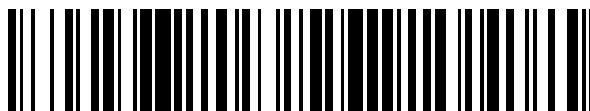


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 567 168**

51 Int. Cl.:

C07D 473/34 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 519/00 (2006.01)

A61K 31/52 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.11.2010 E 10776992 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.03.2016 EP 2499143**

54 Título: **Compuestos purina y pirazolopirimidina N7-sustituídos, composiciones y métodos de utilización**

30 Prioridad:

12.11.2009 US 260628 P

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

20.04.2016

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**LEE, WENDY;
LYSSIKATOS, JOSEPH P.;
PEI, ZHONGHUA y
ROBARGE, KIRK D.**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 567 168 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos purina y pirazolopirimidina N7-sustituídos, composiciones y métodos de utilización

5 La diana de mamífero de la rapamicina (mTOR) es una serina/treonina quinasa de 289 kDa que se considera un miembro de la familia de las quinasas de tipo fosfoinositida-3-quinasa (PIKK) debido a que contiene un dominio de quinasa carboxilo-terminal que presenta una homología de secuencia significativa con el dominio catalítico de las lípido quinasas fosfoinositida 3-quinasa (PI3K). Además del dominio catalítico en el extremo C-terminal, la mTOR
10 quinasa contiene además un dominio de unión a FKBP12-rapamicina (FRB), un dominio represor putativo próximo al extremo C-terminal y hasta 20 motivos HEAT repetidos en tándem en el extremo N-terminal así como un dominio C-terminal FRAP-ATM-TRRAP (FAT) y FAT. (ver Huang y Houghton, Current Opinion in Pharmacology 3:371-377, 2003). En la literatura, la mTOR quinasa también se denomina FRAP (FKBP12 y proteína asociada a rapamicina), RAFT1 (rapamicina y FKBP12 diana 1) y RAPT1 (diana 1 de rapamicina).

15 El documento nº WO2008/116129 da a conocer análogos de imidazolopirimidina para el tratamiento o la prevención de trastornos relacionados con la PI3K. El documento nº WO 2009/070524 da a conocer compuestos pirrolo[3,2-d]pirimidina que resultan útiles para tratar las enfermedades relacionadas con PI3K.

20 La mTOR quinasa puede ser activada por factores de crecimiento mediante la ruta de PI3K-Akt o por estrés celular, tal como la privación de nutrientes o la hipoxia. La activación de la mTOR quinasa se cree que desempeña un papel crucial en la regulación del crecimiento celular y la supervivencia celular a través de un amplio abanico de funciones celulares, incluyendo la traducción, la transcripción, la renovación del ARNm, la estabilidad de las proteínas, la reorganización del citoesqueleto de actina y la autofagia. Para una revisión detallada de la biología de la señalización celular de mTOR y los potenciales efectos terapéuticos de modulación de las interacciones de
25 señalización de mTOR, ver Sabatini D.M. y Guertin D.A., An Expanding Role for mTOR in Cancer TRENDS in Molecular Medicine 11:353-361; Chiang G.C. y Abraham R.T., Targeting the mTOR signaling network in cancer TRENDS 13:433-442, 2007; Jacinto y Hall, Tor signaling in bugs, brain and brawn Nature Reviews Molecular and Cell Biology 4:117-126, 2005, y Sabatini D.M. y Guertin D.A., Defining the Role of mTOR in Cancer Cancer Cell 12:9-22, 2007.

30 Los investigadores, estudiando la biología de la mTOR quinasa, han descubierto una conexión patológica entre la desregulación de la señalización celular de mTOR y varias enfermedades, entre ellas trastornos inmunológicos, cáncer, enfermedades metabólicas, enfermedades cardiovasculares y trastornos neurológicos.

35 Por ejemplo, existe evidencia que demuestra que la ruta de señalización de PI3K-AKT, que se encuentra antes de la quinasa mTOR, se encuentra con frecuencia sobreactivada en las células de cáncer, resultando en consecuencia en la hiperactivación de dianas posteriores como la quinasa mTOR. Más concretamente, entre los componentes de la ruta de PI3K-AKT que se encuentran mutados en diferentes tumores humanos se incluyen mutaciones de activación de receptores de factor de crecimiento y la amplificación y sobreexpresión de PI3K y AKT. Además, hay evidencia
40 que demuestra que muchos tipos tumorales, incluyendo el glioblastoma, el carcinoma hepatocelular, el carcinoma pulmonar, el melanoma, los carcinomas endometriales y el cáncer de próstata, contienen mutaciones de pérdida de función de reguladores negativos de las rutas de PI3K-AKT, tales como fosfatasa y homólogo de tensina, de delección en el cromosoma 10 (PTEN) y en el complejo de la esclerosis tuberosa (CET1/CET2), que también resulta en una señalización hiperactiva de la mTOR quinasa. Lo anterior sugiere que los inhibidores de la mTOR quinasa
45 pueden ser terapéuticos eficaces para el tratamiento de enfermedades causadas por lo menos en parte por la hiperactividad de la señalización de la mTOR quinasa.

50 La mTOR quinasa existe en forma de dos complejos de señalización física y funcionalmente diferentes (es decir, mTORC1 y mTORC2). mTORC1, también conocido como el "complejo mTOR-Raptor" o el "complejo sensible a rapamicina" debido a que se une y resulta inhibido por el inhibidor de molécula pequeña rapamicina. mTORC1 está definido por la presencia de las proteínas mTOR, Raptor y mLST8. La rapamicina misma es un macrólido y fue descubierta como el primer inhibidor de molécula pequeña de la mTOR quinasa. Para que sea biológicamente activa, la rapamicina forma un complejo ternario con mTOR y FKBP12, que es una proteína de unión citosólica denominada colectivamente inmunofilina. La rapamicina actúa induciendo la dimerización de mTOR y FKBP12. La
55 formación del complejo rapamicina-FKBP12 resulta en una ganancia de función debido a que el complejo se une directamente a mTOR e inhibe la función de mTOR.

60 Un segundo complejo mTORC descubierto más recientemente, mTORC2, se caracteriza por la presencia de las proteínas mTOR, Rictor, Protor-1, mLST8 y mSIN1. mTORC2 también se denomina "complejo mTOR-Rictor" o complejo "insensible a la rapamicina" debido a que no se une a la rapamicina.

65 Ambos complejos de mTOR desempeñan papeles importantes en las rutas de señalización intracelular que afectan al crecimiento, proliferación y supervivencia celulares. Por ejemplo, entre las proteínas diana posteriores de mTORC1 se incluyen las quinasas S6 ribosómicas (por ejemplo S6K1 y S6K2) y la proteína de unión al factor de inicio eucariótico 4E (4E-BP1), que son reguladores clave de la traducción en proteínas en las células. Además,

mTORC2 es responsable de la fosforilación de AKT (S473) y algunos estudios han demostrado que la proliferación celular incontrolada debida a la hiperactivación de AKT es característica de varios tipos de cáncer.

5 Actualmente se encuentran en desarrollo clínico para el cáncer varios análogos de la rapamicina (por ejemplo CCI-779 de Wyeth, RAD001 de Novartis y AP23573 de Ariad Pharmaceuticals). Resulta interesante que los datos clínicos demuestran que los análogos de la rapamicina aparentemente resultan eficaces para determinados tipos de cáncer, tales como el linfoma de células del manto, el cáncer de endometrio y el carcinoma de células renales.

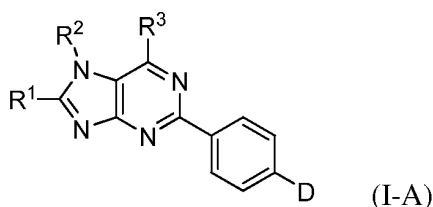
10 El descubrimiento de un segundo complejo de proteína mTOR (mTORC2) que no resulta inhibido por la rapamicina o los análogos de la misma sugiere que la inhibición de mTOR por la rapamicina es incompleta y que un inhibidor directo de la mTOR quinasa que pueda inhibir tanto mTORC1 como mTORC2 en el sitio catalítico de unión a ATP puede resultar más eficaz y presentar una actividad antitumoral más amplia que la rapamicina y los análogos de la misma.

15 Recientemente se han dado a conocer inhibidores de mTOR de molécula pequeña, incluyendo en las solicitudes de patente US nº 11/599.663 y nº 11/657.156, de OSI Pharmaceuticals Inc., en las solicitudes de patente internacional nº WO/2008/023161 y nº WO/2006/090169, de Kudos Pharmaceuticals; en las solicitudes de patente internacional nº WO/2008/032060, nº WO/2008/032086, nº WO/2008/032033, nº WO/2008/032028, nº WO/2008/032036, nº WO/2008/032089, nº WO/2008/032072, nº WO/2008/031091, de AstraZeneca, en la publicación de patente internacional nº WO/2008/116129 y en la solicitud de patente US nº 12/276.459, de Wyeth.

La solicitud provisional de patente US nº 61/085.309 da a conocer una clase de compuestos pirimidina fusionados con anillo N-heterocíclico que presentan actividad de mTOR.

25 En vista de los mayores conocimientos de los que se dispone sobre la función de la señalización de mTOR en las enfermedades (por ejemplo en el cáncer), resulta deseable disponer de inhibidores de molécula pequeña de mTOR (incluyendo mTORC1 y mTORC2) que puedan utilizarse para tratar enfermedades en las que se observa actividad aberrante de mTOR, tales como, por ejemplo, el cáncer. Además, puede resultar deseable disponer de inhibidores de molécula pequeña de enzimas relacionados (por ejemplo PI3K, AKT) que funcionen antes o después de la ruta de señalización de mTOR.

En un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I-A:



35 En la fórmula I, R¹ se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, metilo, etilo, propilo, isopropilo, 2-hidroxiprop-2-ilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, isobutilo, pentilo, dimetilaminometilo y hexilo.

40 En la fórmula I-A, R² se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, metilo, etilo, propilo, isopropilo, ciclopropilmetilo y metoxietilo. R³ es un anillo monocíclico o heterocicloalquilo punteado de 5 a 12 elementos, en el que el grupo R³ se sustituye con 0 a 3 sustituyentes R^{R3} seleccionados de entre el grupo que consiste de -C(O)OR^g, -C(O)NR^gR^h, -NR^gR^h, -OR^g, -SR^g, -S(O)₂R, -S(O)Rⁱ, -Rⁱ, halógeno, F, Cl, Br, I, -NO₂, -CN y -N₃, en el que R^g y R^h se seleccionan, cada uno independientemente, de entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, heteroalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ y cicloalquilo C₃₋₆, en el que opcionalmente R^g y R^h, conjuntamente con el átomo de nitrógeno al que se une cada uno, se combinan formando un anillo heterocíclico de 3 a 6 elementos que comprende 1 a 2 heteroátomos seleccionados de entre N, O y S, y Rⁱ se selecciona de entre alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, y en el caso de que R³ sea un anillo heterocicloalquilo monocíclico, cualesquiera dos grupos R^{R3} unidos al mismo átomo de R³ se combinan opcionalmente para formar un anillo carbocíclico de 3 a 7 elementos o un anillo heterocíclico de 3 a 7 elementos que comprende 1 a 2 átomos seleccionados de entre N, O y S como vértices del anillo. D es -NR⁴C(O)NR⁵R⁶ o -NR⁴R⁶, en el que R⁴ es hidrógeno, R⁵ y R⁶, cada uno independientemente, es un grupo opcionalmente sustituido que se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, alquilo C₁₋₆, heteroalquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, heterocicloalquilo C₂₋₇, arilo C₆₋₁₀ y heteroarilo C₁₋₉, y R⁵ y R⁶, en el caso de que se encuentren unidos al mismo átomo de nitrógeno, se combinan opcionalmente formando un anillo heterocíclico de 5 a 7 elementos o un anillo heteroarilo de 5 a 9 elementos, que comprende 1 a 3 heteroátomos seleccionados de entre N, O y S como vértices del anillo y se sustituyen con 0 a 3 sustituyentes R^D, en los que R^D se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste de halógeno, F, Cl, Br, I, -NO₂, -CN, -NR^jR^k, -OR^j, -SR^j, -C(O)OR^j, -C(O)NR^jR^k, -NR^jC(O)R^k, -NR^jC(O)OR^m, -X³-NR^jR^k, -X³-OR, -X³-SR^j, -X³-C(O)OR^j, -X³-C(O)NR^jR^k, -X³-NR^jC(O)R^k, -X³-NR^jC(O)OR^k, -X³-CN, -X³-NO₂, -S(O)R^m, -S(O)₂R^m, =O y -R^m, en los que R^j y R^k se seleccionan de entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, heteroalquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₇,

heterocicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo C₁₋₉, y R^m en cada aparición se selecciona independientemente de entre alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, heterocicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ y heteroarilo C₁₋₉; X³ se selecciona de entre el grupo que consiste de alquileno C₁₋₄, alquenileno C₂₋₄ y alquinileno C₂₋₄.

- 5 En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden por lo menos un diluyente, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable y un compuesto de fórmula I.

La presente solicitud da a conocer métodos de utilización de compuestos de fórmula I, para el tratamiento de enfermedades o trastornos que pueden tratarse mediante la inhibición de la mTOR quinasa.

- 10 Definiciones:

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "alquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere, a menos que se indique lo contrario, a un radical hidrocarburo lineal o ramificado, que presenta el número de átomos de carbono indicado (es decir, C₁₋₈ indica uno a ocho carbonos). Entre los ejemplos de grupos alquilo se incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo y similares. El término "alquenilo" se refiere a un radical alquilo insaturado que presenta uno o más dobles enlaces. De manera similar, el término "alquinilo" se refiere a un radical alquilo insaturado que presenta uno o más triples enlaces. Entre los ejemplos de dichos grupos alquilo insaturados se incluyen vinilo, 2-propenilo, crotilo, 2-isopentenilo, 2-(butadienilo), 2,4-pentadienilo, 3-(1,4-pentadienilo), etinilo, 1- y 3-propinilo, 3-butenilo y los homólogos e isómeros superiores. El término "cicloalquilo", "carbocíclico" o "carbociclo" se refiere a anillos de hidrocarburo que presentan el número indicado de átomos anulares (por ejemplo cicloalquilo C₃₋₆) y que es totalmente saturado o no presenta más de un doble enlace entre los vértices del anillo. Tal como se utiliza en la presente memoria, "cicloalquilo", "carbocíclico" o "carbociclo" también pretende referirse a anillos de hidrocarburo bicíclicos, policíclicos y espirocíclicos, tales como, por ejemplo, biciclo[2.2.1]heptano, pinano, biciclo[2.2.2]octano, adamantano, norborneno, alcanos C₅₋₁₂ espirocíclico, etc. Tal como se utiliza en la presente memoria, los términos "alquenilo", "alquinilo", "cicloalquilo", "carbociclo" y "carbocíclico" pretenden incluir las variantes mono- y poli-halogenadas de los mismos.

El término "heteroalquilo", por sí mismo o en combinación con otro término, se refiere, a menos que se indique lo contrario, a un radical hidrocarburo de cadena lineal o ramificada estable, que consiste del número indicado de átomos de carbono y uno a tres heteroátomos seleccionados de entre el grupo que consiste de O, N, Si y S, y en el que los átomos de nitrógeno y azufre pueden oxidarse opcionalmente y el heteroátomo de nitrógeno opcionalmente puede cuaternizarse. El heteroátomo o heteroátomos O, N y S pueden encontrarse en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo. El heteroátomo Si puede encontrarse en cualquier posición del grupo heteroalquilo, incluyendo la posición en la que el grupo alquilo se encuentra unido al resto de la molécula. Un "heteroalquilo" puede contener hasta tres unidades de insaturación y también puede incluir variantes mono- y poli-halogenadas, o combinaciones de las mismas. Entre los ejemplos se incluyen -CH₂-CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-O-CF₃, -CH₂-CH₂-NH-CH₃, -CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃, -CH₂-S-CH₂-CH₃, -S(O)-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃, -CH=CH-O-CH₃, -Si(CH₃)₃, -CH₂-CH=N-OCH₃ y -CH=CH=N(CH₃)-CH₃. Hasta dos heteroátomos pueden ser consecutivos, tales como, por ejemplo, -CH₂-NH-OCH₃ y -CH₂-O-Si(CH₃)₃.

El término "heterocicloalquilo", "heterocíclico" o "heterociclo" se refiere a un grupo cicloalcano que contiene entre uno y cinco heteroátomos seleccionados de entre N, O y S, en el que los átomos de nitrógeno y de azufre se encuentran opcionalmente oxidados y el átomo o átomos de nitrógeno se encuentran opcionalmente cuaternizados. A menos que se indique lo contrario, un "heterocicloalquilo, o anillo "heterocíclico" o "heterociclo" puede ser un sistema de anillos monocíclico, bicíclico, espirocíclico o policíclico. Entre los ejemplos no limitativos de anillos "heterocicloalquilo", "heterocíclicos" o "heterociclo" se incluyen pirrolidina, piperidina, imidazolidina, pirazolidina, butirrolactamo, valerolactamo, imidazolidinona, hidantoína, dioxolano, ftalimida, piperidina, pirimidín-2,4(1H,3H)-diona, 1,4-dioxano, morfolina, tiomorfolina, tiomorfolín-S-óxido, tiomorfolín-S,S-óxido, piperazina, pirano, piridona, 3-pirrolina, tiopirano, pirona, tetrahidrofurano, tetrahidrotiofeno, quinuclidina, tropano y similares. Puede unirse un grupo "heterocicloalquilo", "heterocíclico" o "heterociclo" al resto de la molécula mediante uno o más carbonos anulares o heteroátomos. Un "heterocicloalquilo", "heterocíclico" o "heterociclo" puede incluir variantes mono- y poli-halogenadas de los mismos.

El término "alquileno" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un radical divalente derivado de un alcano, tal como está ejemplificado por -CH₂CH₂CH₂CH₂-. Típicamente un grupo alquilo (o alquileno) presentará entre 1 y 24 átomos de carbono, resultando preferentes en la presente invención los grupos que presentan 10 o menos átomos de carbono. El término "haloalquileno" se refiere a una variante mono- o poli-halogenada de alquileno. Los términos "alquenileno" y "alquinileno" se refieren a las formas insaturadas de "alquileno" que presentan dobles o triples enlaces, respectivamente, y también pretenden incluir las variantes mono- y poli-halogenadas.

El término "heteroalquileno" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un radical divalente, saturado o insaturado o poliinsaturado, derivado de heteroarilo, tal como se ejemplifica mediante -CH₂-CH₂-S-CH₂CH₂- y -CH₂-S-CH₂-CH₂-NH-CH₂-, -O-CH₂-CH=CH-, -CH₂-CH=C(H)CH₂-O-CH₂- y -S-CH₂-C≡C-. Para los grupos

heteroalquileo, los heteroátomos también pueden ocupar cualquiera de los extremos de la cadena o ambos extremos (por ejemplo alquilenoxi, alquilendioxi, alquilenamino, alquilendiamino y similares).

Los términos "alcoxi", "alquilamino" y "alquilitio" (o tioalcoxi) se utilizan en su sentido convencional y se refieren a aquellos grupos alquilo unidos al resto de la molécula mediante un átomo de oxígeno, un grupo amino o un átomo de azufre, respectivamente. Además, para los grupos dialquilamino, las partes alquilo pueden ser iguales o diferentes y también pueden combinarse para formar un anillo de 3 a 7 elementos con el átomo de nitrógeno al que se une cada uno. De acuerdo con lo anterior, un grupo representado por $-NR^aR^b$ pretende incluir piperidinilo, pirrolidinilo, morfolinilo, azetidínulo y similares.

Los términos "halo" o "halogeno", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refieren, a menos que se indique lo contrario, a un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo. Además, algunos términos tales como "haloalquilo" pretenden incluir monohaloalquilo y polihaloalquilo. Por ejemplo, el término "haloalquilo C_{1-4} " pretende incluir trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo, difluorometilo y similares.

El término "arilo" se refiere, a menos que se indique lo contrario, a un grupo hidrocarburo poliinsaturado, típicamente aromático, que puede ser un único anillo o múltiples anillos (hasta tres anillos) que se fusionan entre sí. El término "heteroarilo" se refiere a grupos (o anillos) arilo que contienen entre uno y cinco heteroátomos seleccionados de entre N, O y S, en los que los átomos de nitrógeno y de azufre se encuentran opcionalmente oxidados y el átomo o átomos de nitrógeno se encuentran opcionalmente cuaternizados. Puede unirse un grupo heteroarilo al resto de la molécula mediante un heteroátomo. Entre los ejemplos no limitativos de grupos arilo se incluyen fenilo, naftilo y bifenilo, mientras que entre los ejemplos no limitativos de grupos heteroarilo se incluyen piridilo, piridazinilo, pirazinilo, pirimidinilo, triazinilo, quinolinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinolinilo, ftalazinilo, benzotriazinilo, purinilo, bencimidazolilo, benzopirazolilo, benzotriazolilo, bencisoxazolilo, isobenzofurilo, isoindolilo, indolizínulo, benzotriazinilo, tienopiridinilo, tienopirimidinilo, pirazolopirimidinilo, imidazopiridinas, benzotiazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, indolilo, quinolilo, isoquinolilo, isotiazolilo, pirazolilo, indazolilo, pteridinilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiadiazolilo, pirrolilo, tiazolilo, furilo, tienilo y similares. Los sustituyentes opcionales para cada uno de los sistemas de anillos arilo y heteroarilo anteriormente indicados pueden seleccionarse de entre el grupo de sustituyentes aceptables indicados en mayor detalle posteriormente.

Los términos anteriormente indicados (por ejemplo "alquilo", "arilo" y "heteroarilo"), en algunas realizaciones, incluirán tanto las formas sustituidas como no sustituidas del radical indicado. Se proporcionan posteriormente los sustituyentes preferentes de cada tipo de radical.

Los sustituyentes para los radicales alquilo (incluyendo aquellos grupos denominados con frecuencia alquileo, alqueno, alquínulo, heteroalquilo y cicloalquilo) pueden ser una diversidad de grupos, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, -halógeno, -OR', -NR'R'', -SR', -SiR'R''R''', -OC(O)R', -C(O)R', -CO₂R, -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR''C(O)NR'R'', -NR''C(O)₂R', -NHC(NH₂)=NH, -NRC(NH₂)=NH, -NHC(NH₂)=NR', -NR''C(NR'R'')=N-CN, -NR''C(NR'R'')=NOR', -NHC(NH₂)=NR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -NR'S(O)₂R'', -NR''S(O)₂NR'R'', -CN, -NO₂, -(CH₂)₁₋₄-OR', -(CH₂)₁₋₄-NR'R'', -(CH₂)₁₋₄-SR', -(CH₂)₁₋₄-SiR'R''R''', -(CH₂)₁₋₄-OC(O)R', -(CH₂)₁₋₄-C(O)R', -(CH₂)₁₋₄-CO₂R', -(CH₂)₁₋₄-CONR'R'', en un número comprendido entre cero y (2m'+1), en donde m' es el número total de átomos de carbono en dicho radical. R', R'' y R''' se refieren, cada uno independientemente, a grupos que incluyen, por ejemplo, hidrógeno, alquilo C₁₋₆ no sustituido, heteroalquilo no sustituido, arilo no sustituido, arilo sustituido con 1 a 3 halógenos, alquilo C₁₋₆ no sustituido, grupos alcoxi C₁₋₆ o tioalcoxi C₁₋₆, o grupos de aril-alquilo C₁₋₄ no sustituido, heteroarilo no sustituido y heteroarilo sustituido, entre otros. En el caso de que R' y R'' se unan al mismo átomo de nitrógeno, pueden combinarse con el átomo de nitrógeno formando un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 anillos. Por ejemplo, -NR'R'' pretende incluir 1-pirrolidinilo y 4-morfolinilo. Entre otros sustituyentes para los radicales alquilo, incluyendo heteroalquilo y alquileo, se incluyen, por ejemplo, =O, =NR', =N-OR', =N-CN y =NH, en los que R' incluye los sustituyentes indicados anteriormente. En el caso de un sustituyente de los radicales alquilo (incluyendo los grupos con frecuencia denominados alquileo, alqueno, alquínulo, heteroalquilo y cicloalquilo) contenga un conector alquileo (por ejemplo -(CH₂)₁₋₄-NR'R''), el conector alquileo incluye también variantes halo. Por ejemplo, el conector "-(CH₂)₁₋₄" utilizado como parte de un sustituyente pretende incluir difluorometileno, 1,2-difluoroetileno, etc.


