

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 543 325**

51 Int. Cl.:

A61K 31/12 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.02.2008** **E 08729255 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2015** **EP 2114388**

54 Título: **Inhibidores de la actividad de Akt**

30 Prioridad:

07.02.2007 US 888591 P

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

18.08.2015

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)
Corporation Service Company, 2711 Centreville
Road, Suite 400
Wilmington, Delaware 19808, US**

72 Inventor/es:

**SEEFELD, MARK ANDREW y
ROUSE, MEAGAN B.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 543 325 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

Inhibidores de la actividad de Akt

Campo de la invención

Esta invención se refiere a nuevos compuestos de carboxamida heterocíclica, a la utilización de dichos compuestos como inhibidores de la actividad de la proteína cinasa B (en lo sucesivo PKB/Akt, PKB o Akt) y en el tratamiento del cáncer y la artritis.

Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere a compuestos que contienen carboxamida heterocíclica que son inhibidores de la actividad de una o más de las isoformas de la serina/treonina cinasa, Akt (conocida también como proteína cinasa B). La presente invención se refiere también a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y a los procedimientos de utilización de los presentes compuestos en el tratamiento del cáncer y la artritis (Liu *et al. Current Opinion Pharmacology* 3:317-22 (2003)).

La apoptosis (muerte celular programada) desempeña funciones esenciales en el desarrollo embrionario y la patología de diversas enfermedades, tales como las enfermedades neuronales degenerativas, las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. Trabajos recientes han conducido a la identificación de varios productos génicos pro- y anti-apoptóticos que están involucrados en la regulación o la ejecución de la muerte celular programada. La expresión de genes anti-apoptóticos, tales como Bcl2 o Bcl-x_L, inhibe la muerte celular programada provocada por diversos estímulos. Por otra parte, la expresión de genes proapoptóticos, tales como Bax o Bad, conduce a la muerte celular programada (Adams *et al. Science*, 281:1322-1326 (1998)). En la ejecución de la muerte celular programada intervienen como mediadoras las proteinasas relacionadas con la caspasa-1, incluidas la caspasa-3, la caspasa-7, la caspasa-8 y la caspasa-9, etc. (Thornberry *et al. Science*, 281:1312-1316 (1998)).

La fosfatidilinositol 3'-OH cinasa (PI3K)/Akt parece importante para la regulación de la supervivencia celular/muerte celular (Kulik *et al. Mol. Cell. Biol.* 17:1595-1606 (1997); Franke *et al., Cell*, 88:435-437 (1997); Kauffmann-Zeh *et al. Nature* 385:544-548 (1997); Hemmings *Science*, 275:628-630 (1997); Dudek *et al., Science*, 275:661-665 (1997)). Factores de supervivencia, tales como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento nervioso (NGF) y el factor de crecimiento semejante a la insulina tipo 1 (IGF-1), estimulan la supervivencia celular en diversas condiciones al inducir la actividad de PI3K (Kulik *et al.* 1997, Hemmings 1997). PI3K activada conduce a la producción de fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato (PtdIns (3,4,5)-P3), que a su vez se une a, y favorece la activación de, serina/treonina cinasa Akt, que contiene una homología pleckstrin (PH)-dominio (Franke *et al. Cell*, 81:727-736 (1995); Hemmings *Science*, 277:534 (1997); Downward, *Curr. Opin. Cell. Biol.* 10:262-267 (1998), Alessi *et al., EMBO J.* 15:6541-6551 (1996)). Los inhibidores específicos de PI3K o los mutantes de Akt/PKB dominantes negativos suprimen las actividades de estos factores de crecimiento o citocinas que favorecen la supervivencia. Se ha descrito previamente que los inhibidores de PI3K (LY294002 o wortmanina) bloquearon la activación de Akt/PKB por las cinasas aguas arriba. Además, la introducción de los mutantes PI3K o Akt/PKB constitutivamente activos de Akt favorece la supervivencia celular en condiciones en las que las células normalmente experimentan la muerte celular programada (Kulik *et al.* 1997, Dudek *et al.* 1997).

El análisis de concentraciones de Akt en tumores humanos demostraron que Akt2 se sobreexpresa en un número significativo de ovarios (J. Q. Cheung *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:9267-9271 (1992)) y cánceres pancreáticos (J. Q. Cheung *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93:3636-3641 (1996)). Asimismo, se descubrió que Akt3 se sobreexpresa en estirpes celulares de cáncer de mama y de próstata (Nakatani *et al. J. Biol. Chem.* 274:21528-21532 (1999)). Se demostró que Akt-2 se sobreexpresaba en el 12% de tumores indiferenciados, indicio de que Akt puede estar también relacionada con la agresividad del tumor (Bellacosa, *et al., Int. J. Cancer*, 64, págs. 280-285, 1995). El aumento de la actividad de la cinasa Akt se ha descrito en los cánceres de mama, de ovario y de próstata (Sun *et al. Am. J. Pathol.* 159:431-7 (2001)).

El supresor tumoral PTEN, una proteína y lípido fosfatasa que elimina específicamente el fosfato en 3' de PtdIns(3,4,5)-P3, es un regulador negativo de la ruta PI3K/Akt (Li *et al. Science* 275:1943-1947 (1997), Stambolic *et al. Cell* 95:29-39 (1998), Sun *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96:6199-6204 (1999)). Las mutaciones de la estirpe germinativa de PTEN son responsables de los síndromes de cáncer humano, tales como la enfermedad de Cowden (Liaw *et al. Nature Genetics.* 16:64-67 (1997)). PTEN se elimina en un gran porcentaje de tumores humanos y las estirpes celulares tumorales sin PTEN funcional presentan elevados niveles de Akt activado (Li *et al.* anteriormente, Guldborg *et al. Cancer Research* 57:3660-3663 (1997), Risinger *et al. Cancer Research* 57:4736-4738 (1997)).

Estas observaciones demuestran que la ruta PI3K/Akt desempeña una función importante para la regulación de la supervivencia celular o la apoptosis en la tumorigenia.

Tres eslabones de la subfamilia Akt/PKB de serina/treonina proteína cinasas reguladas por el segundo mensajero se han identificado y denominado Akt1/PKB, Akt2/PKBβ, y Akt3/PKBγ respectivamente. Las isoformas son homólogas, particularmente en las regiones que codifican los dominios catalíticos. Las Akt/PKB son activadas por episodios de fosforilación que se producen en respuesta a la señalización de PI3K. PI3K fosforila fosfolípidos de inositol de membrana, generando los segundos mensajeros fosfatidil-inositol 3,4,5-trifosfato y fosfatidilinositol 3,4-bisfosfato, que se ha demostrado que se unen al dominio PH de Akt/PKB. El modelo actual de activación de Akt/PKB propone la

recuperación de la enzima a la membrana por fosfoinosítidos 3'-fosforilados, donde se produce la fosforilación de los puntos reguladores de Akt/PKB por las cinasas aguas arriba (B.A. Hemmings, *Science* 275:628-630 (1997); Hemmings B.A., *Science* 276:534 (1997); J. Downward, *Science* 279:673-674 (1998)).

5 La fosforilación de Akt1/PKB α se produce en dos puntos reguladores, Thr³⁰⁸ en el bucle de activación del dominio catalítico y en Ser⁴⁷³ cerca del extremo terminal carboxi (D. R. Alessi *et al.* *EMBO J.* 15:6541-6551 (1996) y R. Meier *et al.* *J. Biol. Chem.* 272:30491-30497 (1997)). Puntos de reguladores de fosforilación equivalentes se producen en Akt2/ PKB β y Akt3//PKB γ . La cinasa aguas arriba, que fosforila Akt/PKB en el punto del bucle de activación se ha clonado y denominado proteína cinasa 1 dependiente de 3'-fosfoinosítido (PDK1). PDK1 fosforila no sólo Akt/PKB, sino también p70 ribosómica S6 cinasa, p90rsk, cinasa regulada por suero y glucocorticoides (SGK) y proteína
10 cinasa C. La cinasa aguas arriba que fosforila el punto regulador de Akt/PKB cerca del extremo terminal carboxi no se ha identificado todavía, pero informes recientes suponen una función para la cinasa unida a integrinas (ILK-1), una serina/reonina proteína cinasa, o autofosforilación.

15 La inhibición de la activación y la actividad de Akt se puede conseguir inhibiendo PI3K con inhibidores tales como LY294002 y wortmanina. Sin embargo, la inhibición de PI3K tiene potencial de afectar indiscriminadamente no sólo las tres isoenzimas Akt, sino también otras moléculas de señalización que contienen el dominio PH que dependen de Pdtlns(3,4,5)-P3, tales como la familia Tec de tirosina cinasas. Además, se ha descrito que Akt puede activarse mediante señales de crecimiento que son independientes de PI3K.

20 Alternativamente, la actividad de Akt puede inhibirse bloqueando la actividad de la cinasa PDK1 aguas arriba. El compuesto UCN-1 es un inhibidor descrito de PDK1. Una vez más, la inhibición de PDK1 daría lugar a la inhibición de múltiples proteína cinasas cuyas actividades dependen de PDK1, tales como isoformas de PKC atípicas, SGK, y S6 cinasas (Williams *et al.* *Curr. Biol.* 10:439-448 (2000)).

Pequeñas moléculas inhibitoras de Akt son útiles en el tratamiento de tumores, especialmente aquellos con Akt activada (p. ej. tumores anulados por PTEN y tumores con mutaciones ras. PTEN es un regulador negativo crítico de Akt y su función se pierde en muchos cánceres, incluidos los carcinomas de mama y de próstata, los glioblastomas y
25 varios síndromes cancerosos incluidos el síndrome de Bannayan-Zonana (Maehama, T. *et al.* *Annual Review of Biochemistry*, 70: 247 (2001)), la enfermedad de Cowden (Parsons, R.; Simpson, L. *Methods in Molecular Biology* (Totowa, NJ., Estados Unidos), 222 (*Tumor Suppressor Genes*, volumen 1): 147 (2003)), y la enfermedad de Lhermitte-Duclos (Backman, S. *et al.* *Current Opinion in Neurobiology*, 12 (5):. 516 (2002)). Akt3 está regulada por incremento en los cánceres de mama con receptores de estrógenos insuficientes y estirpes celulares de cáncer de
30 próstata independientes de andrógenos y Akt2 se sobreexpresa en carcinomas pancreáticos y de ovario. Akt1 se amplía en cánceres gástricos (Staal, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84: 5034-7 (1987) y se incrementa en los cánceres de mama (Stal *et al.* *Breast Cancer Res.* 5: R37-R44 (2003)). Por lo tanto cabe esperar que una pequeña molécula de inhibidor Akt sea útil para el tratamiento de estos tipos de cáncer, así como otros tipos de cáncer. Los inhibidores de Akt también son útiles en combinación con otros agentes quimioterapéuticos.

35 Es objeto de la presente invención proporcionar nuevos compuestos que son inhibidores de Akt/PKB.

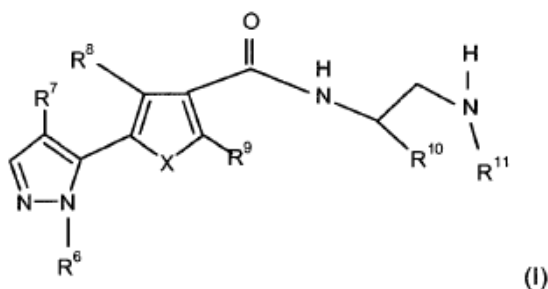
También es objeto de la presente invención proporcionar composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo farmacéutico y compuestos útiles en los métodos de la invención.

También es objeto de la presente invención proporcionar un método para el tratamiento del cáncer que comprende la administración de dichos inhibidores de la actividad de Akt/PKB.

40 También es objeto de la presente invención proporcionar un método para el tratamiento de la artritis que comprende la administración de dichos inhibidores de la actividad de Akt/PKB.

Compendio de la invención

Esta invención se refiere a nuevos compuestos de fórmula (I):



45 en donde:

R⁸ y R⁹ se seleccionan independientemente de: hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₄, furano y tiofeno;

R⁶ es alquilo C₁₋₄;

R⁷ se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₄ y halógeno;

R¹⁰ se selecciona de: -(CR⁶⁰R⁶¹)_m arilo C₅-C₁₂ en donde arilo C₅-C₁₂ no está sustituido, y -(CR⁶⁰R⁶¹)_m arilo C₅-C₁₂ en donde el arilo C₅-C₁₂ está sustituido,

donde m es 0 a 2 y

5 R⁶⁰ y R⁶¹ se seleccionan independientemente de: hidrógeno y alquilo C₁₋₄,

R¹¹ se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁₋₄;

X se selecciona de O, S y NR⁴⁹,

donde R⁴⁹ se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁₋₄;

y/o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

10 Esta invención se refiere a un método de tratamiento del cáncer, que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor de Akt/PKB de fórmula (I).

Esta invención se refiere a un método de tratamiento de la artritis, que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor de Akt/PKB de fórmula (I).

15 La presente invención se refiere también al descubrimiento de que los compuestos de fórmula (I) son activos como inhibidores de Akt/PKB.

En otro aspecto de la invención, se proporcionan nuevos procedimientos y nuevos productos intermedios útiles en la preparación de los compuestos inhibidores de Akt/PKB ahora inventados.

Se incluyen en la presente invención composiciones farmacéuticas que comprenden un excipiente farmacéutico y compuestos útiles en los procedimientos de la invención.

20 También se incluyen en la presente invención procedimientos de administración de los compuestos inhibidores de Akt/PKB ahora inventados junto con principios activos adicionales.

Descripción detallada de la invención

Esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) como los descritos anteriormente.

25 Los compuestos ahora inventados de fórmula (I) inhiben la actividad de Akt/PKB. En particular, los compuestos descritos en la presente memoria inhiben cada una de las tres isoformas de Akt/PKB.

Entre los compuestos ahora inventados de fórmula (I) están incluidos aquellos en los que:

R⁸ y R⁹ se seleccionan independientemente de: hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₄, furano y tiofeno;

R⁶ es alquilo C₁₋₄;

R⁷ se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₄ y halógeno;

30 R¹⁰ se selecciona de: -(CH₂)_marilo C₅-C₁₂ en donde

el arilo está sustituido,

donde m es 0 a 2;

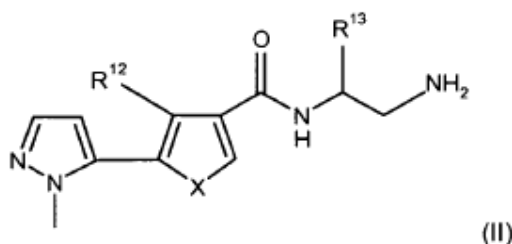
R¹¹ se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁₋₄;

X se selecciona de O y S; y

35 con la condición de que al menos uno de que R⁸ y R⁹ sea hidrógeno;

y/o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En los compuestos ahora inventados de fórmula (I) están los compuestos de fórmula (II):



en donde:

R¹² se selecciona de: hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₄, furano y tiofeno;

R¹³ se selecciona de: -(CH₂)_mfenilo y -(CH₂)_mfenilo en donde el

fenilo está sustituido,

donde m es 0 a 2;

5 X se selecciona de O y S;

y/o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Entre los compuestos útiles incluidos en la presente invención están:

N-(2-amino-1-feniletíl)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-[2-amino-1-(fenilmetil)etil]-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

10 *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-{(1*S*)-2-amino-1-[(2-fluorofenil)metil]etil}-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-{(1*S*)-2-amino-1-[(2-clorofenil)metil]etil}-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-[1-(aminometil)-2-metil-2-fenilpropil]-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-[2-amino-1-(1-naftalenil)etil]-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

15 *N*-[2-amino-1-(fenilmetil)etil]-2-(3-furanil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-furancarboxamida;

N-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxamida;

N-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-2-cloro-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxamida; y

20 *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-2-cloro-5-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1-metil-1*H*-pirrol-3-carboxamida;

y/o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de fórmula (I) se incluyen en las composiciones farmacéuticas de la invención y se usan en los procedimientos de la invención.

25 Algunos de los compuestos descritos en la presente memoria pueden contener uno o más átomos quirales, o de lo contrario pueden existir como dos enantiómeros. En consecuencia, los compuestos de esta invención comprenden mezclas de enantiómeros así como enantiómeros purificados o mezclas enantioméricamente enriquecidas. Además, se entiende que todos los tautómeros y mezclas de tautómeros están incluidos dentro del alcance de los compuestos de fórmula (I).

30 Determinados compuestos descritos en la presente memoria pueden formar un solvato que se entiende que es un complejo de estequiometría variable formado por un soluto (en esta invención, un compuesto de fórmula I o una de sus sales) y un disolvente. Dichos disolventes para los fines de la invención pueden no interferir con la actividad biológica del soluto. Ejemplos de disolventes adecuados incluyen, pero no se limitan a, agua, metanol, etanol y ácido acético. Preferiblemente, el disolvente empleado es un disolvente farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de disolventes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, sin limitación, agua, etanol y ácido acético. Más preferiblemente, el disolvente empleado es agua.

35 Por el término "arilo", y sus derivados, empleado solo o como parte de un grupo mayor como en "-(CH₂)_marilo" como se emplea en la presente memoria, a menos que se defina de otra manera, se entiende sistemas de anillo monocíclico, bicíclico y tricíclico que tienen un total de cinco a catorce eslabones en el anillo, en donde al menos un sistema de anillo es aromático y en donde cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 eslabones, tales como fenilo, naftaleno, tetrahidronaftaleno y bifenilo.

40 Por la expresión "arilo C₅-C₁₂", empleado solo o como parte de un grupo mayor como en "-(CH₂)_marilo C₅-C₁₂", como se emplea en la presente memoria, se entiende un grupo aromático seleccionado de: fenilo, naftaleno, tetrahidronaftaleno y bifenilo.

45 El término "sustituido" como se emplea en la presente memoria, a menos que se defina de otra manera, significa que el presente grupo químico tiene de uno a cinco sustituyentes, propiamente de uno a tres sustituyentes, seleccionados del grupo que consiste en: -CO₂R²⁰, alquilo C₁-C₄, hidroxialquilo C₁-C₄, alquil C₁-C₄oxi, amino, alquil C₁-C₄amino, aminoalquilC₁-C₄, dialquilC₁-C₄amino, hidroxilo, nitro, tetrazol, ciano, oxo, halógeno y trifluorometilo, donde R²⁰ se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁-C₄ y trifluorometilo.

50 Apropiadamente, el término "sustituido" como se emplea en la presente memoria significa que el presente grupo químico tiene de uno a tres sustituyentes, seleccionados de entre el grupo que consiste en: alquilo C₁-C₄,

hidroxialquilo C₁-C₄, alquilC₁-C₄oxi, amino, alquil C₁-C₄amino, aminoalquil C₁-C₄, hidroxil, tetrazol, halógeno y trifluorometilo.

5 Apropriadamente, el término "sustituido" como se emplea en la presente memoria significa que el presente grupo químico tiene de uno a tres sustituyentes, seleccionados de entre el grupo que consiste en: halógeno y trifluorometilo.

Por el término "heteroátomo" como se emplea en la presente memoria se entiende oxígeno, nitrógeno o azufre.

Por el término "halógeno" tal como se emplea en la presente memoria se entiende un sustituyente seleccionado de bromuro, yoduro, cloruro y fluoruro.

10 Por el término "alquilo" y sus derivados y en todas las cadenas de carbono como se emplea en la presente memoria, incluidas las cadenas de alquilo definidas por el término "-(CH₂)_n", "-(CH₂)_m" y similares, se entiende una cadena de hidrocarburo lineal o ramificada, saturada o insaturada, y a menos que se defina de otra manera, la cadena de carbono contendrá de 1 a 12 átomos de carbono. Ejemplos de alquilo como se emplea en la presente memoria incluyen: -CH₃, -CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-CH₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂-CH₂-C(CH₃)₃, -C≡C-C(CH₃)₃, -C(CH₃)₃, -(CH₂)₃-CH₃, -CH₂-CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)-CH₂-CH₃, -CH=CH₂ y -C≡C-CH₃.

