

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 598 118**

51 Int. Cl.:

**C07D 413/14** (2006.01)

**A61K 31/5377** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.02.2013 PCT/IB2013/051443**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.08.2013 WO13124826**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.02.2013 E 13717317 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2016 EP 2817307**

54 Título: **Compuestos de oxazolidin-2-ona y usos de los mismos como inhibidores de PI3Ks**

30 Prioridad:

**24.02.2012 US 201261602954 P**

**13.12.2012 US 201261736707 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**25.01.2017**

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)  
Lichtstrasse 35  
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**CARAVATTI, GIORGIO;  
FAIRHURST, ROBIN ALEC;  
FURET, PASCAL;  
STAUFFER, FRÉDÉRIC;  
SEILER, FRANK HANS;  
RUEEGER, HEINRICH y  
MCCARTHY, CLIVE**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 598 118 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 de oxazolidin-2-ona y usos de los mismos como inhibidores de PI3Ks

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos de pirimidina sustituidos con oxazolidin-2-ona que actúan como inhibidores de PI3K (fosfatidilinositol-3 cinasa), así como a las composiciones farmacéuticas de los mismos, a los métodos para su elaboración y a sus usos para el tratamiento de estados, enfermedades y trastornos dependientes de PI3K.

Antecedentes de la invención

10 Las fosfatidilinositol-3 cinasas(PI3Ks) comprenden una familia de lípido cinasas que catalizan la transferencia de fosfato a la posición D-3' de los lípidos de inositol para producir fosfoinositol-3-fosfato (PIP), fosfoinositol-3,4-difosfato (PIP<sub>2</sub>), y fosfoinositol-3,4,5-trifosfato (PIP<sub>3</sub>) que, a su vez, actúan como segundos mensajeros en las cascadas de señalización mediante proteínas de acoplamiento que contienen homología con pleckstrina, FYVE, Phox y otros dominios de unión a fosfolípido en una variedad de complejos de señalización a menudo en la membrana plasmática (Vanhaesebroeck *et al.*, *Annu. Rev. Biochem* 70:535 (2001); Katso *et al.*, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17: 615 (2001)). De las dos PI3Ks de clase 1, las PI3Ks de clase 1A son heterodímeros compuestos por una subunidad catalítica p110 (isoformas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ) constitutivamente asociada con una subunidad reguladora que puede ser p85 $\alpha$ , p55 $\alpha$ , p50 $\alpha$ , p85 $\beta$  o p55 $\gamma$ . La subclase de clase 1B tiene un miembro de familia, un heterodímero compuesto por una subunidad catalítica p110 $\gamma$  asociada con una de dos subunidades reguladoras, p101 o p84 (Fruman *et al.*, *Annu Rev. Biochem.* 67: 481 (1998); Suire *et al.*, *Curr. Biol.* 15: 566 (2005)). Los dominios modulares de las subunidades p85/55/50 incluyen los dominios de Homología con Src (SH2) que unen residuos de fosfotirosina en un contexto de secuencia específico sobre las tirosina cinasas citoplásmicas y receptoras activadas, dando como resultado la activación y localización de las PI3Ks de clase 1A. La PI3K de clase 1B se activa directamente mediante los receptores acoplados con proteína-G que unen un repertorio diverso de ligandos peptídicos y no peptídicos (Stefens *et al.*, *Cell* 89: 105 (1997)); Katso *et al.*, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17: 615-675 (2001)). En consecuencia, los productos de fosfolípido resultantes de PI3K de clase I enlazan receptores anteriores con actividades celulares posteriores, incluyendo la proliferación, supervivencia, quimiotaxis, tráfico celular, movilidad, metabolismo, respuestas inflamatorias y alérgicas, transcripción y traducción (Cantley *et al.*, *Cell* 64: 281 (1991); Escobedo y Williams, *Nature* 335:85 (1988); Fantl *et al.*, *Cell* 69: 413 (1992)).

30 En muchos casos, PIP<sub>2</sub> y PIP<sub>3</sub> reclutan Akt, el producto del homólogo humano del oncogén viral *v-Akt*, hacia la membrana plasmática, en donde actúa como un punto nodal para muchas rutas de señalización intracelulares importantes para el crecimiento y la supervivencia (Fantl *et al.*, *Cell* 69: 413-423(1992); Bader *et al.*, *Nature Rev. Cancer* 5: 921 (2005); Vivanco y Sawyer, *Nature Rev. Cancer* 2: 489 (2002)). La regulación aberrante de PI3K, que con frecuencia aumenta la supervivencia a través de la activación de Akt, es uno de los acontecimientos más frecuentes en el cáncer humano, y se ha demostrado que se presenta en múltiples niveles. El gen supresor de tumores *PTEN*, que desfosforila las fosfoinositidas en la posición 3' del anillo de inositol, y al hacerlo de esa manera antagoniza la actividad de PI3K, se suprime funcionalmente en una variedad de tumores. En otros tumores, se amplifican los genes para la isoforma p110 $\alpha$ , *PIK3CA*, y para *Akt*, y se ha demostrado un aumento de la expresión de proteínas de sus productos génicos en varios cánceres humanos. Adicionalmente, se han descrito mutaciones y la translocación de p85 $\alpha$  que sirven para aumentar el complejo p85-p110 en los cánceres humanos. Finalmente, se han descrito mutaciones de cambio de sentido somáticas en *PIK3CA* que activan las rutas de señalización aguas abajo a frecuencias significativas en una amplia diversidad de cánceres humanos (Kang *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 102: 802 (2005); Samuels *et al.*, *Science* 304: 554 (2004); Samuels *et al.*, *Cancer Cell* 7: 561-573 (2005)).

45 En algunos tumores de la isoforma p110 $\beta$ , *PIK3CB* se amplifica o se sobreexpresa. En adición, los estudios indican que los tumores impulsados por la pérdida de *PTEN* pueden ser sensibles a p110 $\beta$  en lugar de p110 $\alpha$ . (Jia *et al.*, *Nature*, 454:776-779 (2008). Wee *et al.*, *PNAS* 105 (35), 13057-13062 (2008); Liu *et al.*, *Nature Rev. Drug Discovery* 8: 627-644 (2009)).

50 Tanto p110 $\delta$  como p110 $\gamma$  se expresan principalmente en el sistema hematopoyético y parecen tener funciones significativas en la señalización de leucocitos (Liu *et al.*, *Blood* 110(4), 1191-1198 (2007)). Sin embargo, también tienen funciones en algunos cánceres (Knobbe *et al.*, *Brain Pathol.* 13, 507-518 (2003); Kang *et al.*, *PNAS* 103(5), 1289-1294 (2006)). La expresión de p110 $\delta$  está restringida a los leucocitos señalando hacia su función potencial en las enfermedades mediadas por leucocitos (Vanhaesebroeck *et al.*, *PNAS* 94(9), 4330-4335 (1997)). p110 $\delta$  se regula por incremento en blastocitos en pacientes con leucemia mieloide aguda, en donde tiene una función clave en la supervivencia celular (Sujobert *et al.*, *Blood* 106(3), 1063-1066 (2005)) indicando su potencial como diana en la leucemia y en otros tumores malignos hematológicos. La activación de p110 $\delta$  tiene una función importante en el desarrollo de tumores malignos de células-B y, por consiguiente, se podría utilizar la inhibición de p110 $\delta$  para tratar los tumores malignos de células-B, tales como leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma no de Hodgkin (NHL),

mieloma de células plasmáticas, y linfoma de Hodgkin (NH) (Castillo *et al.*, *Expert Opin. Investig. Drugs* 21, 15-22 (2012)).

5 Estas observaciones muestran que la desregulación de la fosfoinositol-3 cinasa y los componentes anteriores y posteriores de esta ruta de señalización es una de las desregulaciones más comunes asociadas con los cánceres humanos y las enfermedades proliferativas (Parsons *et al.*, *Nature* 436:792 (2005); Hennessey *et al.*, *Nature Rev. Drug Disc.* 4: 988-1004 (2005)).

La solicitud de patente internacional publicada WO2007/084786 describe moléculas de pirimidina sustituidas que inhiben PI3K.

#### Sumario de la invención

10 Sigue existiendo una necesidad de compuestos que inhiban la actividad de más de una de las isoformas de PI3K de clase I (alfa, beta, delta y gamma), debido a que se considera que estos compuestos tienen la capacidad de evitar los mecanismos de adaptación debido a la reconexión de la ruta a través de las otras isoformas, comparándose con los compuestos con una especificidad única, por ejemplo, la especificidad para un miembro de la familia de PI3K de clase I.

15 También puede ser ventajoso el aumento de la potencia de inhibición de al menos una de las isoformas de PI3K (es decir, que inhiben al menos una isoforma de PI3K a concentraciones más bajas, en especial una o ambas de las isoformas alfa y beta). En el caso de los tumores desprovistos de PTEN, por ejemplo, aunque la isoforma impulsora sea p110b, una eficacia completa podría requerir de la participación de las otras isoformas de clase IA. También existe una necesidad de compuestos que inhiban potentemente la cinasa PI3Kalfa, por ejemplo, para el tratamiento de los cánceres que se impulsan principalmente por las formas oncogénicas del gen que codifica para p110a (por ejemplo, H1047R o E545K de PIK3CA), así como tumores que muestran un aumento en el número de copias de PIK3CA.

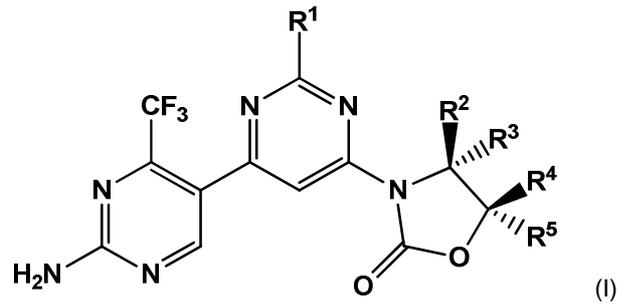
25 También son deseables los compuestos que muestran una inhibición selectiva a favor de una o más isoformas de PI3K (por ejemplo, al menos dos, preferiblemente tres de las isoformas alfa, beta, delta y gamma, por ejemplo, las isoformas alfa, beta y delta), comparándose con mTOR, debido a que el efecto inhibitor de mTOR generalmente reduce la ventana de seguridad, más especialmente cuando el compuesto inhibe mTOR más fuertemente que PI3K (proporción desfavorable).

30 Adicionalmente, se desean inhibidores de PI3K que tienen un efecto reducido, en particular, que no poseen un efecto inespecífico, tal como enlázela unión de tubulina, debido a que ese efecto puede provocar efectos de toxicidad no relacionados con la inhibición de PI3K específica y, por consiguiente, estos compuestos pueden requerir un control de la dosificación cuidadoso adicional para asegurar que el efecto terapéutico sea controlable y que se pueda atribuir a la inhibición de PI3K. Por consiguiente, existe una necesidad de compuestos que tengan un efecto inespecífico reducido o débil, o que no tengan ningún efecto inespecífico.

35 Deseablemente, se buscan compuestos que exhiban una mejor inhibición de al menos una (por ejemplo, PI3Kalfa), pero en especial dos (por ejemplo, PI3Kalfa y PI3Kbeta) o tres (por ejemplo, PI3Kalfa, PI3Kbeta y PI3Kdelta), o de todas las cuatro PI3Ks de clase I (PI3Kalfa, PI3Kbeta, PI3Kdelta y PI3Kgamma), así como un efecto inespecífico reducido (en particular, una ausencia de ese efecto).

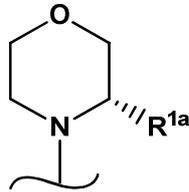
40 La presente invención proporciona compuestos y composiciones farmacéuticas de los mismos, cuyos compuestos son inhibidores de PI3K. La invención también proporciona combinaciones que comprenden estos compuestos. La invención proporciona además los compuestos de la invención, para su uso en métodos para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad mediada por PI3K, tal como cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor de PI3K de la invención. La invención también proporciona productos intermedios útiles en la preparación de los compuestos de la invención.

La presente invención proporciona, en un aspecto, un compuesto de fórmula (I)



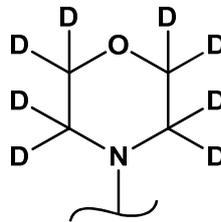
en donde,

$R^1 =$



5 en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$ ,

o  $R^1 =$



en donde D = deuterio;

$R^2 = H$ , y  $R^3 = H$ ;

10  $R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ; o

$R^4 = -CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ ;

o

$R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

15  $R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH(OH)CH_3$  o  $-CH_2C(OH)(CH_3)_2$  y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH(OH)CH_3$  o  $-CH_2C(OH)(CH_3)_2$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

$R^3 = H$ , y  $R^4 = H$ ;

$R^2$  y  $R^5$  se unen y forman  $-(CH_2)_4-$ ;

o

5  $R^4 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

$R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

$R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ;

o

$R^2 = H$ , y  $R^4 = H$ ; y

10  $R^3$  y  $R^5$  se unen y forman el grupo



o el grupo



o

15  $R^3 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

$R^2$  y  $R^4$  se unen y forman el grupo



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La línea ondulada indica el punto de unión de la morfolina y también, cuando está presente, el punto de unión de otros grupos mostrados, al resto de la molécula.

20 A lo largo de toda la divulgación del presente documento el signo “=” tiene el significado convencional de “igual” y, en las definiciones de la invención, puede reemplazarse por “es igual a” o “es” o “representa”. A modo de ejemplo, la frase “ $R^3 = H$ ” se puede leer como “ $R^3$  es H”, o “ $R^3$  representa H”.

Los compuestos de fórmula (I) se consideran adecuados, por ejemplo, para utilizarse en el tratamiento de las enfermedades dependientes de PI3 cinasa, en especial de las enfermedades proliferativas, tales como cáncer, por

ejemplo, enfermedades tumorales.

5 La invención puede apreciarse más completamente haciendo referencia a la siguiente descripción, incluyendo las definiciones mencionadas y los ejemplos concluyentes. Las realizaciones descritas deben tomarse de manera independiente, colectiva, o en cualquier combinación, a menos que se informe de otra manera. Según se utilizan en el presente documento, los términos “incluyendo”, “conteniendo” y “comprendiendo” se utilizan en el presente documento en su sentido abierto, no limitante.

10 A menos que se especifique de otra manera, el término “compuestos de la presente invención” o “un compuesto de la presente invención”, y similares, se refiere a los compuestos de fórmula (I), y de las subfórmulas de la misma (por ejemplo, las fórmulas (IA) y (IA')), y a las sales de los compuestos, así como a los compuestos isotópicamente marcados (incluyendo las sustituciones con deuterio).

Los compuestos de la invención tienen la estereoquímica ilustrada en la fórmula (I), y en las subfórmulas de la misma, a menos que se informe de otra manera.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es la gráfica de calorimetría de exploración diferencial del material cristalino del ejemplo 10.

15 La figura 2 es la gráfica de difracción en polvo de rayos-X del material cristalino del ejemplo 10.

La figura 3 es la gráfica de calorimetría de exploración diferencial del material cristalino del ejemplo 18, lote A.

La figura 4 es la gráfica de difracción en polvo de rayos-X del material cristalino del ejemplo 18, lote A.

La figura 5 es la gráfica de calorimetría de exploración diferencial del material cristalino del ejemplo 18, lote B.

La figura 6 es la gráfica de difracción en polvo de rayos-X del material cristalino del ejemplo 18, lote B.

20 La figura 7 es la gráfica de calorimetría de exploración diferencial del material cristalino del ejemplo 18, lote C.

La figura 8 es la gráfica de difracción en polvo de rayos-X del material cristalino del ejemplo 18, lote C.

La figura 9 es la gráfica de calorimetría de exploración diferencial del material cristalino del ejemplo 18, lote D.

La figura 10 es la gráfica de difracción en polvo de rayos-X del material cristalino del ejemplo 18, lote D.

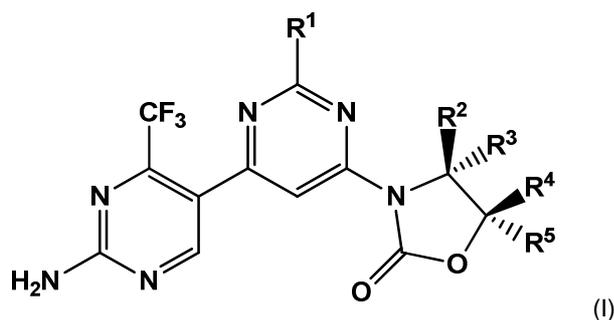
La figura 11 es la gráfica de calorimetría de exploración diferencial del material cristalino del ejemplo 18, lote E.

25 La figura 12 es la gráfica de difracción en polvo de rayos-X del material cristalino del ejemplo 18, lote E.

Descripción detallada

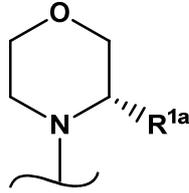
30 En el presente documento se describen diferentes realizaciones de la invención. Se reconocerá que las características especificadas en cada realización pueden combinarse con otras características especificadas para proporcionar otras realizaciones de la presente invención. También se describen diversas realizaciones de la invención (enumeradas) en el presente documento.