De manera similar, los sustituyentes para los grupos arilo y heteroarilo son variados y generalmente se seleccionan de entre el grupo que incluye, aunque sin limitación, -halógeno, -OR', -OC(O)R', -NR'R'', -SR', -R', -CN, -NO₂, -CO₂R, -CONR'R'', -C(O)NR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR''C(O)NR'R'', -NHC(NH₂)=NH, -NR''C(NH₂)=NH, -NHC(NH₂)=NR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -NR'S(O)₂R'', -N₃, perfluoro-alcoxi C₁₋₄ y perfluoro-alquilo C₁₋₄, -(CH₂)₁₋₄-OR', -(CH₂)₁₋₄-NR'R'', -(CH₂)₁₋₄-SR', -(CH₂)₁₋₄-SiR'R''R''', -(CH₂)₁₋₄-OC(O)R', -(CH₂)₁₋₄-C(O)R', -(CH₂)₁₋₄-CO₂R', -(CH₂)₁₋₄-CONR'R'', en un número comprendido entre cero y el número total de valencias abiertas en el sistema de anillos aromáticos, y en el que R', R'' y R''' se seleccionan independientemente de entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, alqueno C₂₋₆, alquínulo C₂₋₆, arilo y heteroarilo no sustituidos, (arilo no sustituido)-alquilo C₁₋₄ y ariloxi no sustituido-alquilo C₁₋₄. Entre otros sustituyentes adecuados se incluyen cada uno de los sustituyentes arilo anteriormente indicados, unidos a un átomo anular mediante un ancla alquileo de entre 1 y 4 átomos de carbono. En el caso de un sustituyente del grupo arilo o heteroarilo contenga un conector alquileo (por ejemplo -(CH₂)₁₋₄-NR'R''), el conector alquileo incluye también variantes halo. Por ejemplo, el conector "-(CH₂)₁₋₄" utilizado

como parte de un sustituyente pretende incluir difluorometileno, 1,2-difluoroetileno, etc.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "heteroátomo" pretende incluir oxígeno (O), nitrógeno (N), azufre (S) y silicio (Si).

5 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "quiral" se refiere a moléculas que presentan la propiedad de no-superponibilidad de la pareja imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a moléculas que son superponibles sobre su pareja imagen especular.

10 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "estereoisómeros" se refiere a compuestos que presentan una constitución química idéntica, pero que difieren con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio.

15 Tal como se utiliza en la presente memoria, una línea ondulada "" que intersecta un enlace en una estructura química indica el punto de unión del átomo al que se encuentra conectado el enlace en la estructura química al resto de la molécula, o al resto de un fragmento de una molécula.

20 El término "diastereómero" se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares unas de otras. Los diastereómeros presentan diferentes propiedades físicas, por ejemplo puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades. Las mezclas de diastereómeros pueden separarse bajo procedimientos analíticos de alta resolución, tales como la electroforesis y la cromatografía.

El término "enantiómeros" se refieren a dos estereoisómeros de un compuesto que son imágenes especulares no superponibles uno de otro.

25 Las definiciones estereoquímicas y convenciones utilizadas en la presente memoria generalmente siguen S.P. Parker, editor, McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms, McGraw-Hill Book Company, New York, 1984; y Eliel E. y Wilen S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994. Los compuestos de la invención pueden contener centros asimétricos o quirales y, por lo tanto, existir en diferentes formas estereoisoméricas. Se pretende que todas las formas estereoisoméricas de los compuestos de la invención, incluyendo, aunque sin limitación, diastereómeros, enantiómeros y atropisómeros, así como mezclas de los mismos, tales como mezclas racémicas, forman parte de la presente invención. Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, presentan la capacidad de rotar el plano de la luz polarizada en un plano. En la descripción de un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L, o R y S, se utilizan para referirse a la configuración absoluta de la molécula en torno a su centro o centros quirales. Los prefijos d y l, o (+) y (-), se utilizan para referirse al signo de rotación de la luz polarizada en un plano por el compuesto, en donde (-) o l se refiere a que el compuesto es levorrotatorio. Un compuesto con prefijo (+) o d es dextrorrotatorio. Para una estructura química dada, estos estereoisómeros son idénticos, excepto en que son imágenes especulares uno de otro. Un estereoisómero específico también puede denominarse enantiómero, y una mezcla de dichos isómeros con frecuencia se denomina mezcla enantiomérica. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina mezcla racémica o racemato, lo que puede ocurrir en el caso de que no se haya producido estereoselección o estereoespecificidad en una reacción o procedimiento químico. Las expresiones "mezcla racémica" y "racemato" se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantioméricas, sin actividad óptica.

45 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "tautómero" o la expresión "forma tautomérica" se refieren a isómeros estructurales de diferentes energías que son interconvertibles a través de una barrera de baja energía. Por ejemplo, los tautómeros de protones (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen interconversiones mediante la migración de un protón, tal como isomerizaciones ceto-enol e imina-enamina. Entre los tautómeros de valencia se incluyen las interconversiones por reorganización de algunos de los electrones de enlace. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "solvato" se refiere a una asociación o complejo de una o más moléculas de solvente y un compuesto de la invención. Entre los ejemplos de solventes que forman solvatos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético y etanolamina. El término "hidrato" se refiere al complejo en el que la molécula de solvente es de agua.

55 Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "grupo protector" se refiere a un sustituyente que se utiliza comúnmente para bloquear o proteger un grupo funcional particular en un compuesto. Por ejemplo, un "grupo protector de amino" es un sustituyente unido a un grupo amino que bloquea o protege la funcionalidad amino en el compuesto. Entre los grupos protectores de amino adecuados se incluyen acetilo, trifluoroacetilo, t-butoxicarbonilo (BOC), benciloxicarbonilo (CBz) y 9-fluorenilmetilenoxicarbonilo (Fmoc). De manera similar, un "grupo protector de hidroxilo" se refiere a un sustituyente de un grupo hidroxilo que bloquea o protege la funcionalidad hidroxilo. Entre los grupos protectores adecuados se incluyen acetilo y sililo. Un "grupo protector de hidroxilo" se refiere a un sustituyente del grupo carboxi que bloquea o protege la funcionalidad carboxi. Entre los grupos protectores de carboxi comunes se incluyen fenilsulfonietilo, cianoetilo, 2-(trimetilsilil)etilo, 2-(trimetilsilil)etoximetilo, 2-(p-toluenosulfonil)etilo, 2-(p-nitrofenilsulfenil)etilo, 2-(difenilfosfino)etilo, nitroetilo y similares. Para una descripción general de grupos protectores y su utilización, ver P.G.M. Wuts y T.W. Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4a edición, Wiley-Interscience, New York, 2006.

65

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "mamífero" incluye, aunque sin limitación, seres humanos, ratones, ratas, cobayas, monos, perros, gatos, caballos, vacas, cerdos y ovejas.

5 Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" pretende incluir sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, según los sustituyentes particulares que se encuentran en los compuestos indicados en la presente memoria. En el caso de que los compuestos de la presente invención contengan funcionalidades relativamente ácidas, pueden obtenerse sales de adición de base mediante la puesta en contacto de la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, sola o en un solvente inerte adecuado. Entre los ejemplos de sales derivadas de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables se incluyen aluminio, amino, calcio, cobre, férrica, ferrosa, litio, magnesio, mangánico, manganeso, potasio, sodio, cinc y similares. Entre las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables se incluyen las sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, incluyendo aminas sustituidas, aminas cíclicas, aminas de origen natural y similares, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetil-aminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, poliamina, resinas, procaínas, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares. En el caso de que los compuestos de la presente invención contengan funcionalidades relativamente básicas, pueden obtenerse sales de adición de ácido mediante la puesta en contacto de la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, solo o en un solvente inerte adecuado. Entre los ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se incluyen los derivados de ácidos inorgánicos como los ácidos clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, hidroyódico o fosforoso, y similares, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos como los ácidos acético, propiónico, isobutírico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metanosulfónico y similares. También se encuentran incluidas sales de aminoácidos tales como arginato y similares, y sales de ácidos orgánicos como los ácidos glucurónico y galacturónico, y similares (ver, por ejemplo, Berge S.M. et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science 66:1-19, 1977). Determinados compuestos específicos de la presente invención contienen funcionalidades tanto básicas como ácidas que permiten convertir los compuestos en sales de adición de base o ácido.

Las formas neutras de los compuestos pueden regenerarse mediante la puesta en contacto de la sal con una base o un ácido y aislando el compuesto parental de la manera convencional. La forma parental del compuesto difiere de las diversas formas salinas en determinadas propiedades físicas, tales como la solubilidad en solventes polares, aunque de otro modo las sales son equivalentes a la forma parental del compuesto para los fines de la presente invención.

Además de las formas salinas, la presente invención proporciona compuestos que se encuentran en forma de profármaco. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "profármaco" se refiere a aquellos compuestos que experimentan fácilmente cambios químicos bajo condiciones fisiológicas, proporcionando los compuestos de la presente invención. Además, los profármacos pueden convertirse en compuestos de la presente invención mediante métodos químicos o bioquímicos en un ambiente ex vivo. Por ejemplo, pueden convertirse lentamente los profármacos en compuestos de la presente invención al introducirse en un parche reservorio transdérmico con un enzima o reactivo químico adecuado. Entre los profármacos de la invención se incluyen compuestos en los que un residuo aminoácido o una cadena polipeptídica de dos o más (por ejemplo dos, tres o cuatro) residuos aminoácidos, se une covalentemente mediante un enlace amida o éster a un grupo amino, hidroxilo o ácido carboxílico libre de un compuesto de la presente invención. Entre los residuos aminoácidos se incluyen, aunque sin limitación, los 20 aminoácidos naturales denominados comúnmente con símbolos de tres letras e incluye además fosfoserina, fosfotreonina, fosfotirosina, 4-hidroxiprolina, hidroxilisina, demosina, isodemosina, gamma-carboxiglutamato, ácido hipúrico, ácido octahidroindol-2-carboxílico, estatina, ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolín-3-carboxílico, penicilamina, ornitina, 3-metilhistidina, norvalina, beta-alanina, ácido gamma-aminobutírico, citrulina, homocisteína, homoserina, metil-alanina, para-benzoilfenilalanina, fenilglicina, propargilglicina, sarcosina, metionín-sulfona y terc-butilglicina.

También se encuentran comprendidos tipos adicionales de profármacos. Por ejemplo, un grupo carboxilo libre de un compuesto de la invención puede derivatizarse en forma de una amida o éster de alquilo. Como otro ejemplo, pueden derivatizarse como profármacos los compuestos de la presente invención que comprenden grupos hidroxilo libres mediante la conversión del grupo hidroxilo en un grupo tal como, aunque sin limitación, un grupo éster de fosfato, hemisuccinato, dimetilaminoacetato o fosforiloximetiloxicarbonilo, tal como se indica de manera general en Fleisher D. et al., Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs Advanced Drug Delivery Reviews, 19:115, 1996. Los profármacos carbamato de grupos hidroxilo y amino también se encuentran incluidos, al igual que los profármacos carbonato, ésteres de sulfonato y ésteres de sulfato de grupos hidroxilo. La derivatización de grupos hidroxilo como éteres de (aciloxi)metilo y (aciloxi)etilo, en los que el grupo acilo puede ser un éster de alquilo sustituido opcionalmente con grupos entre los que se incluyen, aunque sin limitación, funcionalidades éter, amina y ácido carboxílico, o en los que el grupo acilo es un éster de aminoácido tal como se ha indicado anteriormente, también se encuentra comprendida. Los profármacos de este tipo se describen en J. Med. Chem. 39:10, 1996. Entre los ejemplos más específicos se incluyen la sustitución del átomo de hidrógeno del grupo

alcohol con un grupo tal como alcanoil C₁₋₆-oximetilo, 1-((alcanoil C₁₋₆-oxi)etilo), 1-metil-1-(alcanoil C₁₋₆-oxi)etilo, alcoxi C₁₋₆-carboniloximetilo, N-alcoxi C₁₋₆-carbonilaminometilo, succinoilo, alcanoil C₁₋₆, alfa-amino-alcanoil C₁₋₄, arilacilo y alfa-aminoacilo o alfa-amino-acil-alfa-aminoacilo, en los que cada grupo alfa-aminoacilo se selecciona independientemente de entre los L-aminoácidos naturales, P(O)(OH)₂, -P(O)(O-alkilo C₁₋₆)₂ o glucosilo (resultando el radical de la eliminación de un grupo hidroxilo de la forma hemiacetal de un carbohidrato).

Para ejemplos adicionales de derivados profármaco ver, por ejemplo, a) Design of Prodrugs, editado por H. Bundgaard (Elsevier, 1985), y Methods in Enzymology 42:309-396, editado por K. Widder et al. (Academic Press, 1985); b) A Textbook of Drug Design and Development, editado por Krogsgaard-Larsen y H. Bundgaard, capítulo 5, "Design and Application of Prodrugs", de H. Bundgaard, páginas 113 a 191, 1991; c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews 8:1-38, 1992; d) H. Bundgaard et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77:285, 1988; y e) N. Kakeya, et al., Chem. Pharm. Bull., 32:692, 1984, cada uno de los cuales se incorpora específicamente en la presente memoria como referencia. Además, la presente invención proporciona metabolitos de compuestos de la invención. Tal como se utiliza en la presente memoria, un "metabolito" se refiere a un producto producido mediante el metabolismo en el cuerpo de un compuesto especificado o sal del mismo. Dichos productos pueden resultar, por ejemplo, de la oxidación, reducción, hidrólisis, amidación, desamidación, esterificación, desesterificación, corte enzimático y similares, del compuesto administrado.

Los productos metabolitos típicamente se identifican mediante la preparación de un compuesto de la invención marcado con un isótopo radioactivo (por ejemplo ¹⁴C o ³H), administrado por vía parenteral en una dosis detectable (por ejemplo superior a aproximadamente 0,5 mg/kg) en un animal, tal como una rata, un cobaya, un mono o en el ser humano, permitiendo suficiente tiempo para que se produzca el metabolismo (típicamente entre aproximadamente 30 segundos y 30 horas) y aislando sus productos de conversión a partir de muestras de orina, sangre u otras muestras biológicas. Estos productos son fáciles de aislar ya que se encuentran marcados (otros se aíslan mediante la utilización de anticuerpos capaces de unirse a epítomos que sobreviven en el metabolito). Las estructuras de los metabolitos se determinan de manera convencional, por ejemplo mediante análisis de EM, CL/EM o RMN. En general, el análisis de los metabolitos se lleva a cabo de la misma manera que los estudios convencionales de metabolismo de fármacos bien conocidos por el experto en la materia. Los productos metabolitos, con la condición de que no se observen de otro modo in vivo, pueden resultar útiles en ensayos diagnósticos para la administración terapéutica de los compuestos de la invención.

Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas, así como formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y pretenden encontrarse comprendidas dentro del alcance de la presente invención. Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente invención y se pretende que se encuentren comprendidas dentro del alcance de la presente invención. Determinados compuestos de la presente invención presentan átomos de carbono asimétrico (centros ópticos) o dobles enlaces: los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos, regioisómeros e isómeros individuales (por ejemplo enantiómeros separados) se encuentran todos comprendidos dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos de la presente invención pueden contener además proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen dichos compuestos. Por ejemplo, la presente invención comprende además variantes marcadas isotópicamente de la presente invención que son idénticas a los indicados en la presente memoria excepto por el hecho de que uno o más átomos han sido sustituidos por un átomo que presenta una masa atómica o un número atómico diferente de la masa atómica o número atómico predominante habitualmente observado en la naturaleza. Todos los isótopos de cualquier átomo o elemento particular tal como se especifica se encuentran contemplados dentro del alcance de los compuestos de la invención y sus usos. Entre los isótopos ejemplares que pueden incorporarse en compuestos de la invención se incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro y yodo, tales como ²H, ³H, ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹³N, ¹⁵N, ¹⁵O, ¹⁷O, ¹⁸O, ³²P, ³³P, ³⁵S, ¹⁸F, ³⁶Cl, ¹²³I y ¹²⁵I. Determinados compuestos marcados isotópicamente de la presente invención (por ejemplo los marcados con ³H y ¹⁴C) resultan útiles en ensayos de distribución en los tejidos del compuesto y/o el sustrato. Los isótopos de tritio (³H) y de carbono 14 (¹⁴C) resultan útiles por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados tales como el deuterio (²H) puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas resultantes de la mayor estabilidad metabólica (por ejemplo una semivida in vivo incrementada o necesidades de dosis menores) y por lo tanto puede resultar preferente bajo algunas circunstancias. Los isótopos emisores de positrones, tales como ¹⁵O, ¹³N, ¹¹C y ¹⁸F resultan útiles para estudios de tomografía de emisión de positrones (TEP) para examinar el nivel de ocupación de receptores del sustrato. Los compuestos marcados isotópicamente de la presente invención pueden prepararse generalmente mediante los procedimientos análogos dados a conocer en los esquemas o en los ejemplos descritos posteriormente en la presente memoria, mediante la sustitución de un reactivo marcado isotópicamente por un reactivo no marcado isotópicamente.

Los términos "tratar" y "tratamiento" se refieren a tanto al tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas, en los que el objetivo es prevenir o enlentecer (reducir) un cambio o trastorno fisiológico no deseado, tal como el desarrollo o extensión del cáncer. Para los fines de la presente invención, entre los resultados clínicos beneficiosos o deseados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, el alivio de los síntomas, la reducción de la

extensión de la enfermedad, un estado estabilizado (es decir, que no empeora), el retraso o enlentecimiento de la progresión de la enfermedad, la mejora o paliación del estado de la enfermedad y la remisión (parcial o total), sea detectable o indetectable. El "tratamiento" también puede referirse a prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada en caso de no recibir tratamiento. Entre los que requieren tratamiento se incluyen los que ya presentan la condición o trastorno, así como aquellos con tendencia a presentar la condición o trastorno o aquellos en los que debe prevenirse la condición o el trastorno.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un compuesto de la presente invención que (i) trata o previene la enfermedad, condición o trastorno particular, (ii) atenúa, mejora o elimina uno o más síntomas de la enfermedad, condición o trastorno particular, o (iii) evita o retrasa la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad, condición o trastorno particular indicado en la presente memoria. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco puede reducir el número de células de cáncer, reducir el tamaño del tumor, inhibir (es decir, enlentecer en cierto grado y preferentemente detener) la infiltración de las células de cáncer en órganos periféricos, inhibir (es decir, enlentecer en cierto grado y preferentemente detener) la metástasis de un tumor; inhibir, en cierto grado, el crecimiento del tumor, y/o aliviar en cierto grado uno o más de los síntomas asociados al cáncer. En la medida en la que el fármaco puede evitar el crecimiento de las células de cáncer existentes y/o eliminarlas, puede ser citostático y/o citotóxico. Para la terapia del cáncer, la eficacia puede medirse, por ejemplo, mediante la evaluación del tiempo hasta la progresión de la enfermedad (TPE) y/o la determinación de la tasa de respuesta (TR).

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren o describen la condición fisiológica en mamíferos que se caracteriza típicamente por el crecimiento celular no regulado. Un "tumor" comprende una o más células cancerosas. Entre los ejemplos de cáncer se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia o neoplasias malignas linfoides. Entre los ejemplos más particulares de dichos cánceres se incluyen el cáncer de células escamosas (por ejemplo el cáncer de células escamosas epitelial), el cáncer de pulmón, incluyendo el cáncer de pulmón de células pequeñas, el cáncer de pulmón de células no pequeñas ("CPCNP"), el adenocarcinoma pulmonar y el carcinoma escamoso de pulmón, el cáncer de peritoneo, el cáncer hepatocelular, el cáncer gástrico o de estómago, incluyendo el cáncer gastrointestinal, el cáncer pancreático, el glioblastoma, el cáncer cervical, el cáncer ovárico, el cáncer hepático, el cáncer de vejiga, el hepatoma, el cáncer de mama, el cáncer de colon, el cáncer rectal, el cáncer colorrectal, el carcinoma endometrial o uterino, el carcinoma de glándulas salivares, el cáncer de riñón o renal, el cáncer de próstata, el cáncer vulvar, el cáncer de tiroides, el carcinoma hepático, el carcinoma anal, el carcinoma peneano, así como el cáncer de cabeza y cuello.

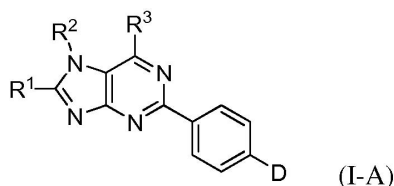
Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "complemento" se refiere a la utilización de compuestos activos conjuntamente con medios terapéuticos conocidos. Entre dichos medios se incluyen regímenes citotóxicos de fármacos y/o radiación ionizante tal como se utiliza en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer. Entre los ejemplos de agentes quimioterapéuticos que pueden combinarse con compuestos de la invención se incluyen Erlotinib (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), Bortezomib (VELCADE®, Millennium Pharm.), Fulvestrant (FASLODEX®, AstraZeneca), Sutent (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer), Letrozol (FEMARA®, Novartis), mesilato de Imatinib (GLEEVEC®, Novartis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), oxaliplatino (Eloxatin®, Sanofi), 5-FU (5-fluorouracilo), leucovorina, rapamicina (Sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth), Lapatinib (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), Lonafarnib (SCH 66336), Sorafenib (BAY43-9006, Bayer LABS) y Gefitinib (IRESSA®, AstraZeneca), AG1478, AG1571 (SU 5271, Sugen), agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida CYTOXAN®, sulfonatos de alquilo tales como busulfán, improsulfán y pipsulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocouona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas, incluyendo altretamina, tretilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilomelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); una camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecán); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo los análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina de los mismos); criptoficinas (particularmente criptoficina-1 y criptoficina-8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongiostatina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, clomafazina, clorofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, hidrocloreuro de óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enediina (por ejemplo caliqueamicina, especialmente la caliqueamicina gamma11 y caliqueamicina omega11 (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. 33:183-186, 1994); dinemicina, incluyendo la dinemicina A; bisfosfonatos, tales como clodronato; una esperamicina; así como el cromóforo neocarzinostatina y bromóforos antibióticos de cromoproteína enediina), aclacinomisininas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomycin, carabycin, caminomycin, carzinophilin, chromomycinis, dactinomycin, daunorubicin, detorubicin, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, ADRIAMYCIN® (doxorubicina), morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina y desoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puomicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiampirina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, dromostanolona propionato, epitioestanol,

5 mepitostano, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; recaptador de ácido fólico tales como ácido frolínico; aceglatona; glucósido aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elformitina; acetato de eliptinio; un epotilón; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxurea; lentinano; lonidainina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; complejo de polisacáridos PSK® (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); razoxano; rizoxina; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-trichlorotrietilamina; tricotecenos (especialmente la toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo TAXOL® (paclitaxel; Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE™ (sin Cremophor), formulaciones de nanopartículas preparadas con albúmina de paclitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.) y TAXOTERE® (docetaxel; Rhone-Poulenc Rorer, Antony, Francia); cloranbucilo; GEMZAR® (gemcitabina); 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; NAVELBINE® (vinorelbina); novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; capecitabina (XELODA®); ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como el ácido retinoico y sales y ácidos farmacéuticamente aceptables y derivados de cualquiera de los indicados anteriormente.