15 Por el término "tratamiento" y sus derivados tal como se emplea en la presente memoria, se entiende tratamiento profiláctico y terapéutico. El tratamiento profiláctico es apropiado, por ejemplo, cuando un paciente se considera en situación de alto riesgo de desarrollar cáncer, o cuando un paciente se ha expuesto a un agente cancerígeno.

20 Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "cantidad eficaz" y sus derivados significa la cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que provoque la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que, por ejemplo, un investigador o médico está buscando. Además, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" y sus derivados significa cualquier cantidad que, en comparación con un paciente correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, da como resultado una mejora del tratamiento, curación, prevención, o mejora de una enfermedad, trastorno, o efecto secundario, o una disminución en el ritmo de avance de una enfermedad o trastorno. La expresión también incluye dentro de su alcance cantidades eficaces para mejorar la función fisiológica normal.

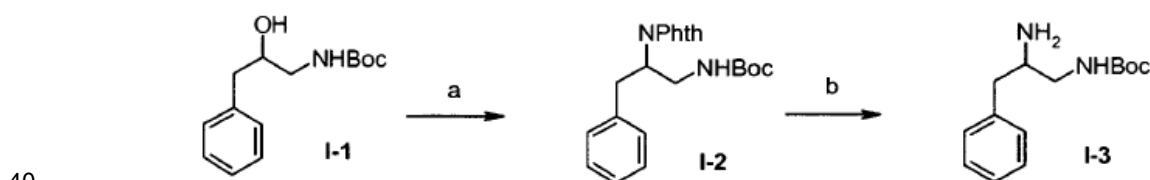
25 Los compuestos de fórmula (I) están incluidos en las composiciones farmacéuticas de la invención y se usan en los procedimientos de la invención. Cuando un grupo -COOH o -OH está presente, pueden emplearse ésteres farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, metilo, etilo, pivaloiloximetilo y similares para -COOH, y acetato maleato y similares para -OH, y los ésteres conocidos en la técnica para modificar las características de solubilidad o hidrólisis, para uso como formulaciones de liberación sostenida o de profármaco.

Los expertos en la técnica preparan fácilmente las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención.

30 Los nuevos compuestos de fórmulas (I) y (II) se preparan generalmente como se muestra en los Esquemas 1 y 2 a continuación, o por métodos análogos, siempre que los sustituyentes X y 'R' en las fórmulas (I) y (II), respectivamente, no incluyan ninguno de dichos sustituyentes que hacen inoperantes los procesos de cualquiera de los Esquemas 1 o 2. Todos los materiales de partida están disponibles en el mercado o se preparan fácilmente a partir de materiales de partida disponibles en el mercado por los expertos en la técnica.

Esquemas Generales

Esquema 1

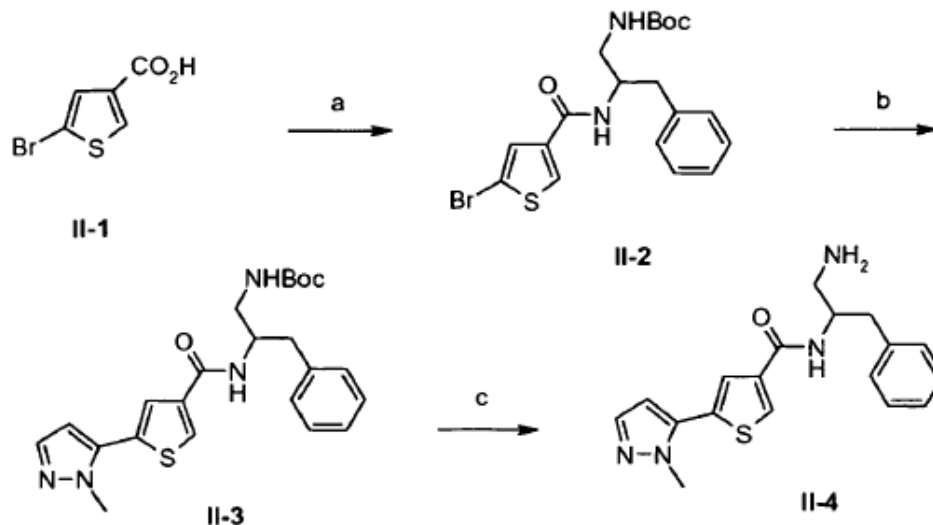


Reactivos: (a) Ftalamida, PPh₃, DEAD, THF, T.A.; (b) NH₂NH₂, MeOH, 50°C.

45 Se hizo reaccionar amino alcohol (I-1) en condiciones de Mitsunobu para proporcionar la diamina diferentemente protegida (I-2). Las reacciones de Mitsunobu son bien conocidos para los expertos en la técnica de la síntesis orgánica. Los métodos y condiciones de reacción para dichas transformaciones se exponen en *Synthesis* 1981, 1-28. La desprotección selectiva del grupo ftalimida de (I-2) usando una amina nucleófila tal como hidrazina o metilamina en un disolvente polar tal como metanol, proporcionó la amina (I-3). Muchos grupos protectores diferentes están disponibles para un experto en la técnica y pueden utilizarse en la presente memoria, siempre que cuando no interfieran con los procesos enumerados en la presente memoria. Los métodos para la protección de aminas se describen en volúmenes de referencia estándar, tales como Greene "*Protective Groups in Organic*" (publicado por Wiley-Interscience).

50

Esquema 2



Reactivos: PyBrop, (i-Pr)₂NEt, (2-amino-3-fenilpropil) carbamato de 1,1-dimetiletilo, DCM, T.A.; 1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol, K₂CO₃, Pd(PPh₃)₄, dioxano/H₂O; (c) TFA/DCM, T.A.

- 5 Se hizo reaccionar ácido carboxílico (II-1) con (2-amino-3-fenilpropil) carbamato de 1,1-dimetiletilo para formar amida (II-2). Una variedad de reactivos de acoplamiento de amidas tales como EDC, PyBrop, etc. están disponibles en el mercado. Reacciones de acoplamiento de amidas generalmente se llevan a cabo en disolventes tales como DCM o DMF, utilizando una base orgánica como Et₃N o (i-Pr)₂NEt. Se acopló bromuro (II-2) con 1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol utilizando un procedimiento de acoplamiento de Suzuki. Acoplamientos semejantes a Suzuki suelen llevarse a cabo utilizando un catalizador de paladio (0) catalizador tal como Pd(PPh₃)₄ con una base inorgánica, por ejemplo K₂CO₃, Na₂CO₃ o K₃PO₄, en una mezcla acuosa que contiene disolventes etéreos tales como DME, dioxano o THF. Los métodos para acoplamientos en los que interviene paladio como mediador se describen en volúmenes de referencia estándar, tales como Schlosser "Organometallics in Synthesis" (publicado por Wiley and Sons). El tratamiento ácido de II-3 con HCl o TFA para eliminar el grupo protector Boc produjo amina (II-4). Muchos grupos protectores diferentes están disponibles para un experto en la técnica y pueden utilizarse en la presente memoria, siempre y cuando no interfieran con los procedimientos enumerados en la presente memoria. Los métodos para la protección de aminas se describen en volúmenes de referencia estándar, tales como Greene "Protective Groups in Organic Synthesis" (publicado por Wiley-Interscience).

Por el término "co-administración" y sus derivados tal como se emplea en la presente memoria, se entiende ya sea la administración simultánea o cualquier manera de administración secuencial separada de un compuesto inhibidor de AKT, como se describe en la presente memoria, y un principio o principios activos adicionales, conocidos por ser útiles en el tratamiento de cáncer, incluidas la quimioterapia y la radioterapia, o por ser útil en el tratamiento de la artritis. La expresión ingrediente o principios activos adicionales, como se emplea en la presente memoria, incluye cualquier compuesto o agente terapéutico conocido o que demuestra propiedades ventajosas cuando se administra a un paciente en necesidad de tratamiento para el cáncer o artritis. Preferiblemente, si la administración no es simultánea, los compuestos se administran en una proximidad estrecha de tiempo. Además, no importa si los compuestos se administran en la misma forma farmacéutica, p. ej., un compuesto puede administrarse por vía tópica y otro compuesto puede administrarse por vía oral.

Normalmente, cualquier agente antineoplásico que tiene actividad frente a un tumor susceptible de ser tratado puede coadministrarse en el tratamiento del cáncer en la presente invención. Ejemplos de dichos agentes se pueden encontrar en Cancer Principles and Practice of Oncology por V.T. Devita y S. Hellman (editores), 6^a edición (15 de febrero 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Cualquier experto en la técnica sería capaz de discernir qué combinaciones de agentes serían útiles basándose en las características específicas de los fármacos y el cáncer implicado. Los agentes antineoplásicos típicos útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, agentes antimicrotubulares tales como diterpenoides y alcaloides de las vincas; complejos de coordinación de platino; agentes alquilantes tales como mostazas de nitrógeno, oxazafosforinas, alquilsulfonatos, nitrosoureas y triazenos alquilantes; agentes antibióticos tales como antraciclinas, actinomocinas y bleomicinas; inhibidores de la topoisomerasa II tales como epipodofilotoxinas; antimetabolitos tales como análogos de purina y pirimidina y compuestos anti-folato; inhibidores de topoisomerasa I tales como camptotecinas; hormonas y análogos hormonales; inhibidores de la ruta de transducción de señales; inhibidores de angiogenia de tirosina cinasa no receptor; agentes inmunoterapéuticos; agentes proapoptóticos; e inhibidores de señalización del ciclo celular.

Ejemplos de un principio o principios activos adicionales (agente antineoplásico) para su uso en combinación o administrado junto con la AKT ahora inventada que inhiben compuestos son agentes quimioterapéuticos.

Agentes antimicrotubulares o antimitóticos son agentes específicos de fase activos contra los microtúbulos de células tumorales durante M o la fase de la mitosis del ciclo celular. Los ejemplos de agentes antimicrotubulares incluyen, pero no se limitan a, diterpenoides y alcaloides de las vincas.

5 Los diterpenoides, que proceden de fuentes naturales, son agentes anticancerígenos específicos de fase que operan en la fases G₂/M del ciclo celular. Se cree que los diterpenoides estabilizan la subunidad β-tubulina de los microtúbulos, a unirse a esta proteína. El desmontaje de la proteína aparece a continuación para inhibirse con la mitosis que se detiene y la muerte celular después. Los ejemplos de diterpenoides incluyen, pero no se limitan a, paclitaxel y su análogo docetaxel.

10 Paclitaxel, 13-éster de 4,10-diacetato 2-benzoato 5β,20-epoxi-1,2α,4,7β,10β,13α-hexa-hidroxitax-11-en-9-ona con (2R, 3S)-N-benzoil-3-fenilisoserina; es un producto diterpénico natural aislado del tejo del Pacífico *Taxus brevifolia* y está disponibles en el mercado como solución inyectable T.A.XOL®. Es un miembro de la familia taxano de terpenos. Fue aislado por primera vez en 1971 por Wani *et al.* *J. Am. Chem., Soc.*, 93:2325. 1971), quien caracterizó su estructura por métodos químicos y cristalográficos de rayos X. Un mecanismo para su actividad se refiere a la capacidad de paclitaxel para unirse a tubulina, inhibiendo de este modo el crecimiento de células de cáncer. Schiff *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77:1561-1565 (1980); Schiff *et al.*, *Nature*, 277:665-667 (1979); Kumar, *J. Biol. Chem.*, 256: 10435-10441 (1981). Para una reseña de la síntesis y la actividad anticancerosa de algunos derivados de paclitaxel véase: D.G.I. Kingston *et al.*, *Studies in Organic Chemistry* vol. 26, titulado "New trends in Natural Products Chemistry 1986", Attaur-Rahman, P.W. Le Quesne, Eds. (Elsevier, Amsterdam, 1986) págs. 219-235.

20 Paclitaxel ha sido aprobado para uso clínico en el tratamiento del cáncer de ovario resistente a tratamiento en los Estados Unidos (Markman *et al.*, *Yale Journal of Biology and Medicine*, 64:583, 1991; McGuire *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 111:273, 1989) y para el tratamiento de cáncer de mama (Holmes *et al.*, *J. Nat. Cancer Inst.*, 83:1797, 1991.) Es un candidato potencial para el tratamiento de tumores en la piel (Einzig *et al.*, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 20:46) y los carcinomas de cabeza y cuello (Forastire *et al.*, *Sem. Oncol.*, 20:56, 1990). El compuesto también presenta potencial para el tratamiento de la nefropatía poliquística (Woo *et al.*, *Nature*, 368:750 1994), el cáncer de pulmón y el paludismo. El tratamiento de pacientes con paclitaxel da lugar a la supresión de la médula ósea (multiple cell lineages, Ignoff, R.J. *et al.*, *Cancer Chemotherapy Pocket Guide*, 1998) relacionada con la duración de dosificación por encima de una concentración umbral (50 nM) (Kearns, C.M. *et al.*, *Seminars in Oncology*, 3(6), págs. 16-23, 1995).

30 El docetaxel, éster N-terc-butílico, 13-éster de (2R,3S)-N-carboxi-3-fenilisoserina con 4-acetato 2-benzoato de 5β-20-epoxi-1,2α,4,7β,10β,13α-hexahidroxitax-11-en-9-ona, trihidratado; está disponibles en el mercado como solución inyectable como T.A.XOTERE®. Docetaxel está indicado para el tratamiento de cáncer de mama. El docetaxel es un derivado semisintético de paclitaxel *q.v.*, preparado usando un precursor natural, 10-desacetil-bacatina III, extraído de las acículas del tejo europeo. La toxicidad que limita la dosis es la neutropenia.

35 Los alcaloides de las vincas son agentes antineoplásicos con especificidad de fase derivados de la planta vincapervinca. Los alcaloides de las vincas actúan en la fase M (mitosis) del ciclo celular uniéndose específicamente a la tubulina. Por consiguiente, la molécula de tubulina unida no puede polimerizarse en los microtúbulos. Se cree que la mitosis se detiene en la metafase con la consiguiente muerte celular. Los ejemplos de alcaloides de las vincas incluyen, pero no están limitados a, vinblastina, vincristina y vinorelbina.

40 La vinblastina, sulfato de vincaleucoblastina, está disponible en el mercado como VELBAN® en forma de solución inyectable. Aunque, tiene posible indicación como segunda línea de terapia de diversos tumores sólidos, está indicada principalmente para el tratamiento de cáncer testicular y diversos linfomas incluida la enfermedad de Hodgkin; y los linfomas linfocíticos e histiocíticos. La mielosupresión es el efecto secundario limitativo de la dosis de vinblastina.

45 La vincristina, vincaleucoblastina, 22-oxo-, sulfato, está disponibles en el mercado como ONCOVIN® en forma de solución inyectable. La vincristina está indicada para el tratamiento de leucemias agudas y también ha encontrado uso en regímenes de tratamiento para los linfomas malignos de Hodgkin y no hodgkiniano. La alopecia y los efectos neurológicos son los efectos secundarios más frecuentes de la vincristina y, en menor medida se producen efectos de mielosupresión y mucositis gastrointestinal.

50 La vinorelbina, [R-(R*,R*)-2,3-dihidroxi-4'-desoxi-3'-norvincaloblastina (1:2) (sal)], disponibles en el mercado en forma de solución inyectable de tartrato de vinorelbina (NAVELBINA®), es un alcaloide semisintético de las vincas. La vinorelbina está indicada como un agente individual o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos, tales como cisplatino, en el tratamiento de diversos tumores sólidos, concretamente en los cánceres de pulmón amicrocítico, de mama avanzado y de próstata resistente a hormonas. La mielosupresión es el efecto secundario limitativo de la dosis más frecuente de la vinorelbina.

55 Los complejos de coordinación de platino son agentes anticancerosos no específicos de fase, que son interactivos con el ADN. Los complejos de platino entran en las células tumorales, experimentan acuación y forman reticulaciones dentro de las cadenas con ADN y entre ellas produciendo efectos biológicos adversos para el tumor. Ejemplos de complejos de coordinación de platino incluyen, pero no se limitan a, cisplatino y carboplatino.

60 El cisplatino, cis-diaminodicloroplatino, está disponible en el mercado como Platino® en forma de solución inyectable. El cisplatino está indicado principalmente para el tratamiento de los cánceres testicular y de ovario

metastásico y del cáncer de vejiga avanzado. Los efectos secundarios de cisplatino limitativos de dosis principales son la nefrotoxicidad, que puede controlarse por hidratación, la diuresis y la ototoxicidad.

El carboplatino, platino, diamina [1,1-ciclobutano-dicarboxilato(2-)-O,O'], está disponible en el mercado como PARAPLATIN® en forma de solución inyectable. El carboplatino está indicado principalmente en la primera y
5 segunda línea de tratamiento del carcinoma de ovario avanzado. La supresión de la médula ósea es la toxicidad limitativa de la dosis de carboplatino.

Los agentes alquilantes son agentes no específicos de fase contra el cáncer y electrófilos fuertes. Generalmente, los agentes alquilantes forman enlaces covalentes, por alquilación, con el ADN mediante grupos nucleófilos de la molécula de ADN tales como grupos fosfato, amino, sulfhidrilo, hidroxilo, carboxilo e imidazol. Dicha alquilación
10 altera la función del ácido nucleico lo que conduce a la muerte celular. Los ejemplos de agentes alquilantes incluyen, pero no se limitan a, mostazas de nitrógeno tales como ciclofosfamida, melfalán y clorambucilo; sulfonatos de alquilo tales como busulfán; nitrosoureas tales como carmustina; y triazenos tales como dacarbazina.

La ciclofosfamida, 2-óxido de 2-[bis(2-cloroetil)amino]tetrahidro-2H-1,3,2-oxazafosforina monohidratado, está disponible en el mercado en forma de solución inyectable o comprimidos como CYTOXAN®. La ciclofosfamida está
15 indicada como agente individual o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos, en el tratamiento de linfomas malignos, mieloma múltiple y leucemias. La alopecia, náuseas, vómitos y leucopenia son los efectos secundarios limitativos de la dosis más frecuentes de la ciclofosfamida.

El melfalán, 4-[bis(2-cloroetil)amino]-L-fenilalanina, está disponible en el mercado en forma de solución inyectable o comprimidos como ALKERAN®. El melfalán está indicado para el tratamiento paliativo del mieloma múltiple y del
20 carcinoma epitelial no resecable del ovario. La supresión de médula ósea es el efecto secundario limitativo de la dosis más frecuente de melfalán.

El clorambucilo, ácido 4-[bis(2-cloroetil)amino]bencenobutanoico, está disponible en el mercado en forma de comprimidos LEUKERAN®. El clorambucilo está indicado para el tratamiento paliativo de la leucemia linfática crónica y los linfomas malignos tales como el linfosarcoma, el linfoma folicular gigante y la enfermedad de Hodgkin.
25 La supresión de médula ósea es el efecto secundario limitativo de la dosis más frecuente de clorambucilo.

El busulfán, dimetansulfonato de 1,4-butanodiol, está disponible en el mercado en forma de comprimidos de MYLERAN®. Busulfan está indicado para el tratamiento paliativo de la leucemia mielógena crónica. La supresión de la médula ósea es el efecto secundario limitativo de la dosis más frecuente de busulfán.

La carmustina, 1,3-[bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, está disponible en el mercado en forma de viales individuales de material liofilizado como BiCNU®. La carmustina está indicada para el tratamiento paliativo como agente individual o
30 en combinación con otros agentes para tumores cerebrales, mieloma múltiple, enfermedad de Hodgkin y linfomas no hodgkinianos. La mielosupresión retardada es el efecto secundario limitativo de la dosis más frecuente de la carmustina.