La presente invención proporciona, en un aspecto, un compuesto según la fórmula (I):



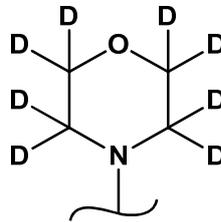
en donde,

$R^1 =$



en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$ ,

5 o  $R^1 =$



en donde D = deuterio;

$R^2 = H$ , y  $R^3 = H$ ;

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ; o

10  $R^4 = -CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ ;

o

$R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH(OH)CH_3$  o  $-CH_2C(OH)(CH_3)_2$ , y  $R^5 = H$ , o

15  $R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH(OH)CH_3$  o  $-CH_2C(OH)(CH_3)_2$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

$R^3 = H$ , y  $R^4 = H$ ;

$R^2$  y  $R^5$  se unen y forman  $-(CH_2)_4-$ ;

20 o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

$R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

$R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ;

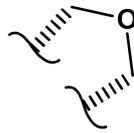
o

$R^2 = H$ , y  $R^4 = H$ ; y

$R^3$  y  $R^5$  se unen y forman el grupo



5 o el grupo



o

$R^3 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

$R^2$  y  $R^4$  se unen y forman el grupo

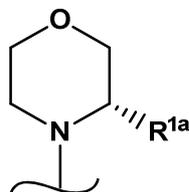


10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

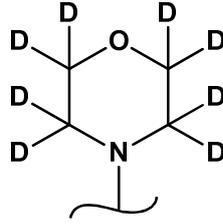
En una realización preferida de ese aspecto, se proporciona un compuesto según la fórmula (I) en donde,

$R^1 =$



15 en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

o  $R^1 =$



en donde D = deuterio;

$R^2 = H$ , y  $R^3 = H$ ;

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ; o

5  $R^4 = -CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ ;

o

$R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH(OH)CH_3$  o  $-CH_2C(OH)(CH_3)_2$ , y  $R^5 = H$ , o

10  $R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

$R^3 = H$ , y  $R^4 = H$ ;

$R^2$  y  $R^5$  se unen y forman  $-(CH_2)_4-$ ;

15 o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

$R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

$R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ;

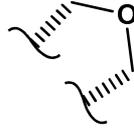
o

20  $R^2 = H$ , y  $R^4 = H$ ; y

$R^3$  y  $R^5$  se unen y forman el grupo



o el grupo



o

$R^3 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

$R^2$  y  $R^4$  se unen y forman el grupo

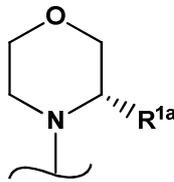


5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

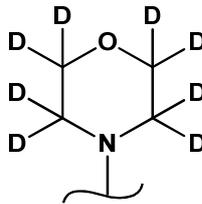
En una realización más preferida de ese aspecto, se proporciona un compuesto según la fórmula (I) en donde,

$R^1 =$



10 en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

o  $R^1 =$



en donde D = deuterio;

$R^2 = H$ , y  $R^3 = H$ ;

15  $R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ; o

$R^4 = -CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ ;

o

$R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3, -CH_2OH, -CH_2CH_2OH, -CH_2CH(OH)CH_3$  o  $-CH_2C(OH)(CH_3)_2$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

5  $R^3 = H$ , y  $R^4 = H$ ;

$R^2$  y  $R^5$  se unen y forman  $-(CH_2)_4-$ ;

o

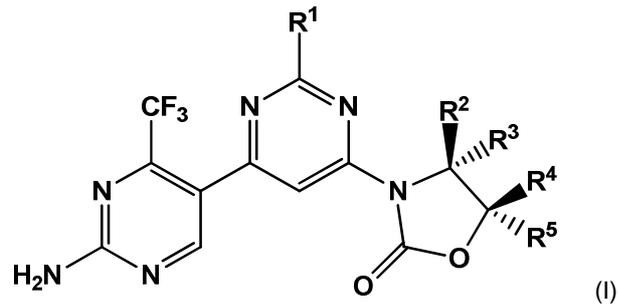
$R^4 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

$R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

10  $R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ;

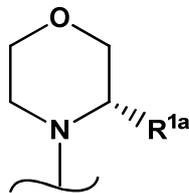
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización preferida adicional, se proporciona un compuesto de fórmula (I)



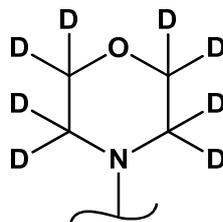
en donde,

15  $R^1 =$



en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

o  $R^1 =$



en donde D = deuterio;

$R^2 = H$ , y  $R^3 = H$ ;

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ; o

5  $R^4 = -CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ ;

o

$R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

10  $R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

$R^3 = H$ , y  $R^4 = H$ ;

$R^2$  y  $R^5$  se unen y forman  $-(CH_2)_4-$ ;

15 o

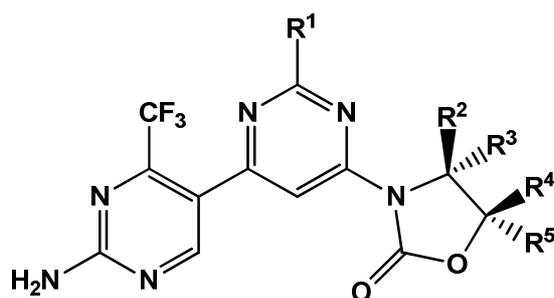
$R^4 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

$R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

$R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

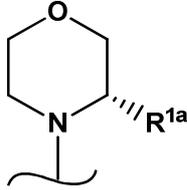
20 En una realización preferida alternativa adicional, se proporciona un compuesto según la fórmula (I)



(I)

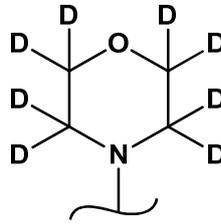
en donde,

$R^1 =$



en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

5 o  $R^1 =$



en donde D = deuterio;

$R^2$  y  $R^3 = H$ ;

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ; o

10  $R^4 = -CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ ;

o

$R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

15  $R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

$R^3 = R^4 = H$ ;

$R^2$  y  $R^5$  se unen y forman  $-(CH_2)_4-$ ;

20 o

$R^4 = R^5 = H$ ; y

$R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

$R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Con respecto a la fórmula (I) en cualquiera de las realizaciones anteriormente mencionadas, se proporciona la siguiente descripción detallada.

$R^{1a}$

5 En una realización,  $R^{1a}$  es H.

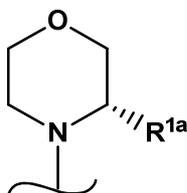
En otra realización,  $R^{1a}$  es  $-CH_3$ .

En una realización preferida  $R^{1a}$  es H.

Otras realizaciones de la presente invención, se describen a continuación.

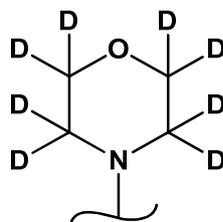
En una realización,

10  $R^1 =$



en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

o  $R^1 =$



15 en donde D = deuterio;

$R^2 = -CH_3, -CH_2OH, -CH_2OCH_3, -CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3, -CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

20  $R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

$R^3 = H$ , y  $R^4 = H$ ;

$R^2$  y  $R^5 = -(CH_2)_4-$ ;

o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

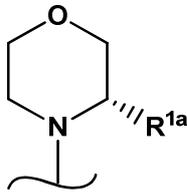
$R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

$R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ,

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

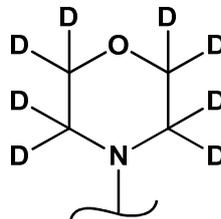
En otra realización,

$R^1 =$



en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

10 o  $R^1 =$



en donde D = deuterio;

$R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

15  $R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

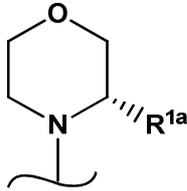
20  $R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

$R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

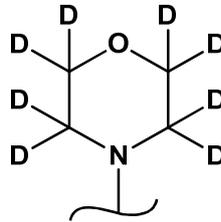
En una realización aun adicional,

R<sup>1</sup> =



en donde R<sup>1a</sup> = H o -CH<sub>3</sub>

5 o R<sup>1</sup> =



en donde D = deuterio;

R<sup>2</sup> = -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH o -CH<sub>2</sub>OC(O)H;

R<sup>3</sup> = H;

10 R<sup>4</sup> = -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OH o -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>5</sup> = H, o

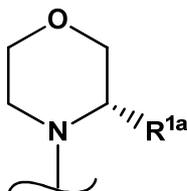
R<sup>4</sup> = H, y R<sup>5</sup> = -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>OH, o

R<sup>4</sup> = H o -CH<sub>3</sub> y R<sup>5</sup> = H o -CH<sub>3</sub>,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización aun adicional,

15 R<sup>1</sup> =



en donde R<sup>1a</sup> = H o -CH<sub>3</sub>

R<sup>2</sup> = -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH o -CH<sub>2</sub>OC(O)H;

R<sup>3</sup> = H;

20 R<sup>4</sup> = -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OH o -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>5</sup> = H, o

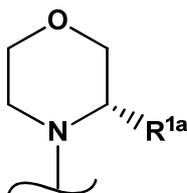
$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización,

5  $R^1 =$



en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

$R^2 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ;

$R^3 = H$ ;

10  $R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

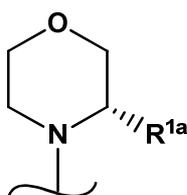
$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, preferiblemente,

15  $R^1 =$



en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

$R^2 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ;

$R^3 = H$ ;

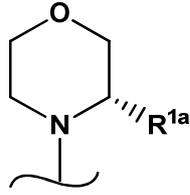
20  $R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = CH_3$  o  $-CH_2OH$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, preferiblemente,

$R^1 =$



en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$ ,

$R^2 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ;

$R^3 = H$ ;

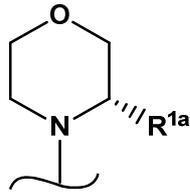
5  $R^4 = -CH_3$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y

$R^5 = H$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización,

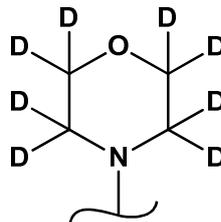
$R^1 =$



10

en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

o  $R^1 =$



en donde D = deuterio;

15  $R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2OC(O)H$ ;

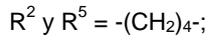
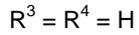
$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

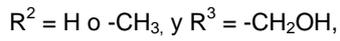
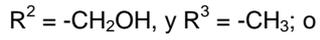
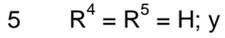
$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

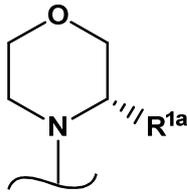


o



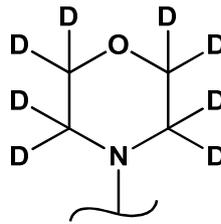
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización,

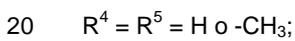
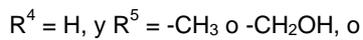
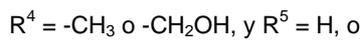
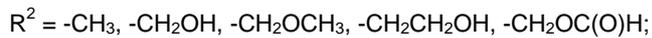


en donde  $R^{1a} = H \text{ o } -CH_3$

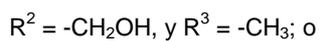
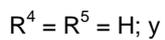
o  $R^1 =$



15 en donde D = deuterio;



o

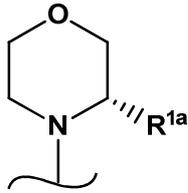


$R^2 = \text{H}$  o  $-\text{CH}_3$ , y  $R^3 = -\text{CH}_2\text{OH}$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización aun adicional,

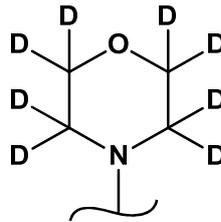
$R^1 =$



5

en donde  $R^{1a} = \text{H}$  o  $-\text{CH}_3$

o  $R^1 =$



en donde D = deuterio;

10  $R^2 = -\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{H}$ ;

$R^3 = \text{H}$ ;

$R^4 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , y  $R^5 = \text{H}$ , o

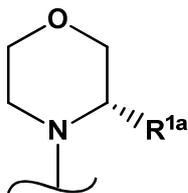
$R^4 = \text{H}$ , y  $R^5 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , o

$R^4 = R^5 = \text{H}$  o  $-\text{CH}_3$ ,

15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización aun adicional,

$R^1 =$



en donde  $R^{1a} = \text{H}$  o  $-\text{CH}_3$ ,

$R^2 = -CH_3, -CH_2OH, -CH_2OCH_3, -CH_2CH_2OH, -CH_2OC(O)H;$

$R^3 = H;$

$R^4 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

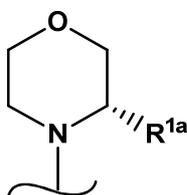
$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

5  $R^4 = R^5 = H$  o  $-CH_3,$

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización,

$R^1 =$



10 en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

$R^2 = -CH_3$  o  $-CH_2OH;$

$R^3 = H;$

$R^4 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

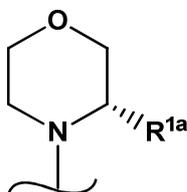
$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

15  $R^4 = R^5 = H$  o  $-CH_3,$

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, preferiblemente,

$R^1 =$



20 en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3,$

$R^2 = -CH_3$  o  $-CH_2OH;$

$R^3 = H;$

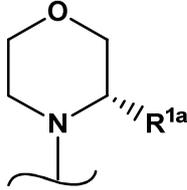
$R^4 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = CH_3$  o  $-CH_2OH,$

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, preferiblemente,

$R^1 =$



5 en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$ ,

$R^2 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ;

$R^3 = H$ ;

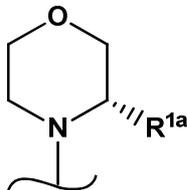
$R^4 = -CH_3$ , y

$R^5 = H$ ,

10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización preferida,

$R^1 =$



en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

15  $R^2 = -CH_2OH$ ;

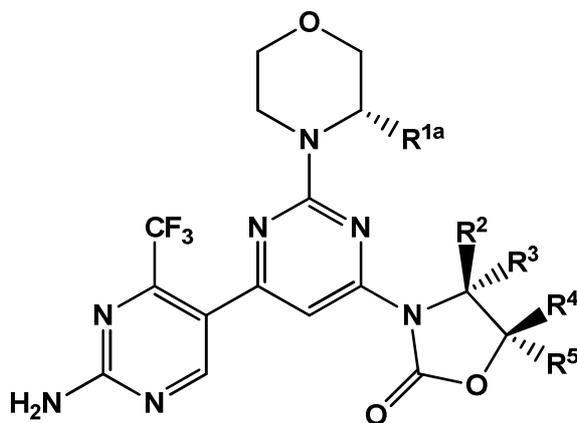
$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3$ , y

$R^5 = H$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

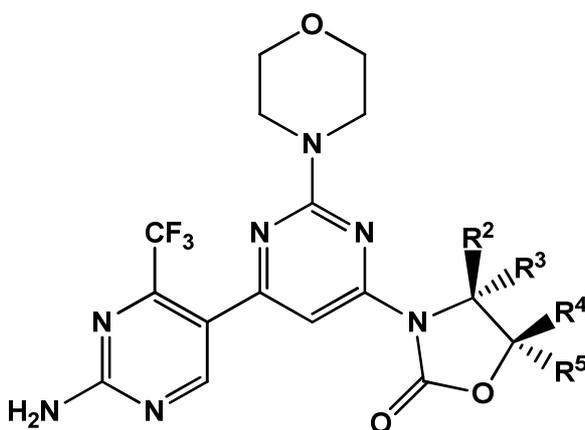
20 En una realización, se proporcionan los compuestos de la siguiente fórmula (IA'):



(IA')

en donde  $R^{1a}$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  y  $R^5$ , son como se describen en cualquiera de las realizaciones anteriormente mencionadas.

5 En una realización,  $R^{1a}$  puede ser hidrógeno, proporcionando por consiguiente, los compuestos de la siguiente fórmula (IA):



(IA)

en donde,

$R^2 = -CH_3, -CH_2OH, -CH_2OCH_3, -CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

10  $R^4 = -CH_3, -CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización de los compuestos de fórmula (IA),

15  $R^2 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3, -CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

5 En otra realización de los compuestos de fórmula (IA),

$R^2 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3, -CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = CH_3$  o  $-CH_2OH$ ,

10 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En otra realización de los compuestos de fórmula (IA),

$R^2 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y

15  $R^5 = H$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En otra realización de los compuestos de fórmula (IA),

$R^2 = -CH_3$ ;

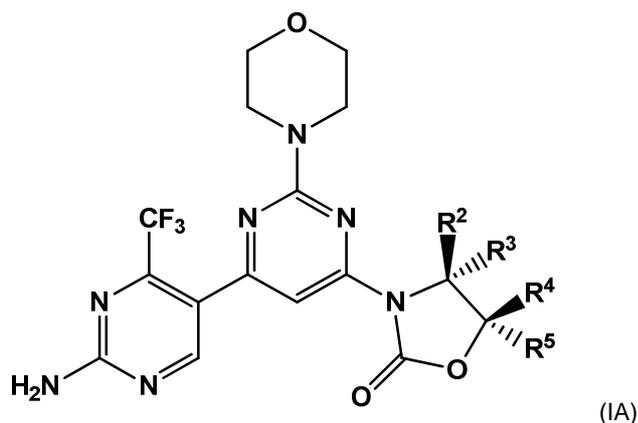
$R^3 = H$ ;

20  $R^4 = -CH_2CH_2OH$ , y

$R^5 = H$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

De manera alternativa, en una realización, en donde  $R^{1a}$  puede ser hidrógeno, se proporcionan los compuestos de la siguiente fórmula (IA):



en donde,

$R^2 = -\text{CH}_3, -\text{CH}_2\text{OH}, -\text{CH}_2\text{OCH}_3, -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}, -\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{H};$

$R^3 = \text{H};$

5  $R^4 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , y  $R^5 = \text{H}$ , o

$R^4 = \text{H}$ , y  $R^5 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , o

$R^4 = R^5 = \text{H}$  o  $-\text{CH}_3$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En una realización de los compuestos de fórmula (IA),

10  $R^2 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH};$

$R^3 = \text{H};$

$R^4 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , y  $R^5 = \text{H}$ , o

$R^4 = \text{H}$ , y  $R^5 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , o

$R^4 = R^5 = \text{H}$  o  $-\text{CH}_3$ ,

15 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En otra realización de los compuestos de fórmula (IA),

$R^2 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH};$

$R^3 = \text{H};$

$R^4 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , y  $R^5 = \text{H}$ , o

20  $R^4 = \text{H}$ , y  $R^5 = \text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En otra realización de los compuestos de fórmula (IA),

$R^2 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH};$

$R^3 = \text{H};$

$R^4 = -CH_3$ , y

$R^5 = H$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En una realización preferida de los compuestos de fórmula (IA),

5  $R^2 = -CH_2OH$ ;

$R^3 = H$ ;