20 También se encuentran incluidos en la definición de "agente quimioterapéutico": (i) agentes antihormonales que actúan regulando o inhibiendo la acción hormonal sobre tumores, tales como antiestrógenos y moduladores selectivos de receptores de estrógenos (MSRE), incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo NOLVADEX® y citrato de tamoxifeno), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, queoxifeno, LY117018, onapristona y FARESTON® (citrato de toremifina); (ii) inhibidores de aromatasas que inhiben el enzima aromatasas, que regula la producción de estrógenos en las glándulas adrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, MEGASE® (acetato de megestrol), AROMASIN® (exemestano, Pfizer), formestanie, fadrozol, RIVISOR® (vorozol), FEMARA® (letrozol, Novartis) y ARIMIDEX® (anastrozol, AstraZeneca); (iii) antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolído y goserelina, así como troxacitabina (un análogo de citosina nucleósido 1,3-dioxolano); (iv) inhibidores de proteína quinasa, por ejemplo un inhibidor de PI3K, un inhibidor de MEK, etc.; (v) inhibidores de lípido quinasa, (vi) oligonucleótidos antisentido, particularmente aquellos que inhiben la expresión de genes en rutas de señalización que participan en la proliferación celular aberrante, tales como, por ejemplo PKC-alfa, Raf y H-Ras, (vii) ribozimas, tales como inhibidores de la expresión de VEGF (p.ej. ANGIOZYME®) e inhibidores de la expresión de HER2, (viii) vacunas tales como vacunas de terapia génica, por ejemplo ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® y VAXID®; rIL-2 PROLEUKIN®, un inhibidor de la topoisomerasa-1 tal como LURTOTECAN® y rmRH ABARELIX®, (ix) agentes antiangiogénicos tales como bevacizumab (AVASTIN®, Genentech) y (x) sales farmacéuticamente aceptables, ácidos y derivados de cualquiera de los anteriormente indicados. También pueden utilizarse compuestos activos como aditivos de cultivo celular para inhibir mTOR, por ejemplo con el fin de sensibilizar las células frente a agentes quimioterapéuticos conocidos o tratamiento de radiación ionizante in vitro.

40 I.A. Compuestos

En un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I-A:

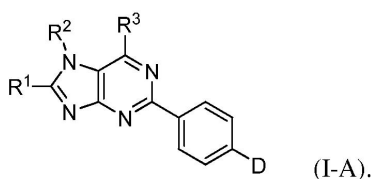


en la que R¹ se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, metilo, etilo, propilo, isopropilo, 2-hidroxiprop-2-ilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, isobutilo, pentilo, dimetilaminometilo y hexilo.

50 En la fórmula I-A, R² se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, metilo, etilo, propilo, isopropilo, ciclopropilmetilo y metoxietilo. R³ es un anillo heterocicloalquilo monocíclico o puenteado de 5 a 12 elementos, en el que el grupo R³ se sustituye con 0 a 3 sustituyentes R^{R3} seleccionados de entre el grupo que consiste de -C(O)OR^g, -C(O)NR^gR^h, iii -NR^gR^h, -OR^g, -SR^g, -S(O)₂Rⁱ, -S(O)Rⁱ, -Rⁱ, halógeno, F, Cl, Br, I, -NO₂, -CN y -N₃, en el que R^g y R^h se seleccionan cada uno independientemente de entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, heteroalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ y cicloalquilo C₃₋₆, en el que opcionalmente R^g y R^h, conjuntamente con el átomo de nitrógeno al que se une cada uno, se combinan formando un anillo heterocíclico de 3 a 6 elementos que comprende 1 a 2 heteroátomos seleccionados de entre N, O y S, y Rⁱ se selecciona de entre alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆; y en el caso de que R³ es un anillo heterocicloalquilo monocíclico, dos grupos R^{R3} cualesquiera unidos al mismo átomo de R³ se combina opcionalmente formando un anillo carbocíclico de 3 a 7 elementos o heterocíclico de 3 a 7 elementos que comprende 1 a 2 átomos seleccionados de entre N, O y S como vértices del

anillo. $-NR^4C(O)NR^5R^6$ o $-NR^5R^6$, en el que R^4 es hidrógeno, R^5 y R^6 son, cada uno independientemente, un grupo sustituido opcionalmente que se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, alquilo C_{1-6} , heteroalquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-7} , heterocicloalquilo C_{2-7} , arilo C_{6-10} y heteroarilo C_{1-9} , y R^5 y R^6 , en el caso de que se unan al mismo átomo de nitrógeno se combinan opcionalmente formando un anillo heterocíclico de 5 a 7 elementos o un anillo heteroarilo de 5 a 9 elementos que comprende 1 a 3 heteroátomos seleccionados de entre N, O y S como vértices de anillo y se sustituye con 0 a 3 sustituyentes R^D , en los que R^D se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste de halógeno, F, Cl, Br, I, $-NO_2$, $-CN$, $-NR^jR^k$, $-OR^j$, $-SR^j$, $-C(O)OR^j$, $-C(O)NR^jR^k$, $-NR^jC(O)R^k$, $-NR^jC(O)OR^m$, $-X^3-NR^jR^k$, $-X^3-OR^j$, $-X^3-SR^j$, $-X^3-C(O)OR^j$, $-X^3-C(O)NR^jR^k$, $-X^3-NR^jC(O)R^k$, $-X^3-NR^jC(O)OR^k$, $-X^3-CN$, $-X^3-NO_2$, $-S(O)R^m$, $-S(O)_2R^m$, $=O$ y $-R^m$, en el que R^j y R^k se selecciona de entre hidrógeno, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alqueno C_{2-6} , alquino C_{2-6} , heteroalquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-7} , heterocicloalquilo C_{3-7} , arilo C_{6-10} , heteroarilo C_{1-9} , y R^m , en cada aparición se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-7} , heterocicloalquilo C_{3-7} , arilo C_{6-10} y heteroarilo C_{1-9} , y X^3 se selecciona de entre el grupo que consiste de alqueno C_{1-4} , alqueno C_{2-4} y alquino C_{2-4} .

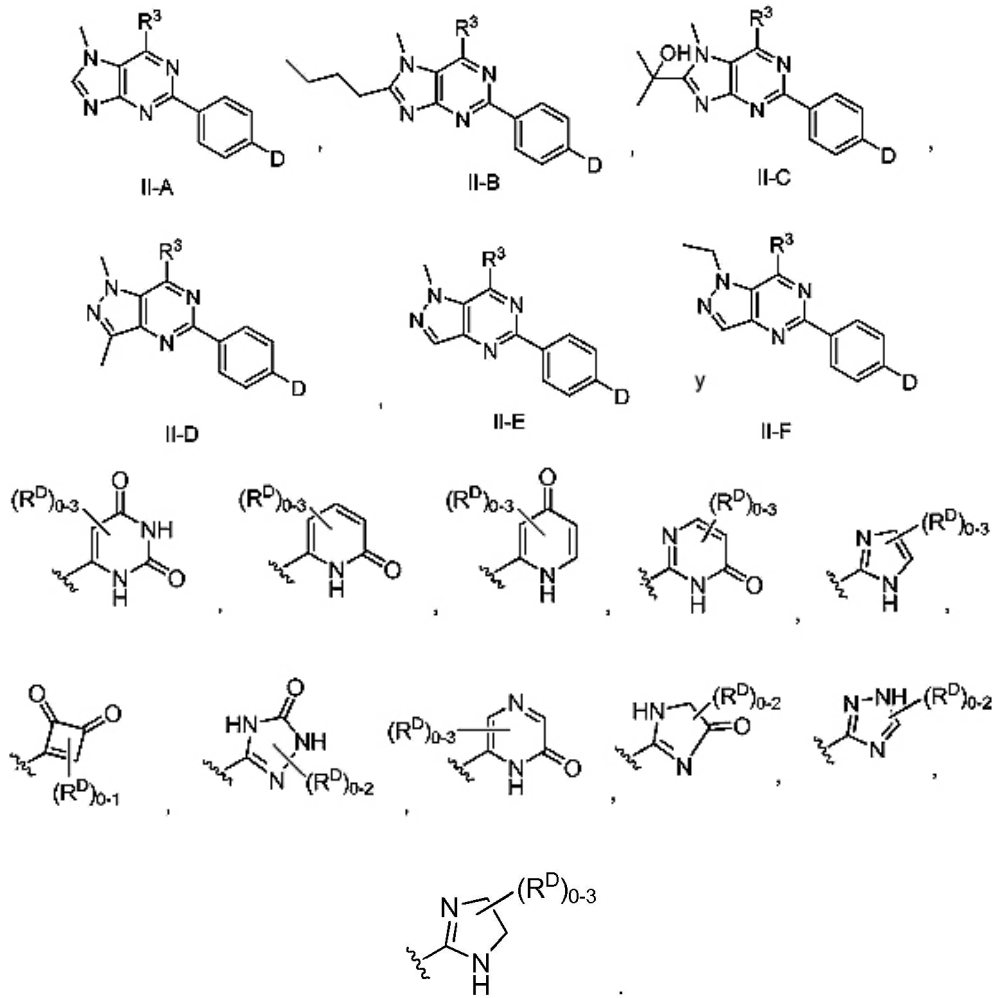
En una realización, los compuestos de fórmula I presenta la fórmula I-A:



En otra realización, en los compuestos de fórmula I, I-A e I-B, R^3 se selecciona de entre el grupo que consiste de morfólin-4-ilo, 3,4-dihidro-2H-pirán-4-ilo, 3,6-dihidro-2H-pirán-4-ilo, tetrahidro-2H-pirán-4-ilo, 1,4-oxazepán-4-ilo, 2-oxa-5-azabicyclo[2.2.1]heptán-5-ilo, 3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]octán-8-ilo, piperidín-1-ilo y 8-oxa-3-azabicyclo[3.2.1]octán-3-ilo, en el que el grupo R^3 se sustituye con 0 a 3 sustituyentes R^{R3} seleccionados de entre el grupo que consiste de $-C(O)OR^g$, $-C(O)NR^gR^h$, $-NR^gR^h$, $-OR^g$, $-SR^g$, $-S(O)_2R^i$, $-S(O)R^i$, $-R^i$, halógeno, F, Cl, Br, I, $-NO_2$, $-CN$ y $-N_3$, en el que R^g y R^h se seleccionan, cada uno independientemente, de entre hidrógeno, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , heteroalquilo C_{1-6} , alqueno C_{2-6} y cicloalquilo C_{3-6} , en el que opcionalmente R^g y R^h , conjuntamente con el átomo de nitrógeno al que se une cada uno, se combinan formando un anillo heterocíclico de 3 a 6 elementos que comprende 1 a 2 heteroátomos seleccionados de entre N, O y S, y R^i se selecciona de entre alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alqueno C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-6} ; y en el caso de que R^3 sea un anillo heterocicloalquilo monocíclico, cualesquiera dos grupos R^{R3} unidos al mismo átomo de R^3 se combinan opcionalmente formando un anillo carbocíclico de 3 a 7 elementos o un anillo heterocíclico de 3 a 7 elementos que comprende 1 a 2 átomos seleccionados de entre N, O y S como vértices de anillo. En determinados aspectos de la presente realización, R^3 se sustituye con 0 a 2 sustituyentes R^{R3} seleccionados de entre $-NR^gR^h$, $-OR^g$, y R^i , y en el caso de que R^3 sea un anillo heterocicloalquilo monocíclico, cualesquiera dos grupos R^{R3} unidos al mismo átomo de R^3 se combinan opcionalmente formando un anillo carbocíclico de 3 a 7 elementos o un anillo heterocíclico de 3 a 7 elementos que comprende 1 a 2 átomos seleccionados de entre N, O y S como vértices de anillo. En determinados aspectos de la presente realización R^3 se sustituye opcionalmente con metilo o etilo. En determinados aspectos de la presente realización R^3 se selecciona de entre el grupo que consiste de morfólin-4-ilo, 3(R)-metil-morfólin-4-ilo, 3(S)-metil-morfólin-4-ilo, 3(R)-etil-morfólin-4-ilo, 3(S)-etil-morfólin-4-ilo, 3(R)-isopropil-morfólin-4-ilo, 3(S)-isopropil-morfólin-4-ilo, 3,3-dimetil-morfólin-4-ilo, 3,4-dihidro-2H-pirán-4-ilo, 3,6-dihidro-2H-pirán-4-ilo, tetrahidro-2H-pirán-4-ilo, 1,4-oxazepán-4-ilo, piperidín-1-ilo, 2-oxa-5-azabicyclo[2.2.1]heptán-5-ilo, 3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]octán-8-ilo, 4-metoxipiperidín-1-ilo y 8-oxa-3-azabicyclo[3.2.1]octán-3-ilo.

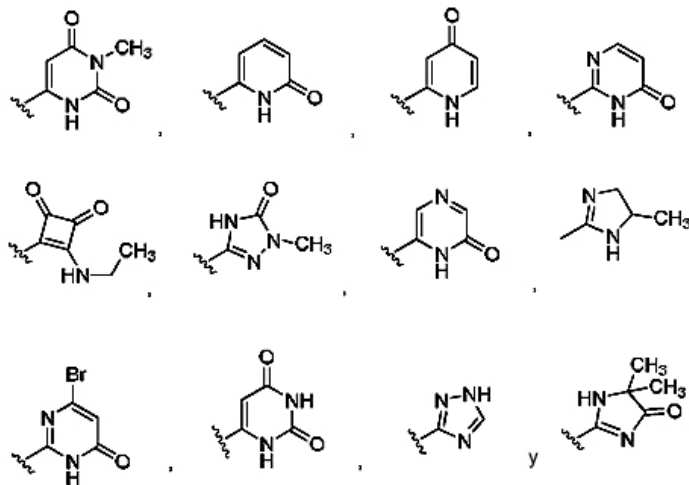
En otra realización, los compuestos de fórmula I se seleccionan de entre el grupo que consiste de:

En otra realización, en los compuestos de fórmula I-A, D es $-NR^4C(O)NR^5R^6$ o $-NR^5R^6$, en el que R^4 es hidrógeno, R^5 y R^6 son, cada uno independientemente, un grupo opcionalmente sustituido que se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, alquilo C_{1-6} , heteroalquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-7} , heterocicloalquilo C_{2-7} , arilo C_{6-10} y heteroarilo C_{1-9} , y R^5 y R^6 , en el caso de que se encuentren unidos al mismo átomo de nitrógeno, se combinan opcionalmente formando un anillo heterocíclico de 5 a 7 elementos o un anillo heteroarilo de 5 a 9 elementos, que comprende 1 a 3 heteroátomos seleccionados de entre N, O y S como vértices del anillo y se sustituyen con 0 a 3 sustituyentes R^D . En determinados aspectos de la presente realización, D es $-NR^5R^6$, en el que R^5 es hidrógeno o alquilo C_{1-3} , y R^6 es un arilo C_{6-10} , heteroarilo C_{1-9} o heterocicloalquilo C_{3-7} sustituido opcionalmente. En determinados aspectos de la presente realización, D es $-NR^5R^6$, en el que R^5 es hidrógeno o alquilo C_{1-3} , y R^6 es un heterocicloalquilo C_{3-7} sustituido opcionalmente seleccionado de entre el grupo que consiste de:



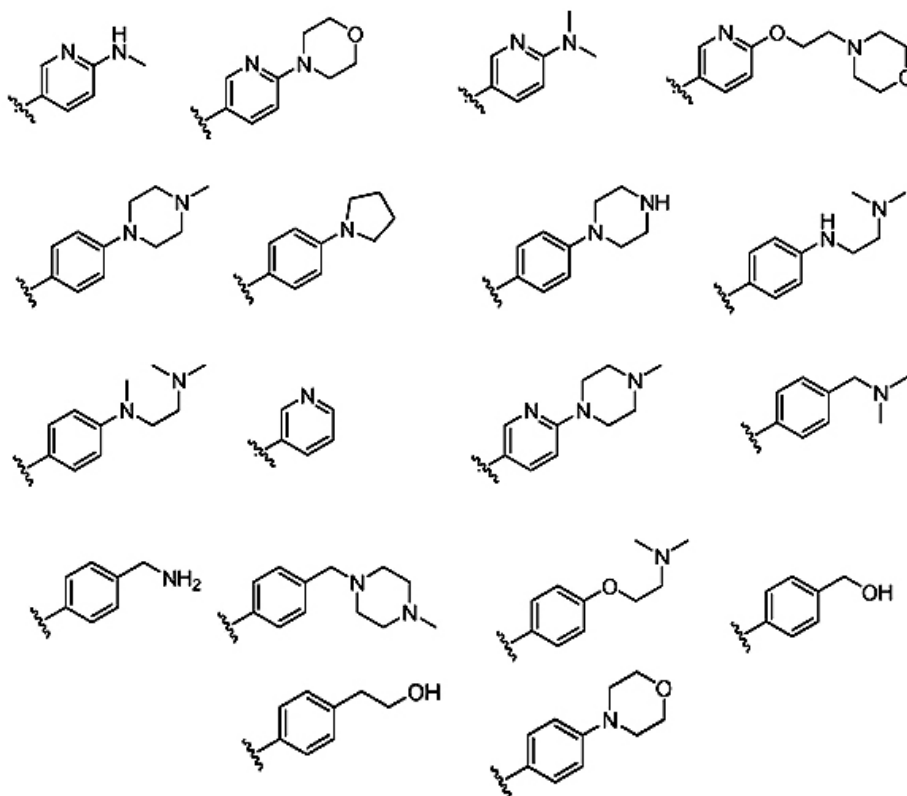
5 en el que un átomo de hidrógeno unido a uno o más vértices de anillo de nitrógeno o carbono en el anillo heterocicloalquilo C_{3-7} se sustituye opcionalmente con un sustituyente R^D seleccionado de entre el grupo que consiste de F, Cl, Br, I, $-NR^k$, $-OR^j$ y R^s . En determinados aspectos de la presente realización D se selecciona de entre el grupo que consiste de:

10



15

En otra realización, en compuestos de fórmula I, D es $-NR^5R^6$, en el que R^5 y R^6 se combinan formando un anillo heteroarilo de 5 elementos sustituido opcionalmente, que se selecciona de entre el grupo que consiste de pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo y triazolilo.

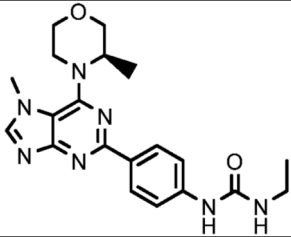
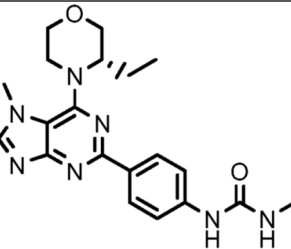
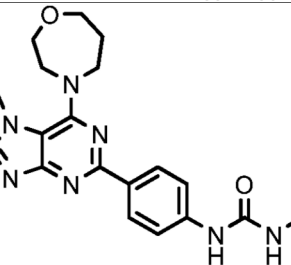
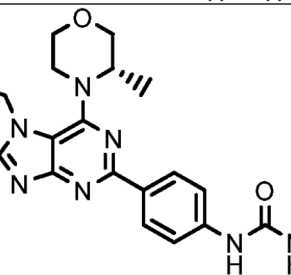
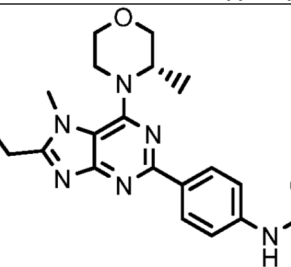
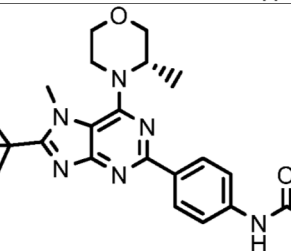
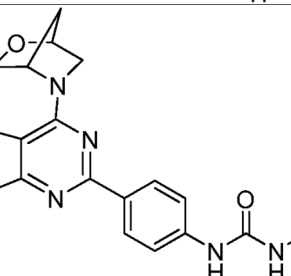


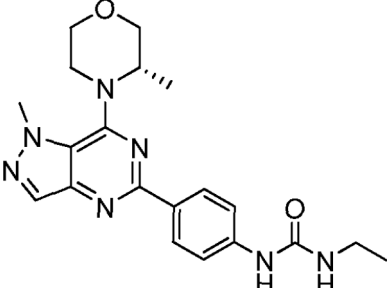
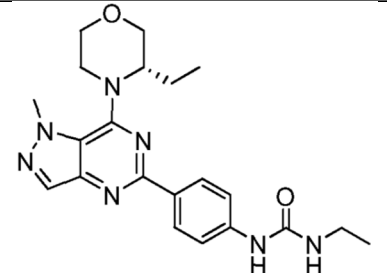
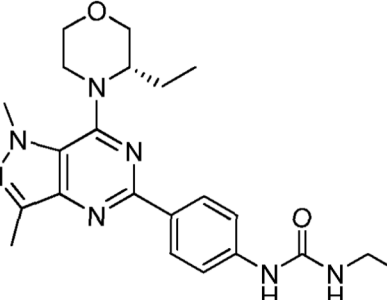
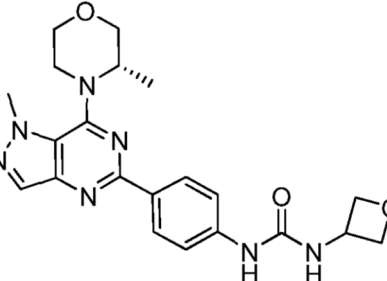
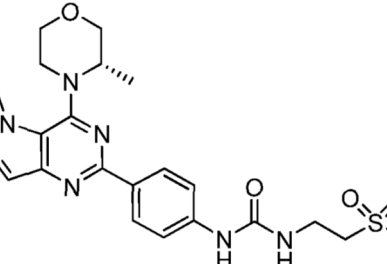
- 5 En otra realización, en compuestos de fórmula I, D y un sustituyente R^A unido a un átomo que es contiguo al átomo al que se encuentra unido D se combinan opcionalmente, formando un anillo heterocíclico o heteroarilo sustituido opcionalmente de 5 a 6 elementos sustituido con 0 a 4 sustituyentes R^D . En determinados aspectos de la presente realización, el anillo heterocíclico o heteroarilo de 5 a 6 elementos se selecciona de entre el grupo que consiste de imidazolidinona, pirazol, imidazol, pirrolidinona y pirimidina sustituidos opcionalmente.
- 10 En determinados aspectos de la presente realización, R^1 se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, metilo, etilo, propilo, isopropilo, 2-hidroxi-2-propilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, isobutilo, pentilo, dimetilaminometilo y hexilo.
- 15 En determinados aspectos de la presente realización, R^2 se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, metilo, etilo, propilo, isopropilo, ciclopropilmetilo y metoxietilo, en particular R^2 es metilo o etilo.

En otra realización, los compuestos de fórmula I se seleccionan de la Tabla 1.

