemplo, pivaloiloximetílico). Se han enmascarado aminas como derivados sustituidos con arilcarboniloximetilo que se escinden por esterases *in vivo* liberando el fármaco libre y formaldehído (Bunggaard J. Med. Chem. 2503 (1989)). Además, se han enmascarado fármacos que contienen un grupo NH ácido, tal como imidazol, imida, indol y similares, con grupos N-aciloximetilo (Bundgaard Design of Prodrugs, Elsevier (1985)). Se han enmascarado grupos hidroxilo como ésteres y éteres. El documento EP 039.051 (Sloan y Little, 4/11/81) da a conocer profármacos de ácido hidroxámico-base de Mannich, su preparación y uso. Los ésteres de un compuesto de esta invención, pueden incluir, por ejemplo, los ésteres metílico, etílico, propílico y butílico, así como otros ésteres adecuados formados entre un resto ácido y un resto que contiene hidroxilo. Los ésteres metabólicamente lábiles, pueden incluir, por ejemplo, grupos metoximetilo, etoximetilo, isopropoximetilo, α -metoxietilo, tales como α -(alquiloxi (C₁-C₄))etilo, por ejemplo, grupos metoxietilo, etoxietilo, propoxietilo, isopropoxietilo, etc.; 2-oxo-1,3-dioxolen-4-ilmetilo, tales como 5-metil-2-oxo-1,3,dioxolen-4-ilmetilo, etc.; grupos alquiltiometilo C₁-C₃, por ejemplo, grupos metiltiometilo, etiltiometilo, isopropiltiometilo, etc.; grupos aciloximetilo, por ejemplo, pivaloiloximetilo, α -acetoximetilo, etc.; etoxicarbonil-1-metilo; o grupos α -aciloxi- α -metilo sustituido, por ejemplo α -acetoxietilo.

30 Además, los compuestos de la invención pueden existir como sólidos cristalinos que pueden cristalizarse en disolventes comunes tales como etanol, N,N-dimetil-formamida, agua, o similar. Por tanto, las formas cristalinas de los compuestos de la invención pueden existir como polimorfos, solvatos y/o hidratos de los compuestos originales o su sales farmacéuticamente aceptables. Asimismo, ha de interpretarse que todas estas formas se encuentran dentro del alcance de la invención.

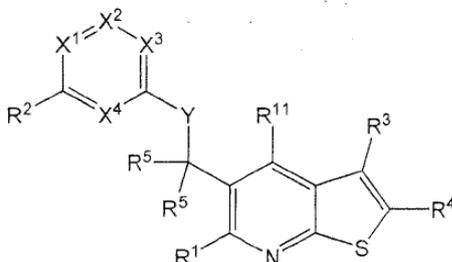
35 Aunque los compuestos de la invención pueden administrarse como el único principio activo farmacéutico, también pueden usarse en combinación con uno o más compuestos de la invención u otros agentes. Cuando se administran

como una combinación, los agentes terapéuticos pueden formularse como composiciones separadas que se administran a la vez o en momentos diferentes, o los agentes terapéuticos pueden administrarse como una única composición.

- 5 Lo anterior es meramente ilustrativo de la invención y no pretende limitar la invención a los compuestos dados a conocer.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto que tiene la estructura:



5

o cualquier sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

X^1 es C(R¹⁰) o N;

10

X^2 es C(R⁶) o N;

X^3 es C(R⁷) o N;

15

X^4 es C(R¹⁰) o N;

Y es N(R⁸), CR^aR^a, S u O;