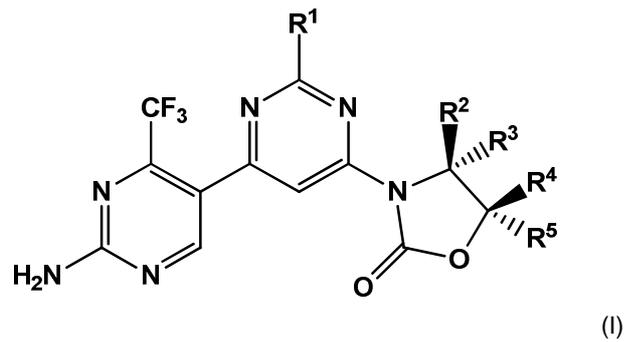
$R^4 = -CH_3$ , y

$R^5 = H$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

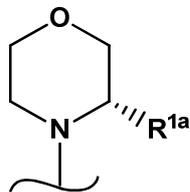
10 Otras realizaciones (enumeradas) se proporcionan como sigue:

Realización 1. Un compuesto de fórmula (I)



en donde,

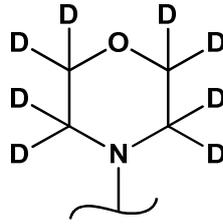
$R^1 =$



15

en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$ ,

o  $R^1 =$



en donde D = deuterio;

$R^2 = H$ , y  $R^3 = H$ ;

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ; o

5  $R^4 = -CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ ;

o

$R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH(OH)CH_3$  o  $-CH_2C(OH)(CH_3)_2$ , y  $R^5 = H$ , o

10  $R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH(OH)CH_3$  o  $-CH_2C(OH)(CH_3)_2$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

$R^3 = H$ , y  $R^4 = H$ ;

$R^2$  y  $R^5$  se unen y forman  $-(CH_2)_4-$ ;

15 o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

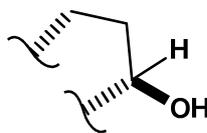
$R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

$R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ;

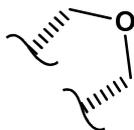
o

20  $R^2 = H$ , y  $R^4 = H$ ; y

$R^3$  y  $R^5$  se unen y forman el grupo



o el grupo



o

$R^3 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

$R^2$  y  $R^4$  se unen y forman el grupo



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Realización 2. Un compuesto según la realización 1, en donde,

$R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

10  $R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

$R^3 = H$ , y  $R^4 = H$ ;

15  $R^2$  y  $R^5 = -(CH_2)_4-$ ;

o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

$R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

$R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ,

20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Realización 3. Un compuesto según la realización 1 o la realización 2, en donde,

$R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

5  $R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

$R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Realización 4. Un compuesto según cualquiera de las realizaciones 1 a 3, en donde,

$R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

10  $R^3 = H$ ;

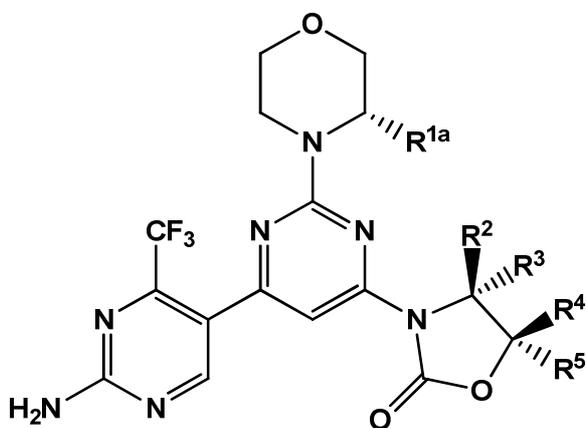
$R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 Realización 5. Un compuesto según cualquiera de las realizaciones 1 a 4, de fórmula (IA')

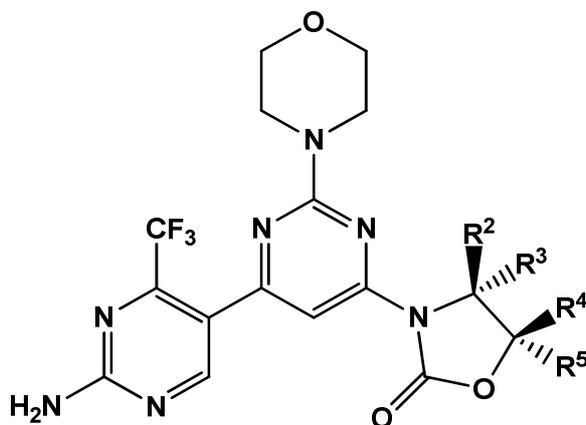


(IA'),

en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Realización 6. Un compuesto según la realización 1, de fórmula (IA):



(IA)

en donde,

$R^2 = -\text{CH}_3, -\text{CH}_2\text{OH}, -\text{CH}_2\text{OCH}_3, -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$  o  $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{H}$ ;

$R^3 = \text{H}$ ;

5  $R^4 = -\text{CH}_3, -\text{CH}_2\text{OH}$  o  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , y  $R^5 = \text{H}$ , o

$R^4 = \text{H}$ , y  $R^5 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , o

$R^4 = \text{H}$  o  $-\text{CH}_3$  y  $R^5 = \text{H}$  o  $-\text{CH}_3$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Realización 7. Un compuesto según la realización 6, en donde,

10  $R^2 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ;

$R^3 = \text{H}$ ;

$R^4 = -\text{CH}_3, -\text{CH}_2\text{OH}$  o  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , y  $R^5 = \text{H}$ , o

$R^4 = \text{H}$ , y  $R^5 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , o

$R^4 = \text{H}$  o  $-\text{CH}_3$  y  $R^5 = \text{H}$  o  $-\text{CH}_3$ ,

15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Realización 8. Un compuesto según la realización 7, en donde,

$R^2 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ;

$R^3 = \text{H}$ ;

$R^4 = -\text{CH}_3, -\text{CH}_2\text{OH}$  o  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , y  $R^5 = \text{H}$ , o

20  $R^4 = \text{H}$ , y  $R^5 = \text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Realización 9. Un compuesto según la realización 8, en donde,

$R^2 = -\text{CH}_3$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ;

R<sup>3</sup> = H;

R<sup>4</sup> = -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, y

R<sup>5</sup> = H,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 Realización 10. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la realización 1, que se selecciona de
- (S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-metil-oxazolidin-2-ona,
- (S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5,5-dimetil-oxazolidin-2-ona,
- 3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-4,5'-bipirimidin-6-il)-4-(hidroximetil)-4-metiloxazolidin-2-ona racémica,
- 10 (S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-4,5'-bipirimidin-6-il)-4-(hidroximetil)-4-metiloxazolidin-2-ona (estereoquímica absoluta no determinada),
- (R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-4,5'-bipirimidin-6-il)-4-(hidroximetil)-4-metiloxazolidin-2-ona (estereoquímica absoluta no determinada),
- (3aS,7aS)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-hexahidro-benzo-oxazol-2-ona,
- 15 (S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-metoximetil-oxazolidin-2-ona,
- (4S,5S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona,
- (S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-oxazolidin-2-ona,
- (4S,5R)-3-(2'-amino-2-(D8-morfolino-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona,
- (S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-(2-hidroxi-etil)-oxazolidin-2-ona,
- 20 (4S,5R)-3-[2'-amino-2-((S)-3-metil-morfolino-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona,
- (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-metil-2-oxo-oxazolidin-4-il-metil-éster del ácido fórmico,
- (S)-3-[2'-amino-2-((S)-3-metil-morfolino-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-metil-oxazolidin-2-ona,
- 25 (S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroximetil-oxazolidin-2-ona,
- (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroximetil-4-metil-oxazolidin-2-ona,
- (S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-metil-oxazolidin-2-ona,
- (S)-3-(2'-amino-2-D8-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-4-metiloxazolidin-2-ona,
- (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona,
- 30 (4S,5S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroximetil-4-metil-oxazolidin-2-ona,
- (R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroximetil-oxazolidin-2-ona,
- (3aR,6aR)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-tetrahidrofuro-[3,4-d]-oxazol-2(3H)-ona,
- (3aR\*,6R\*,6aR\*)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-6-hidroxi-hexahidro-2H-ciclopenta[d]oxazol-2-ona racémica,

(3aR,6R,6aR)(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-6-hidroxihexahidro-2H-ciclopenta[d]oxazol-2-ona,

(3aS,6S,6aS)(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-6-hidroxihexahidro-2H-ciclopenta[d]oxazol-2-ona, y

5 (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-(2-hidroxietil)-4-metiloxazolidin-2-ona.

Realización 11. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la realización 1, que se selecciona de (4S,5R)-3-[2'-amino-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il]-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona,

(4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona, y

10 (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-(2-hidroxietil)-4-metiloxazolidin-2-ona.

Realización 12. Un compuesto que se selecciona de (4S,5R)-3-[2'-amino-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il]-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona,

(4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona, y

(4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-(2-hidroxietil)-4-metiloxazolidin-2-ona.

15 Realización 13. El compuesto (4S,5R)-3-[2'-amino-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il]-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona.

Realización 14. El compuesto (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona.

20 Realización 15. El compuesto (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-(2-hidroxietil)-4-metiloxazolidin-2-ona.

Realización 16. Una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la realización 13, realización 14, o realización 15.

25 En aun otro aspecto de la presente invención, se proporciona una forma cristalina del compuesto obtenido a partir del ejemplo 10, que tiene un espectro de difracción de rayos-X sustancialmente igual al espectro de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la figura 2.

En aun otro aspecto de la presente invención, se proporciona una forma cristalina del compuesto obtenido a partir del ejemplo 18, lote A, que tiene un espectro de difracción de rayos-X sustancialmente igual al espectro de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la figura 4.

30 En aun otro aspecto de la presente invención, se proporciona una forma cristalina del compuesto obtenido a partir del ejemplo 18, lote B, que tiene un espectro de difracción de rayos-X sustancialmente igual al espectro de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la figura 6.

En aun otro aspecto de la presente invención, se proporciona una forma cristalina del compuesto obtenido a partir del ejemplo 18, lote C, que tiene un espectro de difracción de rayos-X sustancialmente igual al espectro de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la figura 8.

35 En aun otro aspecto de la presente invención, se proporciona una forma cristalina del compuesto obtenido a partir del ejemplo 18, lote D, que tiene un espectro de difracción de rayos-X sustancialmente igual al espectro de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la figura 10.

40 En aun otro aspecto de la presente invención, se proporciona una forma cristalina del compuesto obtenido a partir del ejemplo 18, lote E, que tiene un espectro de difracción de rayos-X sustancialmente igual al espectro de difracción en polvo de rayos-X mostrado en la figura 12.

El término "esencialmente igual", con referencia a las posiciones de los picos de difracción de rayos-X, significa que se tienen en cuenta la posición de pico típica y la variabilidad de la intensidad. Por ejemplo, un experto en la técnica apreciará que las posiciones de picos ( $2\theta$ ) mostrarán alguna variabilidad inter-aparatos, típicamente de tanto como  $0.2^\circ$ . Además, un experto en la técnica apreciará que las intensidades de picos relativas mostrarán una variabilidad

inter-aparatos, así como una variabilidad debida al grado de cristalinidad, a la orientación preferida, a la superficie de muestra preparada, y a otros factores conocidos por los expertos en la técnica, y deben tomarse como medidas cualitativas solamente.

5 Las realizaciones específicas se proporcionan por los compuestos específicos ejemplificados descritos en el presente documento.

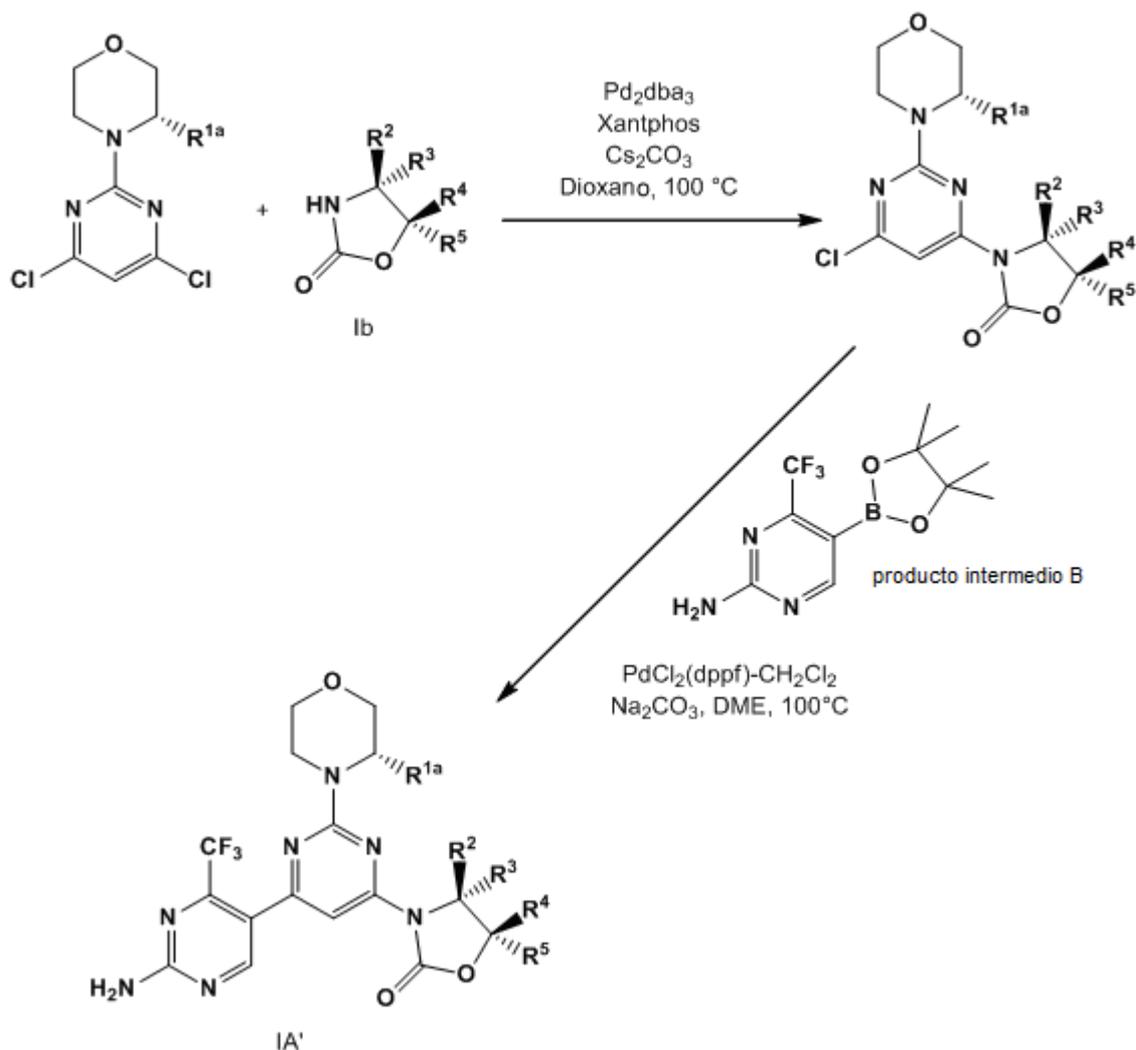
La presente invención proporciona compuestos y formulaciones farmacéuticas de los mismos que son útiles en el tratamiento de las enfermedades, los estados y/o los trastornos en los que PI3K contribuye a la patogénesis de la enfermedad descrita en el presente documento.

10 Los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse mediante las rutas sintéticas que incluyen procesos análogos a aquéllos bien conocidos en las técnicas químicas, en particular a la luz de la descripción contenida en el presente documento. Los materiales de partida están generalmente disponibles en las fuentes comerciales, tales como Aldrich Chemicals (Milwaukee, Wis.) o se preparan fácilmente empleando los métodos bien conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, se preparan mediante los métodos descritos en términos generales en Louis F. Fieser y Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, volúmenes 1 a 19, Wiley, Nueva York (Ediciones 1967-1999),  
15 o Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlín, incluyendo los suplementos (también disponibles por medio de la base de datos en línea Beilstein)).

20 Para propósitos ilustrativos, los esquemas de reacción ilustrados más adelante proporcionan las rutas potenciales para sintetizar los compuestos de la presente invención así como los productos intermedios clave. Para conocer una descripción más detallada de las etapas de reacción individuales, véase la sección de ejemplos más adelante. Los expertos en la técnica apreciarán que pueden utilizarse otras rutas sintéticas para sintetizar los compuestos de la invención. Aunque en los esquemas se ilustran materiales de partida y reactivos específicos y se discuten más adelante, pueden sustituirse fácilmente por otros materiales de partida y reactivos para proporcionar una variedad de derivados y/o condiciones de reacción. En adición, muchos de los compuestos preparados mediante los métodos descritos más adelante pueden modificarse adicionalmente a la luz de esta divulgación utilizando la química  
25 convencional bien conocida por los expertos en la técnica.

30 En la preparación de los compuestos de la presente invención, puede ser necesaria la protección de la funcionalidad remota (por ejemplo, los grupos amino, hidroxilo o carboxilo primarios o secundarios) de los productos intermedios. La necesidad de dicha protección variará dependiendo de la naturaleza de la funcionalidad remota y de las condiciones de los métodos de preparación. Los grupos protectores de amino adecuados (NH-Pg) incluyen acetilo, trifluoro-acetilo, terc-butoxicarbonilo (BOC), benciloxicarbonilo (CBz), y 9-fluorenilmetileno-oxycarbonilo (Fmoc). Los grupos protectores de hidroxilo adecuados incluyen los trialkilsilil-éteres, en donde uno o dos de los grupos alquilo pueden reemplazarse por fenilo. Los grupos protectores de carboxilo (C(O)O-Pg) adecuados incluyen los alquil-ésteres (por ejemplo, metilo, etilo, o terc-butilo), los bencil-ésteres, los silil-ésteres, y similares. La necesidad de esta  
35 protección se determina fácilmente por un experto en la técnica. Para una descripción general de los grupos protectores y su uso, véase T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, Nueva York, 1991.

El esquema 1 (a continuación) describe una ruta potencial para producir los compuestos de fórmula (IA'), en donde R<sup>1</sup>-R<sup>5</sup> son como se definen anteriormente. En los casos en los que está presente un grupo protector, se agrega una etapa de desprotección, para convertir el compuesto IA' protegido en el compuesto IA'.