Tabla 1

Nº	Estructura	Nombre
101		1-etil-3-(4-(7-metil-6-morfolino-7H-purín-2-il)fenil)urea
102		(S)-1-etil-3-(4-(7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea

103		(R)-1-etil-3-(4-(7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea
104		(S)-1-etil-3-(4-(6-(3-etilmorfolino)-7-metil-7H-purín-2-il)fenil)urea
105		1-etil-3-(4-(7-metil-6-(1,4-oxazepán-4-il)-7H-purín-2-il)fenil)urea
106		(S)-1-etil-3-(4-(7-etil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea
107		(S)-1-(4-(8-butil-7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)-3-etilurea
108		(S)-1-etil-3-(4-(8-(2-hidroxi-propán-2-il)-7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea
109 (de referencia)		1-(4-(7-((1S,4S)-2-oxa-5-azabicyclo[2.2.1]heptán-5-il)-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)-3-etilurea

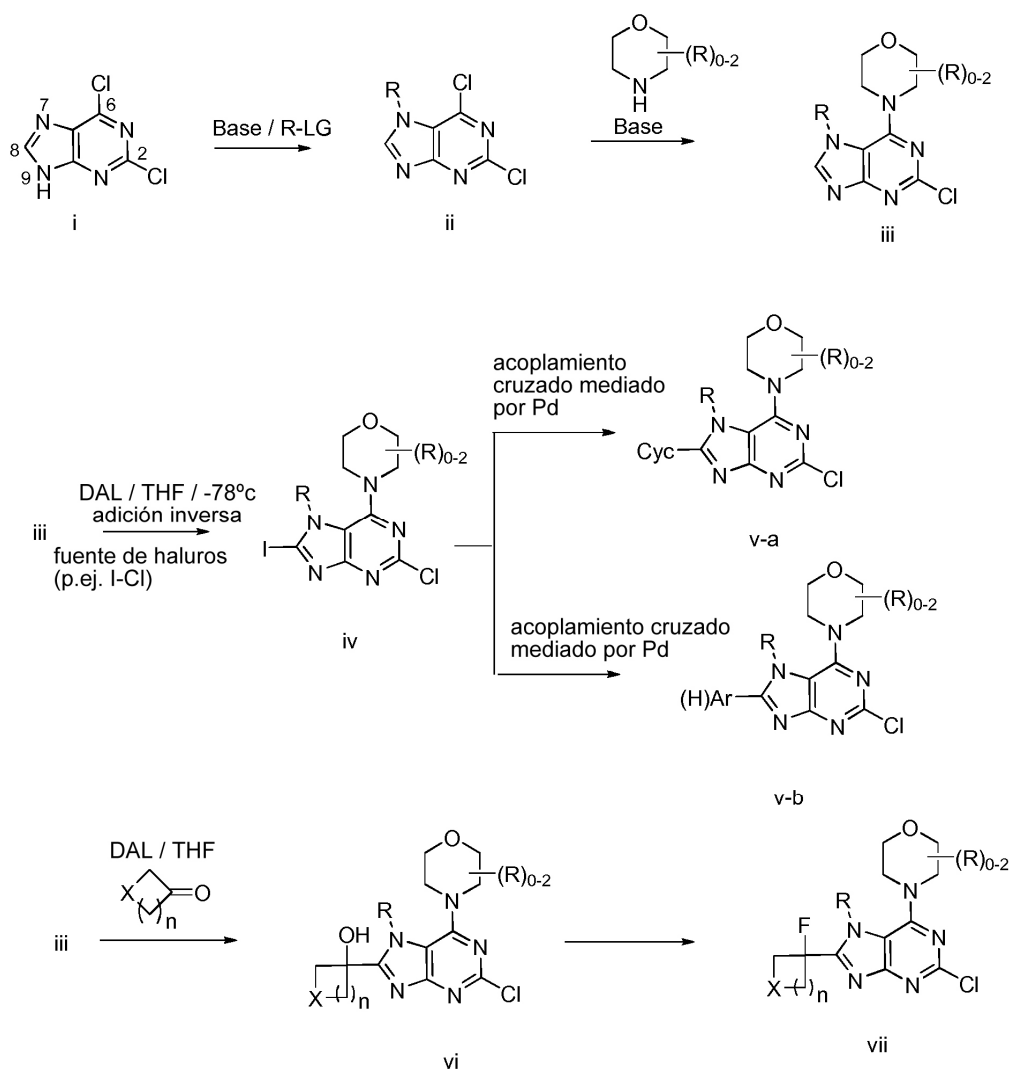
110 (de referencia)		(S)-1-etil-3-(4-(1-metil-7-(3-metilmorfolino)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)urea
111 (de referencia)		(S)-1-etil-3-(4-(7-(3-etilmorfolino)-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)urea
112 (de referencia)		(S)-1-etil-3-(4-(7-(3-etilmorfolino)-1,3-dimetil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)urea
113 (de referencia)		(S)-1-(4-(1-metil-7-(3-metilmorfolino)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)-3-(oxetán-3-il)urea
114 (de referencia)		(S)-1-(4-(1-metil-7-(3-metilmorfolino)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)-3-(2-(metilsulfonyl)etil)urea

I.B. Síntesis de compuestos

- 5 Tal como se muestra en la sección de Ejemplos, posteriormente, existe una diversidad de rutas sintéticas mediante las que un experto en la materia puede preparar compuestos de la presente invención y los intermediarios relacionados que se utilizan para preparar dichos compuestos. Los esquemas posteriores ilustran algunos métodos generales para la preparación de compuestos de la invención y los intermediarios clave. A menos que se indique lo contrario, las abreviaturas utilizadas en los Esquemas, posteriormente, presentan los significados siguientes: R, R', R'', R''' = en cada aparición, alquilo, alquenilo, alquinilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo independientemente no sustituido o sustituido, protegido según resulte necesario para ser un grupo no interferente, GS = grupo saliente (por ejemplo haluro o tosilato), Cic = carbociclo o heterociclo, H(Ar) = anillo arilo o heteroarilo, DAL = diisopropilamida de litio, THF = tetrahidrofurano, X = O, NP, CH₂, CHR, CRR, P = grupo protector (por ejemplo BOC), y n=1 a 6.
- 10

El Esquema 1 ilustra un método sintético general para la síntesis de intermediarios 2-cloropurina útiles para preparar compuestos de fórmula I. La sustitución del átomo de nitrógeno N-7 en la dicloropurina (i), mediante por ejemplo alquilación utilizando R-LG, seguido del desplazamiento del grupo cloro en C-6 con un grupo morfolino u otro grupo amino, produce un compuesto iii con sustitución de amino en C-6. La sustitución en la posición C8 del compuesto iii, mediante, por ejemplo, en primer lugar la halogenación del compuesto iii, rinde el compuesto intermediario iv. El posterior acoplamiento cruzado mediado por paladio (por ejemplo un acoplamiento de Suzuki) del compuesto iv con arilo, heteroarilo, cicloalquilo o boronato de heterocicloalquilo proporciona los intermediarios de producto de sustitución en C-8 (es decir, el compuesto v-a o v-b). Alternativamente, la desprotonación del compuesto iii utilizando una base fuerte seguido de la desactivación del anión resultante con un electrófilo, tal como una cetona cíclica, produce otros intermediarios de producto de sustitución en C-8, por ejemplo el compuesto vi. La conversión del grupo funcional hidroxilo del compuestos vi en un grupo fluoro (tal como en el compuesto vii) puede llevarse a cabo utilizando un reactivo fluorante, tal como trifluoruro de dietilaminoazufre (TDAF).

Esquema I

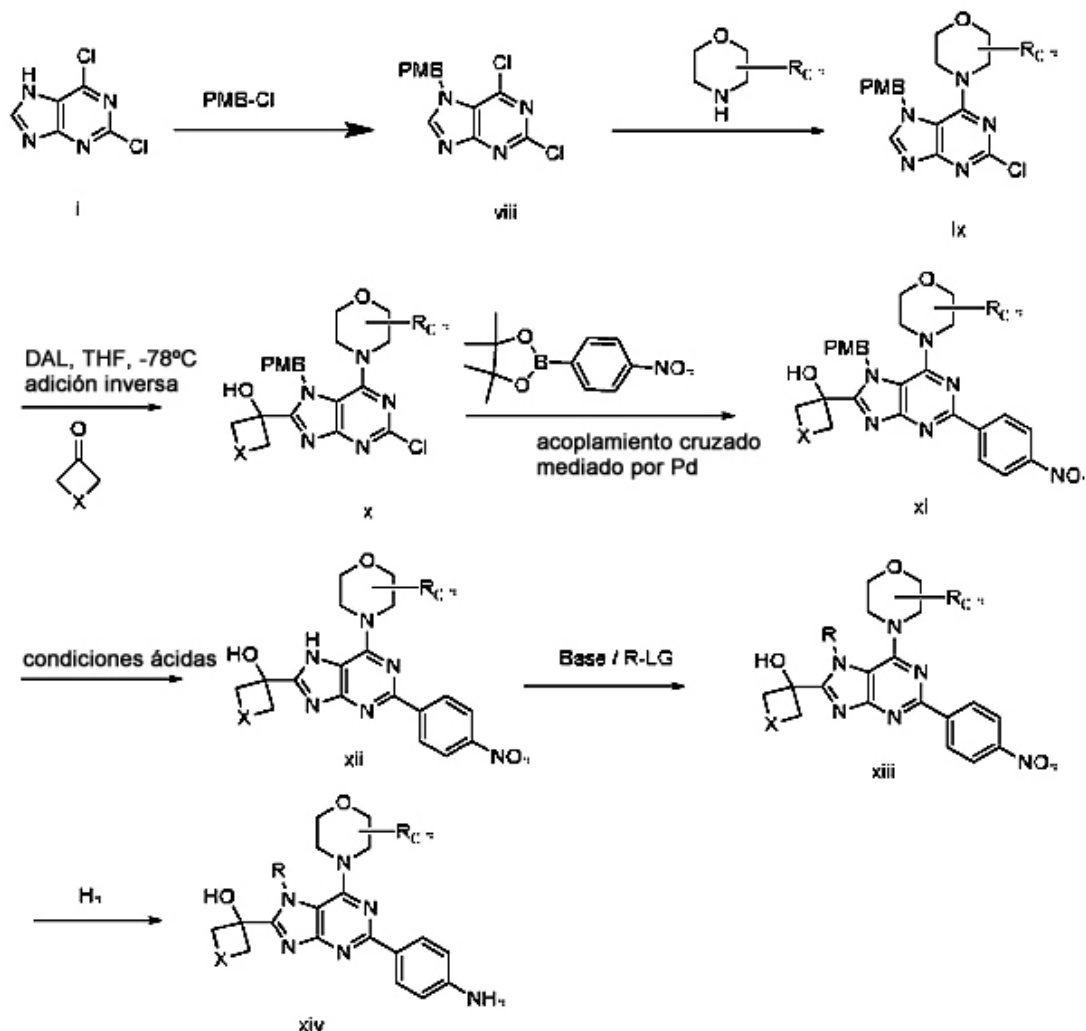


El Esquema 2 ilustra un método de preparación de compuestos intermediarios de la invención en el que el orden de sustitución de la posición N-7 y la posición C-8 de la purina está invertido. En primer lugar el átomo de nitrógeno N-7 de la dicloropurina (i) se protege con un grupo protector para-metoxibencilo (PMB) para formar el compuesto viii. Esta posición N-7 también puede protegerse con otro grupo protector, tal como los que se eliminan bajo condiciones básicas o reductoras, tal como el tosilato. Se describen otros grupos protectores adecuados para proteger la posición N-7 en P.G.M. Wuts y T.W. Greene, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis 4th edition, Wiley-Interscience, New York, 2006. El desplazamiento del grupo cloro C-6 con un grupo morfolino, u otro grupo amino, proporciona un producto ix con sustitución de amino en C-6 (por ejemplo con sustitución de morfolino). La alquilación de la posición C-8 mediante desprotonación del compuesto ix seguido de la desactivación con un electrófilo (por ejemplo una cetona cíclica) proporciona el compuesto x. El acoplamiento cruzado mediado por paladio (por ejemplo el acoplamiento de Suzuki) del compuesto x con un reactivo boronato de arilo proporciona el producto arilado xi. La eliminación del grupo protector de N-7 para-metoxi-bencilo bajo condiciones oxidantes seguido de la sustitución (por

ejemplo la alquilación utilizando R-GS) del producto xii desprotegido en N-7 resultante produce el compuesto xiii. La hidrogenación del grupo nitro en el compuesto xiii proporciona el intermediario amino xiv, que puede prepararse adicionalmente generando otros compuestos de fórmula I mediante métodos descritos en mayor detalle en la sección de Ejemplos de la presente memoria.

5

Esquema 2

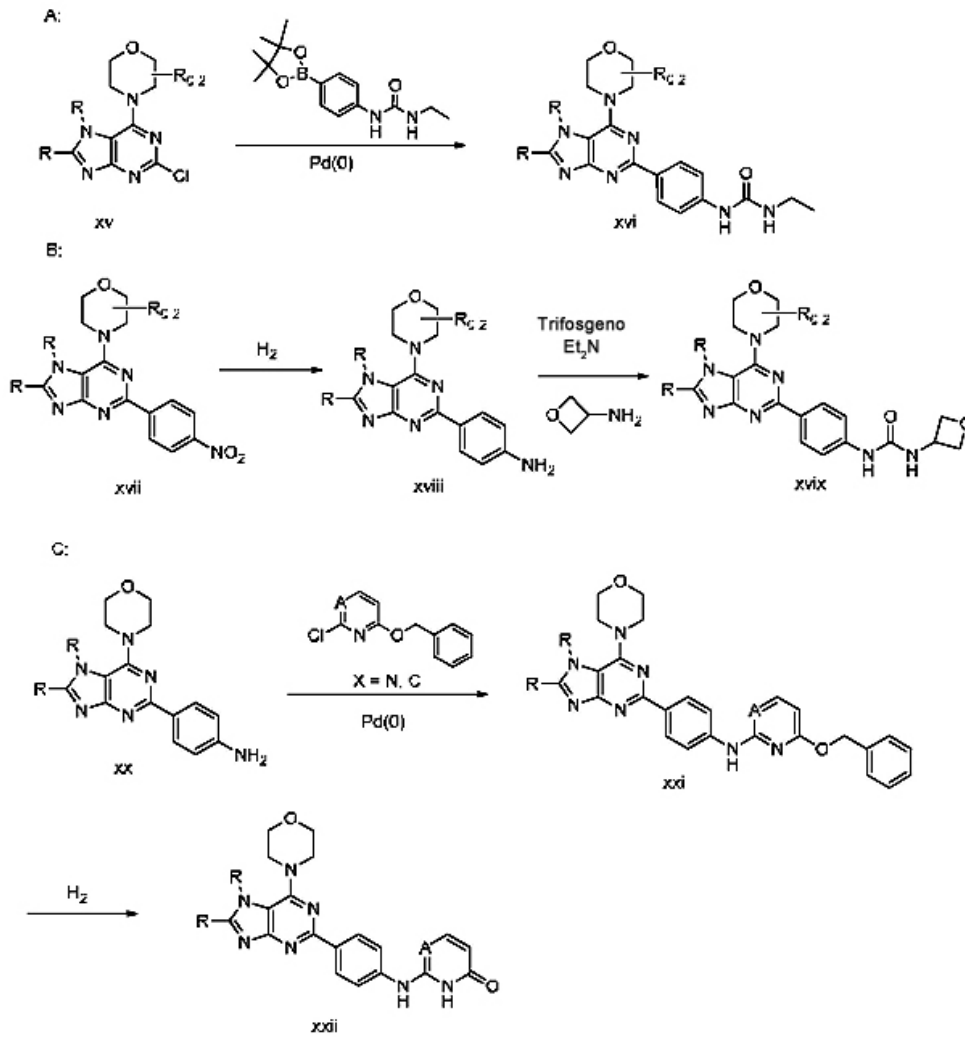


10

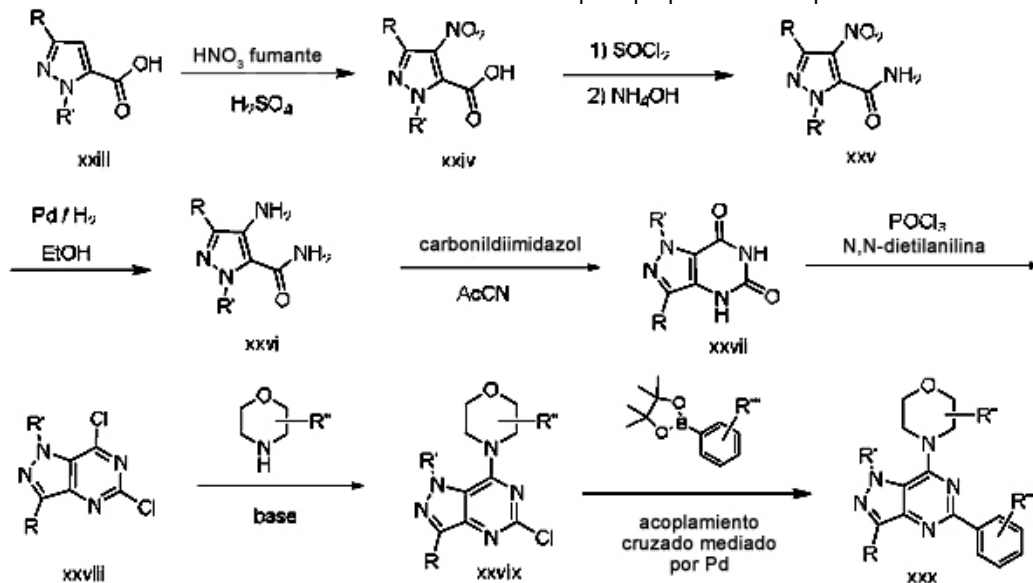
El Esquema 3 ilustra determinados métodos de manipulación de la posición C-2 de los intermediarios purina para proporcionar compuestos de la invención. Tal como se muestra en el Esquema 3-A, la reacción de acoplamiento cruzado con paladio utilizando el compuesto de cloro xv y el compuesto de fenilurea-boronato rinde el compuesto de urea xvi. Tal como se muestra en el Esquema 3-B, la hidrogenación del compuesto xvii seguido de la acilación del compuesto amino xviii con trifosgeno y la reacción del compuesto carbamilo resultante con una amina proporciona un método alternativo de preparación de compuestos de urea de fórmula I con un grupo fenilurea. El Esquema 3-C ilustra la utilización de un reactivo de acoplamiento cruzado de cloruro de arilo en la reacción de acoplamiento cruzado mediada por paladio (acoplamiento de Buchwald-Hartwig) para preparar otros compuestos de fórmula I.

15

Esquema 3



El Esquema 4 ilustra la síntesis general de pirazolo[4,3-d]pirimidinas de fórmula I. En la sección de Ejemplos se proporciona información adicional sobre dicho método sintético para preparar los compuestos xxiii a xxx.



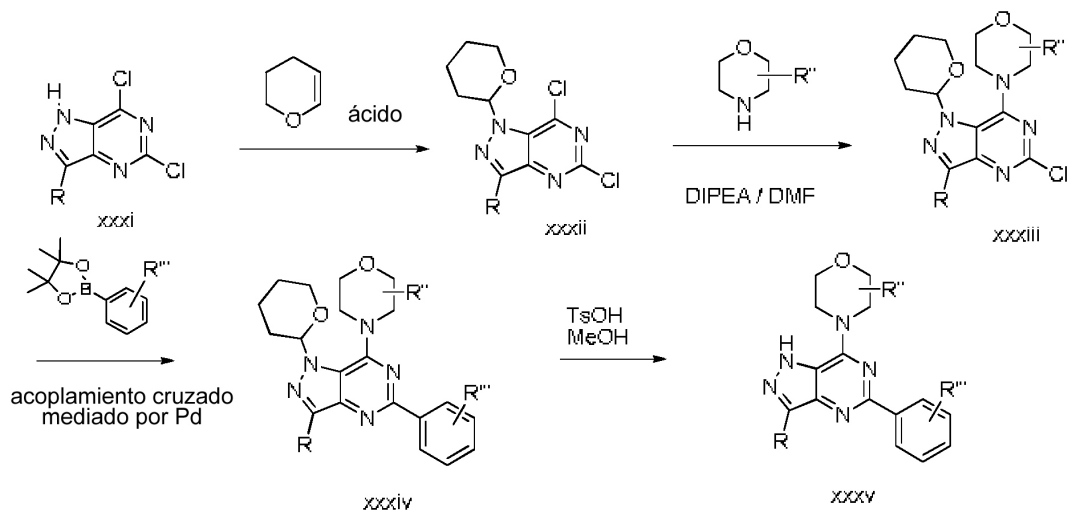
5

El Esquema 5 ilustra un método sintético para preparar compuestos 1H-pirazolo[4,3-d]pirimidinas de fórmula I. La desprotección del átomo de nitrógeno del pirazolo del compuesto xxxi con un grupo tetrahidropiraniilo (THP)

proporciona el compuesto xxxii. La manipulación adicional del compuesto xxxii de una manera similar a la indicada en los esquemas anteriores (por ejemplo la sustitución de morfolina o la reacción de acoplamiento cruzado mediada por paladio) proporciona el compuesto xxxiv. La eliminación del grupo protector THF proporciona el compuesto xxxv, que puede sustituirse adicionalmente en el átomo de nitrógeno de pirazolo, proporcionando el compuesto adicional de fórmula I. Ver el Esquema 6, posteriormente.

5

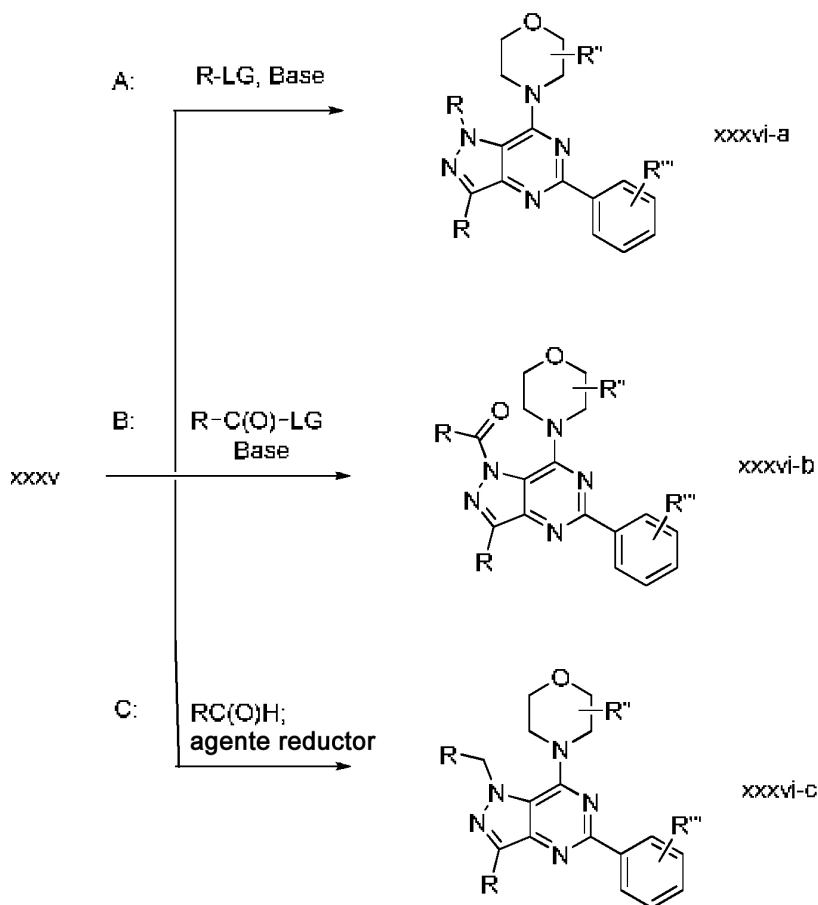
Esquema 5



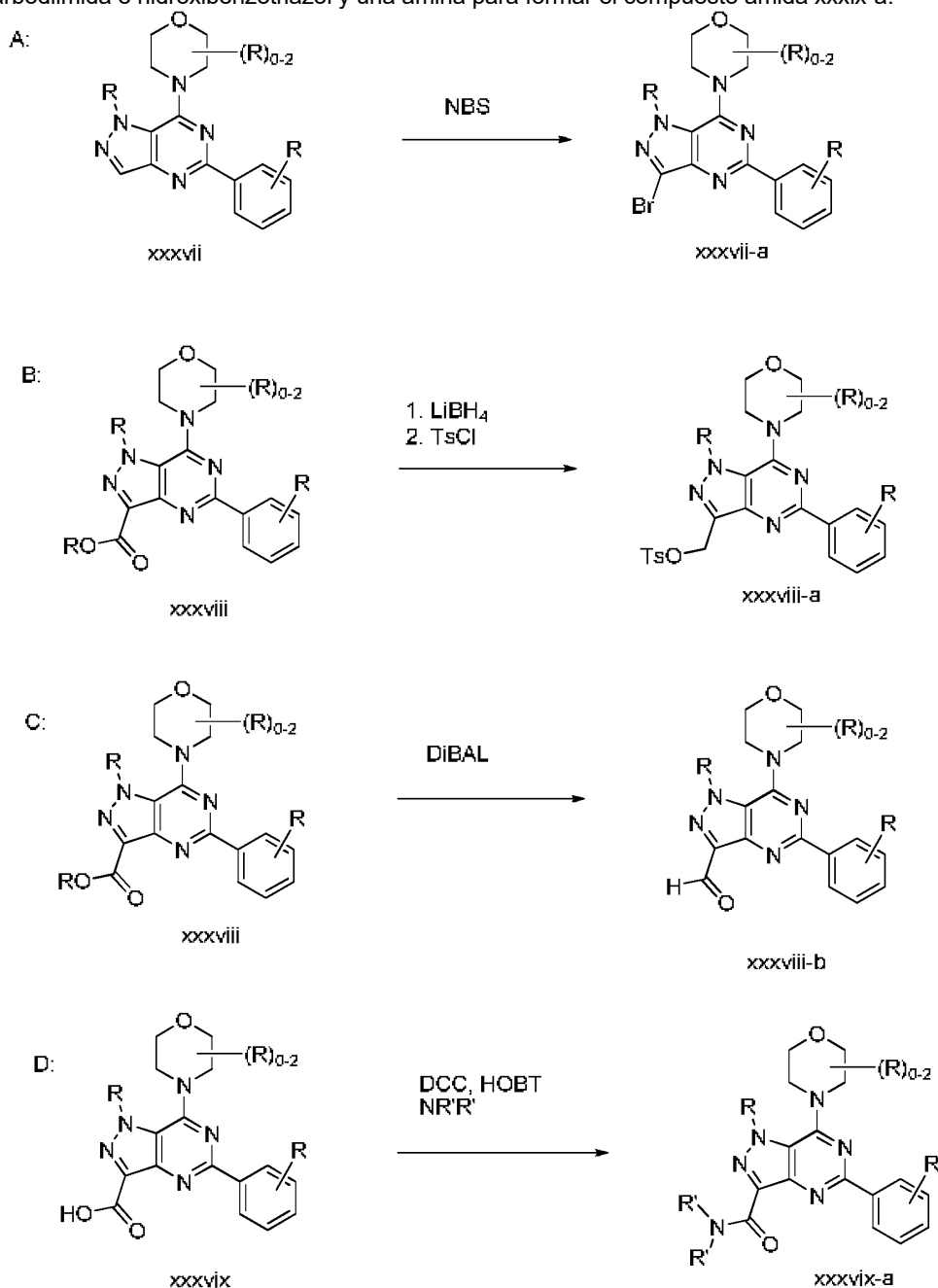
El Esquema 6 ilustra algunos métodos sintéticos generales para la sustitución del átomo de nitrógeno de pirazolo en los compuestos de fórmula I, por ejemplo mediante alquilación (Esquema 6A), acilación (Esquema 6B) y alquilación reductora (Esquema 6C).