20

R¹ se selecciona de H, halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-CO₂R^a, -NR^a-alk C₂₋₆-SO₂R^b, -CH₂ C(=O)R^a, -CH₂C(=O)OR^a, -CH₂C(=O)NR^aR^a, -CH₂C(=NR^a)NR^aR^a, -CH₂OR^a, -CH₂OC(=O)R^a, -CH₂OC(=O)NR^aR^a, -CH₂OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -CH₂O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -CH₂O-alk C₂₋₆-OR^a, -CH₂SR^a, -CH₂S(=O)R^a, -CH₂S(=O)₂R^b, -CH₂S(=O)₂NR^aR^a, -CH₂S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -CH₂S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -CH₂S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -CH₂NR^aR^a, -CH₂N(R^a)C(=O)R^a, -CH₂N(R^a)C(=O)OR^a, -CH₂N(R^a) C(=O)NR^aR^a, -CH₂N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -CH₂N(R^a)S(=O)₂R^a, -CH₂N(R^a)S(=O)₂ NR^aR^a, -CH₂NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -CH₂NR^a-alk C₂₋₆-OR^a, -CH₂NR^a-alk C₂₋₆-CO₂R^a y -CH₂NR^a-alk C₂₋₆-SO₂R^b; o R¹ es un anillo monocíclico de 3, 4, 5, 6 ó 7 miembros o bicíclico de 8, 9, 10 u 11 miembros unido directamente, con unión a alk C₁₋₄, con unión a O-alk C₁₋₂, con unión a N(R^a) o con unión a O saturado, parcialmente saturado o insaturado que contiene 0, 1, 2, 3 ó 4 átomos seleccionados de N, O y S, pero que no contiene más de un átomo de O o S, sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a, en el que los átomos de carbono disponibles del anillo están sustituidos adicionalmente con 0, 1 ó 2 grupos oxo o tioxo, y en el que el anillo está sustituido adicionalmente con 0 ó 1 grupo unido directamente, con unión a SO₂, con unión a C(=O) o con unión a CH₂ seleccionado de fenilo, piridilo, pirimidilo, morfolino, piperazinilo, piperadinilo, pirrolidinilo, ciclopentilo, ciclohexilo todos los cuales están sustituidos además con 0, 1, 2 ó 3 grupos seleccionados de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a;

45

50

R² se selecciona de un anillo monocíclico de 5, 6 ó 7 miembros o bicíclico de 8, 9, 10 u 11 miembros saturado, parcialmente saturado o insaturado que contiene 0, 1, 2, 3 ó 4 átomos seleccionados de N, O y S, pero que no contiene más de un O o S, en el que los átomos de carbono disponibles del anillo están sustituidos con 0, 1 ó 2 grupos oxo o tioxo, en el que el anillo está sustituido con 0 ó 1 sustituyentes R², y el anillo está sustituido adicionalmente con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, C₁₋₆-alk, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a; o R³ se selecciona de halo, alk C₁₋₆, haloalk

55

5 C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a;

10 R³ se selecciona de H, halo, nitro, ciano, alk C₁₋₄, O-alk C₁₋₄, O-haloalk C₁₋₄, NH-alk C₁₋₄, N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄, C(=O)NH₂, C(=O)NH-alk C₁₋₄, C(=O)N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄, N(H)C(=O)-alk C₁₋₄, N(alk C₁₋₄)C(=O)-alk C₁₋₄ y haloalk C₁₋₄;

15 R⁴ se selecciona de H, halo, nitro, ciano, alk C₁₋₄, O-alk C₁₋₄, O-haloalk C₁₋₄, NH-alk C₁₋₄, N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄, C(=O)NH₂, C(=O)NH-alk C₁₋₄, C(=O)N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄, N(H)C(=O)-alk C₁₋₄, N(alk C₁₋₄)C(=O)-alk C₁₋₄ y haloalk C₁₋₄;

20 R⁵ es, independientemente, en cada caso, H, halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄ o alk C₁₋₆ sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de halo, ciano, OH, O-alk C₁₋₄, alk C₁₋₄, haloalk C₁₋₃, O-alk C₁₋₄, NH₂, NH-alk C₁₋₄ y N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄; o ambos grupos R⁵ forman juntos un espiroalk C₃₋₆ sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de halo, ciano, OH, O-alk C₁₋₄, alk C₁₋₄, haloalk C₁₋₃, O-alk C₁₋₄, NH₂, NH-alk C₁₋₄ y N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄;

25 R⁶ se selecciona de halo, ciano, OH, O-alk C₁₋₄, alk C₁₋₄, haloalk C₁₋₃, O-alk C₁₋₄, NHR⁹, N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄, -C(=O)OR^a, -C(=O)N(R^a)R^a, -N(R^a)C(=O)R^b y un anillo heterocíclico de 5 ó 6 miembros saturado o parcialmente saturado que contiene 1, 2 ó 3 heteroátomos seleccionados de N, O y S, en el que el anillo está sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de halo, ciano, OH, oxo, O-alk C₁₋₄, alk C₁₋₄, haloalk C₁₋₃, O-alk C₁₋₄, NH₂, NH-alk C₁₋₄ y N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄;