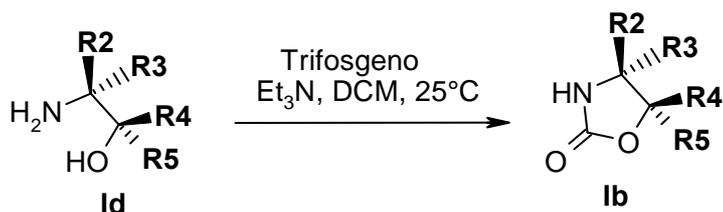
Esquema 1

De manera alternativa, los compuestos de fórmula (IA') también pueden sintetizarse invirtiendo las etapas mostradas en el esquema 1, es decir, primero el acoplamiento de Suzuki, seguido por la reacción de Buchwald con el compuesto Ib.

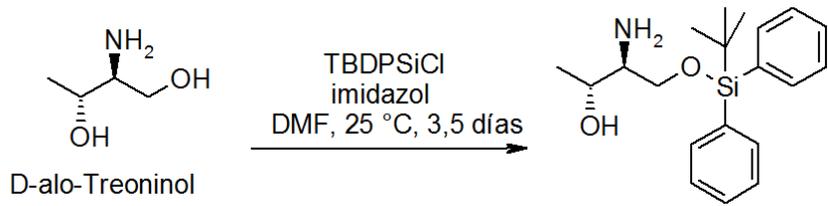
5

Para aquellas oxazolidin-2-onas Ib que no estén comercialmente disponibles, el esquema 2 a continuación, proporciona un proceso para la preparación de dichos productos intermedios en donde R<sup>2</sup> a R<sup>5</sup> son como se definen anteriormente. Si está presente un grupo hidroxilo primario en cualquiera de R<sup>2</sup> a R<sup>5</sup>, precede una etapa de protección selectiva, como se ejemplifica en el esquema 3. El grupo amina puede protegerse en una etapa precedente adicional como se muestra en el esquema 4, en donde también se muestra un grupo protector de hidroxilo diferente.

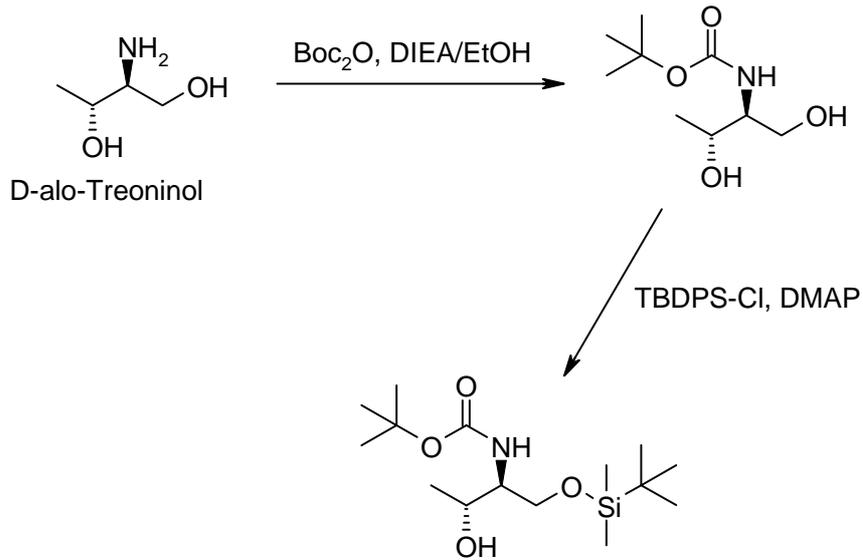
10



Esquema 2



Esquema 3



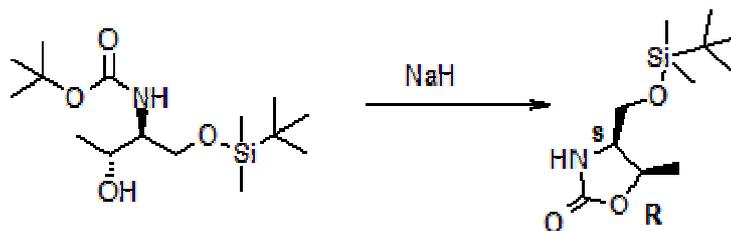
Esquema 4

- 5 El producto protegido del esquema 3 puede ciclarse con trifosgeno como se muestra en general en el esquema 2, y como se muestra específicamente en el esquema 5, para proporcionar un ejemplo de un producto intermedio Ib.



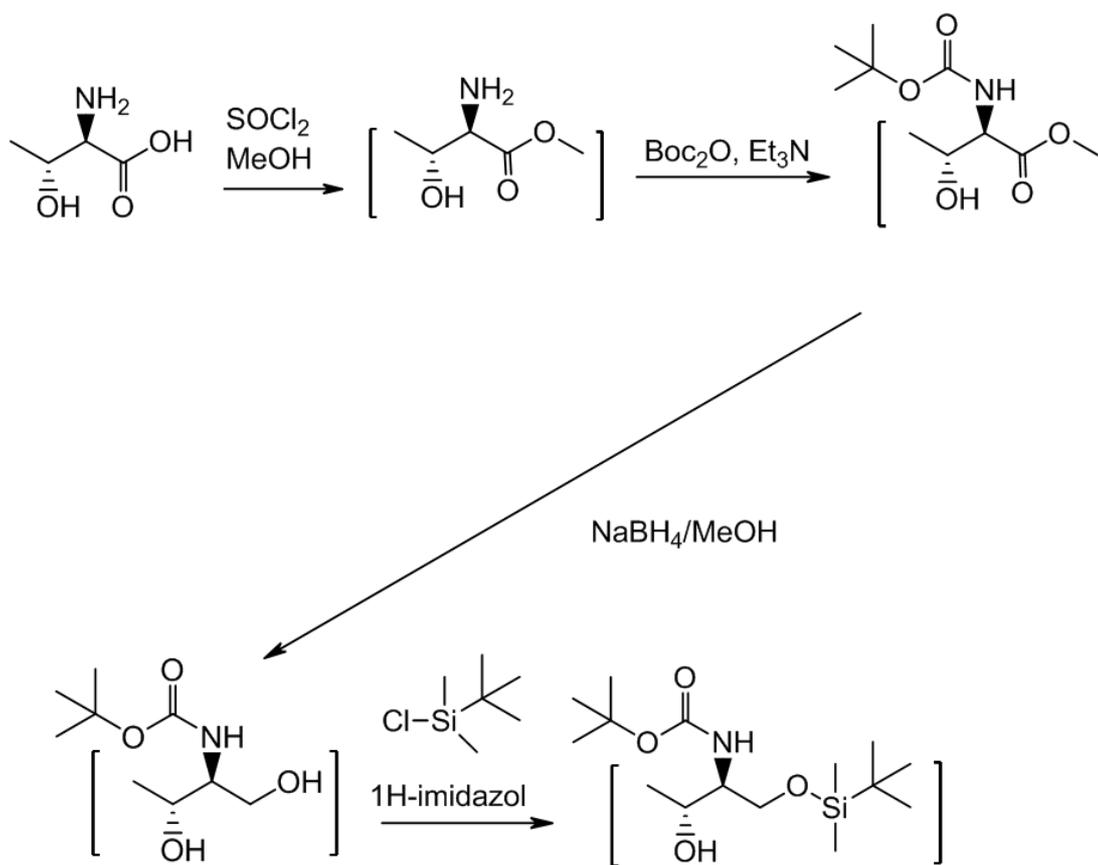
Esquema 5

- 10 El producto doblemente protegido del esquema 4 puede ciclarse con hidruro de sodio como se muestra en el esquema 6, para proporcionar un ejemplo de un producto intermedio Ib.



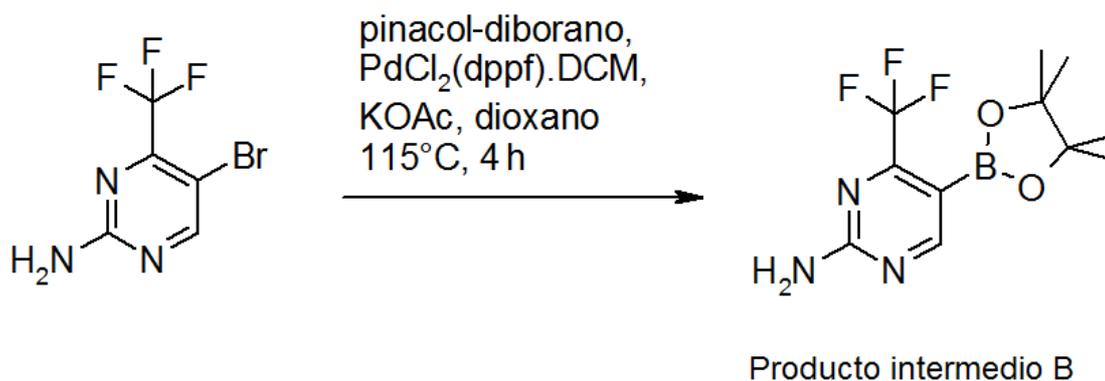
Esquema 6

El esquema 7 ilustra una ruta alternativa para el producto intermedio doblemente protegido del esquema 4, que entonces puede ciclarse como ya se mostró en el esquema 6.



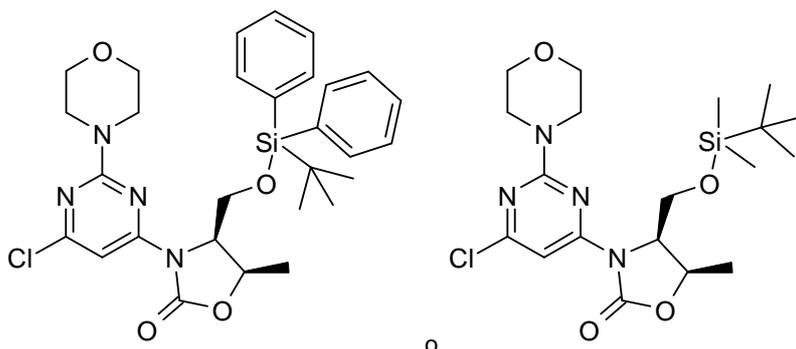
Esquema 7

- 5 El siguiente esquema 8 proporciona la síntesis del producto intermedio B de éster borónico.

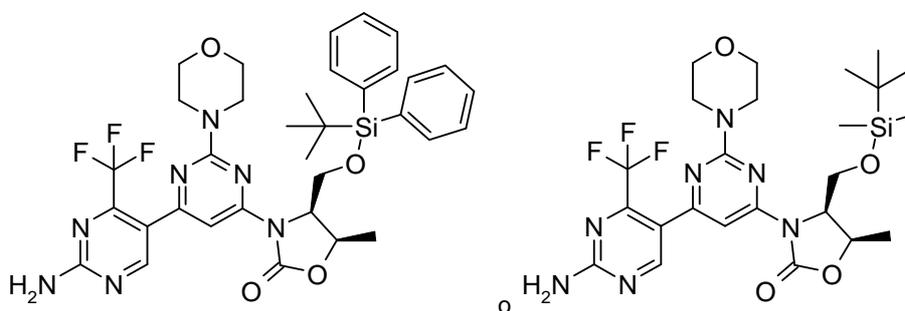


Esquema 8

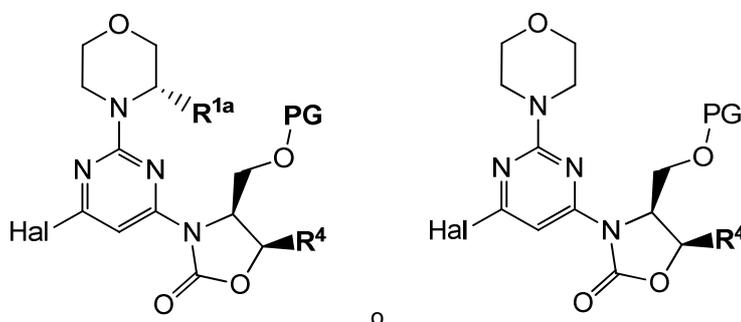
- 10 La reacción del producto ciclado del esquema 6 con el producto intermedio de 4,6-dicloro-pirimidina (por ejemplo, el producto intermedio A o el producto de la etapa 10.1, ambos referidos más adelante en el presente documento), como se muestra en el esquema 1, puede proporcionar productos intermedios adicionales, y se muestran unos específicos como sigue:



Además, la reacción de los productos intermedios formados como se muestra en el esquema 1 con el producto intermedio B, proporciona un producto protegido IA', como sigue:

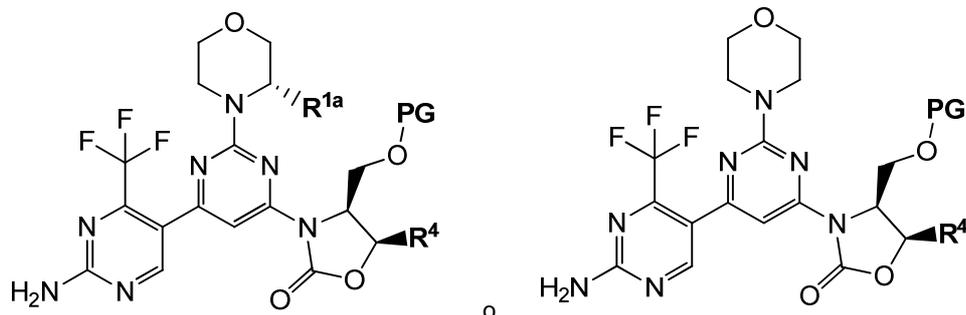


5 Por consiguiente, un compuesto intermedio de la invención incluye un compuesto de las siguientes fórmulas:

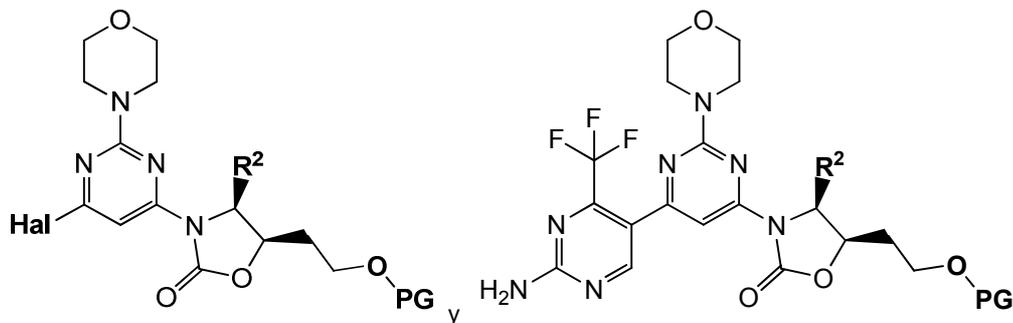


10 en donde  $R^{1a}$  y  $R^4$  son como se definen anteriormente en el presente documento, Hal es halógeno, tal como cloro, y PG es un grupo protector, por ejemplo, un grupo protector de sililo formando, por ejemplo, trialquil-silil-éteres, en donde uno o dos de los grupos alquilo pueden reemplazarse por fenilo, por ejemplo, un grupo protector de alquil-difenil-silil-éter, específicamente dimetil-terc-butil-sililo, o difenil-terc-butil-sililo.

Otro compuesto intermedio de la invención incluye un compuesto de las siguientes fórmulas:



5 Pueden preverse otros compuestos intermedios similarmente protegidos, como se ilustra anteriormente en el presente documento, con referencia a las fórmulas del presente documento, si está presente un grupo hidroxilo primario en cualquiera de R<sup>2</sup> a R<sup>5</sup>. Estos compuestos protegidos también se incluyen en la divulgación. Por ejemplo, cuando R<sup>4</sup> es el grupo -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, éste puede protegerse para proporcionar los compuestos en donde R<sup>4</sup> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-PG, en donde PG es como se define anteriormente, por ejemplo:



10 La desprotección del grupo hidroxilo protegido de terc-butil-difenil-sililo o terc-butil-dimetil-sililo (desprotección general de los silil-éteres) del producto protegido IA', para proporcionar, por ejemplo, el producto final, puede lograrse utilizando HF•piridina (por ejemplo, en tetrahidrofurano (THF)) o HCl.

15 Los compuestos de la presente invención, o los productos intermedios utilizados en el presente documento, pueden aislarse y utilizarse como el compuesto por sí mismo (por ejemplo, la forma de base libre) o como su sal si, por ejemplo, el valor de pKA del compuesto es tal para permitir la formación de la sal. Como se utilizan en el presente documento, los términos "sal" o "sales" se refieren a una sal de adición de ácido o de adición de base de un compuesto de la invención. Las "sales" incluyen en particular las "sales farmacéuticamente aceptables". El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales que conservan la efectividad biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención y que típicamente no son biológicamente o de otra manera indeseables. Los compuestos de la presente invención pueden ser capaces de formar las sales de adición de ácido en virtud de la presencia de un grupo amino. Se prefieren los compuestos de la invención por sí mismos.

20 Los ácidos inorgánicos y los ácidos orgánicos para la formación de las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, las sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, canforsulfonato, cloruro/clorhidrato, clorteofilonato, citrato, etandisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato, yodhidrato/yoduro, isetonato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato ácido/fosfato diácido, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfosalicilato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato.

Los ácidos inorgánicos para la derivación de sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares.

30 Los ácidos orgánicos para la derivación de sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido sulfosalicílico, y similares. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables pueden formarse con bases inorgánicas y orgánicas.

Las bases inorgánicas para la derivación de sales incluyen, por ejemplo, las sales de amonio y de los metales de las columnas I a XII de la tabla periódica. En determinadas realizaciones, las sales pueden derivarse a partir de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, zinc, y cobre; las sales particularmente adecuadas incluyen las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.