La dacarbazina, 5-(3,3-dimetil-1-triazeno)imidazol-4-carboxamida, está disponible en el mercado en forma de viales individuales de material como DTIC-Dome®. La dacarbazina está indicada para el tratamiento del melanoma maligno metastásico y en combinación con otros agentes para la segunda línea de tratamiento de la enfermedad de
35 Hodgkin. Náuseas, vómitos y anorexia son los efectos secundarios limitativos de la dosis más frecuentes de la dacarbazina.

Los antineoplásicos antibióticos son agentes no específicos de fase, que se unen o se intercalan con el ADN. Por lo general, dicha acción produce complejos de ADN estables o rotura de cadenas, lo que altera la función normal de los ácidos nucleicos lo que conduce a la muerte celular. Los ejemplos de agentes antineoplásicos antibióticos incluyen, pero no están limitados a, actinomicinas tales como dactinomicina, antroci-clinas tales como daunorrubicina y doxorubicina; y bleomicinas.
40

La dactinomicina, también conocido como actinomicina D, está disponibles en el mercado en forma inyectable como COSMEGEN®. La dactinomicina está indicada para el tratamiento de tumor de Wilm y del rabdomiosarcoma. Náuseas, vómitos y anorexia son los efectos secundarios limitativos de la dosis más frecuentes de la dactinomicina.
45

La daunorrubicina, hidrocloreuro de (8S,cis-)-8-acetil-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12-naftacendiona, está disponible en el mercado en forma liposómica inyectable como DAUNOXOME® o en forma inyectable como CERUBIDINE®. La daunorrubicina está indicada para
50 la inducción de remisión en el tratamiento de la leucemia no linfocítica aguda y el sarcoma de Kaposi asociado al VIH avanzado. La mielosupresión es el efecto secundario limitativo de la dosis más frecuente de la daunorrubicina.

La doxorubicina, hidrocloreuro de (8S,10S)-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]-8-glicolol, 7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12 naftacendiona, está disponible en el mercado en forma inyectable como RUBEX® o ADRIAMICINA RDF®. La doxorubicina está indicada principalmente para el tratamiento de la
55 leucemia linfoblástica aguda y la leucemia mieloblástica aguda, pero es también un componente útil en el tratamiento de algunos tumores sólidos y linfomas. La mielosupresión es el efecto secundario limitativo de la dosis más frecuente de la doxorubicina.

La bleomicina, una mezcla de antibióticos glucopeptídicos citotóxicos aislados de una cepa de *Streptomyces*

verticillus, está disponible en el mercado como BLENOXANE®. La bleomicina está indicada como tratamiento paliativo, como agente individual o en combinación con otros agentes, del carcinoma de células escamosas, linfomas y carcinomas testiculares. Las toxicidades pulmonares y cutáneas son los efectos secundarios limitativos de la dosis más frecuentes de la bleomicina.

- 5 Los inhibidores de la topoisomerasa II incluyen, pero no se limitan a, epipodofilotoxinas.

Las epipodofilotoxinas son agentes antineoplásicos específicos de fase provenientes de la planta mandrágora. Las epipodofilotoxinas suelen afectar en las fases S y G₂ del ciclo celular formando un complejo ternario con la topoisomerasa II y ADN que produce roturas de la cadena de ADN. Las roturas de la cadena se acumulan y sigue la muerte celular. Los ejemplos de epipodofilotoxinas incluyen, pero no se limitan a, etopósido y tenipósido.

- 10 El etopósido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-0-(R)-etiliden-β-D-glucopiranosido], está disponible en el mercado en forma de solución inyectable o cápsulas como VePESID® y se conoce comúnmente como VP-16. El etopósido está indicado como agente individual o en combinación con otros agentes de quimioterapéuticos en el tratamiento de los cánceres testicular y pulmonar microcítico. La mielosupresión es el efecto secundario más común de etopósido. La frecuencia de la leucopenia tiende a ser más intensa que la trombocitopenia.

- 15 El tenipósido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-0-(R)-teniliden-β-D-glucopiranosido], está disponible en el mercado en forma de solución inyectable como VUMON® y se conoce comúnmente como VM-26. El tenipósido está indicado como agente individual o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de leucemia aguda en niños. La mielosupresión es el efecto secundario limitativo de la dosis más frecuente del tenipósido. El tenipósido puede provocar tanto leucopenia como trombocitopenia.

- 20 Los agentes neoplásicos antimetabolitos son agentes antineoplásicos con especificidad de fase que actúan en la fase S (síntesis de ADN) del ciclo celular inhibiendo la síntesis de ADN o inhibiendo la síntesis de bases púricas o pirimidínicas y limitando de este modo la síntesis de ADN. Por consiguiente, la fase S no procede y sigue la muerte celular. Los ejemplos de agentes neoplásicos antimetabolitos incluyen, pero no están limitados a, fluorouracilo, metotrexato, citarabina, mercaptopurina, tioguanina y gemcitabina.

- 25 5-fluorouracilo, 5-fluoro-2,4-(1H,3H) pirimidindiona, está disponible en el mercado como fluorouracilo. La administración de 5-fluorouracilo conduce a la inhibición de la síntesis de timidilato y también se incorpora tanto en el ARN como en el ADN. El resultado suele ser la muerte celular. 5-fluorouracilo está indicado como agente individual o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de carcinomas de mama, colon, recto, estómago y páncreas. La mielosupresión y la mucositis son efectos secundarios limitativos de la dosis de 5-fluorouracilo. Otros análogos de fluoropirimidina incluyen 5-fluoro desoxiuridina (floxuridina) y monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina.

- La citarabina, 4-amino-1-β-D-arabinofuranosil-2 (1H)-pirimidinona, está disponible en el mercado como CYTOSAR-U® y se conoce vulgarmente como Ara-C. Se cree que la citarabina presenta especificidad en fase celular en la fase S al inhibir el alargamiento de la cadena de ADN por la incorporación terminal de de citarabina en la cadena de ADN en crecimiento. La citarabina está indicada como agente individual o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de la leucemia aguda. Otros análogos de citidina incluyen 5-azacitidina y 2',2'-difluorodesoxicitidina (gemcitabina). La citarabina provoca leucopenia, trombocitopenia y mucositis.

- La mercaptopurina, 1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona monohidratada, está disponible en el mercado como PURINETHOL®. La mercaptopurina presenta especificidad de fase celular en la fase S al inhibir la síntesis de ADN por un mecanismo aún no especificado. La mercaptopurina está indicada como agente individual o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de la leucemia aguda. Cabe esperar mielosupresión y mucositis gastrointestinal como efectos secundarios de mercaptopurina a dosis altas. Un análogo útil de mercaptopurina es la azatioprina.

- La tioguanina, 2-amino-1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona, está disponible en el mercado como T.A.BLOID®. La tioguanina presenta especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN por un mecanismo aún no especificado. La tioguanina está indicada como agente individual o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de la leucemia aguda. La mielosupresión, incluidas la leucopenia, la trombocitopenia y la anemia, es el efecto secundario limitativo de la dosis más frecuente de la administración de tioguanina. Sin embargo, ocurren efectos secundarios gastrointestinales y pueden ser limitativos de la dosis. Otros análogos de purina incluyen pentostatina, eritrohidroxinoniladenina, fosfato de fludarabina y cladribina.

- La gemcitabina, monohidrocloruro de 2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina (isómero β), está disponible en el mercado como GEMZAR®. La gemcitabina presenta especificidad de fase celular en la fase S y mediante bloqueo de la evolución de las células por el límite G1/S. La gemcitabina está indicada en combinación con cisplatino en el tratamiento de cáncer de pulmón microcítico localmente avanzado y sola en el tratamiento de cáncer de páncreas localmente avanzado. La mielosupresión, incluidas la leucopenia, la trombocitopenia y la anemia, es el efecto secundario limitativo de la dosis más frecuente de la administración de gemcitabina.

El metotrexato, ácido N-[4[[[(2,4-diamino-6-pteridil)metil]metilamino]benzoil]-L-glutámico, está disponible en el mercado como metotrexato sódico. El metotrexato presenta efectos de fase celular específicamente en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN, la reparación y/o replicación mediante la inhibición de la ácido dihidrofólico reductasa

que se requiere para la síntesis de nucleótidos púricos y timidilato. El metotrexato está indicado como agente individual o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento del coriocarcinoma, leucemia meníngea, linfoma no hodgkiniano y carcinomas de mama, cabeza, cuello, ovario y vejiga. La mielosupresión (leucopenia, trombocitopenia y anemia) y mucositis son efectos secundarios esperados de la administración de metotrexato.

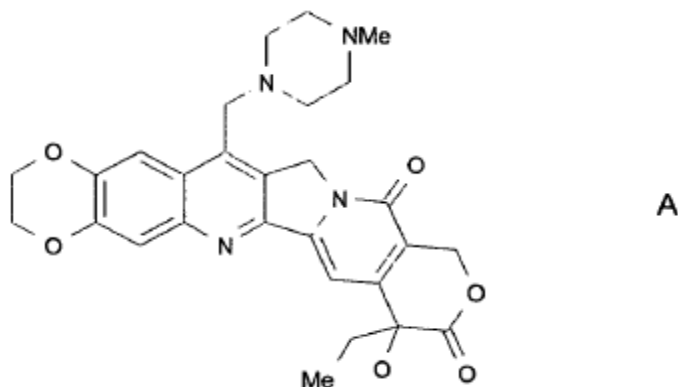
Las camptotecinas, incluidas, camptotecina y derivados de camptotecina están disponibles o en desarrollo como inhibidores de la topoisomerasa I. Se cree que la actividad citotóxica de las camptotecinas está relacionada con su actividad inhibidora de la topoisomerasa I. Los ejemplos de camptotecinas incluyen, pero no se limitan a irinotecán, topotecán y diversas formas ópticas de 7-(4-metil-piperazino-metilen)-10,11-etilendioxi-20-camptotecina descritas a continuación.

Irinotecán HCl, hidrocloreto de (4S)-4,11-dietil-4-hidroxi-9-[(4-piperidinopiperidino)carbonilo]xi-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-3,14(4H,12H)-diona, está disponible en el mercado como solución inyectable CAMPTOSAR®.

Irinotecán es un derivado de camptotecina que se une, junto con su metabolito activo SN-38, al complejo topoisomerasa I-ADN. Se cree que la citotoxicidad se produce como resultado de rupturas irreparables en la doble cadena causadas por la interacción del complejo ternario topoisomerasa I:ADN:irinotecán o SN-38 con enzimas de replicación. Irinotecán está indicado para el tratamiento del cáncer metastásico del colon o del recto. Los efectos secundarios limitativos de la dosis de irinotecán HCl son mielosupresión, incluida la neutropenia, y efectos GI, incluida la diarrea.

Topotecán HCl, monohidrocloreto de (S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-etil-4,9-dihidroxi-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-3,14(4H,12H)-diona, está disponible en el mercado como solución inyectable HYCAMTIN®. Topotecán es un derivado de camptotecina que se une al complejo topoisomerasa I-ADN y evita la religadura de las roturas de cadenas sencillas causadas por la topoisomerasa I en respuesta a la deformación por torsión de la molécula de ADN. Topotecán está indicado para tratamiento de segunda línea del carcinoma metastásico de cáncer de ovario y de pulmón microcítico. El efecto secundario limitativo de dosis de topotecán HCl es la mielosupresión, principalmente neutropenia.

También de interés, es el derivado de camptotecina de fórmula A siguiente, actualmente en desarrollo, incluida la forma de mezcla racémica (R,S), así como los enantiómeros R y S:



conocido por la denominación química "7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilendioxi-(R,S)-camptotecina (mezcla racémica) o "7-(4-metil-piperazino-metileno)-10,11-etilendioxi-20(R)-camptotecina (enantiómero R) o "7-(4-metil-piperazino-metileno)-10,11-etilendioxi-20(S)-camptotecina (enantiómero S). Dicho compuesto así como compuestos relacionados se describen, incluyendo métodos de fabricación, en las patentes de EE.UU. n° 6.063.923; n° 5.342.947; n° 5.559.235; n° 5.491.237 y la solicitud de patente de EE.UU. en tramitación n° 08/977.217 presentada el 24 de noviembre de 1997.

Las hormonas y los análogos hormonales son compuestos útiles para el tratamiento de cánceres en los que existe una relación entre la(s) hormona(s) y el crecimiento y/o la falta de crecimiento del cáncer. Ejemplos de hormonas y análogos hormonales útiles en el tratamiento del cáncer incluyen, pero no se limitan a, adrenocorticosteroides tales como prednisona y prednisolona que son útiles en el tratamiento de linfoma maligno y leucemia aguda en niños; aminoglutetimida y otros inhibidores de la aromatasa tales como anastrozol, letrozol, vorazol, y exemestano útiles en el tratamiento del carcinoma adrenocortical y el carcinoma de mama dependiente de hormonas que contiene receptores de estrógenos; progestrinas tales como acetato de megestrol útiles en el tratamiento del cáncer de mama dependiente de hormonas y carcinoma de endometrio; estrógenos, andrógenos y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, acetato de ciproterona y 5 α -reductasas tales como finasterida y dutasterida, útiles en el tratamiento de carcinoma prostático e hipertrofia prostática benigna; antiestrógenos tales como tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno, yodoxifeno, así como moduladores selectivos de receptores estrogénicos (SERM), tales como los descritos en las patentes de EE.UU. n° 5.681.835, n° 5.877.219, y n°

6.207.716, útiles en el tratamiento de carcinoma de mama dependiente de hormonas y otros cánceres susceptibles; y la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y sus análogos que estimulan la liberación de la hormona luteinizante (LH) y/o la hormona estimulante del folículo (FSH) para el tratamiento de carcinoma prostático, por ejemplo, agonistas y antagonistas de la LHRH tales como acetato de goserelina y luprolida.

- 5 Inhibidores de la vía de transducción de señales son los inhibidores, que bloquean o inhiben un proceso químico que provoca un cambio intracelular. Tal como se utiliza en la presente memoria este cambio es la proliferación o diferenciación celular. Los inhibidores de la transducción de señales útiles en la presente invención incluyen inhibidores de tirosina cinasas receptoras, tirosina cinasas no receptoras, bloqueantes del dominio SH₂/SH₃, serina/treonina cinasas, fosfotidil inositol-3 cinasas, señalización de mio-inositol y oncogenes Ras.
- 10 Varias proteínas tirosina cinasas catalizan la fosforilación de restos de tirosilo específicos en diversas proteínas implicadas en la regulación del crecimiento celular. Dichas proteínas tirosina cinasas se pueden clasificar ampliamente como cinasas receptoras o no receptoras.

- Las tirosina cinasas receptoras son proteínas transmembrana que tienen un dominio de unión a ligando extracelular, un dominio transmembrana y un dominio tirosina cinasa. Las tirosina cinasas receptoras están implicadas en la
- 15 regulación del crecimiento celular y generalmente se denominan receptores de factores de crecimiento. La activación inapropiada o incontrolada de muchas de estas cinasas, es decir, la actividad aberrante del receptor del factor de crecimiento de cinasas, por ejemplo, por sobreexpresión o mutación, se ha demostrado que da lugar a crecimiento celular incontrolado. Por consiguiente, la actividad aberrante de dichas cinasas se ha relacionado con el crecimiento de tejido maligno. En consecuencia, los inhibidores de dichas cinasas podrían proporcionar métodos de
- 20 tratamiento del cáncer. Receptores del factor de crecimiento incluyen, por ejemplo, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFr), erbB2, erbB4, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFr), tirosina cinasa con dominios de homología factor de crecimiento semejante a inmunoglobulina y epidérmico (TIE-2), receptor del factor-I de crecimiento de insulina (IGFI), factor estimulante de colonias de macrófagos (cfms), receptores BTK, ckit, cmet, del factor de crecimiento de fibroblastos
- 25 (FGF), los receptores Trk (TrkA, TrkB, y TrkC), receptores ephrin (eph), y el protooncogén RET. Varios inhibidores de receptores de crecimiento están en desarrollo e incluyen antagonistas de ligandos, anticuerpos, inhibidores de tirosina cinasa y oligonucleótidos complementarios. Los receptores y agentes que inhiben la función del receptor del factor de crecimiento se describen, por ejemplo, en Kath, John C., *Exp. Opin. Ther. Patents* (2000) 10(6):803-818; Shawver *et al.* DDT vol. 2, n° 2, febrero 1997; y Lofts, F. J. *et al.*, "Growth factor receptors as targets", *New Molecular*
- 30 *Targets for Cancer Chemotherapy*, ed. Workman, Paul y Kerr, David, CRC Press 1994, Londres.

- Las tirosina cinasas, que no son cinasas receptoras del factor de crecimiento se denominan tirosina cinasas no receptoras. Las tirosina cinasas no receptoras para uso en la presente invención, que son dianas o dianas potenciales de fármacos contra el cáncer, incluyen cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (cinasa de adherencia focal), tirosina cinasa de Bruton y Bcr-Abl. Dichas cinasas no receptoras y los agentes que inhiben la función de la
- 35 tirosina cinasa no receptora están descritas en Sinh, S. y Corey, S. J., (1999) *Journal of Hematology and Stem Cell Research* 8 (5): 465-80; y Bolen, J. B., Brugge, J. S., (1997) *Annual review of Immunology*. 15:371-404.

- Los bloqueantes de dominio SH₂/SH₃ son agentes que alteran la unión al dominio SH₂ o SH₃ que une una variedad de enzimas o proteínas adaptadoras incluidas, la subunidad p85 de PI3-K, cinasas de la familia Src, moléculas adaptadoras (Shc, Crk, Nck, Grb2) y Ras-GAP. Los dominios SH₂/SH₃ como dianas para fármacos contra el cáncer se exponen en Smithgall, T. E. (1995), *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 34(3) 125-32.
- 40

- Los inhibidores de serina/treonina cinasas incluidos los bloqueantes en cascada de MAP cinasa que incluyen bloqueantes de Raf cinasas (rafk), mitógenos o extracelular regulada cinasa (MEK) y cinasas extracelulares reguladas (ERK); y bloqueantes de miembros de la familia de la proteína cinasa C, incluidos los bloqueantes de PKC (alfa, beta, gamma, epsilon, mu, lambda, iota, zeta). La familia de Ikb cinasas (IKKa, IKKb), cinasas de la familia
- 45 PKB, miembros de la familia cinasa akt, y cinasas del receptor TGF beta. Dichas serina/treonina cinasas y sus inhibidores se describen en Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), *Journal of Biochemistry*. 126 (5) 799-803; Brodt, P., Samani, A., y Navab, R. (2000), *Biochemical Pharmacology*, 60. 1101-1107; Massagué, J., Weis-García, F. (1996) *Cancer Surveys*. 27: 41-64; Philip, P. A., y Harris, A. L. (1995), *Cancer Treatment and Research*. 78: 3-27, Lackey, K. *et al.* *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, (10), 2000, 223-226; patente de Estados Unidos. n°
- 50 6.268.391; y Martínez-lacaci, L., *et al.*, *Int. J. Cancer* (2000), 88 (1), 44-52.

- Los inhibidores de los miembros de la familia fosfotidil-inositol-3 cinasa incluidos los bloqueantes de PI3-cinasa, ATM, DNA-PK y Ku también pueden ser útiles en la presente invención. Dichas cinasas se exponen en Abraham, R.T. (1996), *Current Opinion in Immunology* 8 (3) 412-8; Canman, C. E., Lim, D. S. (1998), *Oncogene* 17 (25) 3301-3308; Jackson, S. P. (1997), *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 29 (7): 935-8; y Zhong, H. *et al.*,
- 55 *Cancer Res.*, (2000) 60 (6), 1541-45.