30 R⁷ se selecciona de H, halo, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a y alk C₁₋₆, en los que el alk C₁₋₆ está sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de halo, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a, y el alk C₁₋₆ está sustituido adicionalmente con 0 ó 1 anillos monocíclicos de 5, 6 ó 7 miembros saturados, parcialmente saturados o insaturados que contienen 0, 1, 2, 3 ó 4 átomos seleccionados de N, O y S, pero que no contienen más de un O o S, en los que los átomos de carbono disponibles del anillo están sustituidos con 0, 1 ó 2 grupos oxo o tioxo, en los que el anillo está sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, nitro, ciano, alk C₁₋₄, O-alk C₁₋₄, O-haloalk C₁₋₄, NH-alk C₁₋₄, N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄ y haloalk C₁₋₄; o R⁷ y R⁸ forman juntos un puente -C=N en el que el átomo de carbono está sustituido con H, halo, ciano, o un anillo monocíclico de 5, 6 ó 7 miembros saturado, parcialmente saturado o insaturado que contiene 0, 1, 2, 3 ó 4 átomos seleccionados de N, O y S, pero que no contiene más de un O o S, en el que los átomos de carbono disponibles del anillo están sustituidos con 0, 1 ó 2 grupos oxo o tioxo, en el que el anillo está sustituido con 0, 1, 2, 3 ó 4 sustituyentes seleccionados de halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a; o R⁷ y R⁹ forman juntos un puente -N=C- en el que el átomo de carbono está sustituido con H, halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, OR^a, NR^aR^a, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a o -S(=O)₂NR^aR^a;

55 R⁸ es H, alk C₁₋₆, C(=O)N(R^a)R^a, C(=O)R^b o haloalk C₁₋₄;

R⁹ es H, alk C₁₋₆ o haloalk C₁₋₄;

60 R¹⁰ es independientemente en cada caso H, halo, alk C₁₋₃, haloalk C₁₋₃ o ciano;

65 R¹¹ se selecciona de H, halo, alk C₁₋₆, haloalk C₁₋₄, ciano, nitro, -C(=O)R^a, -C(=O)OR^a, -C(=O)NR^aR^a, -C(=NR^a)NR^aR^a, -OR^a, -OC(=O)R^a, -OC(=O)NR^aR^a, -OC(=O)N(R^a)S(=O)₂R^a, -O-alk C₂₋₆-NR^aR^a, -O-alk C₂₋₆-OR^a, -SR^a, -S(=O)R^a, -S(=O)₂R^a, -S(=O)₂NR^aR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)R^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)OR^a, -S(=O)₂N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -NR^aR^a, -N(R^a)C(=O)R^a, -N(R^a)C(=O)OR^a, -N(R^a)C(=O)NR^aR^a, -N(R^a)C(=NR^a)NR^aR^a, -N(R^a)S(=O)₂R^a, -N(R^a)S(=O)₂NR^aR^a, -NR^a-alk C₂₋₆-NR^aR^a y -NR^a-alk C₂₋₆-OR^a;

R^a es independientemente, en cada caso, H o R^b; y

5 R^b es independientemente, en cada caso, fenilo, bencilo o alk C₁₋₆, estando el fenilo, bencilo y alk C₁₋₆ sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados de halo, alk C₁₋₄, haloalk C₁₋₃, -O-alk C₁₋₄, -NH₂, -NH-alk C₁₋₄ y -N(alk C₁₋₄)-alk C₁₋₄.

10 2. Compuesto según la reivindicación 1, para su uso en un método de tratamiento de artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, osteoartritis, artritis psoriásica, psoriasis, enfermedades inflamatorias y enfermedades autoinmunitarias, trastornos inflamatorios del intestino, trastornos inflamatorios oculares, trastornos inflamatorios o inestables de la vejiga, afecciones cutáneas con componentes inflamatorias, estados inflamatorios crónicos, enfermedades autoinmunitarias, lupus eritematoso sistémico (LES), miastenia grave, artritis reumatoide, encefalomiелitis diseminada aguda, púrpura trombocitopénica idiopática, esclerosis múltiple, síndrome de Sjogren y anemia hemolítica autoinmunitaria, estados alérgicos e hipersensibilidad.

15 3. Compuesto según la reivindicación 1, para su uso en un método de tratamiento de cánceres, que están mediados, dependen de o están asociados con actividad de p110δ.

20 4. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1 y un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.