- 5 Las bases orgánicas para la derivación de sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias, y terciarias, aminas sustituidas, incluyendo las aminas sustituidas que se presentan naturalmente, aminas cíclicas, resinas básicas de intercambio iónico, y similares. Determinadas aminas orgánicas incluyen isopropilamina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietilamina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

10 En los casos en donde puedan formarse las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención, pueden sintetizarse a partir de un compuesto progenitor, un resto básico o ácido, mediante métodos químicos convencionales. En términos generales, estas sales pueden prepararse mediante la reacción de las formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tal como hidróxido, carbonato, o bicarbonato de Na, Ca, Mg, o K, o similares), o mediante la reacción de las formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Estas reacciones típicamente se llevan a cabo en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. En términos generales, se desea el uso de medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo, cuando sea practicable. Las listas de las sales adecuadas adicionales pueden encontrarse, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20<sup>a</sup> Edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); y en "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" por Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

20 A menos que se indique de otra manera, cualquier fórmula dada en el presente documento, pretende representar las formas no marcadas. Las formas isotópicamente marcadas de los compuestos con deuterio se muestran con deuterio (D), como un sustituyente en lugar de H. Pueden prepararse otros compuestos isotópicamente marcados de la presente invención y tienen las estructuras ilustradas por las fórmulas dadas en el presente documento, excepto que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa seleccionado.

25 Los ejemplos de los isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen los isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, y cloro, tales como <sup>2</sup>H, <sup>3</sup>H, <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C, <sup>15</sup>N, <sup>18</sup>F, <sup>31</sup>P, <sup>32</sup>P, <sup>35</sup>S, <sup>36</sup>Cl, <sup>125</sup>I, respectivamente. La invención pueden incluir diferentes compuestos isotópicamente marcados, como se definen en el presente documento, por ejemplo, aquéllos en donde están presentes isótopos radioactivos, tales como <sup>3</sup>H, <sup>13</sup>C, y <sup>14</sup>C. Estos compuestos isotópicamente marcados son útiles en los estudios metabólicos (con <sup>14</sup>C), en los estudios de cinética de reacción (con, por ejemplo, <sup>2</sup>H o <sup>3</sup>H), en las técnicas de detección o de formación de imágenes, tales como tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada con emisión de un solo fotón (SPECT), incluyendo los ensayos de distribución de fármaco o de sustrato en el tejido, o en el tratamiento radioactivo de los pacientes. En especial, puede ser particularmente deseable un compuesto marcado o <sup>18</sup>F para los estudios de PET o SPECT. Los compuestos isotópicamente marcados de esta invención pueden prepararse en términos generales llevando a cabo los procedimientos que se dan a conocer en los esquemas o en los ejemplos y en las preparaciones que se describen más adelante, mediante la utilización de un reactivo isotópicamente marcado fácilmente disponible para sustituir a un reactivo no isotópicamente marcado, por ejemplo, morfina marcada con deuterio (D8-morfina).

40 Adicionalmente, la sustitución con isótopos más pesados, en particular deuterio (es decir, <sup>2</sup>H o D) puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas resultantes de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, un aumento de la semivida *in vivo*, requerimientos de dosificación reducida, una inhibición reducida de CYP (competitiva o dependiente del tiempo) o una mejora en el índice terapéutico. Por ejemplo, la sustitución con deuterio puede modular los efectos secundarios indeseables del compuesto no deuterado, tal como la inhibición competitiva de CYP, la inactivación de CYP dependiente del tiempo, etc. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera como un sustituyente en los compuestos de la presente invención. La concentración de este isótopo más pesado, específicamente deuterio, puede definirse por el factor de enriquecimiento isotópico. El término "factor de enriquecimiento isotópico", como se utiliza en el presente documento, significa la proporción entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo especificado. Si un sustituyente en un compuesto de esta invención se denota como deuterio, este compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada

50 átomo de deuterio designado de al menos 3500 (52,5% de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), de al menos 4000 (60% de incorporación de deuterio), de al menos 4500 (67,5% de incorporación de deuterio), de al menos 5000 (75% de incorporación de deuterio), de al menos 5500 (82,5% de incorporación de deuterio), de al menos 6000 (90% de incorporación de deuterio), de al menos 6333,3 (95% de incorporación de deuterio), de al menos 6466,7 (97% de incorporación de deuterio), de al menos 6,600 (99% de incorporación de deuterio), o de al menos 6633,3 (99,5% de incorporación de deuterio).

60 Adicionalmente, los compuestos de la presente invención, incluyendo sus sales, también pueden obtenerse en forma de sus hidratos, o pueden incluir otros disolventes utilizados para su cristalización. Los compuestos de la presente invención pueden formar, inherentemente o por diseño, solvatos, con los disolventes farmacéuticamente aceptables (incluyendo agua). Estas moléculas de disolvente son aquéllas comúnmente utilizadas en la técnica farmacéutica, que se conocen como inocuas para el receptor, por ejemplo, agua, etanol, y similares. El término "hidrato" se refiere

- al complejo en donde la molécula de disolvente es agua. El término "solvato" se refiere a un complejo molecular de un compuesto de la presente invención (incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables del mismo) con una o más moléculas de disolvente incorporadas en la estructura de la red cristalina. Las moléculas de disolvente en el solvato pueden estar presentes en una disposición regular y/o en una disposición no ordenada. El solvato puede comprender una cantidad ya sea estequiométrica o no estequiométrica de las moléculas de disolvente. Por ejemplo, un solvato con una cantidad no estequiométrica de las moléculas de disolvente puede resultar de la pérdida parcial del disolvente a partir del solvato. Los solvatos pueden presentarse como dímeros u oligómeros, que comprenden más de una molécula o el compuesto según la presente invención, dentro de la estructura de la red cristalina.
- Los compuestos de la presente invención, incluyendo las sales, hidratos y solvatos de los mismos, pueden formar, inherentemente o por diseño, polimorfos.
- Como se utiliza en el presente documento, "polimorfo" se refiere a las formas cristalinas que tienen la misma composición química pero diferentes disposiciones espaciales de las moléculas, átomos, y/o iones que forman el cristal.
- Como se utiliza en el presente documento, "amorfo" se refiere a una forma sólida de una molécula, átomo, y/o iones, que no es cristalina. Un sólido amorfo no exhibe un patrón de difracción de rayos-X definitivo.
- Los solvatos farmacéuticamente aceptables según la invención incluyen aquéllos en donde el disolvente de cristalización puede sustituirse isotópicamente por ejemplo, D<sub>2</sub>O, d<sub>6</sub>-acetona, d<sub>6</sub>-DMSO.
- Se reconocerá por los expertos en la técnica que los compuestos de la presente invención contienen centros quirales y, como tales, existen en formas isoméricas. Como se utiliza en el presente documento, el término "isómeros" se refiere a diferentes compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero que difieren en la disposición y configuración de los átomos. También como se utiliza en el presente documento, el término "un isómero óptico" o "un estereoisómero" se refiere a cualquiera de las diferentes configuraciones estereoisoméricas, que pueden existir para un compuesto dado de la presente invención. Se entiende que un sustituyente puede unirse en un centro quiral de un átomo de carbono. Por consiguiente, los compuestos de la invención incluyen los enantiómeros, mostrados mediante la indicación de las configuraciones estereoespecíficas en los centros quirales en la ilustración estructural de los compuestos de la invención, en donde un enlace de cuña punteado indica que el sustituyente o átomo unido está por debajo del plano y un enlace de cuña sólido indica que el sustituyente o átomo unido está por encima del plano.
- Los "enantiómeros" son un par de estereoisómeros que son imágenes especulares que no pueden superponerse una en la otra. Una mezcla de 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla "racémica". El término se utiliza para designar una mezcla racémica donde sea apropiado.
- Los "diastereoisómeros" son los estereoisómeros que tienen al menos dos átomos asimétricos, pero que no son imágenes especulares uno del otro.
- La estereoquímica absoluta se especifica según el sistema R-S de Cahn-Ingold-Prelog. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica en cada átomo de carbono quiral puede especificarse mediante cualquiera de R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta se desconoce, pueden ser designados como (+) o (-) dependiendo de la dirección (dextrógira o levógira) en la que rotan la luz polarizada en el plano en la longitud de onda de la línea de sodio D. Algunos de los compuestos descritos en el presente documento contienen uno o más centros o ejes asimétricos y, por consiguiente, pueden dar lugar a enantiómeros, diastereómeros, y otras formas estereoisoméricas que puedan definirse en términos de estereoquímica absoluta, como (R)- o (S)-.
- Cualquier átomo asimétrico (por ejemplo, un átomo de carbono quiral, o similares) de los compuestos de la presente invención puede estar enantioméricamente enriquecido, por ejemplo, la configuración (R) o (S). En determinadas realizaciones, cada átomo asimétrico tiene un exceso enantiomérico de al menos el 50%, un exceso enantiomérico de al menos el 60%, un exceso enantiomérico de al menos el 70%, un exceso enantiomérico de al menos el 80%, un exceso enantiomérico de al menos el 90%, un exceso enantiomérico de al menos el 95%, o un exceso enantiomérico de al menos el 99% en la configuración (R) o (S) descrita para el átomo asimétrico específico (por ejemplo, carbono quiral).
- Según lo anterior, un compuesto de la presente invención puede estar en forma de un enantiómero sustancialmente puro.
- Cualquier mezcla de isómeros resultante puede separarse basándose en las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes, en los isómeros ópticos puros o sustancialmente puros, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionada.

Los isómeros (R) y (S) ópticamente activos pueden prepararse utilizando sintones quirales o reactivos quirales, o pueden resolverse empleando técnicas convencionales. Cualquier racemato resultante de los productos finales o productos intermedios puede resolverse en los antípodas ópticos mediante métodos conocidos. Por ejemplo, los métodos conocidos incluyen la separación de las sales diastereoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o una base ópticamente activa, y la liberación del compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, por consiguiente, puede emplearse un resto básico para resolver los compuestos de la presente invención en sus antípodas ópticos, por ejemplo, mediante la cristalización fraccionada de una sal formada con un ácido ópticamente activo, por ejemplo, ácido tartárico, ácido dibenzoil-tartárico, ácido diacetil-tartárico, ácido di-O,O'-p-toluoil-tartárico, ácido mandélico, ácido málico o ácido canfor-10-sulfónico. Los productos racémicos también pueden resolverse mediante cromatografía quiral, por ejemplo, cromatografía de líquidos a alta presión (HPLC), utilizando un adsorbente quiral.

Si el compuesto contiene un doble enlace, el sustituyente puede estar en la configuración E o Z. Si el compuesto contiene un cicloalquilo disustituido, el sustituyente de cicloalquilo puede tener una configuración *cis* o *trans*. También se pretende incluir todas las formas tautoméricas.

Los compuestos de la invención que contienen grupos capaces de actuar como donadores y/o aceptores para los puentes de hidrógeno, pueden ser capaces de formar cocristales con los formadores de cocristales adecuados. Estos cocristales pueden prepararse a partir de los compuestos de la presente invención mediante procedimientos de formación de cocristales conocidos. Estos procedimientos incluyen molienda, calentamiento, cosublimación, cofusión, o puesta en contacto de los compuestos en disolución de la presente invención con el formador de cocristales bajo condiciones de cristalización, y el aislamiento de los cocristales formados de esta manera. Los formadores de cocristales adecuados incluyen aquellos descritos en el documento WO 2004/078163. Por consiguiente, la invención proporciona además cocristales, que comprenden un compuesto de la presente invención.

Los compuestos de fórmula (I) inhiben las cinasas PI3 (PI3K), y por consiguiente, pueden ser útiles en el tratamiento de las enfermedades dependientes de proteína o lípido cinasas, en especial las enfermedades dependientes de las cinasas PI3 de clase I, PI3Kalfa, PI3Kbeta, PI3Kdelta y PI3Kgamma o uno o más de los miembros de cinasa individuales de las mismas, o cualquier combinación de cualquiera de las dos o más cinasas mencionadas.

Los compuestos que inhiben la actividad de más de una de las isoformas de PI3K de clase I (alfa, beta, delta y gamma), en particular sustancialmente equipotentes sobre los miembros de la clase IA p110a, p110b y p110d, y opcionalmente así como el miembro de la clase IB p110g, se consideran benéficos debido a que se considera que estos compuestos tienen la capacidad para impedir los mecanismos de adaptación debido a la reconexión de la ruta a través de las otras isoformas, comparándose con los compuestos con una especificidad única, por ejemplo, una especificidad para un miembro de la familia de PI3K de clase I. "Equipotente" significa que los compuestos inhiben varias isoformas hasta un grado comparable, por ejemplo, como se mide en un ensayo enzimático o celular descrito en el presente documento.

El aumento de la potencia de inhibición de al menos una de las isoformas de PI3K (es decir, inhiben al menos una isoforma de PI3K en concentraciones más bajas) también puede ser ventajoso. En el caso de los tumores desprovistos de PTEN, por ejemplo, aunque la isoforma impulsora es p110b, una eficacia completa podría requerir de la participación de las otras isoformas de la clase IA. Por ejemplo, podría ser ventajosa la potencia sobre las isoformas alfa y beta.

También existe una necesidad de compuestos que inhiban potentemente la cinasa PI3Kalfa, por ejemplo, para el tratamiento de los cánceres que sean principalmente impulsados por las formas oncogénicas del gen que codifica para p110a (por ejemplo, PIK3CA H1047R o E545K), así como tumores que muestren un aumento en el número de copias de PIK3CA.

Es deseable que los compuestos de la presente invención exhiban la actividad de cinasa PI3 mencionada sin que exhiba actividad sobre mTOR, o que al menos exhiban una selectividad favorable para inhibir una o más de las cinasas PI3 de clase I sobre mTOR. Por ejemplo, son deseables los compuestos que muestren una inhibición selectiva a favor de una o más isoformas de PI3K (por ejemplo, de al menos dos, preferiblemente tres, por ejemplo, de las isoformas alfa, beta y delta) comparándose con mTOR, debido a que el efecto inhibitorio de mTOR en términos generales reduce la ventana de seguridad, más especialmente cuando el compuesto inhibe mTOR más fuertemente que PI3K (proporción desfavorable).

Adicionalmente, se desean inhibidores de PI3K que tengan un efecto inespecífico reducido, o que no posean un efecto inespecífico, tal como que no posean unión de tubulina, debido a que tal efecto puede provocar efectos de toxicidad no relacionados con la inhibición de PI3K específica y, por consiguiente, estos compuestos pueden requerir de un control cuidadoso adicional de la dosificación para asegurar que el efecto terapéutico sea controlable y que se pueda atribuir a la inhibición de PI3K. Los compuestos de la presente invención, cuando se miden empleando los procedimientos descritos en el presente documento, muestran un efecto inespecífico (unión de tubulina) débil o no observable.

Se desean compuestos que inhiban la actividad de más de una de las isoformas de PI3K de clase I (alfa, beta, delta y gamma), en particular sustancialmente equipotentes sobre los miembros de la clase IA p110a, p110b y p110d, y opcionalmente así como sobre el miembro de la clase IB p110g, y que en adición tengan un efecto inespecífico reducido, o que no posean un efecto inespecífico, tal como que no posean unión de tubulina, o que posean una unión de tubulina reducida.

Deseablemente, se buscan compuestos que exhiban una inhibición mejorada de al menos una PI3K de clase 1 (por ejemplo, PI3Kalfa), pero en especial dos (por ejemplo, PI3Kalfa y PI3Kbeta) o tres (por ejemplo, PI3Kalfa, PI3Kbeta y PI3Kdelta), o de todas las cuatro PI3Ks de clase 1 (PI3Kalfa, PI3Kbeta, PI3Kdelta y PI3Kgamma), así como un efecto inespecífico reducido (en particular, una ausencia de efecto inespecífico) (por ejemplo, una unión de tubulina reducida o ausente). Deseablemente, es ventajoso que estos compuestos también muestren una inhibición selectiva a favor de una o más isoformas de PI3K (por ejemplo, de al menos dos, preferiblemente tres, por ejemplo, de las isoformas alfa, beta y delta) comparándose con mTOR.

En consecuencia, en un aspecto adicional, puede utilizarse un compuesto de la presente invención (por ejemplo, en la elaboración de un medicamento) para el tratamiento de las enfermedades, estados o los trastornos asociados con la inhibición o antagonismo de las cinasas PI3 en un sujeto (por ejemplo, en un mamífero, preferiblemente en un ser humano). Debido a la relevancia para la inhibición de la cinasa PI3, los compuestos de la presente invención, por consiguiente, se consideran útiles en el tratamiento de las enfermedades proliferativas, tales como cáncer. Las enfermedades/estados particulares para el tratamiento mediante los compuestos de la presente invención incluyen un tumor benigno o en especial maligno, tumores sólidos, un carcinoma de cerebro, riñón, hígado, glándula suprarrenal, vejiga, mama, estómago (en especial tumores gástricos), esófago, ovarios, colon, recto, próstata, páncreas, pulmón (por ejemplo, cáncer pulmonar no microcelular, cáncer pulmonar microcelular), vagina, tiroides, sarcoma, glioblastomas, mieloma múltiple o cáncer gastrointestinal, en especial carcinoma de colon o adenoma colorrectal, o un tumor de cuello y cabeza, otras enfermedades, tales como síndrome de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos y síndrome de Bannayan-Zonana (o enfermedades en donde la ruta de PI3K/PKB se activa de manera aberrante), hiperplasia de próstata, una neoplasia, en especial de carácter epitelial, preferiblemente carcinoma mamario o carcinoma de células escamosas, tumores malignos de células-B tales como leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma no de Hodgkin (NHL), mieloma de células plasmáticas, y linfoma de Hodgkin (NH) o una leucemia. Los compuestos deseablemente son capaces de provocar la regresión de los tumores y de prevenir la formación de metástasis tumoral y el crecimiento de (también micro-) metástasis. También es posible utilizar los compuestos de fórmula (I) en el tratamiento de enfermedades del sistema inmunitario hasta donde estén involucradas varias o, en especial, las lípido cinasas individuales y/o serina/treonina proteína cinasas (adicionales).

Como se utiliza en el presente documento, el término “un/una”, “uno/una”, “el/la” y términos similares utilizados en el contexto de la presente invención (en especial en el contexto de las reivindicaciones), deben interpretarse para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otra manera en el presente documento o que sea claramente contradicho por el contexto.