También son de interés en la presente invención inhibidores de señalización Myo-inositol tales como los bloqueantes de la fosfolipasa C y los análogos de mioinositol. Dichos inhibidores de señal se describen en Powis, G., y Kozikowski A., (1994) *New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy* ed., Paul Workman y David Kerr, CRC Press 1994, Londres.

- 60 Otro grupo de inhibidores de la vía de transducción de señales son inhibidores de oncogenes ras. Dichos inhibidores incluyen inhibidores de farnesiltransferasa, geranyl-geranyl transferasa y proteasas CAAX así como oligonucleótidos

complementarios, ribozimas e inmunoterapia. Se ha demostrado que dichos inhibidores bloquean la activación de ras en células que contienen ras mutante natural, actuando de este modo como agentes antiproliferación. La inhibición del oncogén ras se expone en Scharovsky, O. G., Rozados, V. R., Gervasoni, S. I. Matar, P. (2000), *Journal of Biomedical Science* 7(4) 292-8; Ashby, M. N. (1998), *Current Opinion in Lipidology* 9 (2) 99-102; y 5 *BioChim. Biophys. Acta*, (1989) 1423 (3):19-30

Como se mencionó anteriormente, los antagonistas de anticuerpos a la unión de ligandos de cinasa receptora puede servir también como inhibidores de transducción de señales. Este grupo de inhibidores de la vía de transducción de señales incluye la utilización de anticuerpos humanizados contra el dominio de unión al ligando extracelular de las 10 tirosina cinasas receptoras. Por ejemplo el anticuerpo específico C225 EGFR de Imclone (véase Green, M. C. *et al.*, Monoclonal Antibody Therapy for Solids Tumors, *Cancer Treat. Rev.*, (2000), 26 (4), 269-286); el anticuerpo Herceptin® erbB2 (véase Tyrosine Kinase Signalling in Breast Cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases, *Breast Cancer Res.*, 2000, 2 (3), 176-183); y el anticuerpo específico 2CB VEGFR2 (véase Brekken, R. A. *et al.*, Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice, *Cancer Res.* (2000) 60, 5117- 5124).

- 15 Los inhibidores de angiogenia de cinasas no receptoras también pueden ser útiles en la presente invención. Los inhibidores de la angiogenia relacionados con VEGFR y TIE2 se expusieron anteriormente con respecto a los inhibidores de la transducción de señales (ambos receptores son tirosina cinasas receptoras). La angiogenia en general está relacionada con la señalización erbB2/EGFR ya que se ha demostrado que los inhibidores de erbB2 y EGFR inhiben la angiogenia, principalmente la expresión de VEGF. Por consiguiente, los inhibidores de tirosina 20 cinasas no receptoras pueden utilizarse en combinación con los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, los anticuerpos anti-VEGF, que no reconocen VEGFR (la tirosina cinasa receptora), pero se unen al ligando; los inhibidores de moléculas pequeñas de integrina (alfav beta₃) que inhibirán la angiogenia; endostatina y angiostatina (no RTK) también pueden resultar útiles en combinación con los compuestos descritos. (Véase Bruns C. J. *et al.* (2000), *Cancer Res.*, 60: 2926-2935; Schreiber A. B., Winkler M. E., y Derynck R. (1986), *Science*, 232: 1250-1253; 25 Yen L. *et al.* (2000), *Oncogene* 19: 3460-3469).

Los agentes usados en regímenes inmunoterapéuticos también pueden ser útiles en combinación con los compuestos de fórmula (I). Existen numerosas estrategias inmunológicas para generar una respuesta inmunitaria. Estas estrategias están generalmente en el ámbito de las vacunas tumorales. La eficacia de las estrategias 30 inmunológicas se puede mejorar en gran medida mediante la inhibición combinada de las vías de señalización utilizando un inhibidor de molécula pequeña. La exposición de la estrategia de la vacuna inmunológica/tumor contra erbB2/EGFR se encuentran en Reilly R. T. *et al.* (2000), *Cancer Res.* 60: 3569-3576; y Chen Y., Hu D., Eling D. J., Robbins J., y Kipps T. J. (1998), *Cancer Res.* 58: 1965-1971.

- Los agentes utilizados en regímenes proapoptóticos (p. ej., oligonucleótidos complementarios bcl-2) también se pueden utilizar en la combinación de la presente invención. Los miembros de la familia Bcl-2 de proteínas bloquean 35 la apoptosis. El incremento de bcl-2 se ha relacionado por lo tanto con la quimiorresistencia. Los estudios han demostrado que el factor de crecimiento epidérmico (EGF) estimula miembros antiapoptóticos de la familia bcl-2 (es decir, mcl-1). Por lo tanto, las estrategias diseñadas para regular negativamente la expresión de bcl-2 en tumores han demostrado utilidad clínica y están ahora en pruebas en fase II/III, a saber, oligonucleótido complementario G3139 bcl-2 de Genta. Dichas estrategias proapoptóticas que usan la estrategia de oligonucleótidos 40 complementarios para bcl-2 se exponen en Water J. S. *et al.* (2000), *J. Clin. Oncol.* 18: 1812-1823; y Kitada S *et al.* (1994), *Antisense Res. Dev.* 4: 71-79.

Los inhibidores de señalización del ciclo celular inhiben moléculas involucradas en el control del ciclo celular. Una familia de proteína cinasas denominada cinasas dependientes de ciclina (CDK) y su interacción con una familia de 45 proteínas denominadas ciclinas controla la evolución a través del ciclo celular eucariota. La activación y la inactivación coordinada de diferentes complejos ciclina/CDK es necesaria para la evolución normal a través del ciclo celular. Se están desarrollando varios inhibidores de señalización del ciclo celular. Por ejemplo, ejemplos de cinasas dependientes de ciclina, incluidas CDK2, CDK4 y CDK6 e inhibidores de las mismas se describen en, por ejemplo, Rosania *et al.*, *Exp. Opin. Ther. Patents* (2000) 10 (2):215-230.

- En una realización, el método de tratamiento del cáncer de la invención reivindicada incluye la administración 50 conjunta de un compuesto de fórmula (I) y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables y al menos un agente antineoplásico, tal como uno seleccionado del grupo que consiste en agentes antimicrotubulares, complejos de coordinación de platino, agentes alquilantes, agentes antibióticos, inhibidores de topoisomerasa II, antimetabolitos, inhibidores de topoisomerasa I, hormonas y análogos hormonales, inhibidores de la vía de transducción de señales, inhibidores de angiogenia de tirosina cinasa no receptora, agentes 55 inmunoterapéuticos, agentes proapoptóticos e inhibidores de señalización del ciclo celular.

Debido a que los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención son activos como inhibidores de la AKT presentan utilidad terapéutica en el tratamiento del cáncer y la artritis.

- Apropiadamente, la presente invención se refiere a un método para tratar o disminuir la gravedad de un cáncer 60 seleccionado de: cerebro (gliomas), glioblastomas, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, de mama, cáncer de mama inflamatorio, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, rabdomyosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, de colon, de cabeza y cuello, de riñón, pulmonar, de hígado,

melanoma, ovárico, pancreático, de próstata, sarcoma, osteosarcoma, tumor óseo de células gigantes, de tiroides,

leucemia linfoblástica de linfocitos T, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, tricoleucemia, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrofilica crónica, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, plasmocitoma, leucemia inmunoblástica de células grandes, leucemia de células del manto, leucemia megacarioblástica con mieloma múltiple, mieloma múltiple, leucemia megacariocítica aguda, leucemia promielocítica, eritroleucemia,

linfoma maligno, linfoma de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, linfoma linfoblástico de linfocitos T, linfoma de Burkitt, linfoma folicular,

neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer pulmonar, cáncer vulvar, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer renal, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de las glándulas salivales, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer nasofaríngeo, cáncer de mejilla, cáncer de boca, GIST (tumor del estroma gastrointestinal) y cáncer testicular.

Apropiadamente, la presente invención se refiere a un método para tratar o disminuir la gravedad de un cáncer seleccionado de: cerebro (gliomas), glioblastomas, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, de mama, de colon, de cabeza y cuello, de riñón, de pulmón, de hígado, melanoma, ovárico, pancreático, de próstata, sarcoma y de tiroides.

Apropiadamente, la presente invención se refiere a un método para tratar o disminuir la gravedad de un cáncer seleccionado de ovario, mama, páncreas y próstata.

Aislamiento y purificación de AKT1 etiquetada con His (aa 136-480)

Células de insecto que expresan AKT1 etiquetada con His (aa 136-480) se lisaron en HEPES 25 mM, NaCl 100 mM, imidazol 20 mM; pH 7,5 usando un Polytron (5 ml de tampón de lisis/g de células). Los desechos celulares se eliminaron por centrifugación a 28.000 × g durante 30 minutos. El sobrenadante se filtró a través de un filtro de 4,5 micras y luego se cargó en una columna quelante de níquel preequilibrada con tampón de lisis. La columna se lavó con 5 volúmenes de columna (VC) de tampón de lisis y a continuación, con 5 VC de tampón B al 20%, donde el

tampón B es HEPES 25 mM, NaCl 100 mM, imidazol 300 mM; pH 7,5. AKT1 etiquetada con His (aa 136-480) se eluyó con un gradiente lineal de 20-100% de tampón B en 10 VC. Las fracciones eluyentes con AKT1 etiquetada con His (136-480) se agruparon y diluyeron 3 veces con tampón C, donde el tampón C es HEPES 25 mM, pH 7,5. La muestra se cromatografió a continuación en una columna Q-Sepharose HP pr-equilibrada con tampón C. La columna se lavó con 5 VC de tampón C y a continuación, se eluyó gradualmente con 5 VC 10% D, 5 VC 20% D, 5

VC 30% D, 5 VC 50% D y 5 VC del 100% D; donde D es tampón HEPES 25 mM, NaCl 1000 mM; pH 7,5. Las fracciones que contienen AKT1 etiquetada con His (aa 136-480) se agruparon y concentraron en un concentrador de peso molecular límite 10 kDa. AKT1 etiquetada con His (aa 136-480) se cromatografió en una columna de filtración en gel Superdex 75 preequilibrada con HEPES 25 mM, NaCl 200 mM, DTT 1 mM; pH 7,5. Las fracciones de AKT1 etiquetada con His (aa 136-480 se examinaron utilizando SDS-PAGE y espectrometría de masas. Las proteínas se reunieron, concentraron y congelaron a -80°C.

AKT2 etiquetada con His (aa 138-481) y Akt3 etiquetada con His (aa 135-479) se aislaron y purificaron de una manera similar.

Ensayo enzimático con AKT etiquetada con His

Se ensayó la actividad inhibitoria de la proteína serina cinasa AKT 1, 2 y 3 en compuestos de la presente invención en ensayos de fosforilación de sustrato. Este ensayo examina la capacidad de compuestos orgánicos de moléculas pequeñas para inhibir la fosforilación de serina de un sustrato peptídico. Los ensayos de fosforilación de sustrato utilizan los dominios catalíticos de AKT 1, 2 o 3. AKT 1, 2 y 3 están también disponibles en el mercado en Upstate EE.UU., Inc. El método mide la capacidad de la enzima aislada para catalizar la transferencia del gamma-fosfato desde el ATP en el residuo de serina de un péptido sintético biotinilado SEQ. ID. n°: 1 (biotina-ahx-ARKRERAYSFGHHA-amida). La fosforilación del sustrato se detectó mediante el procedimiento siguiente:

Se realizaron ensayos en placas blancas con fondo en U de 384 pocillos. Enzima AKT 10 nM activada se incubó durante 40 minutos a temperatura ambiente en un volumen de ensayo de 20 µl que contenía MOPS 50 mM, pH 7,5, MgCl₂ 20 mM, ATP 4 µM, péptido 8 µM, 0,04 uCi [³³P] ATP/pocillo, CHAPS 1 mM, DTT 2 mM, y 1 µl de compuesto de ensayo en DMSO al 100%. La reacción se detuvo mediante la adición de 50 µl de mezcla de perlas SPA (PBS de Dulbecco sin Mg²⁺ ni Ca²⁺, 0,1% de Triton X-100, EDTA 5 mM, ATP 50 µM, 2,5 mg/ml de perlas de SPA recubiertas con estreptavidina). La placa se selló, las perlas se dejaron sedimentar durante la noche, y luego se hizo un recuento de la placa en un contador por centelleo de microplacas Packard Topcount (Packard Instrument Co., Meriden, CT).

Los datos de respuestas a la dosis se representan como % de referencia calculado con la fórmula de reducción de datos $100 * (U1-C2)/(C1-C2)$ frente a la concentración de compuesto, donde U es el valor desconocido, C1 es el valor de referencia promedio obtenido para DMSO, y C2 es el valor de referencia promedio obtenido para EDTA 0,1 M. Los datos se ajustaron a la curva descrita por: $y = ((V_{max} * x) / (K+x))$ donde V_{max} es la asíntota superior y K es la C_{1/2}.

Clonación de (FL) AKT1 humana completa:

Se amplió por PCR el gen AKT1 humano completo de un plásmido que contenía AKT1-ER miristilado (donación de Robert T. Abraham, Universidad de Duke del MTA., descrito en Klippel *et al.* en Molecular and Cellular Biology 1998 volumen 18 pág. 5699) usando el cebador 5': SEQ. ID. n°: 2, 5' TATATAGGATCCATGAGCGACGTGGC 3' y el cebador 3': SEQ. ID. n°: 3, AAATTTCTCGAGTCAGGCCGTGCTGCTGG 3'. El cebador 5' incluía una enzima de restricción BamHI y el cebador 3' incluía una enzima de restricción XhoI para la clonación. El producto de la PCR resultante se subclonó en pcDNA3 como un fragmento BamHI/XhoI. Una mutación en la secuencia (TGC) que codifica una cisteína²⁵ se convirtió en la secuencia (CGC) de AKT1 natural que codifica una arginina²⁵ mediante mutagenia dirigida utilizando el Kit de mutagenia dirigida QuikChange® (Stratagene). El cebador mutagénico de AKT1: SEQ. ID. n°: 4, 5' ACCTGGCGGCCACGCTACTTCCTCC y el cebador de selección: SEQ. ID. n°: 5, 5' CTCGAGCATGCAACTAGAGGGCC (diseñada para destruir una enzima de restricción XbaI en el punto de clonación múltiple de pcDNA3) se utilizaron de acuerdo con las sugerencias del fabricante. Para la expresión/purificación, AKT1 se aisló como un fragmento BamHI/XhoI y se clonó en la enzima de restricción BamHI/XhoI de pFastBachTb (Invitrogen).

15 Expresión de AKT1 humana FL:

La expresión se realizó utilizando el Sistema de Expresión de Baculovirus BAC-to-BAC de Invitrogen (n° en catálogo 10359-016). En resumen 1) el cDNA se transfirió desde el vector FastBac al ADN bácido, 2) se aisló el ADN bácido y se utilizó para transfectar células Sf9 de insecto, 3) se produjo el virus en células Sf9, 4) las células T. ni se infectaron con esta virus y se enviaron para purificación.

20 Purificación de AKT1 humana FL:

Para la purificación de AKT1 completa, 130 g de células Sf9 (lote n° 41646W02) se volvieron a poner en suspensión en tampón de lisis (tampón A, 1 l, pH 7,5) que contenía HEPES 25 mM, NaCl 100 mM e imidazol 20 mM. La lisis celular se llevó a cabo por Avestin (2 pasadas a 103,4-137,9 MPA (15K-20K psi)). Los desechos celulares se eliminaron por centrifugación a 16K rpm durante 1 hora y el sobrenadante fue el lote unido a 10 ml de perlas de níquel Sepharose HP a 4°C durante toda la noche. Las perlas se transfirieron después a la columna y el material unido se eluyó con tampón B (HEPES 25 mM, NaCl 100 mM, imidazol 300 mM, pH 7,5). Las fracciones eluidas de AKT se reunieron y se diluyeron 3 veces usando tampón C (HEPES 25 mM, DTT 5 mM; pH 7,5). La muestra se filtró y cromatografió en una columna Q-HP de 10 ml preequilibrada con tampón C a 2 ml/min.

La columna Q-HP se lavó con 3 volúmenes de columna (VC) de tampón C, a continuación, se eluyó gradualmente con 5 VC 10% D, 5 VC 20% D, 5 VC 30% D, 5 VC 50% D y 5 VC de 100% D; donde el tampón D es HEPES 25 mM, NaCl 1.000 mM, DTT 5 mM; pH 7,5. Se recogieron fracciones de 5 ml. Las fracciones que contenían AKT se combinaron y se concentraron hasta 5 ml. La proteína se cargó a continuación a una columna de 120 ml de tamaño Superdex 75 que se preequilibró con HEPES 25 mM, NaCl 200 mM, DTT 5 mM; pH 7,5. Se recogieron fracciones de 2,5 ml.

35 Se agruparon las fracciones de elución con AKT 1, se tomaron alícuotas (1 ml) y se almacenaron a -80°C. El espectro de masas y el análisis SDS-PAGE se utilizaron para confirmar la pureza y la identidad de la AKT1 completa purificada.

AKT2 completa y AKT3 completa se clonaron, expresaron y purificaron de una forma similar.

Ensayo enzimático con AKT

40 Se ensaya la actividad inhibidora de AKT 1, 2 y 3 proteína serina cinasa de los compuestos de la presente invención en ensayos de fosforilación del sustrato. Este ensayo examina la capacidad de compuestos orgánicos de molécula pequeña para inhibir la fosforilación de serina de un sustrato peptídico. Los ensayos de fosforilación del sustrato utilizan los dominios catalíticos de AKT 1, 2, o 3. AKT 1, 2 y 3 están también disponibles en el mercado en Upstate EE.UU., Inc. El método mide la capacidad de la enzima aislada para catalizar la transferencia del gamma- fosfato desde el ATP en el resto de serina de un péptido sintético biotinilado SEQ. ID. n°: 5 (biotina-ahx-ARKRERAYSFGHHA-amida). La fosforilación del sustrato se detecta mediante el siguiente procedimiento:

Los ensayos se realizan en placas blancas de fondo en U con 384 pocillos. Enzima AKT activada 10 nM se incubó durante 40 minutos a temperatura ambiente en un volumen de ensayo de 20 µl que contenía MOPS 50 mM, pH 7,5, MgCl₂ 20 mM, ATP 4 µM, péptido 8 µM, 0,04 uCi [g-³³P] ATP/pocillo, CHAPS 1 mM, DTT 2 mM, y 1 µl de compuesto de ensayo en DMSO al 100%. La reacción se detuvo mediante la adición de 50 µl de mezcla de perlas SPA (PBS de Dulbecco sin Mg²⁺ ni Ca²⁺, Triton X-100 al 0,1%, EDTA 5 mM, ATP 50 µM, 2,5 mg/ml de perlas SPA recubiertas de estreptavidina). Se sella la placa, se dejan sedimentar las perlas durante la noche, y luego se hace el recuento de la placa en un contador de centelleo en microplaca Packard Topcount (Packard Instrument Co., Meriden, CT).

Los datos de respuestas a la dosis se representan como % de referencia calculado con la fórmula de reducción de datos $100 * (U1-C2)/(C1-C2)$ frente a la concentración de compuesto, donde U es el valor desconocido, C1 es el valor de referencia promedio obtenido para DMSO, y C2 es el valor de referencia promedio obtenido para EDTA 0,1 M. Los datos se ajustan a la curva descrita por: $y = ((V_{max} * x) / (K + x))$ donde V_{max} es la asíntota superior y K es la IC₅₀.

En los compuestos de la invención se ensaya la actividad contra AKT1, AKT2 y AKT3 en uno o más de los ensayos anteriores.

Los compuestos de los Ejemplos se probaron generalmente según los ensayos anteriores de la enzima Akt y en al menos una serie experimental presentaba un valor de pCI_{50} : $\geq 5,9$ contra AKT1 completa; $\geq 5,0$ contra AKT2 completa; y $\geq 5,0$ contra Akt3 completa.