10

Esquema 6



5 El Esquema 7 ilustra métodos sintéticos generales para preparar compuestos pirazolo[4,3-d]pirimidina de fórmula I o intermediarios de los mismos que resultan útiles para preparar compuestos de fórmula I. El Esquema 7A ilustra un método de bromación del compuesto xxxvii que utiliza N-bromosuccinimida. El Esquema 7B ilustra la reducción del éster xxxviii utilizando un reactivo hidruro (LiBH₄) seguido de tosilación del producto de reducción para producir el tosilato xxxviii-a. El Esquema 7C ilustra la reducción del éster xxxviii utilizando hidruro de diisobutil-aluminio para producir el aldehído xxxviii-b. El Esquema 7D ilustra la condición de acoplamiento de aminoácido utilizando N,N'-diciclohexilcarbodiimida y hidroxibenzotriazol y una amina para formar el compuesto amida xxxix-a.



10 II. Composiciones farmacéuticas

Además de uno o más de los compuestos proporcionados anteriormente (o estereoisómeros, isómeros geométricos, tautómeros, solvatos, metabolitos o sales farmacéuticamente aceptables o profármacos de los mismos), las composiciones para modular la actividad de mTOR en seres humanos y animales típicamente contienen un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 El término "composición", tal como se utiliza en la presente memoria, pretende comprender un producto que comprende los ingredientes indicados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulta, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes indicados en las cantidades especificadas. La

expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a que el portador, diluyente o excipiente debe ser compatible con los demás ingredientes de la formulación y no resultar perjudicial para el receptor del mismo.

5 Con el fin de utilizar un compuesto de la presente invención para el tratamiento terapéutico (incluyendo el tratamiento profiláctico) de mamíferos, incluyendo seres humanos, se formula normalmente según la práctica farmacéutica estándar en forma de una composición farmacéutica. Según dicho aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención asociado a un diluyente, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 Una formulación típica se prepara mediante la mezcla de un compuesto de la presente invención y un portador, diluyente o excipiente. Los portadores, diluyentes o excipientes adecuados son bien conocidos por el experto en la materia y entre ellos se incluyen materiales tales como carbohidratos, ceras, polímeros solubles en agua y/o hinchables, materiales hidrofílicos o hidrofóbicos, gelatina, aceites, solventes, agua y similares. El portador, diluyente o excipiente particular utilizado dependerá de los medios y propósito para el que se está aplicando el compuesto de la presente invención. Los solventes se seleccionan generalmente basándose en solventes reconocidos por el experto en la materia como seguros (GRAS) para la administración en un mamífero. En general, los solventes seguros son solventes acuosos no tóxicos, tales como agua y otros solventes no tóxicos que son solubles o miscibles en agua. Entre los solventes acuosos adecuados se incluyen agua, etanol, propilenglicol, polietilenglicoles (por ejemplo PEG 400, PEG 300), etc., y mezclas de los mismos. Las formulaciones también pueden incluir uno o más tampones, agentes estabilizadores, surfactantes, agentes humectantes, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservantes, antioxidantes, agentes opacificadores, glidantes, adyuvantes de procesamiento, colorantes, edulcorantes, agentes perfumantes, agentes saborizantes y otros aditivos conocidos, proporcionando una presentación elegante del fármaco (es decir, un compuesto de la presente invención o composición farmacéutica del mismo) o adyuvante en la preparación del producto farmacéutico (es decir, el medicamento).

Las formulaciones pueden prepararse utilizando procedimientos convencionales de disolución y mezcla. Por ejemplo, la sustancia farmacológica en masa (es decir, el compuesto de la presente invención o forma estabilizada del compuesto (por ejemplo un complejo con un derivado de ciclodextrina u otro agente de acomplejamiento conocido) se disuelve en un solvente adecuado en presencia de uno o más excipientes indicados anteriormente. El compuesto de la presente invención típicamente se formula en formas de dosificación farmacéutica para proporcionar un dosis fácilmente controlable del fármaco y para permitir el cumplimiento del paciente del régimen prescrito.

35 La composición (o formulación) farmacéutica para la aplicación puede envasarse de una diversidad de maneras dependiendo del método utilizado para administrar el fármaco. Generalmente, un artículo para la distribución incluye un recipiente en el que se ha depositado la formulación farmacéutica en una forma apropiada. Los recipientes adecuados son bien conocidos por el experto en la materia y entre ellos se incluyen materiales tales como botellas (de plástico y de vidrio), sobres, ampollas, bolsas de plástico, cilindros metálicos y similares. El recipiente puede incluir además un conjunto con precinto de seguridad para evitar un acceso no deseado al contenido del paquete. Además, en el recipiente se ha adherido una etiqueta que describe el contenido del recipiente. La etiqueta puede incluir además las pertinentes advertencias.

45 Las formulaciones farmacéuticas de un compuesto de la presente invención pueden prepararse para diversas vías y tipos de administración. Por ejemplo, un compuesto de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I) que presenta el grado de pureza deseado opcionalmente puede mezclarse con diluyentes, portadores, excipientes o estabilizadores farmacéuticamente aceptables (ver Remington: The Science and Practice of Pharmacy: Remington the Science and Practice of Pharmacy, 2005, 21a edición, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA), en forma de formulación liofilizada, polvos molidos o una solución acuosa. La formulación puede prepararse mediante la mezcla a temperatura ambiente al pH apropiado y en el grado deseado de pureza, con portadores fisiológicamente aceptables, es decir, portadores que no son tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones utilizadas. El pH de la formulación depende principalmente del uso particular y de la concentración de compuesto, pero puede encontrarse comprendida entre aproximadamente 3 y aproximadamente 8. La formulación en un tampón acetato a pH 5 es una realización adecuada.

55 Un compuesto de la presente invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I) para la utilización en la presente memoria preferentemente es estéril. En particular, las formulaciones que deben utilizarse para la administración in vivo deben ser estériles. Dicha esterilización se consigue fácilmente mediante filtración a través de membranas de filtración estériles.

60 El compuesto de la invención habitualmente puede almacenarse en forma de una composición sólida, como formulación liofilizada o como una solución acuosa.

65 Una composición farmacéutica de la invención se formula, se dosifica y se administra de una manera, es decir, en cantidades, concentraciones, programas, curso, vehículos y vía de administración, consistentes con las buenas prácticas médicas. Entre los factores a considerar en el presente contexto se incluyen el trastorno particular bajo

tratamiento, el mamífero particular bajo tratamiento, la condición clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el método de administración, el programa de administración y otros factores conocidos por el profesional médico. La "cantidad terapéuticamente eficaz" del compuesto que debe administrarse estará determinada por dichas consideraciones, y es la cantidad mínima necesaria para prevenir, mejorar o tratar el trastorno mediado por factor de coagulación. Dicha cantidad preferentemente es inferior a la cantidad que resulta tóxica para el huésped o que provoca que el huésped sea significativamente más susceptible a hemorragias.

En términos generales, la cantidad farmacéuticamente eficaz inicial de un compuesto inhibidor de la invención administrado por vía parenteral por cada dosis se encontrará comprendida en el intervalo de entre aproximadamente 0,01 y 100 mg/kg, es decir entre aproximadamente 0,1 y 20 mg/kg de peso corporal del paciente al día, siendo el intervalo inicial típico de compuesto utilizado de entre 0,3 y 15 mg/kg/día.

Los diluyentes, portadores, excipientes o estabilizadores aceptables resultan no tóxicos para el receptor a las dosis y concentraciones utilizadas, e incluyen tampones, tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil-amonio, cloruro de hexametonio, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, fenol, alcohol butílico o bencilico; alquilparabenos, tales como metilparabeno o propilparabeno, catecol, resorcinol, ciclohexanol, 3-pentanol y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (inferior a aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina sérica, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos, tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos, tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina, o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros carbohidratos, incluyendo glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes, tales como EDTA; azúcares, tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales, tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo complejos de Zn-proteína) y/o surfactantes no iónicos, tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG). Un ingrediente farmacéutico activo de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I) también pueden encapsularse en microcápsulas preparadas mediante, por ejemplo, técnicas de coacervado o mediante polimerización interracial, por ejemplo hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina y microcápsulas de poli(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas de administración de fármaco coloidal (por ejemplo liposomas, microesferas de albumina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichos compuestos se dan a conocer en Remington: The Science and Practice of Pharmacy: Remington the Science and Practice of Pharmacy, 2005, 21a edición, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

Pueden prepararse preparaciones de liberación sostenida de un compuesto de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I). Entre los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida se incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrofóbicos sólidos que contienen un compuesto de fórmula I, encontrándose las matrices en forma de artículo conformados, por ejemplo películas o microcápsulas. Entre los ejemplos de matrices de liberación sostenida se incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo poli(2-hidroxietilmetacrilato), o poli(alcohol vinílico), poliláctidos (patente US nº 3.773.919), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato, etileno-acetato de vinilo no degradable, copolímeros degradables de ácido láctico-ácido glicólico tales como LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolido) y ácido poli-D-(-)-3-hidroxi-butírico.

Entre las formulaciones se incluyen aquellas adecuadas para las vías de administración detalladas en la presente memoria. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosis unitaria y pueden prepararse mediante cualesquiera métodos bien conocidos de la técnica farmacéutica. Las técnicas y las formulaciones se describen de manera general en Remington: The Science and Practice of Pharmacy: Remington the Science and Practice of Pharmacy, 2005, 21a edición, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. Entre dichos métodos se incluye la etapa de asociar el ingrediente activo al portador que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el ingrediente activo con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y después, en caso necesario, conformando el producto.

Las formulaciones de un compuesto de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I) adecuadas para la administración oral pueden prepararse en forma de unidades discretas, tales como píldoras, cápsulas, obleas o tabletas, conteniendo cada una, una cantidad predeterminada de un compuesto de la invención.

Pueden prepararse tabletas comprimidas comprimiendo en una máquina adecuada el ingrediente activo en una forma de flujo libre, tal como polvos o gránulos, mezclados opcionalmente con un agente ligante, lubricante, diluyente inerte, conservante, activo en superficie o dispersante. Pueden prepararse tabletas moldeadas mediante el moldeo en un aparato adecuado de una mezcla del ingrediente activo en polvo humectado con un diluyente líquido inerte. Las tabletas pueden recubrirse o ranurarse opcionalmente y se formulan opcionalmente de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo a partir de las mismas.

Pueden prepararse para la utilización oral tabletas, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas o aceitosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, por ejemplo cápsulas de gelatina, jarabes o elixires. Pueden prepararse formulaciones de un compuesto de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I) destinadas a la utilización oral según cualquier método conocido de la técnica para la preparación de composiciones

farmacéuticas y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes, incluyendo agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes, con el fin de proporcionar una preparación comestible. Las tabletas que contienen el ingrediente activo mezclado con excipiente farmacéuticamente aceptable no tóxico que resultan adecuadas para la preparación de tabletas resultan aceptables. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio o sodio, lactosa, fosfato de calcio o sodio; agentes de granulación y desintegrantes, tales como almidón de maíz o ácido algínico; agentes ligantes, tales como almidón, gelatina o acacia, y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las tabletas pueden ser no recubiertas o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas, incluyendo el microencapsulado para retardar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionan de esta manera una acción sostenida durante un periodo más prolongado. Por ejemplo, puede utilizarse un material de retardo temporal, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

Para el tratamiento del ojo o de otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las formulaciones preferentemente se aplican en forma de una pomada tópica o crema que contiene el ingrediente o ingredientes activos en una cantidad de, por ejemplo, 0,075% a 20% p/p. En el caso de que se formule en una pomada, el ingrediente activo puede utilizarse con una base de pomada parafínica o miscible en agua. Alternativamente, los ingredientes activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite-en-agua.

Si se desea, la fase acuosa de la crema base puede incluir un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol con dos o más grupos hidroxilo, tal como propilenglicol, butano-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG 400) y mezclas de los mismos. Entre las formulaciones tópicas puede incluirse deseablemente un compuesto que incrementa la absorción o la penetración del ingrediente activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Entre los ejemplos de dichos intensificadores de penetración dérmica se incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

La fase aceitosa de las emulsiones de la presente invención puede constituirse a partir de ingredientes conocidos de una manera conocida. Aunque la fase puede comprender meramente un emulsionante, deseablemente comprende una mezcla de por lo menos un emulsionante con una grasa o aceite, o con tanto una grasa como un aceite. Preferentemente se incluye un emulsionante hidrofílico con un emulsionante lipofílico que actúa como estabilizador. También resulta preferente incluir tanto un aceite como una grasa. Conjuntamente, el emulsionante o emulsionantes con o sin uno o más estabilizadores constituyen la denominada cera emulsionante, y la cera conjuntamente con el aceite y la grasa constituyen la denominada base de pomada emulsionante, que forma la fase dispersa aceitosa de las formulaciones de crema. Entre los emulsionantes y estabilizadores de emulsión adecuados para la utilización en la formulación de la invención se incluyen Tween® 60, Span® 80, alcohol cetosteárico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y laurilsulfato sódico.

Las suspensiones acuosas de compuestos de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I) contienen los materiales activos mezclados con excipientes adecuados para la preparación de suspensiones acuosas. Entre dichos excipientes se incluyen un agente de suspensión, tal como carboximetilcelulosa sódica, croscarmelosa, povidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia, y agentes dispersantes o humectantes, tal como un fosfátido natural (por ejemplo lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquileo con un ácido graso (por ejemplo estearato de polioxi-etileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo heptadecaetilen-oxicetanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhidrido de hexitol (por ejemplo monooleato de polioxi-etilén-sorbitán). La suspensión acuosa puede contener además uno o más conservantes, tales como p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

Una composición farmacéutica de un compuesto de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I) puede encontrarse en forma de una preparación inyectable estéril, tal como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Dicha suspensión puede formularse según la técnica conocida, utilizando los agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión que se han indicado anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente parenteralmente aceptable no tóxico, tal como una solución en 1,3-butanodiol o prepararse en forma de unos polvos liofilizados. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden utilizarse se encuentran el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro sódico. Además, pueden utilizarse convencionalmente aceites fijos estériles como solvente o medio de suspensión. Con este fin puede utilizarse cualquier aceite fijo suave, incluyendo mono- o di-glicéridos sintéticos. Además, de manera similar pueden utilizarse ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de inyectables.

La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un material portador para producir una forma de administración individual variará según el huésped bajo tratamiento y el modo de administración particular. Por ejemplo, una formulación de liberación retardada destinada a la administración oral en el ser humano puede contener aproximadamente 1 a 1.000 mg de material activo en un compuesto con una cantidad apropiada y conveniente de material portador que puede variar entre aproximadamente 5% y aproximadamente 95% de las composiciones totales (peso:peso). La composición farmacéutica puede prepararse para proporcionar cantidades fácilmente medibles para la administración. Por ejemplo, una solución acuosa destinada a la infusión intravenosa

puede contener entre aproximadamente 3 y 500 µg de ingrediente activo por cada mililitro de solución con el fin de que pueda producirse la infusión de un volumen adecuado a un caudal de aproximadamente 30 ml/h.

5 Entre las formulaciones adecuadas para la administración parenteral se incluyen soluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos y solutos que convierten la formulación en isotónica con la sangre del receptor pretendido, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes.

10 Entre las formulaciones adecuadas para la administración tópica en el ojo se incluyen además gotas oftalmológicas en las que se disuelve o se suspende el ingrediente activo en un portador adecuado, especialmente un solvente acuoso para el ingrediente activo. El ingrediente activo preferentemente se encuentra presente en dichas formulaciones a una concentración de entre aproximadamente 0,5% y 20% p/p, por ejemplo de entre aproximadamente 0,5% y 10% p/p, por ejemplo de aproximadamente 1,5% p/p.

15 Entre las formulaciones adecuadas para la administración tópica en la boca se incluyen pastillas que comprenden el agente activo en una base saborizada, habitualmente sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia, y lavados bucales que comprenden el ingrediente activo en un portador líquido adecuado. Las formulaciones para la administración rectal pueden presentarse en forma de supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.

20 Las formulaciones adecuadas para la administración intrapulmonar o nasal presentan un tamaño de partícula comprendido en el intervalo de, por ejemplo, 0,1 a 500 micrómetros (incluyendo tamaños de partícula en el intervalo de 0,1 a 500 micrómetros en incrementos de micrómetros tales como 0,5, 1, 30 micrómetros, 35 micrómetros, etc.), que se administran mediante inhalación rápida por el conducto nasal o mediante inhalación por la boca de manera que alcance los sacos alveolares. Entre las formulaciones adecuadas se incluyen soluciones acuosas o aceitosas del ingrediente activo. Pueden prepararse formulaciones adecuadas para la administración de aerosol o polvos secos según métodos convencionales y pueden administrarse con otros agentes terapéuticos, tales como los compuestos utilizados anteriormente en la presente memoria, en el tratamiento o profilaxis de los trastornos

25 indicados posteriormente.

30 Las formulaciones adecuadas para la administración vaginal pueden presentarse en forma de pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o sprays que contengan además del ingrediente activo, portadores que es conocido de la técnica que resultan apropiados.

35 Las formulaciones pueden empaquetarse en recipientes unidos o multidosis, por ejemplo ampollas y viales selladas, y pueden almacenarse en condición seca mediante congelación (lío-filizada) que requiera únicamente la adición del portador líquido estéril, por ejemplo agua, para la inyección inmediatamente antes de la utilización. Se preparan soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles del tipo anteriormente indicado. Las formulaciones de dosis unitaria preferentes son las que contienen una dosis diaria o subdosis diaria unitaria, tal como se ha indicado anteriormente en la presente memoria, o una fracción apropiada de las mismas, del ingrediente activo. La invención proporciona además composiciones veterinarias que comprenden por lo menos un ingrediente activo (por ejemplo un compuesto de fórmula I) tal como se ha definido anteriormente, conjuntamente con un portador veterinario para el mismo. Los portadores veterinarios son materiales

40 útiles para el propósito de administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que de otra manera son inertes o aceptables en la técnica veterinaria y que son compatibles con el ingrediente activo. Dichas composiciones veterinarias pueden administrarse por vía parenteral, oral o por cualquier otra vía deseada.

50 III. Métodos

En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I), o un estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable, profármaco del mismo, que inhibe la actividad de la mTOR quinasa. En una realización, un compuesto de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I), o un estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable, profármaco del mismo, que inhibe la actividad de mTORC1 y mTORC2. En otra realización, un compuesto de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I), o un estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable, profármaco del mismo, que inhibe la actividad de mTORC1. En otra realización, un compuesto de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I), o un estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable, profármaco del mismo, que inhibe la actividad de mTORC2. En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es 1x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x, 9x, 10x, 11x, 12x, 13x, 14x, 15x, 16x, 17x, 18x, 19x, 20x, 25x, 30x, 40x, 50x, 60x, 70x, 80x, 90x, 100x, 200x, 300x, 400x, 500x, 600x, 700x, 800x, 900x o 1000x más selectivo en la inhibición de la actividad de mTORC1 que de mTORC2. En determinadas otras realizaciones, un compuesto de fórmula I es 11x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x, 9x, 10x, 11x, 12x, 13x, 14x, 15x, 16x, 17x, 18x, 19x, 20x, 25x, 30x, 40x, 50x, 60x, 70x, 80x, 90x, 100x, 200x, 300x, 400x, 500x, 600x, 700x, 800x, 900x o 1000x más selectivo en la inhibición de la actividad de mTORC2 que de mTORC1. En una realización determinada, los compuestos de la

invencción son más selectivos en la inhibición de la actividad de mTORC1 y/o mTORC2 que de las lípido quinasas PI3 relacionadas. En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es 1x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x, 9x, 10x, 11x, 12x, 13x, 14x, 15x, 16x, 17x, 18x, 19x, 20x, 25x, 30x, 40x, 50x, 60x, 70x, 80x, 90x, 100x, 200x, 300x, 400x, 500x, 600x, 700x, 800x, 900x o 1000x más selectivo en la inhibición de la actividad de la mTOR quinasa (por ejemplo mTORC1 y mTORC2) que de una lípido quinasa PI3K. En un aspecto, los compuestos de la invencción demuestran una selectividad inesperadamente superior para la inhibición de la mTOR quinasa respecto a las lípido quinasas PI3 relacionadas, por ejemplo PI3K-alfa. Por ejemplo, un compuesto purina sustituido en N-7, la (S)-1-etil-3-(4-(7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea, es 357x más selectivo para la mTOR quinasa que para una PI3 quinasa relacionada (PI3K-alfa); el compuesto pirazolo-pirimidina sustituido en N-1, la (S)-1-etil-3-(4-(1-metil-7-(3-metilmorfolino)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)urea es 1.250x más selectivo para la mTOR quinasa que para la PI3 quinasa relacionada (PI3K-alfa), mientras que el compuesto isomérico (S)-1-etil-3-(4-(9-metil-6-(3-metilmorfolino)-9H-purín-2-il)fenil)urea es 29x más selectivo para la mTOR quinasa que para una PI3 quinasa relacionada (PI3K-alfa). El compuesto purina con sustitución en N-7, la (S)-1-etil-3-(4-(7-etil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea es 250x más selectivo para la mTOR quinasa que para una PI3 quinasa relacionada (PI3K-alfa), mientras que el compuesto isomérico (S)-1-etil-3-(4-(9-etil-6-(3-metilmorfolino)-9H-purín-2-il)fenil)urea es 45x más selectivo para la mTOR quinasa que para una PI3 quinasa relacionada (PI3K-alfa).

En cada una de las realizaciones anteriormente indicadas, en un aspecto particular se formula un compuesto de la invencción (por ejemplo un compuesto de fórmula I) o un estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable, o profármaco del mismo, en forma de composición farmacéutica.

La presente invencción proporciona además un método de inhibición de la actividad de la mTOR quinasa en una célula, que comprende la puesta en contacto de dicha célula con una cantidad eficaz de un compuesto activo de la invencción (por ejemplo un compuesto de fórmula I), o un estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable o profármaco de los mismos. La presente invencción proporciona además un método de inhibición de la proliferación celular que comprende poner en contacto la célula con un compuesto de fórmula I o un subgénero del mismo. Dichos métodos pueden ponerse en práctica in vitro o in vivo.

Un compuesto de la presente invencción, o estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable, o profármaco del mismo, resulta útil para tratar enfermedades, condiciones y/o trastornos entre los que se incluyen, aunque sin limitación, los caracterizados por la sobreexpresión de las quinasas PIKK, por ejemplo la mTOR quinasa. En una realización, el método comprende administrar en un mamífero que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invencción (por ejemplo un compuesto de fórmula I), o un estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable o profármaco de los mismos. En la realización anteriormente proporcionada, en un aspecto particular, se formula un compuesto de la invencción (por ejemplo un compuesto de fórmula I) o un estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable, o profármaco del mismo, en forma de composición farmacéutica.