Todos los métodos descritos en el presente documento, pueden llevarse a cabo en cualquier orden adecuado a menos que se indique de otra manera en el presente documento o que sea de otra manera claramente contradicho por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o del lenguaje de ejemplo (por ejemplo, “tales como”) proporcionado en el presente documento, pretende meramente iluminar mejor la invención y no presenta una limitación sobre el alcance de la invención reivindicada de otra manera.

Los compuestos de la presente invención se utilizan típicamente como una composición farmacéutica (por ejemplo, un compuesto de la presente invención, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable).

Por consiguiente, en otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Un compuesto de la presente invención puede proporcionarse en una composición en forma amorfa. Un compuesto de la presente invención puede proporcionarse en una composición en su forma libre, es decir, no en forma de una sal (forma de base libre). Un compuesto de la presente invención puede proporcionarse en una composición en su forma libre, es decir, no en forma de una sal (forma de base libre), y que también esté en forma amorfa.

Como se utiliza en el presente documento, el término “vehículo farmacéuticamente aceptable” incluye los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de absorción, sales, conservantes, estabilizantes de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de disgregación, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, colorantes, agentes reguladores (por ejemplo, ácido maleico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético, bicarbonato de sodio, fosfato de sodio, y similares), y similares, y combinaciones de los mismos, reconocidos en general como seguros (GRAS), como serían conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>a</sup> Edición, Mack Printing Company, 1990, páginas

1289-1329). Excepto hasta donde cualquier vehículo convencional sea incompatible con el componente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas. Para los propósitos de esta invención, los solvatos e hidratos se consideran como las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención y un disolvente (es decir, solvato) o agua (es decir, hidrato).

5 Las formulaciones pueden prepararse empleando procedimientos convencionales de disolución y mezcla. Por ejemplo, la sustancia de fármaco a granel (es decir, el compuesto de la presente invención o la forma estabilizada del compuesto (por ejemplo, un complejo con un derivado de ciclodextrina u otro agente formador de complejo conocido)) se disuelve en un disolvente adecuado en presencia de uno o más de los excipientes descritos anteriormente. El compuesto de la presente invención típicamente se formula en formas de dosificación farmacéuticas para proporcionar una dosificación fácilmente controlable del fármaco, y para dar al paciente un producto elegante y fácilmente manejable.

15 La composición farmacéutica puede formularse para vías de administración particulares, tales como administración oral, administración parenteral, y administración rectal, etc. En adición, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden configurarse en forma sólida (incluyendo, sin limitación, cápsulas, comprimidos, píldoras, gránulos, polvos o supositorios), o en forma líquida (incluyendo, sin limitación, disoluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales, tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes, agentes lubricantes, o agentes tamponantes convencionales, así como adyuvantes, tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes y tampones, etc.

20 Típicamente, las composiciones farmacéuticas son comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el componente activo junto con:

a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;

b) lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o de calcio y/o polietilenglicol; para comprimidos también,

25 c) aglutinantes, por ejemplo, silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona; si se desea,

d) disgregantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido alginico, o su sal de sodio, o mezclas efervescentes; y/o

e) absorbentes, colorantes, saborizantes y edulcorantes.

30 Las comprimidos pueden tener o bien un recubrimiento de película o bien un recubrimiento entérico según métodos conocidos en la técnica.

35 Pueden utilizarse disoluciones del componente activo, y también suspensiones, y en especial disoluciones o suspensiones acuosas isotónicas, siendo posible, por ejemplo, en el caso de las composiciones liofilizadas que comprenden el componente activo solo o junto con un vehículo, por ejemplo, manitol, que estas disoluciones o suspensiones se produzcan antes de usarse. Las composiciones farmacéuticas pueden esterilizarse y/o pueden comprender adyuvantes, por ejemplo, conservantes, estabilizantes, agentes humectantes y/o emulsionantes, solubilizantes, sales para regular la presión osmótica y/o tampones; y se preparan de manera conocida por sí misma, por ejemplo, por medio de procesos convencionales de disolución o liofilización. Estas disoluciones o suspensiones pueden comprender sustancias incrementadoras de viscosidad, tales como carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, dextrano, polivinilpirrolidona o gelatina.

40 Las suspensiones en aceite comprenden como el componente de aceite, los aceites vegetales, sintéticos o semisintéticos habituales para propósitos de inyección. Pueden mencionarse como tales en especial los ésteres de ácidos grasos líquidos que contienen como el componente de ácido, un ácido graso de cadena larga que tiene de 8 a 22 átomos de carbono, en especial de 12 a 22 átomos de carbono, por ejemplo, ácido láurico, ácido tridecílico, ácido mirístico, ácido pentadecílico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido araquídico, ácido behénico, o los ácidos insaturados correspondientes, por ejemplo, ácido oleico, ácido eláidico, ácido erúxico, ácido brasídico o ácido linoleico, si se desea con la adición de antioxidantes, por ejemplo, vitamina E, beta-caroteno o 3,5-di-terc-butil-4-hidroxitolueno. El componente alcohol de esos ésteres de ácidos grasos tiene un máximo de 6 átomos de carbono, y es un mono- o poli-hidroxilo, por ejemplo, un mono-, di- o tri-hidroxilo; un alcohol, por ejemplo, metanol (MeOH), etanol, propanol, butanol o pentanol; o los isómeros de los mismos, pero en especial glicol y glicerol. Por

50 consiguiente, deben mencionarse los siguientes ejemplos de los ésteres de ácidos grasos: oleato de etilo, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, "Labrafil M 2375" (trioleato de glicerol de polioxitileno, Gattefossé, París), "Miglyol 812" (triglicérido de ácidos grasos saturados con una longitud de cadena de C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>, Hüls AG, Alemania), pero en especial aceites vegetales, tales como aceite de semilla de algodón, aceite de almendra, aceite de oliva,

aceite de ricino, aceite de ajonjolí, aceite de semilla de soja, y más especialmente aceite de cacahuete.

Las composiciones inyectables se preparan de manera habitual bajo condiciones estériles; se aplica lo mismo también a la introducción de las composiciones en ampollas o viales y el sellado de los contenedores.

5 Las composiciones farmacéuticas para su administración oral pueden obtenerse mediante la combinación del componente activo con vehículos sólidos, si se desea se granula una mezcla resultante, y se procesa la mezcla, si se desea o es necesario, después de la adición de los excipientes apropiados, en comprimidos, núcleos de grageas, o cápsulas. También es posible que se incorporen en vehículos plásticos que permitan que los componentes activos se difundan o se liberen en cantidades medidas.

10 Las composiciones adecuadas para su administración oral incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención, en forma de comprimidos, grageas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas para uso oral se preparan según cualquier método conocido en la técnica para la elaboración de composiciones farmacéuticas, y estas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados a partir del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes, con el objeto de proporcionar 15 preparaciones farmacéuticamente elegantes y de buen sabor. Los comprimidos pueden contener el componente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que sean adecuados para la elaboración de comprimidos. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y disgregantes, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido alginico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o goma arábiga; y agentes 20 lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las comprimidos no están recubiertos o se recubren mediante técnicas conocidas para retardar la disgregación y absorción en el tracto gastrointestinal y de esta manera proporcionar una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo de tiempo, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral pueden presentarse como cápsulas de gelatina duras en donde el componente activo se mezcla con un 25 diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en donde el componente activo se mezcla con agua o con un medio de aceite, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

30 Las composiciones farmacéuticas para su administración tópica pueden obtenerse mediante la combinación del componente activo con un vehículo líquido (por ejemplo, un vehículo líquido acuoso) para disolver o dispersar el componente activo, junto con los componentes de formulación opcionales adicionales, tales como disolventes/solubilizantes, agentes gelificantes, aceites, estabilizantes, tampones y conservantes para proporcionar, por ejemplo, una disolución, loción, crema, gel o ungüento. Las composiciones farmacéuticas para su administración 35 tópica pueden proporcionarse, por ejemplo, para la aplicación dérmica. Las composiciones farmacéuticas para su administración tópica pueden comprender desde aproximadamente el 0.1% hasta aproximadamente el 2% de componente activo, siendo el componente activo en especial un compuesto de fórmula (I), en particular, un compuesto descrito en los ejemplos individuales en el presente documento.

40 La composición (o formulación) farmacéutica para su aplicación puede envasarse en una variedad de formas dependiendo del método empleado para administrar el fármaco. En términos generales, un artículo para la distribución incluye un recipiente que tenga depositado en el mismo la formulación farmacéutica en una forma apropiada. Los recipientes adecuados son bien conocidos por los expertos en la técnica, e incluyen materiales tales como frascos (de plástico y vidrio), ampollas, bolsas de plástico, cilindros metálicos, y similares. El recipiente también puede incluir un ensamblaje a prueba de forzaduras para prevenir el acceso indiscreto al contenido del envase. En adición, el recipiente tiene depositado en el mismo una etiqueta que describe el contenido del recipiente. La etiqueta también puede incluir las advertencias apropiadas.

45 La composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención puede formularse para utilizarse como una administración parenteral. Las composiciones farmacéuticas (por ejemplo, una formulación intravenosa (iv)) pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales, tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes convencionales, o agentes tamponantes, así como adyuvantes, tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes y tampones bien 50 conocidos por los expertos en la técnica.

La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras, que comprenden los compuestos de la presente invención como componentes activos, debido a que el agua puede facilitar la degradación de ciertos compuestos. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras de la invención pueden prepararse utilizando componentes anhidros o con un bajo contenido de humedad y 55 condiciones de baja humedad. Una composición farmacéutica anhidra puede prepararse y almacenarse de tal manera que se mantenga su naturaleza anhidra. Según lo anterior, las composiciones anhidras se envasan utilizando materiales conocidos para prevenir su exposición al agua, de tal manera que puedan incluirse en kits de formulación adecuados. Los ejemplos de los envases adecuados incluyen, pero no se limitan a, láminas

herméticamente selladas, plásticos, recipientes de dosis unitarias (por ejemplo, frascos), envases blíster, y envases separados.

5 La invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más agentes que reducen la velocidad a la que se descompondrá el compuesto de la presente invención como un componente activo. Estos agentes, que se denominan en el presente documento como “estabilizantes”, incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes, tales como ácido ascórbico, tampones del pH, o tampones de sales, etc.

Un compuesto de la presente invención, en particular, un compuesto descrito en los ejemplos individuales en el presente documento, puede proporcionarse en forma amorfa.

10 Un compuesto de la presente invención, en particular, un compuesto descrito en los ejemplos individuales en el presente documento, puede formularse como una suspensión convencional, nanosuspensión y dispersión sólida, por ejemplo, como sigue.

Suspensión convencional:

1.) Se pesó la cantidad requerida del material cristalino del ejemplo 18, lote E, con el objetivo de obtener una concentración de la formulación de 3 mg/ml.

15 2.) Entonces se dispersó el material cristalino del ejemplo 18, lote E, en carboximetilcelulosa al 0,5% [p/p]/ Tween 80 al 0,5% [p/p]/agua.

3.) Se agitó en vórtex la suspensión se puso para homogeneizar.

4.) Se sonicó la suspensión utilizando un sonicador de sonda para reducir el tamaño de partícula (2 minutos).

Nanosuspensión:

20 1.) Se pesaron de manera precisa 32 mg del material cristalino del ejemplo 18, lote E, en un dispositivo de molienda de canicas hecho a la medida.

2.) Se agregaron 2,148 g de medio de molienda de zirconia de 0,2 mm al dispositivo de molienda.

3.) Se agregaron 0,608 ml de HPMC 603 (hidroxipropilmetilcelulosa de grado 603) al 1% [p/v] / SDS (dodecilsulfato de sodio) al 0.05% [p/p] / agua, al dispositivo de molienda.

25 4.) Se cerraron los dispositivos de molienda y se pusieron en un molino giratorio.

5.) Se molió la muestra durante 4 h a 400 revoluciones por minuto (rpm)

6.) Se recogió la nanosuspensión utilizando una jeringa.

Dispersión sólida:

1.) Se pesaron 30 mg del material cristalino del ejemplo 18, lote E, en un frasco de liofilización.

30 2.) Se agregaron 30 mg de HPMC 603 (hidroxipropilmetilcelulosa de grado 603), al mismo frasco.

3.) Se agregaron 5,6 ml de dioxano al frasco. Se cerró el frasco con una tapa.

4.) Se agitó la muestra se agitó en condiciones ambientales durante 12 h.

5.) se liofilizó la disolución obtenida según las siguientes condiciones:

Tratamiento térmico			
Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Presión [ybar]	Condensador de temperatura [°C]
-20	30	2500	-40

-20	60	2500	-40
<b>Secado primario</b>			
Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Presión [ybar]	Condensador de temperatura [°C]
25	180	2000	-40
25	60	500	-40
25	120	100	-40
<b>Calentamiento posterior</b>			
Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Presión [ybar]	Condensador de temperatura [°C]
25	1000	2000	-40

5 Cuando se proporciona un compuesto de la invención como una dispersión sólida, se prepara, por ejemplo, mediante la combinación del compuesto con un vehículo (tal como un polímero, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)), y un disolvente, y la mezcla se liofiliza (con la intención de proporcionar el compuesto en forma amorfa, en lugar de proporcionarlo en forma cristalina), por razones de estabilidad, puede ser ventajoso aumentar la proporción de la cantidad de vehículo frente a la cantidad de compuesto para evitar la recristalización del compuesto después de reposar.

10 En determinadas ejemplos, puede ser ventajoso administrar el compuesto de la presente invención en combinación con al menos un agente farmacéutico (o terapéutico) adicional (por ejemplo, un agente antiproliferativo o contra el cáncer, o una terapia adjunta típicamente empleada en quimioterapia). El compuesto de la presente invención puede administrarse ya sea simultáneamente con, o antes o después de, uno o más agentes terapéuticos adicionales. De manera alternativa, el compuesto de la presente invención puede administrarse por separado, por la misma o diferente vía de administración, o juntos en la misma composición farmacéutica que los otros agentes.

Los agentes contra el cáncer adicionales incluyen, pero no se limitan a:

15 Inhibidores de los receptores HER2 y HER3: Como se ejemplificó recientemente en los modelos de cáncer de mama positivo para HER2, la inhibición de PI3K conducirá a la reactivación de la ruta, a través de una inducción de transcripción de HER2 / HER3 dependiente de FoxO, implicando el uso de inhibidores de HER2 en este establecimiento (Serra *et al.*, 2011 Oncogene 30; Chandarlapaty *et al.*, 2011 Cancer Cell 19; Chakrabarty *et al.* 2012, PNAS 109). Por ejemplo, el trastuzumab (vendido bajo la marca comercial registrada Herceptin® por Genentech/Roche), pertuzumab (vendido bajo la marca comercial registrada Perjeta™, por Genentech/Roche), el conjugado de anticuerpo-fármaco Trastuzumab Emtansine (T-DM1) de Genentech/ Roche, erlotinib (vendido bajo la marca comercial registrada Tarceva®, por Genentech/Roche, gefitinib (vendido bajo la marca comercial registrada Iressa™, por AstraZeneca), MOR10703, neratinib (también conocido como HKI-272, (2E)-N-[4-[[3-cloro-4-[[piridin-2-il]-metoxi]-fenil]-amino]-3-ciano-7-etoxi-quinolin-6-il]-4-(dimetil-amino)-but-2-enamida, y descrita en la publicación PCT internacional n.º WO 05/028443), lapatinib o ditosilato de lapatinib (vendido bajo la marca comercial registrada Tykerb® por GlaxoSmithKline). Esta combinación es útil, por ejemplo, en los cánceres de mama positivos para HER2 y en los cánceres gástricos amplificados por HER2. Como diana terapéutica, HER3 (ErbB3) se presenta con el desafío de tener una tirosina cinasa inactiva, precluyendo, por consiguiente, la utilidad de inhibidores de tirosina cinasa miméticos de ATP (TKIs). Para circunvenir este desafío están las estrategias mediadas por anticuerpos que tienen como objetivo bloquear enlázela unión del ligando a ErbB3 (por ejemplo, MM-121) o bloquear la dimerización de ErbB3 con ErbB2 en las células que sobreexpresan ErbB2 (por ejemplo, pertuzumab).

35 Regulación por disminución de los receptores de estrógeno/ inhibidores de aromatasa: Por ejemplo, Fulvestrant (vendido bajo el nombre comercial Faslodex®), Letrozol (vendido bajo la marca comercial registrada Femara® por Novartis) o Exemestano (vendido bajo la marca comercial registrada Aromasin® por Pfizer). Esta combinación es útil en el tratamiento, por ejemplo, del cáncer de mama positivo para ER. El fundamento para la combinación es que tiene como objetivo resolver la resistencia a hormonas relacionada con la PI3K.

Inhibidores de cinasa de proteína cinasa activada por mitógeno (MEK): Por ejemplo, XL-518 (n.º de CAS 1029872-29-4, disponible en ACC Corp.), AZD6244 o selumetinib (AstraZeneca), GSK1120212 (GlaxoSmithKline), AZD8330 (AstraZeneca), o MEK162. Esta combinación es útil en el tratamiento, por ejemplo, cáncer de pulmón con mutante KRAS, colorrectal (CRC), y cánceres pancreáticos.

5 Inhibidores de Bcl2/BclXL: Por ejemplo, ABT737 (Abbott).

Anti-andrógenos: Por ejemplo, Nilutamida (vendida bajo los nombres comerciales Nilandron® y Anandron®), bicalutamida (vendida bajo el nombre comercial Casodex®), flutamida (vendida bajo el nombre comercial Fulexin™), MDV3100 (Enzalutamida, vendida bajo el nombre comercial Xtandi® por Medivation), y Abiraterona (vendida bajo el nombre comercial Zytiga® por Janssen). Esta combinación es útil en el tratamiento, por ejemplo, de cáncer de próstata dependiente de hormonas con inactivación de PTEN. El fundamento para la combinación tiene como objetivo resolver el ruido entre las rutas de PI3K y el receptor de andrógeno.