En los datos anteriores, pIC_{50} se define como $-\log(IC_{50})$, donde el valor de CI_{50} se expresa en unidades molares.

Los compuestos farmacéuticamente activos dentro del alcance de esta invención se útiles como inhibidores de Akt en mamíferos, particularmente seres humanos, que los necesitan.

La presente invención proporciona por lo tanto un método para tratar el cáncer, la artritis y otras afecciones que requieren la inhibición de Akt, que comprende administrar un compuesto eficaz de fórmula (I) y/o una sal, hidrato, solvato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo. Los compuestos de fórmula (I) también proporcionan un método para tratar las enfermedades indicadas anteriormente debido a su capacidad demostrada para actuar como inhibidores de Akt. El fármaco se puede administrar a un paciente que lo necesite por cualquier vía de administración convencional, incluidas, pero no limitadas a, intravenosa, intramuscular, oral, subcutánea, intradérmica y parenteral.

Los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención se incorporan en formas farmacéuticas convenientes tales como cápsulas, comprimidos o preparaciones inyectables. Se emplean vehículos farmacéuticos sólidos o líquidos. Los vehículos sólidos incluyen, almidón, lactosa, sulfato de calcio dihidratado, caolín, sacarosa, talco, gelatina, agar-agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio y ácido esteárico. Los vehículos líquidos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, solución salina y agua. Asimismo, el vehículo o diluyente puede incluir cualquier material de liberación prolongada, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o con una cera. La cantidad de vehículo sólido varía ampliamente pero, preferiblemente, será de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 1 g por unidad posológica. Cuando se use un vehículo líquido, la preparación estará en la forma de jarabe, elixir, emulsión, cápsula de gelatina blanda, líquido inyectable estéril tal como una ampolla o una suspensión líquida acuosa o no acuosa.

Los preparados farmacéuticos se hacen siguiendo técnicas convencionales de un químico farmacéutico que conllevan la mezcla, granulación y compresión, cuando sea necesario, para presentaciones en comprimidos, o mezcla, llenado y disolución de los ingredientes, cuando proceda, para dar los productos orales o parenterales deseados.

Las dosis de los compuestos farmacéuticamente activos actualmente inventados en una dosis farmacéutica individual como se descrito anteriormente será una cantidad eficaz, atóxica preferentemente seleccionada del intervalo de 0,001-100 mg/kg de compuesto activo, preferiblemente 0,001-50 mg/kg. Cuando el tratamiento de un paciente humano que necesita un inhibidor de Akt, la dosis seleccionada se administra preferiblemente de 1-6 veces al día, por vía oral o parenteral. Las formas preferidas de administración parenteral incluyen la vía tópica, rectal, transdérmica, por inyección y por infusión continua. Las dosis posológicas orales para la administración humana contienen preferiblemente de 0,05 a 3500 mg de compuesto activo. Se prefiere la administración oral, que usa dosis más bajas. Sin embargo, también se puede utilizar administración parenteral, a altas dosis, cuando sea seguro y conveniente para el paciente.

Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente las dosis óptimas a administrar, y pueden variar con cada inhibidor de Akt en uso, la concentración de la preparación, el modo de administración, y el avance de la enfermedad. Los factores adicionales dependiendo de cada paciente que se está tratando dará lugar a una necesidad de ajustar las dosis, incluidos la edad del paciente, el peso, la dieta y el tiempo de administración.

El método de esta invención de provocar la actividad inhibidora de Akt en mamíferos, incluidos seres humanos, comprende la administración a un sujeto que necesita dicha actividad de una cantidad inhibidora eficaz de Akt de un compuesto farmacéuticamente activo de la presente invención.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para su uso como un inhibidor de Akt.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para su uso en terapia.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento del cáncer.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la artritis.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para su uso como inhibidor de Akt que comprende un compuesto de fórmula (I) y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer que comprende un compuesto de fórmula (I) y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de la artritis que comprende un compuesto de fórmula (I) y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

No cabe esperar efectos toxicológicos inaceptables cuando los compuestos de la invención se administran de acuerdo con la presente invención.

- 5 Además, los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención se pueden administrar junto con otros principios activos, tales como otros compuestos conocidos para tratar el cáncer o la artritis, o compuestos conocidos por tener utilidad cuando se utilizan en combinación con un inhibidor de Akt.

Sin más elaboración, se cree que un experto en la técnica puede, usando la descripción precedente, utilizar la presente invención en toda su extensión. Los siguientes Ejemplos, por lo tanto, deben considerarse como

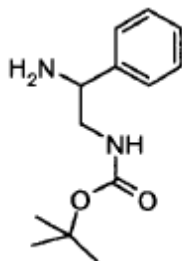
- 10 meramente ilustrativos y no en modo alguno una limitación del alcance de la presente invención.

Detalles experimentales

Los compuestos de los Ejemplos 1 a 12 se preparan fácilmente según los Esquemas 1 y 2 o por métodos análogos.

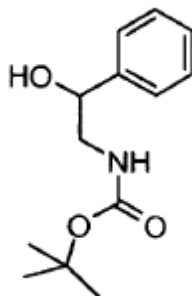
Preparado 1

Preparación de (2-amino-2-feniletil)carbamato de 1,1-dimetiletilo



15

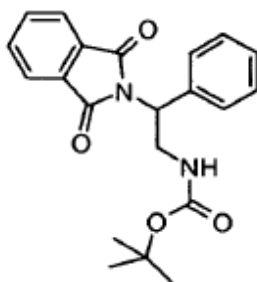
a) (2-hidroxi-2-feniletil)carbamato de 1,1-dimetiletilo



20

A una solución de 2-amino-1-feniletanol (5 g, 36,4 mmol) en THF (182 ml) a 25°C se añadió Boc_2O (8,7 g, 40,1 mmol) en una porción. Después de 0,5 h, la solución se concentró y el residuo se usó directamente sin purificación adicional: LC-MS (ES) $m/z = 238$ (M+H)⁺.

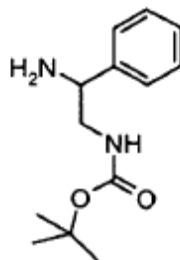
b) [2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-2-feniletil] carbamato de 1,1-dimetiletilo



25

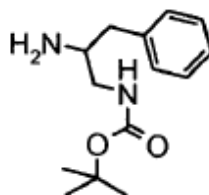
A una solución de (2-hidroxi-2-feniletil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (2 g, 8,44 mmol), ftalimida (1 g, 7,03 mmol) y trifetilfosfina (2,76 g, 10,5 mmol) en THF (35 ml) a 25°C se añadió gota a gota DEAD (1,7 ml, 10,5 mmol). Después de 0,5 h, la solución se concentró y se purificó por cromatografía en columna (sílice, 15% EtOAc en hexanos) proporcionando el compuesto del título (2 g, 80%) como una espuma blanca: LC-MS (ES) $m/z = 367$ (M+H)⁺.

c) (2-amino-2-feniletíl) carbamato de 1,1-dimetiletilo



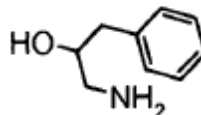
5 Una solución de [2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-2-feniletíl] carbamato de 1,1-dimetiletilo (2 g, 5,46 mmol) y, o bien MeNH₂ (40% en peso en H₂O, 10 eq.) o NH₂NH₂ (10 eq.) en MeOH (0,5 M, 10 ml) se calentó a 60°C en un tubo sellado. Después de 12 h, la solución se concentró y se purificó por cromatografía en columna (carga de sílice anhidra, 2% de MeOH en DCM (1% de NH₄OH)) proporcionando el compuesto del título (1,1 g, 85%) como un sólido blanco: LC-MS (ES) m/z = 237 (M+H)⁺.

Preparado 2



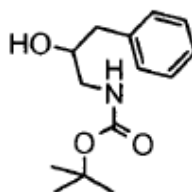
10 Preparación de (2-amino-3-fenilpropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo

a) 1-amino-3-fenil-2-propanol



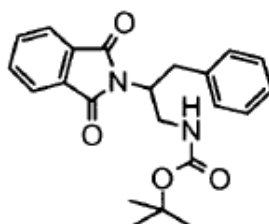
Una solución de 2-(fenilmetil)oxirano (7,5 g, 56,3 mmol) en NH₄OH (100 ml) se agitó a 25°C en un tubo sellado. Después de 12 h, la solución se concentró y se usó directamente: LCMS (ES) m/e 152 (M+H)⁺.

15 b) (2-hidroxi-3-fenilpropil) carbamato de 1,1-dimetiletilo



20 A una solución de 1-amino-3-fenil-2-propanol (7,6 g, 50 mmol) en THF (50 ml) a T.A. se añadió (Boc)₂O (12,0 g, 55 mmol). Después de agitar a T.A. durante 2 h, la solución de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó sobre gel de sílice (5% de MeOH en DCM (0,5% de NH₄OH)) proporcionando el compuesto del título (13,1 g, 91%) como un aceite de color amarillo claro: LCMS (ES) m/z 252 (M+H)⁺.

c) [2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-3-fenilpropil]carbamato de 1,1-dimetiletilo

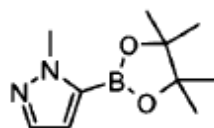


A una solución de (2-hidroxi-3-fenilpropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (10,0 g, 39,8 mmol), PPh_3 (12,5 g, 47,8 mmol) y ftalimida (6,44 g, 43,8 mmol) en THF (125 ml) a T.A. se añadió DEAD (9,4 ml, 59,7 mmol) durante 5 min. Después de 1 h a T.A., la solución de reacción se concentró y se purificó sobre sílice (hexanos/EtOAc, 2:1) para dar el compuesto del título como un sólido blanco (12,6 g, 83%): LCMS (ES) m/z 381 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

5 d) (2-amino-3-fenilpropil) carbamato de 1,1-dimetiletilo

Se añadió NH_2NH_2 (12,5 ml, 394 mmol) a una solución en THF/MeOH (50 ml/50 ml) de (2-amino-4-fenilbutil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (7,5 g, 19,7 mmol) y se agitó a 50°C en un sistema sellado. Después de 12 horas, los sólidos se filtraron, lavando con metanol. El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en columna usando 5% de MeOH en CHCl_3 que contiene 0,5% de NH_4OH para dar el compuesto del título (3,75 g, 76%) como un sólido blanco: LC-MS (ES) m/z = 251 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

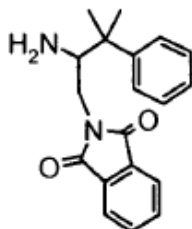
Preparado 3



Preparación de 1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-1H-pirazol

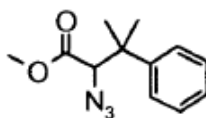
- 15 A una solución de 1-metilpirazol (4,1 g, 50 mmol) en THF (100 ml) a 0°C se añadió n-BuLi (2,2 M en THF, 55 mmol). La solución de reacción se agitó durante 1 hora a T.A. y luego se enfrió a -78°C. [*J. Heterocyclic Chem.* 41, 931 (2004)]. A la solución de reacción se le añadió 2-isopropoxi-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (12,3 ml, 60 mmol). Después de 15 minutos a -78°C, la reacción se dejó calentar a 0°C durante 1 hora. La reacción se diluyó con solución saturada de NH_4Cl y se extrajo con DCM. Las fracciones orgánicas se lavaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron a vacío para proporcionar un sólido bronceado (8,0 g, 76%) que se usó sin purificación adicional.
- 20 LCMS (ES) m/z 127 ($\text{M}+\text{H}$)⁺ para $[\text{RB}(\text{OH})_2]$; ¹H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7,57 (s, 1 H), 6,75 (s, 1 H), 4,16 (s, 3 H) y 1,41 (s, 12 H).

Preparado 4



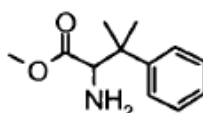
Preparación de 2-(2-amino-3-metil-3-fenilbutil)-1H-isoindol-1,3(2H)-diona

- 25 a) 2-azido-3-metil-3-fenilbutanoato de metilo



- 30 A una solución de KHMDS (36 ml, 17,9 mmol) en THF (70 ml) a -78°C se añadió gota a gota 3-metil-3-fenilbutanoato de metilo (3g, 15,6 mmol) en THF (15 ml). Después de 1h, se añadió gota a gota trisilazida (5 g, 18,7 mmol) en THF (15 ml) durante 10 min. después de 5 min. más, se añadió ácido acético gota a gota (4,1 ml) y la mezcla de reacción se calentó a 25°C durante 1 h. La solución se repartió a continuación entre H_2O -DCM y la fase acuosa se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas se lavaron sobre Na_2SO_4 , se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (sílice, 20% de EtOAc en hexanos) dando el compuesto del título (2,6 g, 71%) contaminado con 33% de 3-metil-3-fenilbutanoato de metilo que debe purificarse en las etapas siguientes: LCMS (ES) m/e 234 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

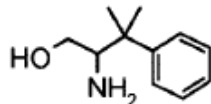
- 35 b) beta,beta-dimetilfenilalaninato de metilo



Una solución de 2-azido-3-metil-3-fenilbutanoato de metilo (2,6 g, 11,2 mmol) y PPh_3 (4,4 g, 16,7 mmol) en H_2O (400

μl) y THF (100 ml) se agitó a 25°C durante 2 días y a continuación a 50°C durante 12 h. La solución se concentró y purificó por cromatografía en columna (sílice, 5% de MeOH en DCM (1% de NH_4OH)) dando el compuesto del título (1,4 g, cuant.): LCMS (ES) m/e 208 (M+H)⁺.

c) 2-amino-3-metil-3-fenil-1-butanol

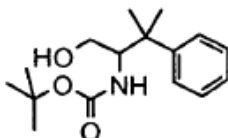


5

A una solución de beta,beta-dimetilfenilalaninato de metilo (1,4 g, 6,76 mmol) en THF (20 ml) a 0°C se añadió gota a gota una solución de hidruro de litio y aluminio (384 mg, 10,1 mmol) en THF (10 ml). Después de calentar a 25°C durante 12 h, la solución se inactivó por adición sucesiva de H_2O (659 μl), NaOH 6 N (500 μl) y H_2O (2,4 ml). El precipitado resultante se filtró y la almohadilla se lavó intensamente con DCM. El filtrado se concentró y purificó por cromatografía en columna (sílice, 2-5% de MeOH en DCM (1% de NH_4OH)) dando el compuesto del título (770 mg, 64%): LCMS (ES) m/e 179 (M+H)⁺.

10

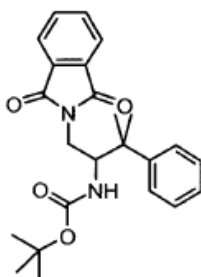
d) [1-(hidroximetil)-2-metil-2-fenilpropil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



Se añadió Boc_2O (1 g, 4,76 mmol) en una porción a 2-amino-3-metil-3-fenil-1-butanol (770 mg, 4,33 mmol) en THF (20 ml) a 25°C. Después de 30 min, se concentró la solución dando el compuesto del título (1,4 g, cuant.) como un sólido blanco que se utilizó sin purificación adicional: LCMS (ES) m/e 279 (M+H)⁺.

15

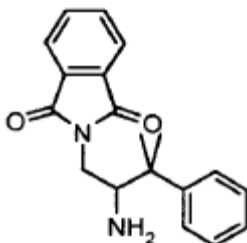
e) {1-[(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)metil]-2-metil-2-fenilpropil}carbamato de 1,1-dimetiletilo



A una solución de [1-(hidroximetil)-2-metil-2-fenilpropil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (775 mg, 2,8 mmol), trifenilfosfina (915 mg, 3,5 mmol) y ftalamida (499 mg, 3,4 mmol) en THF (15 ml) a 25°C se añadió azodicarboxilato de dietilo (0,54 ml, 3,4 mmol). Dp de agitar a T.A. durante 1 h, se añadió MeOH (5 ml) y la solución de reacción se adsorbió en sílice, a continuación se purificó por cromatografía en columna (1% de MeOH en DCM) dando el compuesto del título (723 mg, 64%) como un sólido blanco: LCMS (ES) m/z 409 (M+H)⁺.

20

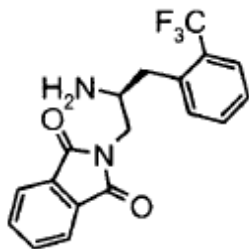
f) 2-(2-amino-3-metil-3-fenilbutil)-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona



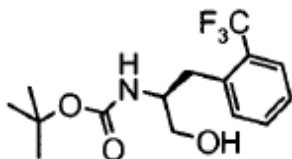
25

A una solución de {1-[(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)metil]-2-metil-2-fenilpropil}carbamato de 1,1-dimetiletilo (723 mg, 1,77 mmol) en CHCl_3 :MeOH (10:1, 55 ml) a T.A. se añadió HCl 4 M en dioxano (10 ml). Después de agitar durante 3 h a T.A., la solución de reacción se concentró hasta un sólido blanco (cuant.): LCMS (ES) m/z 309 (M+H)⁺.

Preparado 5

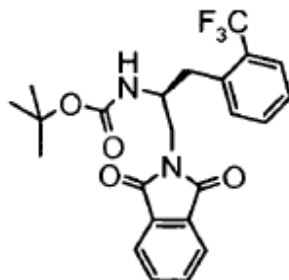


a) ((1S)-2-hidroxi-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)carbamato de 1,1-dimetiletilo



5 A una solución de N-[[[(1,1-dimetiletil)oxi]carbonil]-2-(trifluorometil)-L-fenilalanina (5 g, 15 mmol) en THF (75 ml) a 0°C agitada se añadió BH_3 -THF (45 ml, 45 mmol-1M en THF). Después de 12 h, la reacción se inactivó con AcOH:MeOH (1:5, 24 ml) y se repartió entre una solución acuosa saturada de NaHCO_3 y DCM. A continuación se extrajo la fase acuosa varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se utilizó directamente (4,2 g, 88%):. LCMS (ES) m/e 320 (M+H)⁺.

10 b) ((1S)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)carbamato de 1,1-dimetiletilo

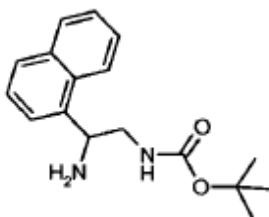


15 A una solución de ((1S)-2-hidroxi-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (4,2 g, 13,2 mmol), trifetilfosfina (4,5 g, 17,1 mmol) y ftalimida (1,9 g, 13,2 mmol) en THF (66 ml) a 25°C. Se añadió azodicarboxilato de dietilo (2,7 ml, 17,1 mmol). Después de agitar a T.A. durante 1 h, la solución de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó sobre gel de sílice (1% de MeOH en DCM) proporcionando el compuesto del título (3,2 g, 54%) como un sólido blanco: LCMS (ES) m/z 449 (M+H)⁺.

c) 2-[(2S)-2-amino-3-[2-(trifluorometil)fenil]propil]-1H-isoindol-1,3(2H)-diona

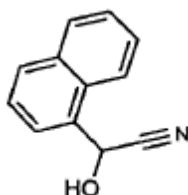
20 A una solución de ((1S)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (3,2 g, 7,1 mmol) en MeOH (35 ml) a T.A. se añadió HCl 4 M en dioxano (18 ml). Después de 12 h, la solución se concentró, produciendo el compuesto del título (2,7 g, cuant.) en forma de sal de HCl: LCMS (ES) m/z 349 (M+H)⁺.