Los compuestos de la invencción pueden administrarse mediante cualquier vía apropiada a la condición que debe tratarse. Entre las vías adecuadas se incluyen la oral, parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intradérmica, intratecal y epidural), transdérmica, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal. Para el tratamiento inmunosupresor local, los compuestos pueden administrarse mediante la administración intralesional, incluyendo la perfusión o, de otra manera, mediante el contacto del injerto con el inhibidor antes del trasplante. Se apreciará que la vía preferente puede variar con, por ejemplo, la condición del receptor. En el caso de que el compuesto se administre por vía oral, puede formularse en forma de píldora, cápsula, tableta, etc., con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. En el caso de que el compuesto se administre por vía parenteral, puede formularse con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable y en una forma inyectable de dosificación unitaria, tal como se detalla posteriormente.

Una dosis para tratar un mamífero (por ejemplo un ser humano) puede encontrarse comprendida entre aproximadamente 10 mg y aproximadamente 1.000 mg de compuesto de fórmula I. Una dosis típica puede ser de entre aproximadamente 100 mg y aproximadamente 300 mg del compuesto. Puede administrarse una dosis una vez al día (QID), dos veces al día (BID), o más frecuentemente, según las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas, incluyendo la absorción, la distribución, el metabolismo y la excreción del compuesto particular. Además, pueden influir factores de toxicidad sobre la dosificación y el régimen de administración. En el caso de que se administre por vía oral, la píldora, cápsula o tableta puede ingerirse diariamente o con menor frecuencia durante un período de tiempo especificado. El régimen puede repetirse durante varios ciclos de terapia.

Entre las enfermedades y condiciones tratables según los métodos de la presente invencción se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, cáncer, ictus, diabetes, hepatomegalia, enfermedad cardiovascular, enfermedad de Alzheimer, fibrosis quística, enfermedad vírica, enfermedades autoinmunitarias, aterosclerosis, restenosis, soriasis, trastornos alérgicos, inflamación, trastornos neurológicos, una enfermedad de tipo hormonal, condiciones asociadas al trasplante de órganos, trastornos de inmunodeficiencia, trastornos óseos destructivos, trastornos proliferativos, enfermedades infecciosas, condiciones asociadas a muerte celular, agregación plaquetaria inducida por trombina, leucemia mielógena crónica (LMC), enfermedad hepática, síndrome de Peutz-Jegher, esclerosis tuberosa,

condiciones inmunológicas patológicas que implican la activación de las células T, trastornos del SNC en un paciente, y el envejecimiento. En una realización, se trata un paciente humano con un compuesto de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I) y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicho compuesto de la invención se encuentra presente en una cantidad para inhibir detectablemente la actividad de la mTOR quinasa.

Entre los cánceres que pueden tratarse según los métodos de la presente invención se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, el cáncer de mama, ovario, cérvix, próstata, testículo, tracto genitourinario, esófago, laringe, glioblastoma, neuroblastoma, estómago, piel, queratoacantoma, pulmón, carcinoma epidermoide, carcinoma de células grandes, carcinoma pulmonar de células no pequeñas (CPCNP), carcinoma de células pequeñas, adenocarcinoma pulmonar, cáncer de hueso, colon, adenoma, páncreas, adenocarcinoma, tiroides, carcinoma folicular, carcinoma no diferenciado, carcinoma papilar, seminoma, melanoma, sarcoma, carcinoma de vejiga, carcinoma hepático y conductos biliares, carcinoma de riñón, trastornos mieloides, trastornos linfoides, células pilosas, cavidad bucal y faringe (oral), labio, lengua, boca, faringe, intestino delgado, colon-recto, intestino grueso, recto, cerebro y sistema nervioso central, de Hodgkin y leucemia. En determinadas realizaciones, los compuestos de la invención resultan útiles en el tratamiento de un cáncer seleccionado de entre el grupo que consiste de cáncer de mama, CPCNP, carcinoma de células pequeñas, carcinoma hepático, trastornos linfoides, sarcoma, de colon-recto, de recto y leucemia.

Entre las enfermedades cardiovasculares que pueden tratarse según los métodos de la presente invención se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, restenosis, cardiomegalia, aterosclerosis, infarto de miocardio e insuficiencia cardíaca congestiva.

Entre las enfermedades neurodegenerativas que pueden tratarse según los métodos de la presente invención se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Huntington y la isquemia cerebral, y las enfermedades neurodegenerativas causadas por daños traumáticos, la neurotoxicidad por glutamato y la hipoxia.

Entre las enfermedades inflamatorias que pueden tratarse según los métodos de la presente invención se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, la artritis reumatoide, la soriasis, la dermatitis por contacto y las reacciones de hipersensibilidad retardada.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un compuesto de la invención, o estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable, o profármaco del mismo, en el tratamiento de las enfermedades o condiciones indicadas en la presente memoria en un mamífero, por ejemplo, en un ser humano, que sufre dicha enfermedad o condición. Se proporciona además la utilización de un compuesto de la presente invención, o estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable, o profármaco del mismo, en la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de las enfermedades y condiciones indicadas en la presente memoria en un mamífero, por ejemplo, en un ser humano, que sufre dicho trastorno.

En una realización, se utiliza un compuesto de la invención (por ejemplo un compuesto de fórmula I), o un estereoisómero, isómero geométrico, tautómero, solvato, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable, o profármaco del mismo, como agente anticáncer o como agente complementario para el tratamiento del cáncer en una terapia de combinación. El experto ordinario en la materia podrá determinar fácilmente si un compuesto candidato trata o no una condición cancerosa de algún tipo celular particular, sea solo o en combinación. En determinados aspectos de la presente realización, se utilizan los compuestos de la invención conjuntamente con otras terapias, incluyendo la cirugía convencional, la radioterapia y la quimioterapia, en el tratamiento del cáncer. Dicha quimioterapia puede incluir, aunque sin limitarse a ellos, uno o más agentes quimioterapéuticos indicados en la presente memoria.

La terapia de combinación puede administrarse como régimen simultáneo o secuencial. En caso de administrarse secuencialmente, la combinación puede administrarse en dos o más administraciones. La administración combinada incluye la coadministración, utilizando formulaciones separadas o una única formulación farmacéutica, y la administración consecutiva en cualquier orden, en la que preferentemente se deja un periodo de tiempo durante el que ambos (o todos) los agentes activos ejercen simultáneamente sus actividades biológicas.

Las dosis adecuadas para cualquiera de los agentes anteriormente coadministrados son las actualmente utilizadas y pueden reducirse gracias a la acción combinada (sinergia) del agente nuevamente identificado y otros agentes o tratamientos quimioterapéuticos.

La terapia de combinación puede proporcionar "sinergia" y demostrar ser "sinérgico", es decir, el efecto alcanzado al utilizar los ingredientes activos juntos es mayor que la suma de los efectos que resultan de utilizar los compuestos por separado. Puede conseguirse un efecto sinérgico en el caso de que los ingredientes activos: (1) se coformulen y administren simultáneamente en una formulación de dosificación unitaria combinada, (2) se administren mediante alternado o en paralelo como formulaciones separadas, o (3) mediante algún otro régimen. En el caso de que se

5 administren en terapia alternada, puede conseguirse un efecto sinérgico al administrar los compuestos secuencialmente, por ejemplo mediante inyecciones diferentes en jeringas separadas, píldoras o cápsulas separadas, o infusiones separadas. En general, durante la terapia alternada, se administra una dosis eficaz de cada ingrediente activo secuencialmente, es decir, en serie, mientras que en la terapia de combinación, se administran juntas dosis eficaces de dos o más ingredientes activos.

EJEMPLOS

10 Los presentes ejemplos no pretenden limitar el alcance de la presente invención sino, por el contrario, proporcionar una guía para el experto en la materia de preparación y utilización de los compuestos, composiciones y métodos de la presente invención. Aunque se describen realizaciones particulares de la presente invención, el experto en la materia apreciará que pueden llevarse a cabo diversos cambios y modificaciones sin apartarse del espíritu y alcance de la invención.

15 Las reacciones químicas en los Ejemplos descritos pueden adaptarse fácilmente para preparar algunos otros inhibidores de mTOR de la invención, y se considera que algunos métodos alternativos para preparar los compuestos de la presente invención se encuentran comprendidos dentro del alcance de la presente invención. Por ejemplo, la síntesis de los compuestos no ejemplificados según la invención pueden llevarse a cabo con éxito mediante modificaciones evidentes para el experto en la materia, por ejemplo protegiendo apropiadamente los grupos interfirientes, mediante la utilización de otros reactivos conocidos de la técnica diferentes de los indicados, y/o realizando modificaciones rutinarias de las condiciones de reacción. Alternativamente otras reacciones dadas a conocer en la presente memoria o conocidas de la técnica se reconocerán como aplicables para preparar otros compuestos de la invención.

25 De acuerdo con lo anterior, los ejemplos siguientes se proporcionan a título ilustrativo, aunque no limitativo, de la invención. En los Ejemplos descritos posteriormente, a menos que se indique lo contrario, todas las temperaturas se indican en grados centígrados. Se obtuvieron los reactivos disponibles comercialmente de proveedores tales como Aldrich Chemical Company, Lancaster, TCI o Maybridge, y se utilizaron sin purificación adicional, a menos que se indique lo contrario. Las reacciones indicadas posteriormente se llevaron a cabo generalmente bajo una presión positiva de nitrógeno o argón o con un tubo de secado (a menos que se indique lo contrario) en solventes anhidros, y los matraces de reacción típicamente se dotaron de septos de goma para la introducción de los sustratos y los reactivos mediante jeringa. El material de vidrio se secó en un horno y/o térmicamente. La cromatografía de columna se llevó a cabo en un sistema Biotage (fabricante: Dyax Corporation) con una columna de gel de sílice o en un cartucho de sílice SEP PAK® (Waters), o alternativamente, se llevó a cabo la cromatografía de columna utilizando un sistema cromatográfico ISCO (fabricante: Teledyne ISCO) con una columna de gel de sílice. Los espectros de RMN-¹H se registraron en un instrumento Varian que operaba a 400 MHz. Los espectros de RMN-¹H se obtuvieron en soluciones de CDCl₃ deuterado, d₆-DMSO, CH₃OD o d₆-acetona (expresados en ppm) utilizando cloroformo como el estándar de referencia (7,25 ppm). Al informar de multiplicidades de pico, se utilizaron las abreviaturas siguientes: s (singulete), d (doblete), t (triplete), m (multiplete), br (ancho), dd (doblete de dobletes), dt (doblete de tripletes). Las constantes de acoplamiento, en donde se indican, se expresan en hercios (Hz).

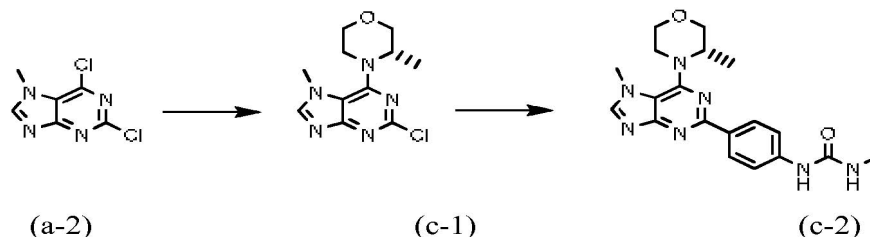
45 En caso posible, se llevó a cabo un seguimiento del producto formado en las mezclas de reacción, mediante CL/EM, experimentos de cromatografía líquida de alto rendimiento - espectrometría de masas (CL-EM) para determinar los tiempos de retención (T_R) y masas iónicas asociadas utilizando alguno de los métodos siguientes: método A: se llevaron a cabo los experimentos en un espectrómetro de masas cuadrupolo PE Sciex API 150 EX acoplado a un sistema de CL Shimadzu LC-10AD con detector de matriz de diodos y automuestreador de 225 posiciones utilizando una columna Kromasil C18 de 50x4,6 mm y un caudal de 3 ml/minuto. El sistema de solventes eran un gradiente que partía de 100% agua con 0,05% de TFA (solvente A) y 0% de acetonitrilo con 0,0375% de TFA (solvente B), incrementándose gradualmente hasta 10% de solvente A y 90% de solvente B en 4 minutos. Se mantuvo constante el sistema de solventes final durante 0,50 minutos más. Método B: los experimentos se llevaron a cabo en cromatografía líquida-espectrómetro de masas de Agilent Technologies acoplado a un sistema de CL Agilent Technologies Series 1200 con detector de matriz de diodos utilizando una columna Zorbax 1,8 micrómetros SB-C18 de 30x2,1 mm con un caudal de 1,5 ml/minuto. Método B1: el sistema de solventes inicial era de 95% de agua que contenía 0,05% de ácido trifluoroacético (solvente A) y 5% de acetonitrilo que contenía 0,05% de ácido trifluoroacético (solvente B), seguido de un gradiente hasta 5% de solvente A y 95% de solvente B durante 1,5 minutos. Se mantuvo constante el sistema de solventes final durante 1 minuto más. Método B2: el sistema de solventes inicial era de 95% de agua que contenía 0,05% de ácido trifluoroacético (solvente A) y 5% de acetonitrilo que contenía 0,05% de ácido trifluoroacético (solvente B), seguido de un gradiente hasta 5% de solvente A y 95% de solvente B durante 3,0 minutos. Se mantuvo constante el sistema de solventes final durante 1 minuto más. Método C: los experimentos se llevaron a cabo en cromatografía líquida-espectrómetro de masas de Agilent Technologies acoplado a un sistema de CL Agilent Technologies Series 1200 con detector de matriz de diodos utilizando una columna Zorbax 1,8 micrómetros SB-C18 de 30x2,1 mm con un caudal de 0,6 ml/minuto. el sistema de solventes inicial era de 95% de agua que contenía 0,05% de ácido trifluoroacético (solvente A) y 5% de acetonitrilo que contenía 0,05% de ácido trifluoroacético (solvente B), seguido de un gradiente hasta 5% de solvente A y 95% de solvente B durante 9,0 minutos. Se mantuvo constante el sistema de solventes final durante 1 minuto más. Los productos formados en las mezclas de reacción pueden purificarse mediante cromatografía líquida de alta presión

correcto para (b). El análisis de cromatografía en capa fina (CCF) en MeOH al 20%/AE confirmó un producto UV-activo principal. Se vertió la mezcla de reacción en un matraz que contenía 30 ml de Et₂O/EA 50/50 y el tubo de presión se enjuagó con 2x10 ml de Et₂O/EA 50/50, seguido de 10 ml de AE. Se transfirió a un embudo de separación y se lavó 1x con solución hipersalina al 50% y 1x con solución hipersalina. Se reextrajeron las capas acuosas agrupadas adicionalmente con Et₂O/EA 50/50 (éter dietílico:acetato de etilo) (2x20 ml), se agruparon los extractos orgánicos, se secaron (MgSO₄), se filtraron, se concentraron y se secaron bajo alto vacío, rindiendo 119,3 mg de producto en bruto (77,6%), que se llevaron directamente a la etapa siguiente. RMN ¹H (400MHz, DMSO d₆) 8,44 (s, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,80-3,71 (m, 4H), 3,53 -3,44 (m, 4H). CL/EM (m/z) +254,5 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto del título (b-2): se burbujeó nitrógeno por el agua y acetonitrilo para la desgasificación durante la noche. Se cargó un tubo cónico para microondas de 2-5 ml con 84 mg (0,29 mmoles) del ácido [(4-etilureido)fenil]borónico, éster de pinacol, 17 mg (0,015 mmoles) de tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0), 39 mg (0,37 mmoles) de carbonato sódico y 40 mg (0,4 mmoles) de acetato potásico. Se añadieron 56,8 mg (0,224 mmoles) de 4-(2-cloro-7-metil-7H-purín-6-il)morfolina, seguido de una barra de agitación, y la mezcla se disolvió en ACN (3,0 ml)/agua (0,9 ml). Se tapó el vial para microondas y se sometió a microondas (300 vatios, 130°C durante 15 min.). Tras enfriar, el análisis de CL-EM (método A) indicó que se había completado el consumo de b, proporcionando un producto UV-activo principal (tiempo de ret.: 1,30 min.), que mostraba el M+H⁺ correcto para la urea conjuntamente con trifenilfosfina como producto secundario (tiempo de ret.: 2,24 min.). La mezcla de reacción se diluyó en 30 ml de AE y el tubo se enjuagó con AE adicional. Se transfirió el AE a un embudo de separación de 125 ml, se lavó 1x con agua, 1x con solución hipersalina, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró, proporcionando 96,4 mg de producto en bruto, que se purificó mediante RP-HPLC, proporcionando 32,5 mg (38%), que analizó para la identidad y la pureza mediante CL-EM (método C). RMN ¹H (500 MHz, DMSO d₆) 8,64 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,25 (d, J=8,7 Hz, 2H), 7,49 (d, J=8,7 Hz, 2H), 6,18 (t, J=5,5 Hz, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,87-3,77 (m, 4H), 3,53-3,45 (m, 4H), 3,19-3,06 (m, 2H), 1,06 (t, J=7,2 Hz, 3H). CL/EM (m/z) +382,1 (M+H)⁺.

Ejemplo 3

Síntesis de (S)-1-etil-3-(4-(7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea (c-2):

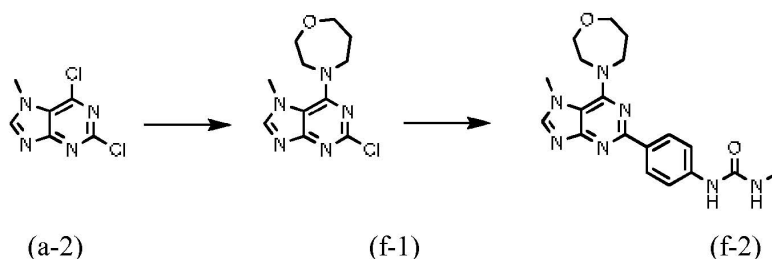


Preparación de (S)-4-(2-cloro-7-metil-7H-purín-6-il)-3-metilmorfolina (c-1): El compuesto (c-1) se preparó tal como se indica para el Ejemplo 2, con la modificación de que se utilizó (S)-3-metilmorfolina en lugar de morfolina y se requirieron 1,0 ml/0,6 ml de etanol/DMF más calentamiento suave para llevar a cabo la disolución de (a-2). Tras solubilizarla, la mezcla de reacción permaneció homogénea tras enfriarla hasta la temperatura ambiente. Se añadió diisopropiletamina (DIPEA) y (S)-3-metilmorfolina a temperatura ambiente. El compuesto intermedio (c-1) se obtuvo en forma de una espuma blanca con un rendimiento de 85% tras el tratamiento final y se llevó directamente a la etapa siguiente. RMN ¹H (400MHz, DMSO d₆) 8,44 (s, 1H), 4,04 (dd, J=6,7, 3,3 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,84 (dt, J=10,8, 2,8 Hz, 1H), 3,76 (dd, J=11,3, 2,8 Hz, 1H), 3,68 -3,49 (m, 3H), 3,40 -3,37 (m, 1H), 1,20 (d, J=6,6 Hz, 3H). CL/EM (m/z) +268,1 (M+H)⁺.

Preparación del compuesto del título (c-2): se preparó (S)-1-etil-3-(4-(7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea tal como se ha indicado para el Ejemplo 2 y se purificó mediante RP-HPLC, proporcionando 37,2 mg (48%) que se analizaron para la identidad y la pureza mediante CL-EM (método C). RMN ¹H (500MHz, DMSO d₆) 8,67 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 8,25 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,50 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,21 (t, J=5,6 Hz, 1H), 3,99 (s, 4H), 3,94-3,81 (m, 2H), 3,75(t, J=8,4 Hz, 1H), 3,62-3,47 (m, 3H), 3,20-3,0 (m, 2H), 1,19 (d, J=6,4 Hz, 3H), 1,06 (t, J=7,2Hz, 3H). CL/EM (m/z) +396,2 (M+H)⁺.

Ejemplo 4

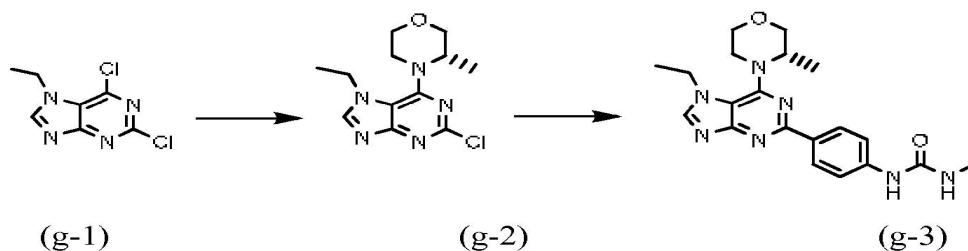
Síntesis de (R)-1-etil-3-(4-(7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea (d-2):



Preparación de 4-(2-cloro-7-metil-7H-purín-6-il)-1,4-oxazepano: Se preparó el compuesto (f-1) tal como se ha indicado en el Ejemplo 2, con la modificación de que se utilizó 1,4-oxazepano en lugar de morfolina y se requirió una mezcla 3/1 de etanol/DMF más calentamiento suave para llevar a cabo la disolución de a. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas y se sometió al tratamiento final tal como se ha indicado en el Ejemplo 2. El producto en bruto se purificó adicionalmente mediante cromatografía en sílice (ISCO, 0-30% MeOH/AE), proporcionando (f-1) con un rendimiento de 40% purificado. RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) δ 7,86 (s, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,92-3,87 (m, 2H), 3,86-3,78 (m, 6H), 2,15 -2,05 (m, 2H). CL/EM (m/z) +268,3 (M+H)⁺. Producción de compuesto del título (f2): se preparó el compuesto del título tal como se ha indicado para el Ejemplo 2 y se purificó mediante RP-HPLC, proporcionando 7,5 mg (13%), que se analizó para la identidad y la pureza mediante CL-EM (método C). RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) 8,58 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,23 (d, J=8,7 Hz, 2H), 7,47 (d, J=8,7 Hz, 2H), 6,15 (t, J=5,5 Hz, 1H), 3,98 (s, 3H), 3,87 (m, 6H), 3,74 (t, J= 5,5 Hz, 2H), 3,19-3,06 (m, 2H), 2,25-1,97 (m, 2H), 1,07 (t, J=7,2 Hz, 3H). CL/EM (m/z) +396,2 (M+H)⁺.

Ejemplo 7

Preparación de (S)-1-etil-3-(4-(7-etil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea (g-3):



Preparación de 2,6-dicloro-7-etil-7H-purina (g-1): Se preparó el compuesto (g-1) utilizando el procedimiento descrito por Chi-Huey Wong et al., Bioorg. & Med. Chem. 13:4622-4626, 2005, utilizando fluoruro de tetrabutil-amonio como la base (solución 1 M en THF) y yodoetano, proporcionando 2,6-dicloro-7-etil-7H-purina con un rendimiento de 6,5% tras el tratamiento final y la separación de los regioisómeros en sílice (ISCO, 10-100% AE/hexano). RMN ¹H (500 MHz, DMSO d₆) 8,91 (s, 1H), 4,49 (q, J=7,2 Hz, 2H), 1,46 (t, J=7,2 Hz, 3H). CL/EM (m/z) +217,2 (M+H)⁺.

Preparación de (S)-4-(2-cloro-7-etil-7H-purín-6-il)-3-metilmorfolina (g-2): Se preparó el compuesto (g-2) tal como se ha indicado para el Ejemplo 2, con la modificación de que se utilizó (S)-3-metilmorfolina en lugar de morfolina. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 72 h y el tratamiento final tal como se ha indicado en el Ejemplo 2, proporcionando (g-2) con un rendimiento de 74%. El material en bruto se utilizó sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) 8,60 (s, 1H), 4,31(m, 2H), 3,93 (m, 1H), 3,81 (m, 2H), 3,65 (t, J=9,0 Hz, 1H), 3,53 (m, 2H), 3,29 (m, 1H), 1,39 (t, J=7,2 Hz, 3H), 1,17 (d, J=6,5 Hz, 3H). CL/EM (m/z) +282,3 (M+H)⁺.