10

Inhibidores de proteína de choque por calor 90 (HSP90): Por ejemplo, Tanespimicina (17-alil-amino-17-desmetoxigeldanamicina, también conocida como KOS-953 y 17-AAG, disponibles en SIGMA, y descrita en la patente estadounidense n.º 4.261.989), y etilamida del ácido 5-(2,4-dihidroxi-5-iso-propil-fenil)-4-(4-morfolin-4-il-metil-fenil)-isoxazol-3-carboxílico (también conocida como AU922 y descrita en la publicación de PCT n.º WO2004/072051). Esta combinación es útil en el tratamiento, por ejemplo, de los cánceres de pulmón dependientes del receptor del factor de crecimiento endotelial (EGFR), o para inhibir el EGRmut que llega a ser refractario para los inhibidores de EGR, o en el cáncer de mama positivo para HER2, o en el cáncer gástrico positivo para HER2.

15

Agentes anti-neoplásicos de taxano: Por ejemplo, Cabazitaxel (propanoato de 1-hidroxi-7β,10β-dimetoxi-9-oxo-5β,20-epoxitax-11-eno-2α,4,13α-tri-il-4-acetato-2-benzoato-13-[(2R,3S)-3-[(terc-butoxi)-carbonil]-amino]-2-hidroxi-3-fenilo), larotaxel (benzoato de (2α,3ξ,4α,5β,7α,10β,13α)-4,10-bis-(acetiloxi)-13-[(2R,3S)-3-[(terc-butoxi)-carbonil]-amino]-2-hidroxi-3-fenil-propanoil)-oxi)-1-hidroxi-9-oxo-5,20-epoxi-7,19-ciclotax-11-en-2-ilo);

20

Agentes antimitóticos: Por ejemplo, Docetaxel (vendido bajo el nombre comercial Taxotere® por Sanofi-Aventis), útil para el tratamiento de cáncer de mama.

25 Alcaloides de plantas: Por ejemplo, paclitaxel (vendido bajo los nombres comerciales Taxol y Onxal™), y Paclitaxel enlazado a proteína (vendido bajo el nombre comercial Abraxane®), y útil para el tratamiento de cáncer de próstata, vinblastina (también conocida como sulfato de vinblastina, vincaleucoblastina y VLB, vendida bajo los nombres comerciales Alkaban-AQ® y Velban®), vincristina (también conocida como sulfato de vincristina, LCR, y VCR, vendida bajo los nombres comerciales Oncovin® y Vincasar Pfs®), y vinorelbina (vendida bajo el nombre comercial Navelbine®).

30

Anticuerpos contra el receptor del factor de crecimiento tipo insulina-1 (IGF-1R): Por ejemplo, Figitumumab (también conocido como CP-751,871, disponible en ACC Corp.), y robatumumab (n.º de CAS 934235-44-6).

Inhibidores de PARP (polimerasa de poli-ADP-ribosa): Por ejemplo, BSI-201 (iniparib), y olaparib. Esta combinación es útil, por ejemplo, para resolver la posible inducción de la maquinaria de daño del ADN mediante los inhibidores de PI3K.

35

Los agentes terapéuticos adecuados para terapia adjunta incluyen esteroides, agentes anti-inflamatorios, anti-histaminas, anti-eméticos, y otros agentes bien conocidos por aquéllos con experiencia en este campo para utilizarse con el fin de mejorar la calidad del cuidado para los pacientes que sean tratados para las enfermedades, estados, o trastornos descritos en el presente documento.

40 Debido a que la activación de la ruta de PI3K/Akt impulsa la supervivencia celular, la inhibición de la ruta en combinación con terapias que impulsen la apoptosis en las células de cáncer, incluyendo radioterapia y quimioterapia, puede dar como resultado mejores respuestas (Ghobrial *et al.*, CA Cancer J. Clin 55: 178-194 (2005)). Como un ejemplo, la combinación de un inhibidor de cinasa PI3 con carboplatino demostró efectos sinérgicos en los ensayos tanto de proliferación como de apoptosis *in vitro*, así como eficacia tumoral *in vivo*, en un modelo de xenoinjerto de cáncer de ovario (Westfall y Pielner, Mol. Cancer Ther. 4: 1764-1771 (2005)). Los compuestos de la presente invención pueden administrarse en conjunto con radioterapia.

45

El compuesto de la presente invención o la composición farmacéutica del mismo puede administrarse por las siguientes vías: administración enteral, tal como nasal; rectal u oral; parenteral, tal como intramuscular o intravenosa; o tópica, tal como dérmica. El compuesto de la presente invención o la composición farmacéutica del mismo, para utilizarse en seres humanos, preferiblemente se administra oralmente (por ejemplo, en forma de comprimido).

50

La composición o combinación farmacéutica de la presente invención puede estar en una dosificación unitaria de

aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg de componente(s) activo(s) para un sujeto de aproximadamente 50 kg a aproximadamente 70 kg, o de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg, o de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 250 mg, o de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 150 mg, o de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 100 mg, o de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 50 mg de componentes activos. Una dosificación unitaria también puede ser de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1000 mg de componente(s) activo(s) para un sujeto de aproximadamente 50 kg a aproximadamente 70 kg, o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 500 mg, o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 250 mg, o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 150 mg, o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 100 mg de componentes activos. Una dosificación unitaria también puede ser de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg de componente(s) activo(s) para un sujeto de aproximadamente 50 kg a aproximadamente 70 kg, o de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 500 mg, o de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 500 mg, o de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 400 mg de componentes activos. Estas dosificaciones pueden proporcionarse como la dosificación diaria total, y pueden proporcionarse en una dosificación unitaria o en dosificaciones divididas. La dosificación puede depender de la forma de dosificación particular utilizada para suministrar los componentes activos. En general, la dosificación terapéuticamente eficaz de un compuesto, de la composición farmacéutica, o de las combinaciones de los mismos, depende de la especie del sujeto, del peso corporal, de la edad y estado individual, del trastorno o la enfermedad que se esté tratando, o de la gravedad de la misma. La dosificación también puede depender de la biodisponibilidad del componente activo en la especie que se esté tratando. Un médico, farmacéutico, clínico o veterinario experto habitual, puede determinar fácilmente la cantidad eficaz de cada uno de los componentes activos necesaria para prevenir, tratar, o inhibir el progreso del trastorno o de la enfermedad.

Las propiedades de dosificación anteriormente citadas pueden demostrarse en pruebas *in vitro* e *in vivo* utilizando convenientemente mamíferos, por ejemplo, ratones, ratas, perros, monos u órganos aislados, tejidos y preparaciones de los mismos. Los compuestos de la presente invención pueden aplicarse *in vitro* en forma de disoluciones, por ejemplo, disoluciones acuosas preparadas a partir de, por ejemplo, una disolución de suministro de sulfóxido de dimetilo (DMSO) 10 mM, e *in vivo* ya sea enteralmente, parenteralmente, de manera ventajosa intravenosamente, por ejemplo, como una suspensión o en disolución acuosa. La dosificación *in vitro* puede estar en el intervalo de concentraciones de entre aproximadamente  $10^{-3}$  molar y aproximadamente  $10^{-9}$  molar. Una cantidad terapéuticamente eficaz *in vivo*, dependiendo de la vía de administración, puede estar en el intervalo de entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 500 mg/kg, o de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 100 mg/kg.

En general, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención, se administra a un paciente que necesita tratamiento. El término "una cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, la reducción o inhibición de la actividad de una enzima, o de la actividad de una proteína, o de la actividad de un complejo de proteína, o que mejorará los síntomas, aliviará los estados, hará más lento o retardará el progreso de la enfermedad, o prevendrá una enfermedad, etc.

En aun otro aspecto, se proporciona un método para el tratamiento de cáncer en un mamífero, que comprende administrar a un mamífero que necesita dicho tratamiento, una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención.

Como se utiliza en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un animal. Típicamente, el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere, por ejemplo, a primates (por ejemplo, a seres humanos, masculinos o femeninos), reses, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En determinadas realizaciones, el sujeto es un primate. Preferiblemente, el sujeto es un ser humano.

Como se utiliza en el presente documento, el término "inhibir", "inhibición" o "inhibiendo" se refiere a la reducción o supresión de un estado, síntoma, o trastorno, o enfermedad dada, o a una disminución significativa en la actividad de la línea base de una actividad o proceso biológico.

Como se utiliza en el presente documento, el término "tratar", "tratando" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno, se refiere a: (i) mejorar la enfermedad o el trastorno (es decir, hacer más lento o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o de al menos uno de los síntomas clínicos de la misma); (ii) aliviar o mejorar al menos un parámetro físico, incluyendo aquéllos que no puedan discernirse por el paciente; o (iii) prevenir o retardar el establecimiento o desarrollo o progreso de la enfermedad o del trastorno. En general, el término "tratar" o "tratamiento" describe el manejo y cuidado de un paciente para el propósito de combatir la enfermedad, el estado, o el trastorno, e incluye la administración de un compuesto de la presente invención, para prevenir el establecimiento de los síntomas o complicaciones, para aliviar los síntomas o complicaciones, o para eliminar la enfermedad, el estado, o el trastorno.

Como se utiliza en el presente documento, un sujeto está "en necesidad de" un tratamiento si este sujeto se beneficiaría biológicamente, médicamente o en su calidad de vida a partir de dicho tratamiento (preferiblemente, el

sujeto es un ser humano).

Otro aspecto de la invención es un producto que comprende un compuesto de la presente invención, y al menos otro agente terapéutico (o agente farmacéutico) como una preparación combinada para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, en terapia, para mejorar la apoptosis.

- 5 En las terapias de combinación de la invención, el compuesto de la presente invención y el otro agente terapéutico pueden elaborarse y/o formularse por el mismo o por diferentes fabricantes. Más aún, el compuesto de la presente invención y el otro agente terapéutico (o agente farmacéutico) pueden reunirse en una terapia de combinación: (i) antes de liberar el producto de combinación a los médicos (por ejemplo, en el caso de un kit que comprenda el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico); (ii) por los médicos mismos (o bajo la guía del médico) poco  
10 antes de la administración; (iii) en los pacientes mismos, por ejemplo, durante la administración en secuencia del compuesto de la invención y el otro agente terapéutico.

Según lo anterior, la invención proporciona el uso de un compuesto de la presente invención, para el tratamiento de una enfermedad o estado mediante la inhibición o antagonización de PI3K, en donde el medicamento se prepara para su administración con otro agente terapéutico. La invención también proporciona el uso de otro agente  
15 terapéutico, en donde el medicamento se administra como una combinación de un compuesto de la presente invención con el otro agente terapéutico.

Las realizaciones de la presente invención se ilustran mediante los siguientes ejemplos. Sin embargo, debe entenderse, que las realizaciones de la invención no están limitadas a los detalles específicos de estos ejemplos, debido a que otras variaciones de las mismas serán conocidas o evidentes a la luz de la presente divulgación, para  
20 un experto habitual en la técnica.

### Ejemplos

A menos que se especifique de otra manera, los materiales de partida están generalmente disponibles en las fuentes comerciales, tales como Aldrich Chemicals Co. (Milwaukee, Wis.), Lancaster Synthesis, Inc. (Windham, N.H.), Acros Organics (Fairlawn, N.J.), Maybridge Chemical Company, Ltd. (Cornwall, Inglaterra), Tyger Scientific (Princeton, N.J.), Chem-Impex International, Inc. (Wood Dale, ILO), y AstraZeneca Pharmaceuticals (Londres, Inglaterra).  
25

Las abreviaturas utilizadas en los siguientes ejemplos tienen los significados correspondientes enlistados a continuación.

AcOH	ácido acético
AlCl <sub>3</sub>	tricloruro de aluminio
API	ionización a presión atmosférica
Boc	terc-butoxicarbonilo
Salmuera	disolución saturada de cloruro de sodio (a temperatura ambiente)
sa	singlete amplio
<sup>n</sup> BuOH	n-butanol
<sup>t</sup> Bu	terc-butilo
CDI	carbonil-di-imidazol
Celite	marca comercial registrada de Celite Corp. (World Minerals Inc.), Santa Barbara, CA, EUA, para auxiliar de filtración basado en tierra de diatomeas
CH <sub>3</sub> CN	acetonitrilo
conc.	concentrado

d	doblete
DCE	dicloro-etano
DCM	dicloro-metano
DEA	dietil-amina
DIEA	N,N-dietil-isopropil-amina
DMAP	4-dimetil-amino-piridina
DME	dimetoxi-etano
DMF	N,N-dimetil-formamida
DMSO	sulfóxido de dimetilo
ES-EM	espectrometría de masas con eletroaspersión
Et	etilo
Et <sub>3</sub> N	trietil-amina
Et <sub>2</sub> O	dietil-éter
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
h	hora(s)
HPLC	cromatografía de líquidos de alto rendimiento
Hyflo	Hyflo Super Cel®
iPr	isopropilo
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	carbonato de potasio
KOH	hidróxido de potasio
K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	fosfato de potasio
LAH	hidruro de litio y aluminio
LC	cromatografía de líquidos
Me	metilo
Mel	yoduro de metilo
MeOH	metanol
MgSO <sub>4</sub>	sulfato de magnesio
m	multiplete
min	minuto(s)

ml	mililitro(s)
p.f.	punto de fusión
EM	espectrometría de masas
NaH	hidruro de sodio
NaHCO <sub>3</sub>	bicarbonato de sodio
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	carbonato de sodio
NaHMDS	hexametil-disilazano de sodio
NaOH	hidróxido de sodio
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	sulfato de sodio
MgSO <sub>4</sub>	sulfato de magnesio
NaOAc	acetato de sodio
NBS	N-bromo-succinimida
NH <sub>4</sub> Cl	cloruro de amonio
NH <sub>4</sub> OH	hidróxido de amonio
RMN	resonancia magnética nuclear
POCl <sub>3</sub>	oxicloruro de fósforo (III)
TA	temperatura ambiente
R <sub>f</sub>	factor de retención en TLC
s	singlete
scCO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub> súper-crítico
t	triplete
TBAF	fluoruro de tetrabutil-amonio
TBDPSCI	cloruro de terc-butil-difenil-sililo
TBME	terc-butil-metil-éter
TEA	tri-etil-amina
TEMPO	2,2,6,6-tetrametil-piperidiniloxilo
TFA	ácido trifluoro-acético
THF	tetrahidrofurano
TLC	cromatografía de capa delgada
TMS	trimetil-sililo

TMSCI	cloruro de trimetil-sililo
$t_R$	tiempo de retención
TsCl	cloruro de p-toluen-sulfonilo
TsOH	ácido p-toluen-sulfónico
UV	ultravioleta

#### Método general

$^1\text{H}$ -RMN: Las mediciones se llevaron a cabo en un espectrómetro *Bruker Ultrashield™ 400* (400 MHz), *Bruker Ultrashield™ 600* (600 MHz) o en un espectrómetro de *500 MHz DRX Bruker CryoProbe* (500 MHz), utilizando o no trimetil-silano como un patrón interno. Los cambios químicos (valores- $\delta$ ) se reportan en ppm campo abajo a partir de tetrametil-silano, las constantes de acoplamiento ( $J$ ) se dan en Hz, el patrón de división de espectros está designado como singlete (s), doblete (d), doblete de dobletes (dd), triplete (t), cuádruplete (q), multiplete o más señales solapadas (m), señal amplia (sa). Los disolventes se dan entre paréntesis.

TLC: Se llevó a cabo con placas de vidrio previamente recubiertas con gel de sílice 60 F<sub>254</sub> (*Merck, Darmstadt, Alemania*), utilizando el sistema de disolventes mencionado respectivo. La visualización se hizo en términos generales mediante luz ultravioleta (UV) (254 nm).

#### Condiciones de HPLC:

##### LC-EM 1:

Columna: Acquity HSS T3, 2,1 x 50 mm, 1,8  $\mu\text{m}$ . Flujo: 1,2 ml/min. Temperatura de la columna: 50°C. Gradiente: Del 2% al 98% de B en 1,4 min, el 98% de B durante 0,75 min, del 98% al 2% de B en 0,04 min, el 2% de B durante 0,01 min; A = agua + ácido fórmico al 0,05% + acetato de amonio 3,75 mM, B = acetonitrilo + ácido fórmico al 0,04%.

Barrido completo de detección: 215-350 nm.

##### LC-EM 2:

Columna: Acquity HSS T3, 2,1 x 50 mm, 1,8  $\mu\text{m}$ . Flujo: 1,2 ml/min. Temperatura de la columna: 50°C. Gradiente: Del 2% al 98% de B en 1,4 min, el 98% de B durante 0,75 min, del 98% al 2% de B en 0,04 min, el 2% de B durante 0,01 min; A = agua + ácido fórmico al 0,05% + acetato de amonio al 0,05%, B = acetonitrilo + ácido fórmico al 0,04%.

Barrido completo de detección: 215-350 nm.

##### LC-EM 3:

Columna: Acquity HSS T3, 2,1 x 50 mm, 1,8  $\mu\text{m}$ . Flujo: 1,0 ml/min. Temperatura de la columna: 60°C. Gradiente: del 5% al 98% de B en 1,4 min, el 98% de B durante 0,75 min, del 98% al 5% de B en 0,04 min, el 5% de B durante 0,01 min; A = agua + ácido fórmico al 0,05% + acetato de amonio 3,75 mM, B = acetonitrilo + ácido fórmico al 0,04%.

Barrido completo de detección: 215-350 nm.

#### HPLC 1:

Columna: Cromolith Performance RP18e, 4,6 x 100 mm, flujo: 2,0 ml/min. Gradiente: Del 2% al 100% de B en 4,5 min, el 100% de B durante 1 minuto, A = agua + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%, B = acetonitrilo + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%.

Detección: 215 nm.

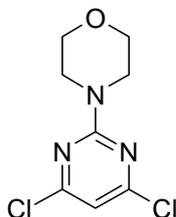
#### UPLC 1:

Columna: Acquity UPLC HSS T3 C18, 1,7  $\mu\text{m}$ , 2,1 x 50 mm, flujo: 1,0 ml/min. Gradiente: del 5% al 100% de B en 1,5 min, el 100% de B durante 1 minuto, A = agua + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%, B = acetonitrilo + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%.

Detección: 218 nm.