Preparado 6



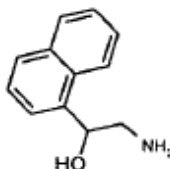
Preparación de [2-amino-2-(1-naftalenil)etil]carbamato de 1,1-dimetiletilo

a) hidroxil(1-naftalenil)acetonitrilo



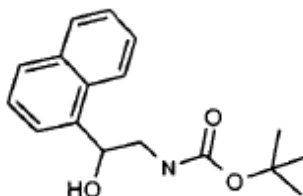
- 5 A una solución de cianuro potásico en éter (100 ml) a 0°C se añadió gota a gota una mezcla de 1-naftalencarboxaldehído (1,56 g, 10 mmol) y ácido acético (1,41 g, 23,5 mmol) en éter (10 ml). La mezcla resultante se calentó a 25°C durante 20 h, el precipitado se filtró y el filtrado se concentró proporcionando el compuesto del título como un aceite claro (1,67 g, 9,14 mmol, 91%): LCMS (ES) m/z 184 (M+H)⁺.

b) 2-amino-1-(1-naftalenil)etanol



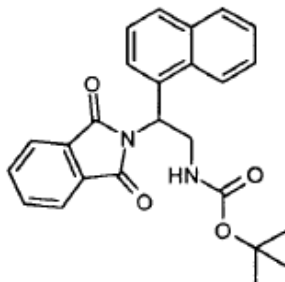
- 10 A una solución de hidroxil(1-naftalenil)acetonitrilo (1,67 g, 9,14 mmol) en THF (90 ml) a 0°C se añadió gota a gota una solución de LAH-THF (1 M, 11 ml, 11 mmol). Después de 2 h, la solución se inactivó por adición sucesiva de H₂O (0,42 ml), NaOH 6 N (6 M, 0,32 ml) y H₂O (1,6 ml). El precipitado resultante se filtró y el filtrado se concentró y utilizó directamente proporcionando el compuesto del título (0,90 g, 4,8 mmol, 53%) como un aceite claro: LCMS (ES) m/z 188 (M+H)⁺.

15 c) [2-hidroxil-2-(1-naftalenil)etil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



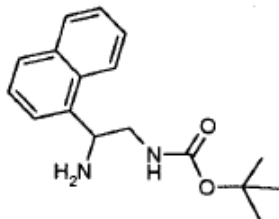
- 20 A una solución de 2-amino-1-(1-naftalenil)etanol (1,38 g, 4,8 mmol) en diclorometano (50 ml) se añadió anhídrido de Boc (1,16 g, 5,3 mmol). Después de agitar a T.A. durante 12 h, la solución de reacción se concentró y se repartió entre NaHCO₃ sat./DCM. La fase acuosa se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y utilizaron directamente como un sólido blanco proporcionando el compuesto del título (1,38 g, 4,8 mmol, cuant.): LCMS (ES) m/z 288 (M+H)⁺.

d) [2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isindol-2-il)-2-(1-naftalenil)etil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



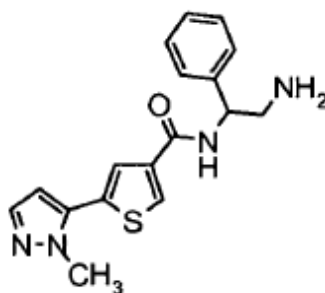
- 25 A una solución de [2-hidroxil-2-(1-naftalenil)etil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (1,38 g, 4,8 mmol), trifenilfosfina (1,52 g, 5,76 mmol) y ftalimida (0,74 g, 5,04 mmol) en THF (50 ml) a 25°C se añadió azodicarboxilato de dietilo (0,87 ml, 5,04 mmol). Después de agitar a T.A. durante 1 h, la solución de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó sobre gel de sílice (20% de EtOAc en hexanos) proporcionando el compuesto del título (1,29 g, 3,1 mmol, 65%) como un sólido blanco: LCMS (ES) m/z 387 (M+H)⁺.

e) [2-amino-2-(1-naftalenil)etil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



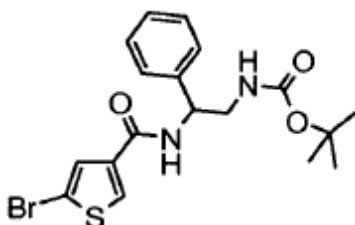
A una solución de [2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-2-(1-naftalenil)etil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (1,29 g, 3,1 mmol) en MeOH (30 ml) se añadió hidrazina anhidra (0,5 ml, 15,5 mmol) a 25°C. Después de 12 h, la solución se repartió entre DCM/H₂O. La fase acuosa se lavó varias veces con DCM y las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se utilizaron directamente como un sólido blanco proporcionando el compuesto del título (491 mg, 1,72 mmol, 55%): LCMS (ES) m/z 287 (M+H)⁺.

Ejemplo 1



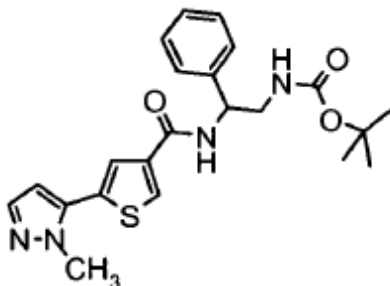
10 Preparación de N-(2-amino-1-feniletil)-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida

a) (2-[[5-bromo-3-tienil]carbonil]amino)-2-feniletil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



A una solución de ácido 5-bromo-3-tiofenocarboxílico (1 g, 4,85 mmol), [preparada según *J. Org. Chem.* 1976, 41, 2350], (2-amino-2-(1-feniletil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (1,1 g, 4,85 mmol) [de la preparación 1] y diisopropiletilamina (2,5 ml, 14,60 mmol) en DCM (50 ml) a 25°C se añadió PyBrop (2,5 g, 5,30 mmol) en una porción. Después de 16 h, la solución se repartió entre H₂O y se lavó con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (sílice, 1% de MeOH en DCM) proporcionando el compuesto del título (1,4 g, 68%) como un sólido blanco: LC-MS (ES) m/z = 426 (M+H)⁺.

20 b) [2-[[5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-tienil]carbonil]amino)-2-feniletil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



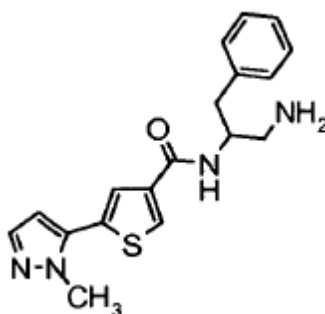
A una solución de (2-[[5-bromo-3-tienil]carbonil]amino)-2-feniletil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (250 mg, 0,588 mmol) en dioxano/H₂O (5:1, 6 ml) se añadió K₂CO₃ (325 mg, 2,35 mmol), tetraquistrifenilfosfina Pd (0) (34 mg, 29,4

μmol) y 5-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-1-metil-1*H*-pirazol (126 mg, 0,647 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80°C en un tubo sellado. Después de 5 h, se añadieron más tetraquitrifenilfosfina Pd (0) (34 mg, 29,4 μmol) y 5-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-1-metil-1*H*-pirazol (126 mg, 0,647 mmol). Después de 12 h la solución de reacción se repartió entre H₂O-DCM y la fase acuosa se lavó varias veces con DCM. Se secaron (Na₂SO₄) las fases orgánicas combinadas, se concentró a vacío, y se purificó sobre gel de sílice (1% de MeOH en DCM) para dar el compuesto del título (250 mg, cuant.) como un aceite anaranjado: LC-MS (ES) m/z = 427.

c) N-(2-amino-1-feniletíl)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)2-tiofencarboxamida

[2-({[5-1-metil-1*H*-pirazol-5-il]-3-tienil]carbonil}amino)-2-feniletíl]carbamatato de 1,1-dimetiletilo (250 mg, 0,588 mmol) se disolvió en DCM (2 ml) y se trató con TFA (1 ml). Después de 0,5 h, la solución se concentró y se neutralizó a través de sílice utilizando 4% de MeOH en DCM (1% de NH₄OH). El compuesto del título se purificó más utilizando HPLC de fase inversa (columna C18: H₂O/CH₃CN, 95-5%) proporcionando una sal de TFA del compuesto del título (120 mg, 63%) como un sólido blanco: LC-MS (ES) m/z 327 (M+H)⁺, ¹H RMN (d₆-DMSO, 400 MHz) δ 8,91 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 8,33 (d, J = 1,3 Hz, 1 H), 8,11 (s ancho, 2 H), 7,76 (d, J = 1,3 Hz, 1 H), 7,49 (d, J = 1,9 Hz, 1 H), 7,38-7,45 (m, 3 H), 7,32-7,34 (m, 2 H), 6,53 (d, J = 1,9 Hz, 1 H), 5,33-5,35 (m, 1 H), 3,97 (s, 3 H), 3,26-3,27 (m, 2 H).

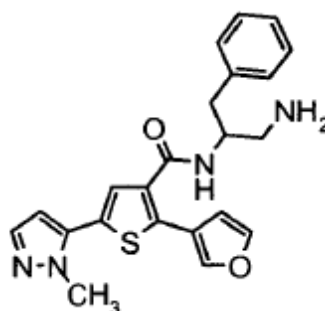
15 Ejemplo 2



Preparación de N-[2-amino-1-(fenilmetil)etil]-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-2-tiofencarboxamida

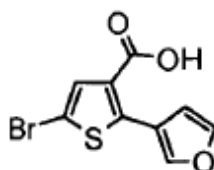
El compuesto del título se preparó como un sólido blanco según el ejemplo 1, excepto sustituyendo (2-amino-3-fenilpropil)carbamatato de 1,1-dimetiletilo (1,2 g, 4,85 mmol) [de la preparación 2] por (2-amino-2-feniletíl)carbamatato de 1,1-dimetiletilo: LC-MS (ES) m/z 341 (M+H)⁺, ¹H RMN (d₆-DMSO, 400 MHz) δ 8,38 (d, J = 8,6 Hz, 1 H), 8,20 (d, J = 1,3 Hz, 1 H), 7,99 (s ancho, 1 H), 7,65 (d, J = 1,3 Hz, 1 H), 7,48 (d, J = 1,9 Hz, 1 H), 7,26-7,31 (m, 4 H), 7,16-7,22 (m, 1 H), 6,51 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 4,35-4,48 (m, 1 H), 4,00 (s, 3 H), 2,87-2,89 (m, 2 H), 2,91-2,99 (m, 2 H).

Ejemplo 3



25 Preparación de N-[2-amino-1-(fenilmetil)etil]-2-(3-furanil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida

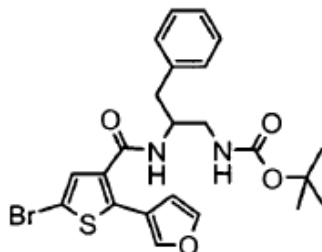
a) ácido 5-bromo-2-(3-furanil)-3-tiofencarboxílico



A una solución de ácido 2,5-dibromo-3-tiofencarboxílico (750 mg, 1,38 mmol) [preparada según Goto, Hiromasa; Dai, Xiaoman; Narihiro, Harunori; Akagi, Kazuo *Macromolecules* 2004 37, 7, 2353-2362.] en dioxano/H₂O (5:1, 6 ml) se añadió K₂CO₃ (486 mg, 3,52 mmol), tetraquitrifenilfosfina Pd (0) (51 mg, 44 mmol) y ácido 3-furanbórico (108 mg, 0,968 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80°C en un tubo sellado. Después de 12 h, la solución se vertió en

H₂O (100 ml) y el pH se ajustó a ~4 con HCl acuoso. La fase acuosa se extrajo varias veces con DCM y las fracciones orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se concentraron a vacío y se utilizaron directamente: LC-MS (ES) m/z = 273.

b) [2-([5-bromo-2-(3-furanil)-3-tienil]carbonil)amino]-3-fenilpropil]carbamato de 1,1-dimetiletilo

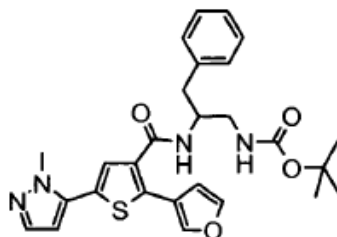


5

A una solución del ácido (en bruto de la parte 1), (2-amino-3-fenilpropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (156 mg, 0,625 mmol) [de la preparación 2] y diisopropiletilamina (545 µl, 3,78 mmol) en DCM (6 ml) se añadió PyBrop (408 mg, 3,78 mmol) en una porción. Después de 1 h, el contenido de la reacción se repartió entre H₂O/DCM. La fase acuosa se lavó varias veces con DCM y las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (sílice, 0,5% de MeOH en DCM) proporcionando el compuesto del título (140 mg, 44%) : LC-MS (ES) m/z = 506 (M+H)⁺.

10

c) [2-([2-(3-furanil)-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-tienil]carbonil)amino]-3-fenilpropil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



Se combinaron en un tubo sellado [2-([5-bromo-2-(3-furanil)-3-tienil]carbonil)amino]-3-fenilpropil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (140 mg, 0,277 mmol), 5-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-1-metil-1H-pirazol (54 mg, 0,277 mmol), Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 13,8 µmol) y K₂CO₃ (153 mg, 1,11 mmol) en dioxano (2,3 ml) y H₂O (462 µl). Tras 4 h a 80°C, se añadieron 5-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-1-metil-1H-pirazol (54 mg, 0,277 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 13,8 µmol) más. Tras 12 h más, el contenido de la reacción se repartió entre H₂O/DCM. La fase acuosa se lavó varias veces con DCM y las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se utilizaron directamente: LC-MS (ES) m/z = 507 (M+H)⁺.

20

d) N-[2-amino-1-(fenilmetil)etil]-2-(3-furanil)-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida

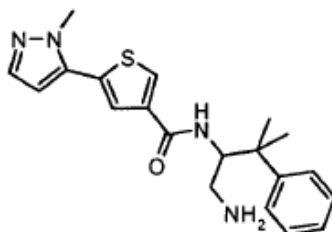
Una solución de [2-([2-(3-furanil)-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-tienil]carbonil)amino]-3-fenilpropil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (en bruto de la parte e) en TFA-DCM (3 ml, 1:2) se agitó a 25°C. Después de 30 min, la solución se concentró y el residuo se pasó a través de una almohadilla de sílice (3% de MeOH en DCM (1% de NH₄OH)) dando la base libre del compuesto del título.

25

La base libre, en forma de solución en MeOH, se trató a continuación con HCl 4 M en exceso en dioxano dando el compuesto del título (10 mg, 9% en 2 etapas) como sal de HCl: LC-MS (ES) m/z 406 (M+H)⁺, ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,49 (d, J = 8,84 Hz, 1 H), 8,16 (s, 1 H), 8,05 (s ancho, 3 H), 7,92 (s, 1 H), 7,41 (d, J = 1,77 Hz, 1 H), 7,22-7,30 (m, 5 H), 6,87 (d, J = 1,01 Hz, 1 H), 6,29 (d, J = 2,02 Hz, 1 H), 4,36-4,45 (m, 1 H), 3,37 (s, 3 H), 2,96 (d, J = 5,56 Hz, 2 H), 2,83-2,90 (m, 2 H).

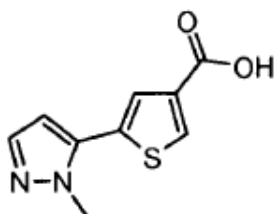
30

Ejemplo 4



Preparación de *N*-[1-(aminometil)-2-metil-2-fenilpropil]-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofenocarboxamida

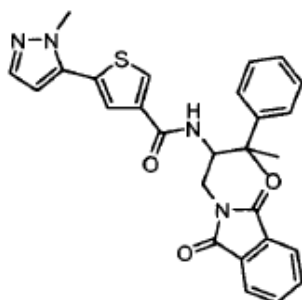
a) Ácido 5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofenocarboxílico



5 A una solución de ácido 5-bromo-3-tiofenocarboxílico (875 mg, 4,23 mmol) en dioxano/H₂O (5:1, 21 ml) se añadió K₂CO₃ (205 mg, 14,8 mmol), tetraquistrifenilfosfina Pd (0) (297 mg, 0,26 mmol) y 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-metil-1*H*-pirazol (988 mg, 4,75 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80°C en un tubo sellado. Después de 5 h, se añadieron tetraquistrifenilfosfina Pd (0) (108 mg, 0,1 mmol) y 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-metil-1*H*-pirazol (989 mg, 4,75 mmol). Después de 12 h la solución de reacción se repartió entre H₂O y CHCl₃, y la fase acuosa se lavó varias veces con CHCl₃. Se ajustó el pH de la fase acuosa a 3 con HCl 2,5 M

10 y se extrajo la fase acuosa con CHCl₃. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se concentraron a vacío y se secaron a alto vacío durante la noche sin purificación adicional: LC-MS (ES) m/z = 209 (M+H)⁺

b) *N*-{1-[(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)metil]-2-metil-2-fenilpropil}-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofenocarboxamida



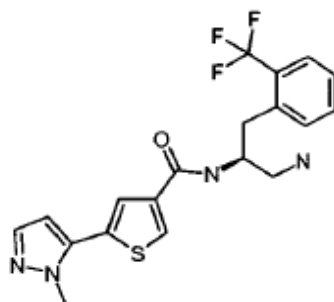
15 A una mezcla heterogénea de ácido 5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofenocarboxílico (155 mg, 0,74 mmol), 2-(2-amino-3-metil-3-fenilbutil)-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona (200 mg, 0,65 mmol) [de la preparación 4] y PyBrOP (426 mg, 0,91 mmol) en CHCl₃ (10 ml) a 25°C se añadió gota a gota diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,9 mmol). Después de 16 h, la mezcla se adsorbió en sílice y la mezcla se purificó por cromatografía en columna (sílice, 35-50% EtOAc/Hex) dando el compuesto del título (96 mg, 26%) como un sólido blanco: LC-MS (ES) m/z = 499 (M+H)⁺.

20 c) *N*-[1-(aminometil)-2-metil-2-fenilpropil]-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofenocarboxamida

A una solución de *N*-{1-[(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)metil]-2-metil-2-fenilpropil}-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofenocarboxamida (96 mg, 0,20 mmol) en MeOH/THF (20 ml, 3:1) a T.A. se añadió hidrazina (45 µl, 1,43 mmol). después de agitar durante 48 h a T.A., la mezcla de reacción se adsorbió en sílice y se purificó por cromatografía en columna (sílice, 3% MeOH en DCM(1% de NH₄OH)) dando el compuesto del título.

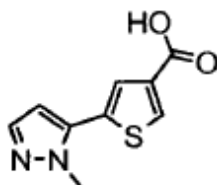
25 El compuesto neutro anterior se disolvió en MeOH (2 ml), se trató con HCl 2 M en exceso en Et₂O (500 µl) y se concentró proporcionando la sal HCl del compuesto del título: LC-MS (ES) m/z = 369 (M+H)⁺, ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ ppm 1,37 (s, 3 H), 1,41 (s, 3 H), 2,61 (d, J = 4,80 Hz, 1 H), 2,62 (s, 1 H), 4,02 (s, 3 H), 4,51 (dd, J = 8,84 Hz, 4,80 Hz, 1 H), 6,52 (d, J = 2,02 Hz, 1 H), 7,23 (t, J = 7,33 Hz, 1 H), 7,36 (t, J = 7,71 Hz, 2 H), 7,50 (s, 1H), 7,51 (d, J = 2,02 Hz, 2 H), 7,71 (d, J = 1,52 Hz, 1 H), 8,21 (d, J = 1,52 Hz, 1 H).