Preparación de (S)-1-etil-3-(4-(7-etil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea (g-3): Se preparó (S)-1-etil-3-(4-(7-etil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea tal como se ha indicado para el Ejemplo 2 y se purificó mediante RP-HPLC, proporcionando 61,6 mg (77,4%) que se analizó para la identidad y la pureza mediante CL-EM (método C). RMN ¹H (500 MHz, DMSO d₆) 8,65 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,27 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,51 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,20 (t, J=5,6 Hz, 1H), 4,36(m, 2H), 4,02-3,71 (m, 4H), 3,60-3,44 (m, 2H), 3,18 (m, 2H), 1,44 (t, J=7,2 Hz, 3H), 1,15 (d, J=6,3 Hz, 3H), 1,07(t, J=7,2 Hz, 3H). CL/EM (m/z) +410,2 (M+H)⁺.

Ejemplo 8

Preparación de (S)-1-(4-(8-butil-7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)-3-etilurea (h-2):

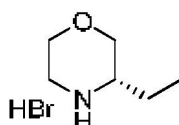
blanca. RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) 5,28 (s, 1H), 4,15 (s, 3H), 3,88 (dd, $J=8,2, 3,7$ Hz, 3H), 3,78 (m, 1H), 3,59 (dd, $J=12, 5,0$ Hz, 1H), 3,50 (ddd, $J=11,7, 8,4, 3,1$ Hz, 1H), , 3,28 (m, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,75 (s, 3H), 1,22 (d, $J=6,7$ Hz, 3H). CL/EM (m/z) +326,4 (M+H) $^+$.

- 5 Preparación de (S)-1-etil-3-(4-(8-(2-hidroxiopropán-2-il)-7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea (i-2): se preparó el compuesto (i-2) tal como se ha indicado para el Ejemplo 2 a partir de 44 mg de (i-1) y se purificó mediante RP-HPLC, proporcionando 26,7 mg (45%), que se analizaron para la identidad y la pureza mediante CL-EM (método C). RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO } d_6$) 8,60 (s, 1H), 8,24 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,49 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 6,17 (t, $J=5,5$ Hz, 1H), 5,69 (s, 1H), 4,18 (s, 3H), 4,02 -3,67 (m 4H), 3,68 -3,39 (m, 2H), 3,24-3,0 (m, 3H), 1,66 (s, 3H), 1,64 (s, 3H), 1,13 (d, $J=6,4$ Hz, 3H), 1,07 (t, $J=7,2$ Hz, 3H) LC/MS-m/z +454,2 (M+H) $^+$.
- 10

Ejemplo 10

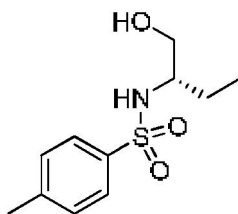
Síntesis de hidrobromuro de (S)-3-etilmorfoina (j-1):

15



(j-1)

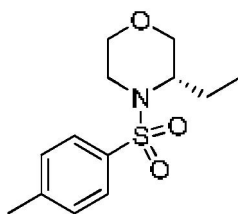
Etapas 1: preparación de (S)-N-(1-hidroxibután-2-il)-4-metilbenceno-sulfonamida (j-2):



(j-2)

- 20 Se disolvió (2S)-2-aminobután-1-ol (2,1 ml, 22 mmoles) y trietilamina (3,8 ml, 27 mmoles) en cloruro de metileno (30 ml, 500 mmoles) y la solución se agitó a 0°C durante 5 minutos. A continuación, se añadió cloruro de p-toluenosulfonilo (4,3 g, 22 mmoles) y la mezcla se agitó, dejándola calentarse hasta la temperatura ambiente. Se desactivó la reacción con agua y se separaron las fases. Se extrajo la fase acuosa con 1x50 ml de DCM. Las fases orgánicas agrupadas se lavaron con HCl 1N (50 ml), NaHCO_3 sat. (50 ml) y solución hipersalina (50 ml), se secó con MgSO_4 , se filtró y se concentró, proporcionando un sólido blanco. El material en bruto se cristalizó en éter/hexano, proporcionando (S)-N-(1-hidroxibután-2-il)-4-etilbencenosulfonamida (j-2) en forma de un sólido blanco: RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO } d_6$) δ 7,69 (d, $J=8,2$ Hz, 2H), 7,38 (t, $J=9,0$ Hz, 3H), 4,62 (t, $J=5,6$ Hz, 1H), 3,24 (dd, $J=10,3, 5,2$ Hz, 1H), 3,18-3,02 (m, 1H), 2,92 (dd, $J=7,9, 4,2$ Hz, 1H), 1,61-1,39 (m, 1H), 1,19 (dd, $J=14,5, 7,1$ Hz, 1H), 0,63 (t, $J=7,4$ Hz, 3H); CL-EM: m/z = 244 (M +H).
- 25
- 30

Etapas 2: preparación de (s)-3-etil-4-tosilmorfolina (j-3):



(j-3)

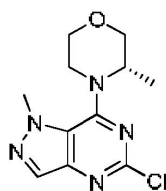
- 35 Se disolvió (S)-N-(1-hidroxibután-2-il)-4-metilbenceno-sulfonamida (800 mg, 3 mmoles) en diclorometano (20 ml) y se añadió trietilamina (0,92 ml, 6,6 mmoles). La mezcla se agitó a 0°C durante 10 minutos. Se añadió gota a gota durante 5 minutos trifluorometanosulfonato de difenil(vinil)sulfonio (1,25 g, 3,45 mmoles), disuelto en diclorometano (10 ml). La mezcla se agitó, dejándola simultáneamente que se calentase hasta la temperatura ambiente durante la noche. Se añadió NH_4Cl acuoso saturado y se separaron las fases. Se extrajo la fase acuosa con 2x30 ml de DCM. Las fases orgánicas agrupadas se secaron con MgSO_4 y se filtraron. El filtrado se concentró en gel de sílice y se purificó mediante cromatografía flash (100% Hex hasta 60% EtOAc/Hex), proporcionando (S)-3-etil-4-tosilmorfolina (j-3) en forma de un sólido blanco: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,71 (d, $J=8,3$ Hz, 2H), 7,30 (t, $J=8,3$ Hz, 2H), 3,77-
- 40

3,60 (m, 3H), 3,60-3,44 (m, 2H), 3,44 -3,19 (m, 3H), 2,43 (s, 3H), 1,67 (dtd, J=28,6, 14,0, 7,4 Hz, 2H), 1,31-1,12 (m, 2H), 0,97 -0,84 (m, 3H); CL-EM: m/z=270 (M+H).

Etapa 3: preparación de hidrobromuro de (S)-3-etilmorfolina (j-1): Se disolvió (S)-3-etil-4-tosilmorfolina (220 mg, 0,82 mmoles) y fenol (150 mg, 1,6 mmoles) en 4,1 M de ácido bromhídrico en ácido acético (2,4 ml) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se vertió en éter y se recogió el sólido mediante filtración y se lavó con éter, proporcionando hidrobromuro de (S)-3-etilmorfolina (j-1) en forma de un sólido blanco: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 3,77-3,60 (m, 3H), 3,60-3,44 (m, 2H), 3,44-3,19 (m, 3H), 1,67 (dtd, J=28,6, 14,0, 7,4 Hz, 2H), 1,31 - 1,12 (m, 2H), 0,97-0,84 (m, 3H).

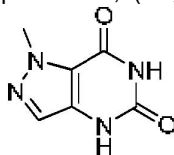
Ejemplo 11

Síntesis de (S)-4-(5-cloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-3-metilmorfolina (k-1):



(k-1)

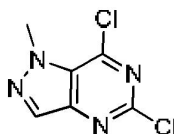
Etapa 1: preparación de 1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5,7(4H,6H)-diona (k-2):



(k-2)

El presente compuesto se preparó siguiendo el método descrito en el documento n° WO2008/071650. A una solución bajo agitación de 1-metil-4-nitro-1H-pirazol-5-carboxamida (1,27 g, 9,06 mmoles) en acetonitrilo (35,6 ml) sometido a reflujo a 100°C se añadió N,N-carbonilimidazol (1,91 g, 11,78 mmoles, 1,3 eq.) proporcionalmente, durante 1 hora. La mezcla de reacción se agitó a 100°C bajo N₂ durante 18 horas. Se filtró el precipitado resultante, se enjuagó bien con acetonitrilo frío y se bombeó hasta la sequedad bajo alto vacío, rindiendo 1,38 g (91,5%) de un sólido blanco. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ ppm 11,04 (d ancho, 2H), 7,34 (s, 1H), 4,04 (s, 3H).

Etapa 2: preparación de 5,7-dicloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidina (k-3):



(k-3)

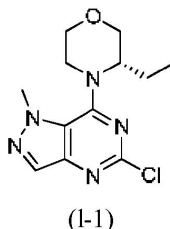
A una mezcla heterogénea de 1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5,7(4H,6H)-diona (k-2, 500,0 mg, 2,97 mmoles) en N,N-dietilanilina (14 ml) se añadió cloruro de fosforilo (20 ml) y la mezcla de reacción se agitó a 130°C bajo N₂ durante 18 horas. La reacción se enfrió a 0°C y se desactivó con solución acuosa saturada de bicarbonato sódico. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3X) y la fase orgánica agrupada se lavó con agua y solución hipersalina, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna (Si-PPC, gradiente de 0% a 60% de DCM en heptano). La cristalización a partir de éter-heptano proporcionó el producto deseado en forma de un sólido (435,8 mg, 72,2%). RMN ¹H (CDCl₃, 500MHz) δ ppm 8,17 (s, 1H), 4,41 (s, 3H); CL-EM m/z (método B2)=203/205 [M+H]⁺, R_T=1,55 min.

Etapa 3: preparación de (S)-4-(5-cloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-3-metilmorfolina (k-1): a una solución bajo agitación de 5,7-dicloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidina (200,0 mg, 0,98 mmoles) en DMF anhidro (2 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (0,21 ml, 1,18 mmoles, 1,2 eq.) seguido de (S)-3-metilmorfolina (199,3 mg, 1,9 mmoles, 2,0 eq.). Se agitó la mezcla de reacción a TA bajo N₂ durante 4 h y se diluyó con éter (50 ml). La capa orgánica se lavó con solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, agua y solución hipersalina, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna (Si-PPC, gradiente de 0% a 100% de acetato de etilo en heptano), proporcionando el producto deseado (k-1) en forma

de una espuma (245,4 mg, 93,0%). RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) δ ppm 8,03 (s, 1H), 4,21 (d ancho, $J=6,2$ Hz, 1H), 4,15 (s, 3H), 3,97 (d, $J=10,7$ Hz, 1H), 3,90 (d, $J=9,8$ Hz, 1H), 3,81 to 3,65 (m, 3H), 3,56 (d, $J=12,4$ Hz, 1H), 1,38 (d, $J=6,6$ Hz, 3H); CL-EM m/z (método A) = 268 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $R_T=1,71$ min.

5 Ejemplo 12

Síntesis de (S)-4-(5-cloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-3-etilmorfolina (l-1):



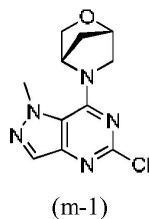
10 El presente compuesto se preparó de manera análoga a (S)-4-(5-cloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-3-etilmorfolina, utilizando hidrobromuro de (S)-etilmorfolina como el material de partida. RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) δ ppm 8,00 (s, 1H), 4,15 a 4,07 (m, 4H), 3,92 (dd, $J=11,8$ Hz, 3,8 Hz, 1H), 3,88 (d, $J=1,9$ Hz, 2H), 3,82 a 3,71 (m, 3H), 3,67 to 3,56 (m, 2H), 2,03 a 1,82 (m, 2H), 0,90 (t, $J=7,4$ Hz, 3H); CL-EM m/z (método A)=282 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $R_T=1,95$ min.

15

Ejemplo 13

20 preparación de (1S,4S)-5-(5-cloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-2-oxa-5-azabicyclo[2.2.1]heptano (m-1):

20

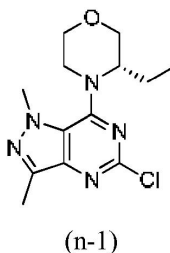


25 El presente compuesto se preparó de manera análoga a (S)-4-(5-cloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-3-etilmorfolina, utilizando la sal hidrocloreto de (1S,4S)-2-oxa-5-azabicyclo[2.2.1]heptano como el material de partida. RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) δ ppm 7,96 (s, 1H), 5,15 (s, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,20 (s, 3H), 4,13 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 3,97 (ddd, $J=7,0$ Hz, 4,7 Hz, 1,5 Hz, 2H), 3,69 (d, $J=9,5$ Hz, 1H), 2,09 to 1,94 (m, 2H); CL-EM m/z (método A)=266,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $R_T=1,37$ min.

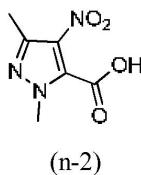
25

30 Ejemplo 14 Preparación de (S)-4-(5-cloro-1,3-dimetil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-3-etilmorfolina (n-1):

30



Etapa 1: preparación de ácido 1,3-dimetil-4-nitro-1H-pirazol-5-carboxílico (n-2):

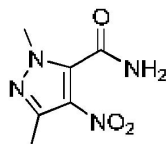


35

A ácido nítrico fumante (1,26 ml, 29,97 mmoles, 2,0 eq.) a 0°C se añadió lentamente ácido sulfúrico fumante (9,76 ml, 104,90 mmoles, 7,0 eq.) gota a gota durante 30 minutos. A continuación, se añadió ácido 1,3-dimetil-1H-pirazol-5-carboxílico (2,10 g, 14,98 mmoles) en partes, manteniendo una temperatura interna inferior a 60°C . La mezcla de

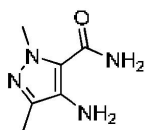
reacción se agitó a 60°C bajo N₂ durante 4 h y después se enfrió hasta la temperatura ambiente (TA). La mezcla de reacción se vertió sobre hielo. Tras fundirse el hielo, la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (3x500 ml). Se agruparon las capas orgánicas y se lavaron con agua y solución hipersalina, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se evaporaron al vacío, proporcionando el compuesto deseado en forma de un sólido blanco (2,67 g, 96,1%). RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ ppm 3,87 (s, 3H), 2,39 (s, 3H); CCF (15% de MeOH/DCM): R_f=0,12.

Etapa 2: preparación de 1,3-dimetil-4-nitro-1H-pirazol-5-carboxamida (n-3):



(n-3)

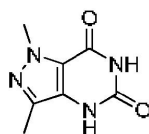
10 A ácido 1,3-dimetil-4-nitro-1H-pirazol-5-carboxílico (1,08 g, 5,84 mmoles) en diclorometano anhidro (DCM) (25 ml) y DMF (0,5 ml) se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (0,74 ml, 8,77 mmoles, 1,5 eq.) durante 10 minutos. La mezcla de reacción se agitó a TA bajo N₂ durante 17 horas. Se evaporó el solvente volátil al vacío y el material en bruto se disolvió en THF anhidro (20 ml) y acetona (10 ml). Se añadió lentamente hidróxido amónico acuoso concentrado (5,0 ml, 128,4 mmoles, 22 eq.) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se diluyó con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, agua y solución hipersalina, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La trituración a partir de éter-heptano proporcionó el producto deseado en forma de un sólido blanco (550,0 mg, 51,5%). RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ ppm 8,39 (s ancho, 1H), 8,21 (s ancho, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,42 (s, 3H). Etapa 3: preparación de 4-amino-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-carboxamida (n-4):



(n-4)

25 A una solución de 1,3-dimetil-4-nitro-1H-pirazol-5-carboxamida (730 mg, 3,96 mmoles) en etanol anhidro (100 ml) y acetato de etilo (100 ml) se añadió Pd al 10% en peso sobre carbono (100,0 mg). La mezcla de reacción se evacuó con vacío y se purgó con H₂ (3x), y después se agitó bajo H₂ a 50 psi durante 5 horas. A continuación, la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite®. El filtrado se concentró al vacío y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna (Si-PPC, gradiente 0% a 30% de metanol en diclorometano), obteniendo el producto deseado (597,0 mg, 97,7%) en forma de un sólido. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 7,26 (br s, 2H), 4,03 (br s, 2H), 3,84 (s, 3H), 2,02 (s, 3H); CL-EM m/z (método A)=155,2 [M+H]⁺, R_T=0,35 min.

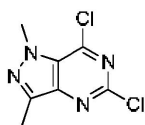
Etapa 4: preparación de 1,3-dimetil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5,7(4H,6H)-diona (n-5):



(n-5)

35 Dicho compuesto se preparó de manera análoga a 1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5,7(4H,6H)-diona, utilizando 4-amino-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-carboxamida como el material de partida. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 11,02 (s, 2H), 3,97 (s, 3H), 2,20 (s, 3H).

40 Etapa 5: preparación de 5,7-dicloro-1,3-dimetil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidina (n-6):

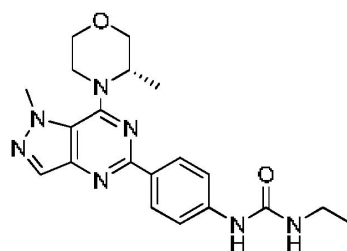


(n-6)

Dicho compuesto se preparó de manera análoga a 5,7-dicloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidina, utilizando 1,3-dimetil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5,7(4H,6H)-diona como el material de partida. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm 4,32 (s, 3H), 2,60 (s, 3H); CL-EM m/z (método B2)=217,2/219,2 [M+H]⁺, R_T=1,688 min. Etapa 6: Preparación de (S)-4-(5-cloro-1,3-dimetil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-3-etilmorfolina (n-1): El presente compuesto se preparó de manera análoga a (S)-4-(5-cloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-3-etilmorfolina, utilizando 5,7-dicloro-1,3-dimetil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidina como el material de partida. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm 4,08 (t, J=7,3 Hz, 1H), 4,01 (s, 3H), 3,96 to 3,84 (m, 3H), 3,79 to 3,67 (m, 1H), 3,67 to 3,56 (m, 2H), 2,53 (s, 3H), 2,05 to 1,78 (m, 2H), 0,89 (t, J=7,5 Hz, 3H); CL-EM m/z (método A)=296,3 [M+H]⁺, R_T=2,16 min.

10 Ejemplo 15

Síntesis de (S)-1-etil-3-(4-(1-metil-7-(3-etilmorfolino)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)urea (o-1):

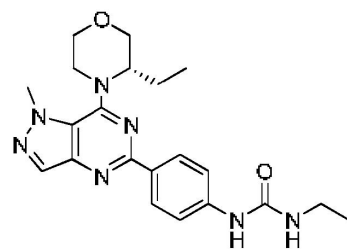


(o-1)

15 En un recipiente de microondas de 5 ml dotado de una barra de agitación se introdujo (S)-4-(5-cloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-3-etilmorfolina (91,5 mg, 0,34 mmoles), ácido [(4-etilureido)fenil]borónico, éster de pinacol (121,0 mg, 0,42 mmoles, 1,22 eq.), tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (24,5 mg, 0,022 mmoles, 0,062 eq.), carbonato sódico (55,4 mg, 0,52 mmoles, 1,53 eq.) y acetato potásico (54,7 mg, 0,56 mmoles, 1,63 eq.). Se añadió acetronitrilo desgasificado (3,5 ml) y agua (1,2 ml). Se tapó el vial para microondas y la mezcla de reacción se calentó bajo radiación de microondas (300 vatios, 120°C) durante 15 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (10 ml) y se filtró a través de una almohadilla de Celite®. La capa orgánica se lavó con agua y solución hipersalina, y después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se evaporó al vacío. El residuo resultante se purificó mediante HPLC de fase inversa, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (102,6 mg, 75,9%).
20
25 RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 8,62 (s, 1H), 8,24 (d, J=8,7 Hz, 2H), 8,20 (s, 1H), 7,50 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,16 (t, J=5,5 Hz, 1H), 4,25 to 4,11 (m, 4H), 3,96 a 3,83 (m, 2H), 3,73 (t, J=11,2 Hz, 1H), 3,69 a 3,59 (m, 2H), 3,50 (d, J=13,3 Hz, 1H), 3,19 a 3,06 (m, 2H), 1,27 (d, J=6,5 Hz, 3H), 1,07 (t, J=7,2 Hz, 3H); CL-EM m/z (método C1)=396,2 [M+H]⁺, R_T=3,31 min.

30 Ejemplo 16

Síntesis de (S)-1-etil-3-(4-(7-(3-etilmorfolino)-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)urea (p-1):

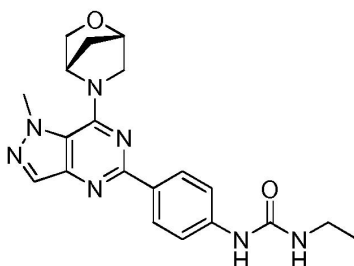


(p-1)

35 Se preparó el compuesto del título siguiendo el procedimiento descrito para el Ejemplo 15. Utilizando (S)-4-(5-cloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-3-etilmorfolina, se obtuvo el compuesto del título. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 8,60 (s, 1H), 8,23 (d, J=8,7 Hz, 2H), 8,18 (s, 1H), 7,49 (d, J=8,7 Hz, 2H), 6,16 (t, J=5,5 Hz, 1H), 4,19 a 4,07 (m, 4H), 3,92 a 3,80 (m, 3H), 3,75 a 3,54 (m, 3H), 3,19 a 3,07 (m, 2H), 1,91 a 1,79 (m, 2H), 1,07 (t, J=7,2 Hz, 3H), 0,83 (t, J=7,4 Hz, 3H); CL-EM m/z (método C2)=410,2 [M+H]⁺, R_T=9,11 min.
40

Ejemplo 17

45 síntesis de 1-(4-(7-((1S,4S)-2-oxa-5-azabicyclo[2.2.1]heptán-5-il)-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)-3-etilurea (q-1):

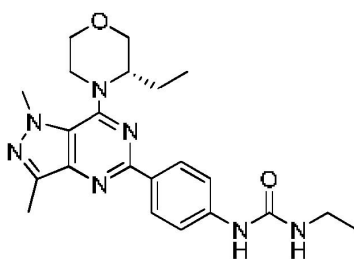


(q-1)

5 El compuesto del título se preparó de manera análoga al procedimiento descrito para el Ejemplo 15. Utilizando (1S,4S)-5-(5-cloro-1-metil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-2-oxa-5-azabicyclo[2.2.1]heptano, se obtuvo el compuesto del título. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 8,62 (s, 1H), 8,22 (d, J=8,7 Hz, 2H), 8,11 (s, 1H), 7,47 (d, J=8,7 Hz, 2H), 6,16 (t, J=5,5 Hz, 1H), 5,21 (s, 1H), 4,73 (s, 1H), 4,19 (s, 3H), 4,09 (d, J=9,6 Hz, 1H), 4,02 (d, J=7,6 Hz, 1H), 3,91 (d, J=7,6 Hz, 1H), 3,63 (d, J=9,8 Hz, 1H), 3,15 a 3,07 (m, 2H), 1,94 (dd, J=25,8 Hz, 9,8 Hz, 2H), 1,07 (t, J=7,1 Hz, 3H); CL-EM m/z (método C)=394,2 [M+H]⁺, R_T = 3,07 min.

10 Ejemplo 18

Síntesis de (S)-1-etil-3-(4-(7-(3-etilmorfolino)-1,3-dimetil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)urea (r-1):

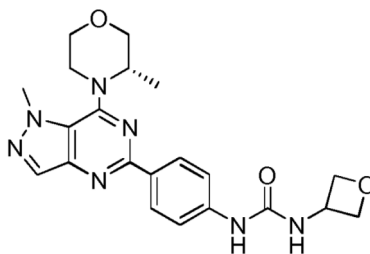


(r-1)

15 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito para el Ejemplo 15. Utilizando (S)-4-(5-cloro-1,3-dimetil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)-3-etilmorfolina, se obtuvo el compuesto del título. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 8,60 (s, 1H), 8,24 (d, J=8,7 Hz, 2H), 7,49 (d, J=8,7 Hz, 2H), 6,14 (t, J=5,5 Hz, 1H), 4,09 (s ancho, 1H), 4,03 (s, 3H), 3,92 a 3,79 (m, 3H), 3,73 a 3,54 (m, 3H), 3,20 a 3,05 (m, 2H), 2,48 (s, 3H), 1,90 a 1,76 (m, 2H), 1,07 (t, J=7,2 Hz, 3H), 0,82 (t, J=7,4 Hz, 3H); CL-EM m/z (método C)=424,2 [M+H]⁺, R_T=3,65 min.