30 Ejemplo 5

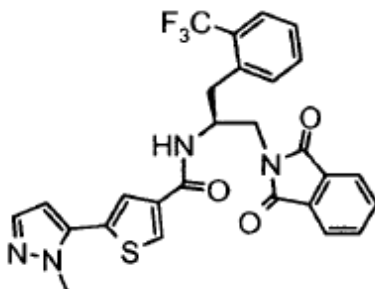


Preparación de *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida

a) Ácido 5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxílico



- 5 A una solución de ácido 5-bromo-3-tiofencarboxílico (414 mg, 2 mmol) en dioxano/H₂O (5:1, 6 ml) se añadió K₂CO₃ (828 mg, 6 mmol), tetraquistrifenilfosfina Pd (0) (116 mg, 0,1 mmol) y 5-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-1-metil-1*H*-pirazol (428 mg, 2,2 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80°C en un tubo sellado durante 12 h y a continuación se repartió entre NaOH 6 N y DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se concentraron a vacío y se utilizaron directamente sin purificación adicional (~100 mg, cuant.): LC-MS (ES) m/z = 209 (M+H)⁺.
- 10 b) *N*-((1*S*)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofen-carboxamida

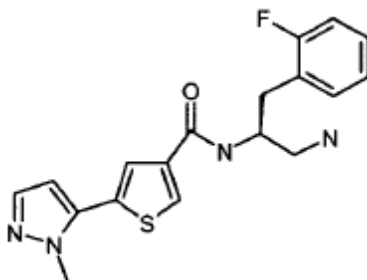


- 15 A una solución de ácido 5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxílico (100 mg, 0,48 mmol), PyBrOP (270 mg, 0,58 mmol) y diisopropiletilamina (420 µl, 2,4 mmol) en DCM (5 ml) a 25°C se añadió 2-((2*S*)-2-amino-3-[2-(trifluorometil)fenil]propil)-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona-HCl (168 mg, 0,48 mmol) [de la preparación 5]. Después de 16 h, la solución se repartió entre H₂O y se lavó con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (sílice) dando el compuesto del título (74 mg, 28%) como un sólido blanco: LC-MS (ES) m/z = 539 (M+H)⁺.
- c) *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofen-carboxamida

- 20 A una solución de *N*-((1*S*)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida (74 mg, 0,14 mmol) en MeOH/THF (2 ml, 1:1) a T.A., se añadió hidrazina (86 µl, 2,75 mmol). Después de agitar durante 18 h, la solución de reacción se concentró a vacío y se purificó por cromatografía en columna (sílice, 3% de MeOH en DCM (1% de NH₄OH)) dando el compuesto del título.

- 25 El compuesto neutro anterior se disolvió en MeOH (2 ml), se trató con HCl 4 M en exceso en dioxano (500 µl) y se concentró proporcionando la sal de HCl del compuesto del título como un sólido amarillo claro: LC-MS (ES) m/z = 409 (M+H)⁺, ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ ppm 3,19-3,30 (s, 3 H), 3,35-3,39 (m, 1 H), 4,20 (s, 3 H), 4,67-4,75 (m, 1 H), 6,88 (d, J = 2,27 Hz, 1 H), 7,42 (t, J=7,58 Hz, 1 H), 7,52 (t, J = 7,33 Hz, 1 H), 7,63 (d, J = 7,58 Hz, 1 H), 7,70 (d, J = 7,83 Hz, 1 H), 8,06 (d, J = 16,67 Hz, 2 H), 8,42 (s, 1 H).

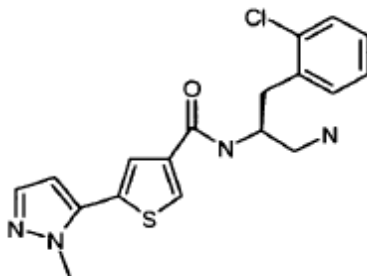
Ejemplo 6



Preparación de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[2-(trifluorofenil)metil]etil}-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida

El compuesto del título se preparó como un sólido blanquecino según el procedimiento del ejemplo 5, excepto que sustituyendo el ácido 2-bromo-4-tiofencarboxílico (104 mg, 0,5 mmol) por el ácido 5-bromo-2-tiofencarboxílico y sustituyendo 2-[(2*S*)-2-amino-3-(2-(fluorofenil)propil)-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona-HCl] (149 mg, 0,5 mmol) [preparado según el procedimiento de preparación 5] por 2-[(2*S*)-2-amino-3-(2-(trifluorometilfenil)propil)-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona-HCl: LC-MS (ES) *m/z* 359 (M+H)⁺, ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ ppm 3,10-3,16 (m, 2 H), 3,27 (d, J = 6,82 Hz, 2 H), 4,02-4,07 (m, 3 H), 4,65 (s, 1 H), 6,55-6,60 (m, 1 H), 7,05-7,15 (m, 2 H), 7,26-7,31 (m, 1 H), 7,37-7,44 (m, 1 H), 7,59 (d, J = 2,02 Hz, 1 H), 7,72 (d, J=1,52 Hz, 1 H), 8,21 (d, J = 1,52 Hz, 1 H).

Ejemplo 7



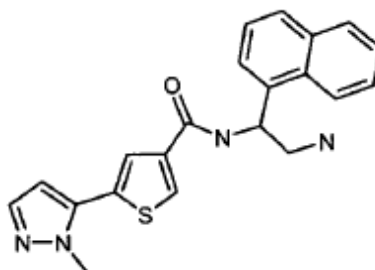
10

Preparación de *N*-{(1*S*)-2-amino-1-[(2-clorofenil)metil]etil}-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida

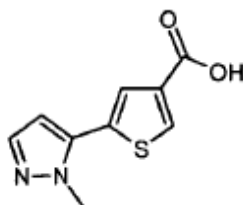
El compuesto del título se preparó como un sólido amarillo claro según el procedimiento del ejemplo 5, excepto que sustituyendo el ácido 2-bromo-4-tiofencarboxílico (104 mg, 0,5 mmol) por el ácido 5-bromo-2-tiofencarboxílico y sustituyendo 2-[(2*S*)-2-amino-3-(2-(clorofenil)propil)-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona-HCl] (157 mg, 0,5 mmol) [preparado según el procedimiento de preparación 5] por 2-[(2*S*)-2-amino-3-(2-(trifluorometilfenil)propil)-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona-HCl: LC-MS (ES) *m/z* 375 (M+H)⁺, ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ ppm 3,07-3,16 (m, 1 H), 3,20-3,29 (m, 3 H), 4,05 (s, 3 H), 4,74 (s, 1 H), 6,60 (s, 1 H), 7,25 (s, 2 H), 7,42 (s, 2 H), 7,65 (s, 1 H), 7,25 (s, 2 H), 7,42 (s, 2 H), 7,65 (s, 1 H), 7,75 (s, 1 H), 8,23 (s, 1 H).

15

Ejemplo 8



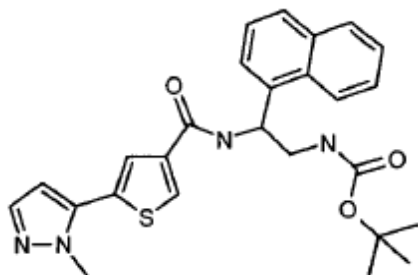
20

Preparación de *N*-[2-amino-1-(1-naftalenil)etil]-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamidaa) Ácido 5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxílico

A una solución de ácido 2-bromo-4-tiofencarboxílico (104 mg, 0,05 mmol) en dioxano/H₂O (4:1, 10 ml) se añadió K₂CO₃ (271 mg, 1,99 mmol), tetraquistrifenilfosfina Pd (0) (28,7 mg, 0,025 mmol) y 5-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-1-metil-1*H*-pirazol (97 mg, 0,5 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80°C en un tubo sellado durante 12 h y a continuación se repartió entre NaOH 6 N y DCM. El pH de la fase orgánica se ajustó a ~3 con HCl 3 M y se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se concentraron a vacío y se utilizaron directamente sin purificación adicional (104 mg, cuant.): LC-MS (ES) *m/z* = 209 (M+H)⁺.

30

b) [2-([5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-tienil]carbonil)amino]-2-(1-naftalenil)etil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



A una solución de ácido 5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxílico (104 mg, 0,5 mmol) PyBrOP (384 mg, 0,83 mmol) y diisopropiletilamina (0,14 ml, 0,83 mmol) en DCM (8 ml) a 25°C se añadió [2-amino-2-(1-naftalenil)etil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (144 mg, 0,5 mmol) [de la preparación 6]. Después de 16 h, la solución se repartió entre H₂O y se lavó con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (sílice) dando el compuesto del título (76 mg, 32%) como un sólido blanco: LC-MS (ES) m/z = 477 (M+H)⁺.

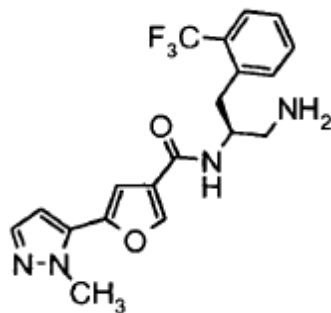
c) N-[2-amino-1-(1-naftalenil)etil]-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

10 Se agitó a 25°C una solución de [2-([5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-tienil]carbonil)amino]-2-(1-naftalenil)etil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (76 mg, 0,16 mmol) en TFA-DCM (3 ml, 1:2). Después de 30 min, la solución se concentró con un azeótropo de tolueno y el residuo se neutralizó a través de una almohadilla de sílice (3% de MeOH en DCM (1% de NH₄OH)) dando la base libre del compuesto del título (14 mg, 23%) en forma de un sólido blanco.

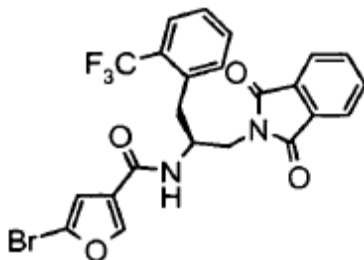
La base libre, como una solución en MeOH, se trató a continuación con HCl 4 M en exceso en dioxano dando el compuesto del título (40 mg, 40%) como la sal de HCl: LC-MS (ES) m/z = 377 (M+H)⁺, ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ ppm 3,61-3,66 (m, 2 H), 3,9 (s, 3 H), 6,35 (dd, J = 7,96 Hz, 6,19 Hz, 1 H), 6,50 (d, J=2,02 Hz, 1 H), 7,50 (d, J=2,02 Hz, 1 H), 7,55-7,60 (m, 2 H), 7,63 (dd, J = 8,34 Hz, 1,52 Hz, 1 H), 7,68 (d, J = 7,07 Hz, 1 H), 7,75 (d, J = 1,26 Hz, 1 H), 7,96 (t, J = 9,35 Hz, 2 H), 8,23 J = 8,34 Hz, 1 H), 8,27 (d, J = 1,52 Hz, 1 H).

Ejemplo 9

20 Preparación de N-((1S)-2-amino-1-([2-(trifluorometil)fenil]metil)etil)-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-furancarboxamida



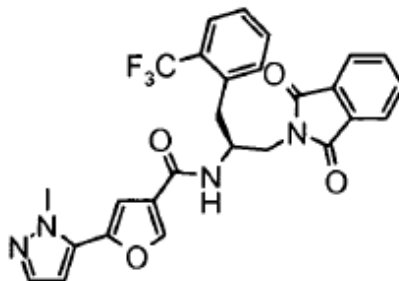
a) 5-bromo-N-((1S)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-1-([2-(trifluorometil)fenil]metil)etil)-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-furancarboxamida



25 A una solución de ácido 5-bromo-3-furancarboxílico (0,30 mg, 1,57 mmol) [preparada según *J. Org. Chem.* 1976, 41, 2350], 2-[(2S)-2-amino-3-[2-(trifluorometilfenil)fenil]propil]-1H-isoindol-1,3(2H)-diona (0,60 g, 1,73 mmol) [de la preparación 5] y diisopropiletilamina (0,82 ml, 4,7 mmol) en DCM (50 ml) a 25°C se añadió PyBrop (1,09 g, 2,36 mmol) en una porción. Después de 16 h, la solución se repartió entre H₂O y se lavó con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (sílice, hexanos/EtOAc, 1:1) proporcionando el compuesto del título (0,45 g, 55%) como un sólido blanco: LC-MS (ES) m/z =

521 (M+H)⁺.

b) *N*-((1*S*)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-furan-carboxamida

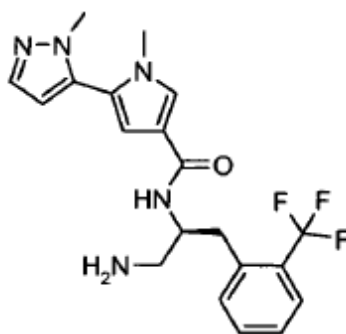


- 5 A una solución de 5-bromo-*N*-((1*S*)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-furancarboxamida (400 mg, 0,77 mmol) en dioxano/H₂O (5:1, 50 ml) se añadió K₂CO₃ (0,32 g, 2,3 mmol), tetraquitrifenilfosfina Pd (0) (20 mg, 40 μmol) y 5-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-1-metil-1*H*-pirazol (0,19 g, 0,92 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 75°C en un tubo sellado. Después de 5 h, se añadieron más tetraquitrifenilfosfina Pd (0) (20 mg, 40 μmol) y 5-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-1-metil-1*H*-pirazol (0,19 g, 0,92 mmol). después de 8 h la solución de reacción se repartió a continuación entre H₂O-DCM y la fase acuosa se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se concentraron a vacío y se purificaron en gel de sílice (hexanos/EtOAc, 1:2) para dar el compuesto del título (200 mg, 50%) como un sólido blanco: LC-MS (ES) m/z = 523.

c) *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-furancarboxamida

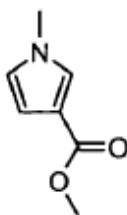
- 15 *N*-((1*S*)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-furancarboxamida (200 mg, 0,38 mmol) se disolvió en THF (10 ml) y MeOH (10 ml) a T.A. y se trató con hidrazina (0,19 ml, 3,8 mmol). Tras 24 h, la solución se concentró y se purificó en sílice utilizando 8% de metanol en DCM (1% de NH₄OH) para dar el compuesto del título como un sólido blanco. La base libre se disolvió en DCM (5 ml) y se trató con HCl 4 M en dioxano (4 ml). Tras 5 min, la solución de reacción se concentró a vacío para dar el compuesto del título (555 mg) como una sal de di-HCl: LC-MS (ES) m/z 393 (M+H)⁺, ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 8,78 (d, J = 8,9 Hz, 1 H), 8,38 (s, 1 H), 8,16 (s ancho, 2 H), 7,69 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,59 (m, 2 H), 7,49 (s, 1 H), 7,44 (m, 1 H), 7,35 (s, 1 H), 6,58 (s, 1 H), 4,52 (m, 1 H), 3,99 (s, 3 H), 3,22 (m, 2 H) y 3,07 (m, 2 H).

Ejemplo 10



- 25 Preparación de *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-2-cloro-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxamida

a) 1-metil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metilo

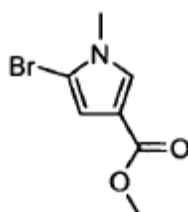


- Se añadió en porciones hidruro sódico (0,96 g, 24,01 mmol) a una solución de ácido 1*H*-pirrol-3-carboxílico (1 g, 7,75 mmol) en tetrahidrofurano (19,4 ml) a 25°C. Tras 15 min, se añadió yodometano (1,017 ml, 16,26 mmol) y se

agitó la solución a 80°C durante 12 h. Se añadieron más hidruro sódico (0,96 g, 24,0 mmol) y yodometano (1,017 ml, 16,26 mmol) y se agitó la solución otras 12 h. LCMS presentó menor conversión a producto monometilado. Se añadieron más hidruro sódico (0,96 g, 24,0 mmol) y yodometano (1,017 ml, 16,26 mmol) y se agitó la solución otras 12 h, momento en que se observó la conversión completa a producto monometilado. La solución se repartió a continuación entre H₂O-DCM y la fase acuosa se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron a vacío y se utilizaron directamente sin purificación adicional: LC-MS (ES) m/z 125 (M+H)⁺.

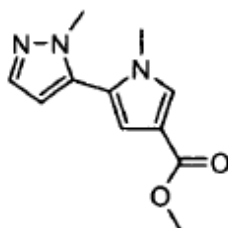
Al producto en bruto en N,N-dimetilformamida (19,4 ml) a 25°C se añadió hidruro sódico (0,96 g, 24,0 mmol). después de 15 min, se añadió yodometano (1,0 ml, 16,26 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se agitó 2 h, momento en que LCMS mostró la conversión completa. La solución se repartió entre H₂O-DCM y la fase acuosa se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron a vacío y se purificaron por cromatografía en columna (= % de EtOAc en hexanos) proporcionando 1-metil-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo (690 mg, 4,81 mmol, 62% de rendimiento) como un sólido amarillo: LC-MS (ES) m/e 139 (M+H)⁺.

15 b) 5-bromo-1-metil-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo



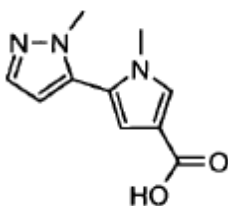
Una solución de 1-metil-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo (690 mg, 4,96 mmol) y NBS (883 mg, 4,96 mmol) en tetrahidrofurano (24,800 ml) se agitó a 25°C durante 1 h. La solución se repartió entre H₂O-DCM y la fase acuosa se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (10-50% de EtOAc en hexanos) proporcionando 5-bromo-1-metil-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo (950 mg, 3,92 mmol, 79% de rendimiento) como un sólido anaranjado: LC-MS (ES) m/e 218, 220 (M, M+2)⁺.

c) 1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo



Una solución de 5-bromo-1-metil-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo (950 mg, 4,36 mmol), 1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-1H-pirazol (1088 mg, 5,23 mmol) [preparado según la preparación 3], carbonato potásico (3,011 mg, 21,78 mmol) y bis(tri-*t*-butilfosfina)paladio (0) (111 mg, 0,218 mmol) en 1,4-dioxano (18,200) y agua (3,64 ml) se agitó a 80°C en un tubo sellado durante 1 h. Se añadieron más 1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)-1H-pirazol (1088 mg, 5,23 mmol) y bis(tri-*t*-butilfosfina)paladio (0) (111 mg, 0,218 mmol) y la solución se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se repartió a continuación entre H₂O-DCM y la fase acuosa se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (sílice, 4-25% de EtOAc en hexanos) dando 1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo (300 mg, 1,341 mmol, 30,8% de rendimiento) como aceite transparente: LC-MS m/e (ES) 220 (M+H)⁺.

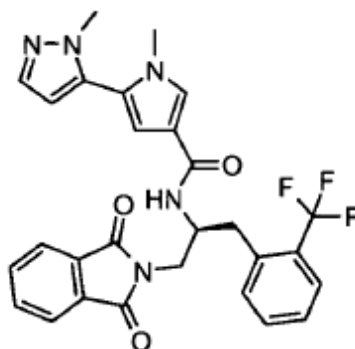
35 d) Ácido 1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxílico



Una solución de 1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo (200 mg, 0,91 mmol) e hidróxido sódico (3,04 ml, 18,24 mmol) en tetrahidrofurano (4,561 ml) se agitó en un tubo sellado durante 12 h a 70°C. La

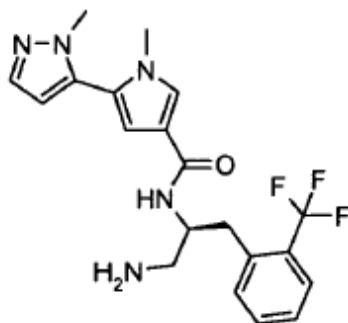
mezcla de reacción se repartió a continuación entre H₂O-DCM y el pH de la fase acuosa se ajustó a ~4 y se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se utilizaron directamente sin purificación adicional dando ácido 1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxílico (187 mg, 0,87 mmol, 95% de rendimiento) como un sólido blanco: LC-MS (ES) m/e 206 (M+H)⁺.

- 5 e) *N*-((1S)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxamida



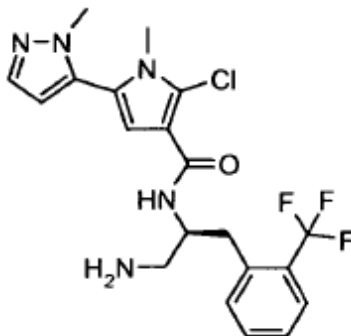
- 10 A una solución de 2-[(2S)-2-amino-3-[2-(trifluorometilfenil)fenil]propil]-1H-isoindol-1,3(2H)-diona (200 mg, 0,97 mmol) [preparada según la preparación 5], ácido 1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxílico (339 mg, 0,97 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,85 ml, 4,87 mmol) en diclorometano (4,873 ml) a 25°C se añadió en una porción hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidino-fosfonio (501 mg, 1,07 mmol). La solución se agitó a 25°C durante 1 h y se cargó en seco a continuación en sílice y se purificó por cromatografía en columna (sílice, 30-70% de EtOAc en hexanos) dando *N*-((1S)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxamida (522 mg, 0,93 mmol, 95% de rendimiento) como una espuma blanca:
15 LC-MS m/e (ES) 536 (M+H)⁺.

- f) *N*-((1S)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxamida



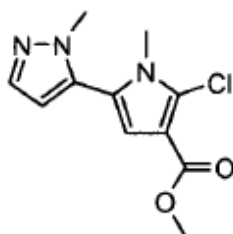
- 20 A una solución de *N*-((1S)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxamida (285 mg, 0,53 mmol) en tetrahidrofurano (2,7 ml) y metanol (2,7 ml) a 25°C se añadió gota a gota hidrazina (0,17 ml, 5,32 mmol). Tras 12 h se concentró la solución, se cargó en seco en sílice y se purificó por cromatografía en columna (2% de MeOH en DCM (1% de NH₄OH)). La base libre se convirtió en la sal de ClH mediante adición de HCl 2 M en exceso en éter (20 ml) al residuo en DCM (40 ml) dando la sal de HCl de *N*-((1S)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxamida (165 mg, 0,33 mmol, 62% de rendimiento) como una espuma blanca: LC-MS (ES) m/z 406 (M+H)⁺, ¹H RMN (DMSO-
25 d₆) δ 8,21 (d, J =8,84 Hz, 1 H), 8,11 (s ancho, 2 H), 7,68 (d, J =7,58 Hz, 1 H), 7,58 (q, J=8,00 Hz, 2 H), 7,52 (dd, J=9,22 Hz, 1,64 Hz, 2 H), 7,42 (t, J=7,20 Hz, 1 H), 6,81 (d, J=1,77 Hz, 1 H), 6,45 (d, J=1,77 Hz, 1 H), 4,50-4,53 (m, 1 H), 3,79 (s, 3 H), 3,55 (s, 3 H) y 3,06-3,17 (m, 4 H).

Ejemplo 11



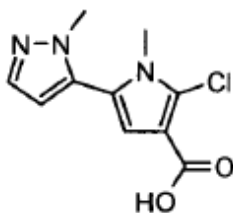
Preparación de *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-2-cloro-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxamida

- 5 a) 2-cloro-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metilo



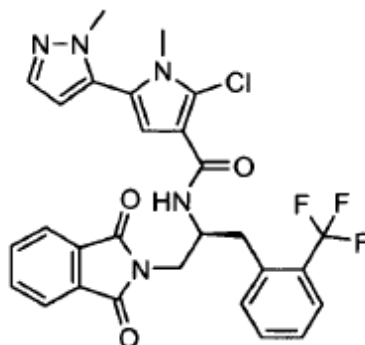
- 10 Una solución de 1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metilo (100 mg, 0,46 mmol) [preparada según el ejemplo 10] y *N*-clorosuccinimida (61 mg, 0,47 mmol) en tetrahidrofurano (2,3 ml) se agitó en un tubo sellado durante 1 h a 70°C. Se añadió más *N*-clorosuccinimida (61 mg, 0,47 mmol) y la reacción se agitó 1 h. La mezcla de reacción se repartió a continuación entre H₂O-DCM y se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se purificaron por cromatografía (10-50% de EtOAc en hexanos) dando 2-cloro-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metilo (93 mg, 0,36 mmol, 80% de rendimiento) como un sólido blanco: LC-MS (ES) *m/e* 253, 255 (M, M+2)⁺.

- b) Ácido 2-cloro-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxílico



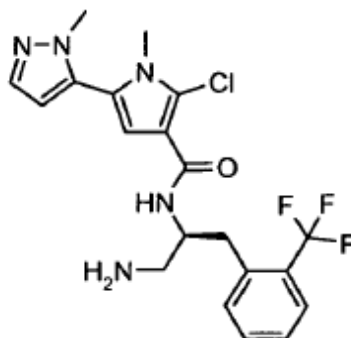
- 15 Una solución de ácido 2-cloro-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxílico (137 mg, 0,54 mmol) e hidróxido sódico (1.800 µl, 10,8 mmol) en tetrahidrofurano (2.700 µl) se agitó en un tubo sellado durante 1 h a 70°C. Se añadió en una porción hidróxido sódico 6 N (1.800 µl, 10,8 mmol) y la solución se agitó otra hora. La mezcla de reacción se repartió a continuación entre H₂O-DCM y el pH de la fase acuosa se ajustó a ~4 y se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se utilizaron directamente sin purificación adicional dando ácido 2-cloro-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxílico (116 mg, 0,48 mmol, 90% de rendimiento) como un aceite amarillo: LC-MS (ES) *m/e* 240, 242 (M, M+2)⁺.
- 20

c) 2-cloro-*N*-((1*S*)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxamida



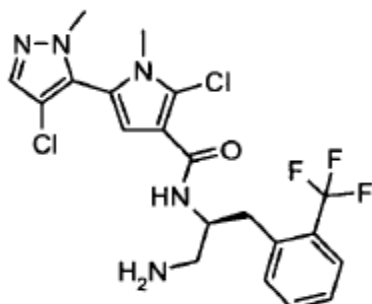
5 A una solución de ácido 2-cloro-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxílico (0,116 g, 0,48 mmol), 2-[[2*S*)-2-amino-3-[2-(trifluorometil)fenil]propil]-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona (0,186 g, 0,48 mmol) [preparada según la preparación 5] y *N,N*-diisopropiletilamina (0,42 ml, 2,42 mmol) en diclorometano (2,49 ml) a 25°C se añadió en una porción hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidino-fosfonio (0,25 g, 0,53 mmol). La solución se agitó a 25°C durante 1 h y se cargó en seco a continuación en sílice y se purificó por cromatografía en columna (sílice, 30-70% de EtOAc en hexanos) dando 2-cloro-*N*-((1*S*)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxamida (250 mg, 0,38 mmol, 78% de rendimiento) como un aceite transparente: LC-MS (ES) *m/e* 570, 572 (M, M+2)⁺.

d) *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-2-cloro-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxamida



15 A una solución de 2-cloro-*N*-((1*S*)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxamida (125 mg, 0,22 mmol) en tetrahidrofurano (1,1 ml) y metanol (1,1 ml) a 25°C se añadió gota a gota hidrazina (0,06 ml, 1,76 mmol). Tras 12 h se concentró la solución, se cargó en seco en sílice y se purificó por cromatografía en columna (2% de MeOH en DCM (1% de NH₄OH)). La base libre se convirtió en la sal de HCl mediante adición de HCl 2 M en exceso en éter (20 ml) al residuo en DCM (40 ml) dando la sal de HCl de *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxamida (70 mg, 0,13 mmol, 57% de rendimiento) como un sólido blanco: LC-MS (ES) *m/z* 440, 442 (M, M+2)⁺, ¹H RMN (DMSO-*d*₆) δ ppm 8,17 (d, J = 9,09 Hz, 1 H), 8,08 (s ancho, 2 H), 7,69 (d, J = 8,08 Hz, 1 H), 7,58 (s ancho, 1 H), 7,57 (d, J = 2,02 Hz, 1 H), 7,40-7,43 (m, 1 H), 7,02 (s, 1 H), 6,48 (d, J = 2,02 Hz, 1 H), 4,50-4,57 (m, 1 H), 3,78 (s, 3 H), 3,44 (s, 3 H), 2,98-3,07 (m, 4 H).

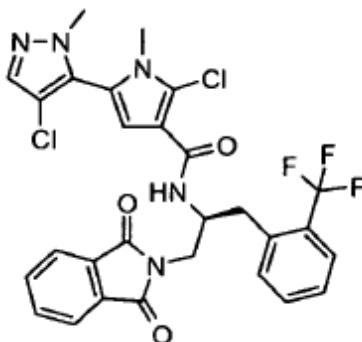
25 Ejemplo 12



Preparación de *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-2-cloro-5-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1-metil-

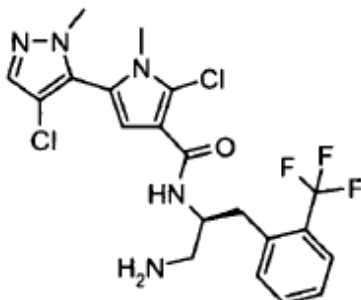
1H-pirrol-3-carboxamida

a) 2-cloro-5-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-N-((1S)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-1-metil-1H-pirrol-3-carboxamida



- 5 Una solución de 2-cloro-N-((1S)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-1-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1H-pirrol-3-carboxamida (125 mg, 0,22 mmol) y NCS (29 mg, 0,22 mmol) en tetrahidrofurano (2,2 ml) se agitó en un tubo sellado durante a 70°C. La LCMS mostró una mezcla 1:1 de dos productos de cloración junto con material de partida. Se añadió más NCS (29 mg, 0,22 mmol) y la solución se agitó 1 h más LCMS mostró la conversión completa en los dos productos de cloración. La solución resultante se repartió entre DCM-H₂O y la fase acuosa se lavó varias veces con DCM. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se purificaron por cromatografía (2% de MeOH en DCM (1% de NH₄OH)) dando una mezcla inseparable del compuesto del título deseado junto con un cloro-regioisómero: LC-MS (ES) m/e 604, 606 (M, M+2)⁺.

b) N-((1S)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-2-cloro-5-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-1-metil-1H-pirrol-3-carboxamida



15

A una mezcla de los cloro-regioisómeros anteriores en tetrahidrofurano (372 µl) y metanol (372 µl) a 25°C se añadió gota a gota hidrazina (18,7 µl, 0,60 mmol). Tras 12 h se concentró la solución, se cargó en seco en sílice y se purificó por cromatografía en columna (2% de MeOH en DCM (1% de NH₄OH)) proporcionando una mezcla inseparable de productos que se separaron a continuación utilizando cromatografía de fase inversa de Gilson (5-95% de fase móvil) proporcionando N-((1S)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-2-cloro-5-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-1-metil-1H-pirrol-3-carboxamida (10 mg, 0,07 mmol, 21% de rendimiento) como un sólido amarillo: LC-MS (ES) m/z 474, 476 (M, M+2)⁺, ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,95-8,02 (m, 4 H), 7,90 (s ancho, 1 H), 7,73-7,81 (m, 1 H), 7,70-7,72 (m, 2 H), 7,61-7,64 (m, 1 H), 6,87 (s, 1 H), 4,52-4,58 (m, 1 H), 3,70 (s, 3 H), 3,35 (s, 3 H), 2,99-3,02 (m, 4 H).

25 Ejemplo 13 – Composición de las cápsulas

Una forma farmacéutica oral para la administración de la presente invención se produce rellenando una cápsula de gelatina dura de dos piezas convencional con los ingredientes en las proporciones mostradas en la Tabla I, a continuación.

Tabla I

30 <u>INGREDIENTES</u>	<u>CANTIDADES</u>
N-[2-amino-1-(fenilmetil)-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida (Compuesto del Ejemplo 1)	25 mg
Lactosa	55 mg
Talco	16 mg

Estearato de magnesio 4 mg

Ejemplo 14 - Composición parenteral inyectable

Una forma inyectable para la administración de la presente invención se produce agitando 1,5% en peso de N-(2-amino-1-fenilmetil)etil-5-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida (Compuesto del Ejemplo 2) en 10% en volumen de propilenglicol en agua.

Ejemplo 15 - Composición de los comprimidos

La sacarosa, el sulfato de calcio dihidratado y un inhibidor de Akt tal como se muestra en la Tabla II siguiente, se mezclan y se granulan en las proporciones mostradas con una solución de gelatina al 10%. Los gránulos húmedos se tamizan, se secan, se mezclan con el almidón, talco y ácido esteárico, se tamizan y se comprimen en un comprimido.

TABLA II

INGREDIENTES

CANTIDADES

N- [2-amino-1-(fenilmetil)etil]-2-(3-furanil)-5-(1-metil 20 mg -1H- pirazol-5-il) -3-tiofencarboxamida 30 mg
(Compuesto del Ejemplo 3)

15	sulfato de calcio dihidratado	30 mg
	sacarosa	4 mg
	almidón	2 mg
	talco	1 mg
	ácido esteárico	0,5 mg

20

Aunque las realizaciones preferidas de la invención están ilustradas por lo anterior, ha de entenderse que la invención no se limita a las instrucciones precisas descritas en la presente memoria y que se reserva el derecho a todas las modificaciones comprendidas dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

Listado de secuencias

<110> SEEFELD, Mark A.
 ROUSE, Meagan B.

<120> INHIBIDORES DE ACTIVIDAD DE AKT

<130> PU62317

<150> 60/888591

<151> 2007-02-07

<160> 5

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

<210> 1

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético biotinilado

<400> 1

Ala Arg Lys Arg Glu Arg Ala Tyr Ser Phe Gly His His Ala
 1 5 10

<210> 2

<211> 26

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador

<400> 2

tatataggat ccatgagcga cgtggc

26

<210> 3

<211> 29

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<400> 3

aaatttctcg agtcaggccg tgctgctgg

29

<210> 4

<211> 25

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador

<400> 4

acctggcggc cacgctactt cctcc

25

<210> 5

<211> 23

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador

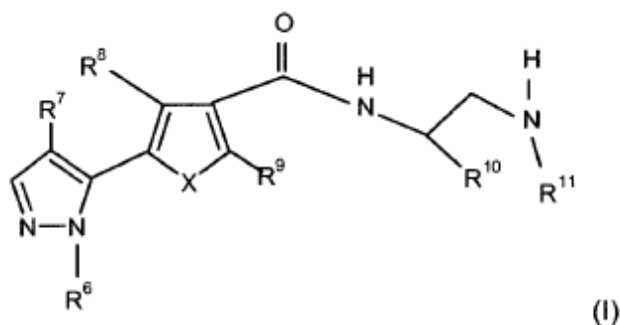
<400> 5

ctcgagcatg caactagagg gcc

23

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



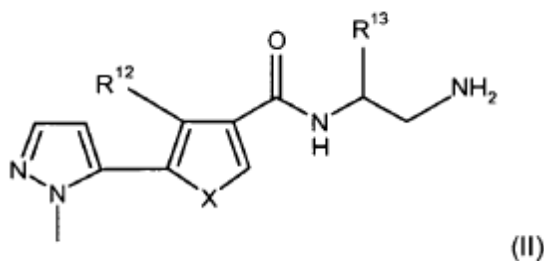
en donde:

- 5 R^8 y R^9 se seleccionan independientemente de: hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₄, furano y tiofeno;
 R^6 es alquilo C₁₋₄;
 R^7 se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₄ y halógeno;
 R^{10} se selecciona de: $-(CR^{60}R^{61})_m$ arilo C₅₋₁₂ en donde arilo C₅₋₁₂ no está sustituido, y $-(CR^{60}R^{61})_m$ arilo C₅₋₁₂ en donde el arilo C₅₋₁₂ está sustituido por uno a cinco sustituyentes seleccionado de entre el grupo
 10 consistente en: $-CO_2R^{20}$, alquilo C₁₋₄, hidroxialquilo C₁₋₄, alquil C₁₋₄oxi, amino, alquil C₁₋₄amino, aminoalquil C₁₋₄, dialquil C₁₋₄amino, hidroxilo, nitro, tetrazol, ciano, oxo, halógeno y trifluorometilo, donde R^{20} se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₄ y trifluorometilo; donde m es 0 a 2; y
 R^{60} y R^{61} se seleccionan independientemente de: hidrógeno y alquilo C₁₋₄;
 R^{11} se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁₋₄;
 15 X se selecciona de O, S y NR^{49} ,
 donde R^{49} se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁₋₄;

en donde

- arilo es un sistema de anillo monocíclico, bicíclico o tricíclico en donde al menos un sistema de anillo es aromático y en donde cada sistema de anillo contiene 3 a 7 eslabones, y
 20 alquilo C₁₋₄ es una cadena de hidrocarburo lineal o ramificada que está saturada o insaturada,
 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, representado por la fórmula (II) siguiente:



en donde:

- 25 R^{12} se selecciona de: hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₄, furano y tiofeno;
 R^{13} se selecciona de: $-(CH_2)_m$ fenilo y $-(CH_2)_m$ fenilo en donde el fenilo está sustituido,
 donde m es 0 a 2;
 X se selecciona de O y S; y
 30 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

3. Un compuesto según la reivindicación 1, seleccionado de:

N-(2-amino-1-feniletil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-[2-amino-1-(fenilmetil)etil]-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

5 *N*-((1*S*)-2-amino-1-[(2-fluorofenil)metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-((1*S*)-2-amino-1-[(2-clorofenil)metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-[1-(aminometil)-2-metil-2-fenilpropil]-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-[2-amino-1-(1-naftalenil)etil]-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

N-[2-amino-1-(fenilmetil)etil]-2-(3-furanil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-tiofencarboxamida;

10 *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-3-furancarboxamida;

N-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxamida;

N-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-2-cloro-1-metil-5-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1*H*-pirrol-3-carboxamida; y

15 *N*-((1*S*)-2-amino-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metil]etil)-2-cloro-5-(4-cloro-1-metil-1*H*-pirazol-5-il)-1-metil-1*H*-pirrol-3-carboxamida;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

4. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para su utilización en terapia.

5. Utilización de un compuesto definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento o reducción de la gravedad de una enfermedad o afección seleccionada de cáncer y artritis.

6. La utilización según la reivindicación 5, en donde dicho cáncer se selecciona de: cerebro (gliomas), glioblastomas, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, de mama, cáncer de mama inflamatorio, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, rhabdomyosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, de colon, de cabeza y cuello, de riñón, pulmonar, de hígado, melanoma, ovárico, pancreático, de próstata, sarcoma, osteosarcoma, tumor óseo de células gigantes, de tiroides, leucemia linfoblástica de linfocitos T, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, tricoleucemia, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrofilica crónica, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, plasmocitoma, leucemia inmunoblástica de células grandes, leucemia de células del manto, leucemia megacarioblástica con mieloma múltiple, mieloma múltiple, leucemia megacariocítica aguda, leucemia promielocítica, eritroleucemia, linfoma maligno, linfoma de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, linfoma linfoblástico de linfocitos T, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer pulmonar, cáncer vulvar, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer renal, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de las glándulas salivales, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer nasofaríngeo, cáncer de mejilla, cáncer de boca, GIST (tumor del estroma gastrointestinal) y cáncer testicular.

7. La utilización según la reivindicación 5, en donde dicho cáncer se selecciona de: cerebro (gliomas), glioblastomas, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, de mama, de colon, de cabeza y cuello, de riñón, pulmonar, de hígado, melanoma, ovárico, pancreático, de próstata, sarcoma y de tiroides.

8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

9. La composición farmacéutica según la reivindicación 7, que comprende además al menos un agente antineoplásico.

10. La composición farmacéutica según la reivindicación 9, en donde al menos un agente antineoplásico se selecciona del grupo consistente esencialmente en agentes antimicrotubulares, complejos de coordinación de platino, agentes alquilantes, agentes antibióticos, inhibidores de la topoisomerasa II, antimetabolitos, inhibidores de la topoisomerasa I, hormonas y análogos hormonales, inhibidores de la vía de transducción de señales, inhibidores de tirosina cinasa no receptores de angiogenia, agentes inmunoterapéuticos, agentes proapoptóticos, e inhibidores de la señalización del ciclo celular.