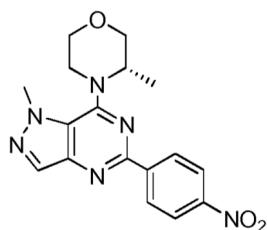
20 Ejemplo 19

25 Síntesis de (S)-1-(4-(1-metil-7-(3-metilmorfolino)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)-3-(oxetán-3-il)urea (s-1):



(s-1)

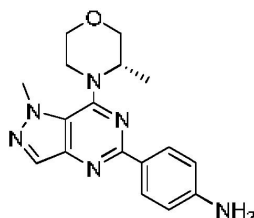
Etapa 1: preparación de (S)-3-metil-4-(1-metil-5-(4-nitrofenil)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)morfolina (s-2):



(s-2)

5 El presente compuesto se preparó de manera análoga a (S)-1-etil-3-(4-(1-metil-7-(3-metilmorfolino)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)urea, utilizando pinacol-éster de ácido 4-nitrofenilborónico como el material de partida. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm 8,62 (d, J=9,0 Hz, 2H), 8,32 (d, J=9,0 Hz, 2H), 8,22 (s, 1H), 4,27 a 4,17 (m, 4H), 4,08 a 3,95 (m, 2H), 3,93 a 3,82 (m, 1H), 3,79 a 3,67 (m, 2H), 3,60 to 3,50 (m, 1H), 1,38 (d, J=6,6 Hz, 3H).

10 Etapa 2: preparación de (S)-4-(1-metil-7-(3-metilmorfolino)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)anilina (s-3):



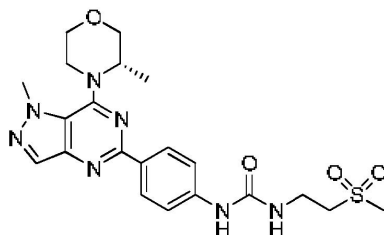
(s-3)

15 Una solución de (S)-3-metil-4-(1-metil-5-(4-nitrofenil)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)morfolina (122,4 mg, 0,345 mmoles) disuelta en THF anhidro (15 ml) se sometió a un aparato de hidrogenación de flujo continuo (H-Cube: cartucho de Pd/C al 10%, caudal de 1,0 ml/min.). El producto en bruto se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía de columna (Si-PPC, gradiente de 0% a 100% de EtOAc en heptano), proporcionando el producto deseado en forma de una espuma amarilla (92,0 mg, 82,1%). CL/EM m/z (método A)=325,4 [M+H]⁺, R_T=1,34 min.

20 Etapa 3: preparación de (S)-1-(4-(1-metil-7-(3-metilmorfolino)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)-3-(oxetán-3-il)urea (s-1): a una solución bajo agitación de (S)-3-metil-4-(1-metil-5-(4-nitrofenil)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-7-il)morfolina (50,0 mg, 0,154 mmoles) en 1,2-dicloroetano anhidro (5,0 ml) se añadió trietilamina (0,071 ml, 0,51 mmoles, 3,3 eq.). La reacción se enfrió a 0°C y se añadió trifosgeno (45,7 mg, 0,154 mmoles, 1,0 eq.) en una porción. Tras agitar a 0°C bajo N₂ durante 5 minutos, la mezcla de reacción se agitó a 70°C durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta la TA y a continuación se añadió hidrocloreuro de 3-oxetanamina (84,4 mg, 0,77 mmoles, 5,0 eq.). Se agitó la mezcla de reacción a TA bajo N₂ durante 16 h y después se diluyó con EtOAc (25 ml). La capa orgánica se lavó con agua y solución hipersalina, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de columna (Si-PPC, gradiente de 50% a 100% de EtOAc en heptano, seguido de 0% a 30% de metanol en diclorometano). La trituración a partir de metanol proporcionó el compuesto del título (49,3 mg, 75,5%) en forma de sólido. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 8,76 (s, 1H), 8,25 (d, J= 8,8 Hz, 2H), 8,21 (s, 1H), 7,50 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,97 (d, J=6,7 Hz, 1H), 4,85 a 4,69 (m, 3H), 4,44 (t, J=6,0 Hz, 2H), 4,23 a 4,12 (m, 4H), 3,96 a 3,81 (m, 2H), 3,72 (dd, J=14,7 Hz, 5,8 Hz, 1H), 3,69 a 3,58 (m, 2H), 3,50 (d, J =13,3 Hz, 1H), 1,26 (d, J=6,5 Hz, 3H); CL-EM m/z (método C1)=424,2 [M+H]⁺, R_T=3,12 min.

35 Ejemplo 20

Síntesis de (S)-1-(4-(1-metil-7-(3-metilmorfolino)-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidín-5-il)fenil)-3-(2-(metilsulfonil)etil)urea (t-1):



(t-1)

El presente compuesto se preparó de manera análoga a (S)-1-(4-(1-metil-7-(3-metilmorfolino)-1H-pirazo[4,3-d]pirimidin-5-il)fenil)-3-(oxetan-3-il)urea, utilizando hidrocloreto de 2-(metilsulfonyl)etanamina como el material de partida. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 8,96 (s, 1H), 8,25 (d, J=8,8 Hz, 2H), 8,21 (s, 1H), 7,51 (d, J=8,8 Hz, 2H), 6,42 (t, J=5,9 Hz, 1H), 4,25 a 4,13 (m, 4H), 3,96 a 3,83 (m, 2H), 3,78 a 3,79 (m, 1H), 3,79 a 3,60 (m, 2H), 3,60 a 3,47 (m, 3H), 3,37 a 3,30 (m, 5H), 1,27 (d, J=6,5 Hz, 3H); CL-EM m/z (método C1)=474,2 [M+H]⁺, R_T=3,13 min

Ejemplo 21

Evaluación biológica de compuestos:

a. Ensayo *in vitro* de mTOR quinasa

Se evaluó la actividad de quinasa del enzima mTOR mediante la incubación de enzima recombinante purificado (mTOR(1360-2549)+GBL, preparado por los propios laboratorios) en una mezcla de reacción que contenía ATP, MnCl₂ y un sustrato mTOR marcado fluorescentemente, por ejemplo GFP-4E-BP1 (Invitrogen, producto n° PR8808A). La reacción se detuvo mediante la adición de un anticuerpo fosfoespecífico marcado con terbio, por ejemplo anti-p4E-BP1 T37/T46 marcado con Tb (Invitrogen, producto n° PR8835A), EDTA y solución tampón de TR-FRET (Invitrogen, producto n° PR3756B). Se detectó la formación de producto mediante transferencia de energía por resonancia fluorescente resuelta en el tiempo (TR-FRET), que se produce en el caso de que el sustrato fosforilado y el anticuerpo marcado se encuentren en estrecha proximidad, debido al enlace fosfoespecífico. Se midió la actividad enzimática como un incremento de la señal de TR-FRET utilizando un lector de placas Envision de Perkin Elmer. El ensayo se llevó a cabo en una placa Proxiplate Plus de 384 pocillos (Perkin Elmer, producto n° 6008269) aplicando el protocolo siguiente:

se sometió a ensayo la actividad del compuesto en curvas de dosis de 10 puntos partiendo de la concentración final más alta de 10 μM. Se diluyeron en serie en DMSO al 100% antes de una dilución adicional con tampón de ensayo. La mezcla de reacción (8 μl) que contenía mTOR 0,25 nM+enzima GBL, GFP-4E-BP1 400 nM, ATP 8 μM, Hepes 50 mM, pH 7,5, Tween-20 al 0,01%, MnCl₂ 10 mM, EGTA 1 mM, DTT 1 mM, DMSO al 1% (+/- compuesto) se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos. A continuación, se añadieron 8 ml de solución que contenía Tb-anticuerpo anti-p4E-BP1 2 nM y tampón de TR-FRET diluido en EDTA 10 mM y se incubó durante 30 minutos para detener la reacción. Se escaneó la placa con el lector de placas Envision. Se calcularon los valores de K_i en el programa Assay Explorer utilizando la ecuación de unión estrecha competitiva con ATP de Morrison para la determinación de la K_i aparente. Los compuestos de la invención (por ejemplo los compuestos de fórmula I) presentaban un nivel de actividad (K_i) en el ensayo de la mTOR quinasa de entre aproximadamente 0,0001 nM y aproximadamente 5 μM, y en determinadas realizaciones, de entre aproximadamente 0,0001 nM y aproximadamente 1 μM, y en determinadas otras realizaciones, entre menos de aproximadamente 0,0001 nM y aproximadamente 0,5 μM. Los compuestos 101 a 114 de la invención que aparecen en la Tabla 1 presentaban el nivel de actividad siguiente (en μM): 0,143, 0,028, 0,069, 0,004, 0,121, 0,040, 0,053, 0,030, 0,008, 0,001, 0,028, 0,002, 0,039 y 0,145, respectivamente.

b. Ensayo celular *in vitro* de fosfo-AKT serina 473

El ensayo mide la inhibición por parte de un compuesto de ensayo de la fosforilación de la serina-473 por AKT en el adenocarcinoma prostático humano derivado de células PC-3 (ATCC n° CRL-1435) que han sido estimuladas con factor de crecimiento epidérmico (FCE).

La línea celular PC-3 se mantiene en medio RPMI1640 complementado con SFB al 10%, glutamina 2 mM y HEPES 10 mM, pH 7,4, a 37°C en un incubador-humidificador con 5% de CO₂.

Se sembraron células en placas de 384 pocillos a razón de 7.000 células/pocillo en 50 ml de medio de crecimiento. Tras 24 horas, se eliminó el medio de crecimiento y se sustituyó por RPMI1640 que no contenía SFB. Se trataron las células con 10 concentraciones de compuesto de ensayo o DMSO solo para los controles (concentración final de DMSO: 0,5%) y se incubaron a 37°C durante 30 minutos. A continuación, las células se estimularon durante 10 minutos con 100 ng/ml de FCE (concentración final). Una columna de controles no se estimuló con FCE para observar la proporción de señales entre células estimuladas y no estimuladas. Tras 10 minutos, se eliminaron los compuestos y los medios de estimulación y se sustituyeron por 25 μl de tampón de lisis que contenía inhibidores de proteasa e inhibidores de fosfatasa. Este tampón contiene detergente para provocar la rotura celular. Tras la rotura celular completa, se transfirieron 20 ml de lisado a una placa de 4 puntos de 384 pocillos MesoScale Discovery recubierta con un anticuerpo de AKT (producto MesoScale Discovery (MSD) n° K211CAD-2) que había sido bloqueado previamente con albúmina de suero bovino al 3% en solución salina tamponada con Tris. Tras la transferencia de lisado a la placa MSD, se capturó AKT en el lisado sobre el anticuerpo recubierto mediante incubación en un agitador a 4°C durante 16 horas. Tras la etapa de captura, la placa se lavó y después se incubó durante dos horas con un anticuerpo de AKT fosforilado en S473 que se había conjugado con una etiqueta Sulfo. Esta etiqueta proporciona una señal en proximidad al electrodo sobre la base de la placa MSD. La unión del anticuerpo etiquetado a la proteína capturada permitió la detección en el lector MSD.

Se definió la EC₅₀ como la concentración a la que un compuesto dado alcanza una reducción de 50% de los niveles medidos de fosforilación de AKT en S473. Se calcularon los valores de EC₅₀ utilizando el programa Assay Explorer 3.0.1.8 de MDL ajustando una curva sigmoideal con una pendiente variable.

- 5 Los compuestos 101 a 108 indicados en la Tabla 1 presentaban un nivel de actividad EC₅₀ (en µM) de: N/A, 0,632, N/A, 0,069, N/A, 0,511, N/A y 3,5, respectivamente.

c. Ensayo in vitro de proliferación celular

- 10 Se midió la eficacia de los compuestos de fórmula I mediante un ensayo de proliferación celular utilizando el protocolo siguiente:

1. Una alícuota de 20 µl de cultivo celular que contenía aproximadamente 10³ células (PC3 o MDAMB361.1) en medio se depositó en cada pocillo de una placa de 384 pocillos de paredes opacas.

- 15 2. Se prepararon pocillos de control que contenían medio pero no células; se dejó que las células sedimentasen durante la noche.

3. Se añadió compuesto a los pocillos experimentales y se incubaron durante 3 días.

4. Se equilibraron las placas a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos.

- 20 5. Se añadió un volumen de reactivo CellTiter-Glo igual al volumen de medio de cultivo celular presente en cada pocillo.

6. Se mezcló el contenido durante 2 minutos en un agitador orbital para inducir la lisis celular.

7. Se incubó la placa a temperatura ambiente durante 20 minutos para estabilizar la señal de luminiscencia.

8. Se registró la luminiscencia y se informó en los gráficos como URL=unidades relativas de luminiscencia.

- 25 Alternativamente, se sembraron las células a densidad óptima en una placa de 96 pocillos y se incubaron durante 4 días en presencia de compuesto de ensayo. A continuación se añadió Alamar Blue™ al medio de ensayo y se incubaron las células durante 6 h antes de leer la excitación a 544 nm y la emisión a 590 nm. Se calcularon los valores de IC₅₀ utilizando un ajuste a la curva sigmoideal de dosis-respuesta. Los compuestos 101 a 114 de la invención que aparecen en la Tabla 1 presentaban un valor de IC₅₀ (en µM, con células PC3): N/A, 0,294, 10, 0,737, N/A, 4,2, 2,4, 8, 0,399, 0,131, 2,9, 0,086, 5,9 y N/A, respectivamente.

30

d. Ensayo de unión PI3K p110α(alfa)

- 35 Ensayos de unión: los experimentos iniciales de polarización se llevaron a cabo en un Analyst HT 96-384 (Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA). Las muestras para las mediciones de afinidad de polarización de fluorescencia se prepararon mediante la adición de diluciones en serie 1:3 de PI3K p110 alfa (Upstate Cell Signaling Solutions, Charlottesville, VA) partiendo desde una concentración final de 20 µg/ml en tampón de polarización (Tris 10 mM, pH 7,5, NaCl 50 mM, MgCl₂ 4 mM, Chaps al 0,05% y DTT 1 mM) a PIP₂ 10 mM (Echelon-Inc., Salt Lake City, UT), concentración final. Tras un tiempo de incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, se detuvieron las reacciones mediante la adición de GRP-1 y sonda PIP3-TAMRA (Echelon-Inc., Salt Lake City, UT), a concentraciones finales de 100 nM y 5 nM, respectivamente. Se leyeron con filtros de valor de corte estándares para el fluoróforo rodamina (λ_{ex}=530 nm, λ_{em}=590 nm) en placas Proxiplate de volumen reducido negras de 384 pocillos (Perkin Elmer, Wellesley, MA). Los valores de polarización de fluorescencia se representaron como una función de la concentración de proteína y los valores de EC₅₀ se obtuvieron mediante el ajuste de los datos a una ecuación de 4 parámetros utilizando el software KaleidaGraph (software Synergy, Reading, PA). El presente experimento establece además la concentración de proteína apropiada a utilizar en experimentos de competición posteriores con inhibidores.

45

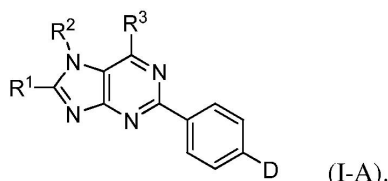
- 50 Se determinaron los valores de IC₅₀ de los inhibidores mediante la adición de la PI3K p110alfa 0,04 mg/ml (concentración final) en combinación con PIP₂ (concentración final: 10 mM) a pocillos que contenían diluciones en serie 1:3 de los antagonistas a una concentración final de ATP de 25 mM (Cell Signaling Technology, Inc., Danvers, MA) en el tampón de polarización. Tras un tiempo de incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, se detuvieron las reacciones mediante la adición de GRP-1 y sonda PIP3-TAMRA (Echelon-Inc., Salt Lake City, UT), a concentraciones finales de 100 nM y 5 nM, respectivamente. Se leyeron con filtros de valor de corte estándares para el fluoróforo rodamina (λ_{ex}=530 nm, λ_{em}=590 nm) en placas Proxiplate de volumen reducido negras de 384 pocillos (Perkin Elmer, Wellesley, MA). Los valores de polarización de fluorescencia se representaron como una función de la concentración de antagonista y los valores de EC₅₀ se obtuvieron mediante el ajuste de los datos a una ecuación de 4 parámetros utilizando el software Assay Explorer (MDL, San Ramon, CA). La descripción anteriormente proporcionada se considera ilustrativa únicamente de los principios de la invención. Además, debido a que numerosas modificaciones y cambios resultarán fácilmente evidentes al experto en la materia, no se desea limitar la invención a la construcción y procedimiento exactos mostrados anteriormente. De acuerdo con lo anteriormente expuesto, todas las modificaciones y equivalentes adecuados pueden considerarse comprendidos dentro del alcance de la invención según se define en las reivindicaciones a continuación.

60

65

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula I-A:



5 en la que R¹ se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, metilo, etilo, propilo, isopropilo, 2-hidroxi-prop-2-ilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, isobutilo, pentilo, dimetilaminometilo y hexilo, R² se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, metilo, etilo, propilo, isopropilo, ciclopropilmetilo y metoxietilo,

10 R³ es un anillo heterocicloalquilo monocíclico o puenteado de 5 a 12 elementos, en el que el grupo R³ se sustituye con 0 a 3 sustituyentes R^{R3} seleccionados de entre el grupo que consiste de -C(O)OR^g, -C(O)NR^gR^h, -NR^gR^h, -OR^g, -SR^g, -S(O)₂Rⁱ, -S(O)Rⁱ, -Rⁱ, halógeno, F, Cl, Br, I, -NO₂, -CN y -N₃, en el que R^g y R^h se seleccionan, cada uno independientemente

15 de entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, heteroalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ y cicloalquilo C₃₋₆, en el que opcionalmente R^g y R^h, conjuntamente con el átomo de nitrógeno al que se encuentra unido cada uno, se combinan formando un anillo heterocíclico de 3 a 6 elementos que comprende 1 a 2 heteroátomos seleccionados de entre N, O y S, y R¹ se selecciona de entre alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, y en el caso de que R³ sea un anillo heterocicloalquilo monocíclico, cualesquiera dos grupos R^{R3} unidos al mismo átomo de R³ se combinan

20 opcionalmente formando un anillo carbocíclico de 3 a 7 elementos o heterocíclico de 3 a 7 elementos que comprende 1 a 2 átomos seleccionados de entre N, O y S como vértices de anillo, y D es -NR⁴C(O)NR⁵R⁶ o -NR⁵R⁶, en el que R⁴ es hidrógeno, R⁵ y R⁶ son, cada uno independientemente, un grupo sustituido opcionalmente que se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, alquilo C₁₋₆, heteroalquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, heterocicloalquilo C₂₋₇, arilo C₆₋₁₀, y heteroarilo C₁₋₉, y R⁵ y R⁶, en caso de encontrarse unidos al mismo átomo de nitrógeno, se combinan opcionalmente formando un anillo heterocíclico de 5

25 a 7 elementos o un anillo heteroarilo de 5 a 9 elementos que comprende 1 a 3 heteroátomos seleccionados de entre N, O y S como vértices de anillo y se sustituyen con 0 a 3 sustituyentes R^D, en el que R^D se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste de halógeno, F, Cl, Br, I, -NO₂, -CN, -NR^k, -OR^l, -SR^l, -C(O)OR^l, -C(O)NR^l, -NR^lC(O)R^k, -NR^lC(O)OR^m, -X³-NR^k, -X³-OR^l, -X³-SR^l, -X³-C(O)OR^l, -X³-C(O)NR^k, -X³-NR^lC(O)R^k, -X³-NR^lC(O)OR^k, -X³-CN, -X³-NO₂, -S(O)R^m, -S(O)₂R^m, =O, y -R^m, en el que R^l y R^k se selecciona de

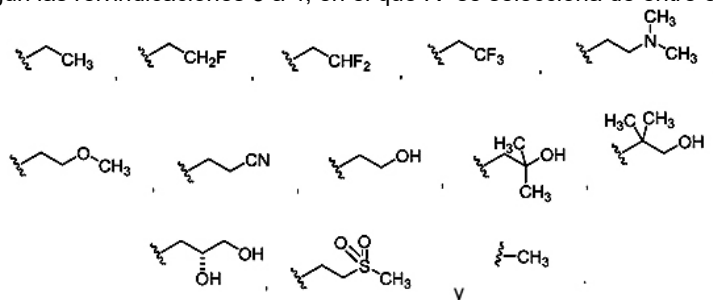
30 entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, heteroalquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, heterocicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo C₁₋₉; y R^m, en cada aparición, se selecciona independientemente de entre alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, heterocicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ y heteroarilo C₁₋₉; X³ se selecciona de entre el grupo que consiste de alqueno C₁₋₄, alqueno C₂₋₄ y alquino C₂₋₄.

35 2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R³ se selecciona de entre el grupo que consiste de morfolín-4-ilo, 3(R)-metil-morfolín-4-ilo, 3(S)-metil-morfolín-4-ilo, 3(R)-etil-morfolín-4-ilo, 3(S)-etil-morfolín-4-ilo, 3(R)-isopropil-morfolín-4-ilo, 3(S)-isopropil-morfolín-4-ilo, 3,3-dimetil-morfolín-4-ilo, 3,4-dihidro-2H-pirán-4-ilo, 3,6-dihidro-2H-pirán-4-ilo, tetrahydro-2H-pirán-4-ilo, 1,4-oxazepán-4-ilo, piperidín-1-ilo, 2-oxa-5-azabicyclo[2.2.1]heptán-5-ilo, 3-oxa-8-azabicyclo[3.2.1]octán-8-ilo, 4-metoxipiperidín-1-ilo y 8-oxa-3-azabicyclo[3.2.1]octán-3-ilo.

40 3. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que D es -NR⁴C(O)NR⁵R⁶, en el que R⁴ es hidrógeno; R⁵ y R⁶ son, cada uno independientemente, un grupo sustituido opcionalmente que se selecciona de entre el grupo que consiste de hidrógeno, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, heteroalquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, heterocicloalquilo C₃₋₇, un heteroarilo de 5 a 6 elementos y fenilo sustituido opcionalmente.

45 4. Compuesto según la reivindicación 3, en el que R⁴ y R⁵ son, cada uno, hidrógeno y R⁶ es un grupo sustituido opcionalmente que se selecciona de entre alquilo C₁₋₆ y haloalquilo C₁₋₆.

5. Compuesto según las reivindicaciones 3 a 4, en el que R⁶ se selecciona de entre el grupo que consiste de:



50

6. Compuesto según la reivindicación 3, en el que R⁴ es hidrógeno y R⁵ es hidrógeno o alquilo C₁₋₃ y R⁶ es un grupo sustituido opcionalmente que se selecciona de entre el grupo que consiste de isoxazol-3-ilo, isoxazol-4-ilo, isoxazol-5-ilo, oxazol-2-ilo, oxazol-4-ilo, oxazol-5-ilo, pirazol-3-ilo, pirazol-4-ilo, pirazol-5-ilo, 1,2,3-oxadiazol-4-ilo, 1,2,3-oxadiazol-5-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2-ilo, 1,3,4-oxadiazol-5-ilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 5-piridilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, 2-oxepanilo, 3-oxepanilo, 2-tetrahidrofuranilo, 3-tetrahidrofuranilo y fenilo sustituidos opcionalmente.
7. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste de: 1-etil-3-(4-(7-metil-6-morfolino-7H-purín-2-il)fenil)urea; (S)-1-etil-3-(4-(7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea; (R)-1-etil-3-(4-(7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea; (S)-1-etil-3-(4-(6-(3-etilmorfolino)-7-metil-7H-purín-2-il)fenil)urea; 1-etil-3-(4-(7-metil-6-(1,4-oxazepán-4-il)-7H-purín-2-il)fenil)urea; (S)-1-etil-3-(4-(7-etil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea; (S)-1-(4-(8-butil-7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)-3-etilurea y (S)-1-etil-3-(4-(8-(2-hidroxiopropán-2-il)-7-metil-6-(3-metilmorfolino)-7H-purín-2-il)fenil)urea.
8. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y un diluyente, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.
9. Utilización de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento del cáncer.
10. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para la utilización en el tratamiento del cáncer.