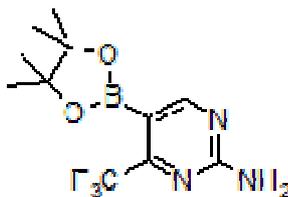
Producto intermedio A: 4-(4,6-dicloro-pirimidin-2-il)-morfolina

El Producto intermedio A está comercialmente disponible o puede prepararse empleando el siguiente procedimiento.



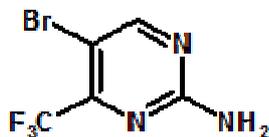
- 5 A una disolución de 2,4,6-tricloro-pirimidina (5,0 ml, 42,6 mmol) en mesitileno (80 ml) a 165°C, se le agregó por goteo una disolución de morfolina (4,83 ml, 55,4 mmol) en mesitileno (20 ml), y la suspensión se agitó a 165°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se trató con H<sub>2</sub>O, EtOAc y NaHCO<sub>3</sub>. La fase orgánica se lavó con H<sub>2</sub>O y salmuera, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 100:0 → 7:3). El residuo se trituró en hexano y se filtró, para proporcionar el compuesto del título (3,36 g, 33%). t<sub>R</sub>: 1,11 min (LC-EM 1); ESI-EM: 234,2 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).
- 10

Producto intermedio B: 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-4-trifluorometil-pirimidin-2-il-amina



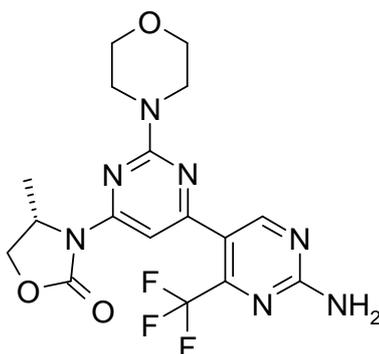
- 15 A una suspensión del producto a partir de la etapa B.1 (16,2 g, 66,3 mmol), bis-pinacolato-diboro (18,5 g, 72,9 mmol), y KOAc (19,5 g, 199 mmol) en dioxano (300 ml), bajo argón, se le agregó el aducto de PdCl<sub>2</sub>(dppf)·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2,4 g, 2,98 mmol), y la mezcla se agitó a 115°C durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 50°C, y se trató con EtOAc. La suspensión resultante se filtró sobre Hyflo, y se lavó con EtOAc. Se concentraron los filtrados combinados. El residuo se suspendió en NaOH 2 N, se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, y entonces se agregaron Et<sub>2</sub>O y H<sub>2</sub>O, y la mezcla binaria se filtró a través de Hyflo. Las fases del filtrado se separaron. El pH de la fase acuosa resultante se ajustó de 5 a 6 con HCl 4 N, y entonces se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con H<sub>2</sub>O y salmuera, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró, y se concentró. El residuo se trituró en Et<sub>2</sub>O y hexano, y se filtró, para proporcionar el compuesto del título (8,33 g, 42%). t<sub>R</sub>: 1,00 min (LC-EM 1); ESI-EM: 290,3 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).
- 20

Etapa B1: 5-bromo-4-trifluorometil-pirimidin-2-il-amina



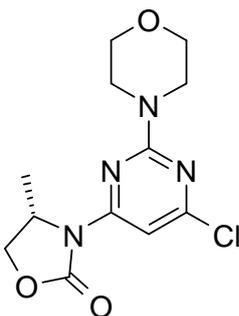
- 25 A una disolución de la 2-amino-4-trifluorometil-pirimidina (25 g, 0,15 mol) en CH<sub>3</sub>CN (800 ml), se le agregó por goteo (durante 2,5 horas) NBS (34,8 g, 0,195 mol) disuelto en 200 ml de CH<sub>3</sub>CN en la oscuridad. La mezcla se agitó durante 4,5 horas a temperatura ambiente en la oscuridad, y entonces el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en EtOAc y H<sub>2</sub>O, y la mezcla binaria se transfirió a un embudo separador. La fase acuosa se separó y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas se lavaron con H<sub>2</sub>O y salmuera, se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, y se evaporaron. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice utilizando un gradiente de hexano/EtOAc, 9:1 a 3:2. Las fracciones puras combinadas se evaporaron, y el residuo se suspendió en 40 ml de hexano, se agitó durante 10 min, se filtró, y se lavó con 20 ml de hexano, 2 veces, para dar el producto del título como un sólido color beige (31,2 g, 85%). t<sub>R</sub>: 0,82 min (LC-EM 1).
- 30

**Ejemplo 1:** (S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-metiloxazolidin-2-ona



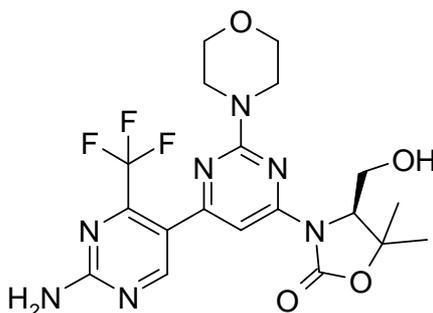
5 Una disolución del producto a partir de la etapa 1.1 (350 mg, 1,16 mmol), el producto intermedio B (449 mg, 1,51 mmol),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2 M, 1,7 ml, 3,48 mmol), y  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-CH}_2\text{Cl}_2$  (95 mg, 0,17 mmol) en DME (10 ml), bajo argón, se agitó a  $80^\circ\text{C}$  durante 1 hora. La mezcla se diluyó en EtOAc, y se extrajo con  $\text{NaHCO}_3$  saturado. La fase orgánica se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$  y salmuera, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ , 99.5:0.5  $\rightarrow$  98:2). El residuo se trituró en hexano, se filtró, y se secó. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación (Waters Sun Fire C18, 30 x 100 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%-agua/acetonitrilo; gradiente de acetonitrilo del 5 al 100% en 20 min), para proporcionar el compuesto del título (260 mg, 52%).  $t_{\text{R}}$ : 0.93 min (LC-EM 1); ESI-EM: 426.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (LC-EM 1).

10 Etapa 1.1: (S)-3-(6-cloro-2-morfolin-4-il-pirimidin-4-il)-4-metiloxazolidin-2-ona



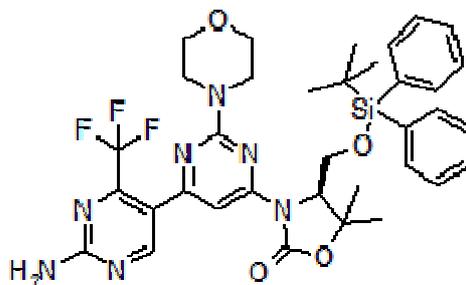
15 A una disolución de la (S)-4-metil-2-oxazolidinona (432 mg, 4,19 mmol) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (10 ml), se le agregó lentamente NaH (al 60% en aceite mineral, 201 mg, 5,02 mmol), bajo una atmósfera de argón, y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió hasta  $0^\circ\text{C}$ , y se agregó el producto intermedio A (1 g, 4,19 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, y se extrajo con  $\text{H}_2\text{O}$ . La fase orgánica se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$  y salmuera, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 97:3  $\rightarrow$  1:1), para proporcionar el compuesto del título (605 mg, 47%).  $t_{\text{R}}$ : 1,00 min (LC-EM 1); ESI-EM: 299,2/301,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (LC-EM 1).

20 **Ejemplo 2:** (S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5,5-dimetiloxazolidin-2-ona



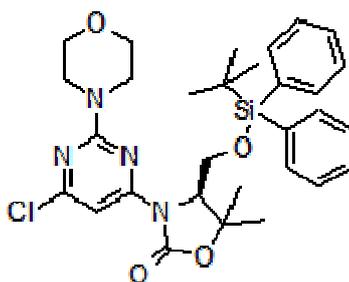
Una disolución del producto a partir de la etapa 2.1 (28 mg, 0,04 mmol), y TBAF (2 ml, 2,0 mmol, 1 M en tetrahydrofurano (THF)) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/MeOH, 100:0 → 95:5), para dar el producto del título.  $t_R$ : 0,89 min (LC-EM 1); ESI-EM: 470,2  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

5 Etapa 2.1: (S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-5,5-dimetiloxazolidin-2-ona



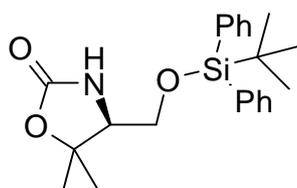
10 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento empleado para el ejemplo 1, pero utilizando el producto a partir de la etapa 2.2. La mezcla se llevó a cabo a 100°C durante 40 min. Después de la extracción, el residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/ EtOAc, 100:0 → 30:70), para dar el producto del título.  $t_R$ : 1,45 min (LC-EM 1); ESI-EM: 708,4  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

Etapa 2.2: (S)-4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-3-(6-cloro-2-morfolin-4-il-pirimidin-4-il)-5,5-dimetiloxazolidin-2-ona

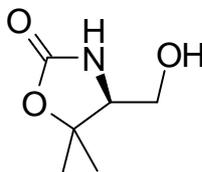


15 Una disolución del producto a partir de la etapa 2.3 (95 mg, 0,25 mmol), el producto intermedio A (58 mg, 0,25 mmol), Xantphos (10 mg, 0,02 mmol), Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub> (4,5 mg, 4,95 μmol), y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (121 mg, 0,37 mmol) en dioxano bajo argón, se agitó a 100°C durante 3 horas. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, y se extrajo con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 100:0 → 0:100), para dar el producto del título (85 mg, 56%).  $t_R$ : 1,54 min (LC-EM 1); ESI-EM: 581,4/583,3  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

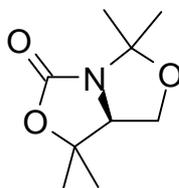
Etapa 2.3: (S)-4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-5,5-dimetiloxazolidin-2-ona



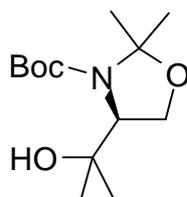
25 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento empleado en la etapa 6.2, pero utilizando el producto a partir de la etapa 2.4, y utilizando Et<sub>3</sub>N en lugar de imidazol. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 100:0 → 55:45), para dar el producto del título.  $t_R$ : 1,33 min (LC-EM 1); ESI-EM: 384,3  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

Etapa 2.4: (S)-4-hidroximetil-5,5-dimetiloxazolidin-2-ona

5 Una disolución del producto a partir de la etapa 2.5 (110 mg, 0,59 mmol), y HCl (4 M en dioxano, 5 ml, 20 mmol), se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se concentró, y el residuo se utilizó sin mayor purificación.

Etapa 2.5: (S)-1,1,5,5-tetrametil-dihidro-oxazolo-[3,4-c]-oxazol-3-ona

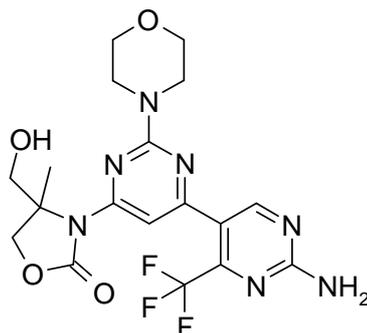
10 A una disolución del producto a partir de la etapa 2.6 (190 mg, 0,73 mmol) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (6 ml), bajo argón a 0°C, se le agregó NaH (88 mg, 2,20 mmol, al 60% en aceite), y la mezcla se agitó a 0°C durante 6 horas. La mezcla de reacción se apagó con H<sub>2</sub>O y se concentró. El residuo se trituró en EtOAc, y se filtró. La disolución filtrada se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró, y se concentró. El producto se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 100:0 → 60:40).

Etapa 2.6: Terc-butil-éster del ácido (S)-4-(1-hidroxi-1-metil-etil)-2,2-dimetiloxazolidina-3-carboxílico

15 A una disolución del (S)-4-metil-2,2-dimetiloxazolidina-3,4-dicarboxilato de 3-terc-butilo (500 mg, 1,93 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (15 ml), bajo argón a 0°C, se le agregó por goteo bromuro de metil-magnesio (1,4 ml, 4,24 mmol), y la mezcla se agitó a 0°C durante 2 horas. La reacción se apagó con una disolución saturada de NH<sub>4</sub>Cl, y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 100:0 → 65:35). t<sub>R</sub>: 1,01 min (LC-EM 1); ESI-EM: 260,3 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

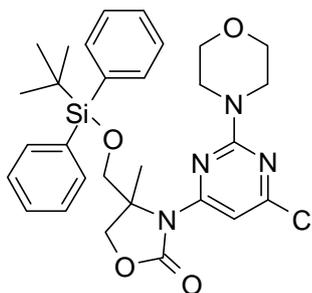
20

**Ejemplo 3:** 3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-4,5'-bipirimidin-6-il)-4-(hidroximetil)-4-metiloxazolidin-2-ona racémica



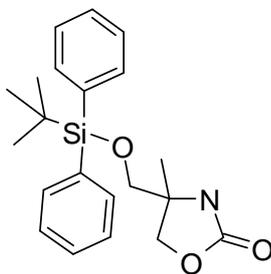
Una disolución del producto intermedio B (68 mg, 0,21 mmol), el producto a partir de la etapa 3.1 (120 mg, 0,21 mmol), una disolución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2M (317  $\mu\text{l}$ , 0,63 mmol), y tetrakis (15 mg, 0,01 mmol) en DME (2 ml), se agitó a 80°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó en EtOAc y se agregó  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La suspensión resultante se filtró, y el filtrado se concentró. El residuo se disolvió con tetrahydro-furano (THF) (2 ml), y se agregó TBAF (212  $\mu\text{l}$ , 0,21 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, y se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/EtOH, 99:1  $\rightarrow$  96:4). El residuo se trituró en dicloro-metano (DCM)/hexano, para proporcionar el compuesto del título.  $t_R$ : 0,85 min (LC-EM 1); ESI-EM: 456,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (LC-EM 1).

10 Etapa 3.1: 4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-3-(6-cloro-2-morfolino-4-il-pirimidin-4-il)-4-metiloxazolidin-2-ona



El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 2.2, pero utilizando un producto a partir de la etapa 3.2. Después de la extracción, el residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc: 9:1  $\rightarrow$  1:1), para dar el compuesto del título.

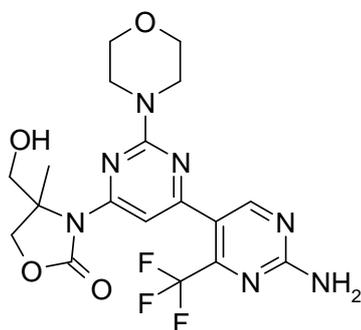
15 Etapa 3.2: 4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-4-metiloxazolidin-2-ona



El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 6.4, pero utilizando la 4-(hidroximetil)-4-metiloxazolidin-2-ona, y utilizando dicloro-metano (DCM) en lugar de N,N-dimetil-formamida. La mezcla de reacción se extrajo con  $\text{Et}_2\text{O}$ . La fase orgánica se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$  y salmuera, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró, y se concentró. El sólido resultante se trituró en hexano, y se filtró, para proporcionar el compuesto del título.  $t_R$ : 1,20 min (LC-EM 1); ESI-EM: 339,2/341,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (LC-EM 1).

**Ejemplo 3A:** Primer enantiómero que se eluyó de 3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-4,5'-bipirimidin-6-il)-4-(hidroximetil)-4-metiloxazolidin-2-ona

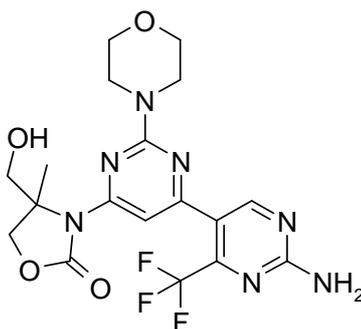
Estereoquímica absoluta no determinada.



5 Se obtuvo el compuesto del título después de la separación de SFC quiral de preparación del producto racémico del ejemplo 3. (Columna: Chiralpak AD-H, 30 x 250 mm. Flujo de 80 ml/min. scCO<sub>2</sub>/MeOH, 85:15). t<sub>R</sub>: 3,97 min (Columna: Chiralpak AD-H, 4,6 x 250 mm. Flujo de 3 ml/min. scCO<sub>2</sub>/ MeOH, 85:15).

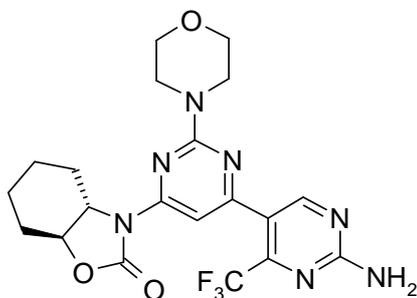
**Ejemplo 3B:** Segundo enantiómero que se eluyó de 3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-4,5'-bipirimidin-6-il)-4-(hidroximetil)-4-metiloxazolidin-2-ona

Estereoquímica absoluta no determinada.



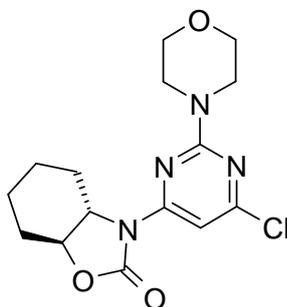
10 Se obtuvo el compuesto del título después de la separación de SFC quiral de preparación del producto racémico del ejemplo 3. (Columna: Chiralpak AD-H, 30 x 250 mm. Flujo de 80 ml/min. scCO<sub>2</sub>/MeOH, 85:15). t<sub>R</sub>: 4,49 min (Columna: Chiralpak AD-H, 4,6 x 250 mm. Flujo de 3 ml/min. scCO<sub>2</sub>/ MeOH, 85:15).

**Ejemplo 4:** (3aS,7aS)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-hexahidro-benzo-oxazol-2-ona

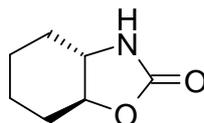


15 Una disolución del producto a partir de la etapa 4.1 (60 mg, 0,17 mmol), el producto intermedio B (54 mg, 0,17 mmol), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 M, 260 μl, 0,52 mmol), y tetrakis de paladio (10 mg, 8,7 μmol) en DME (1,5 ml), bajo argón se agitó a 80°C durante 2 horas en un frasco sellado. La mezcla de reacción se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH, 99.8:0.2 → 97.5:2.5). El residuo se disolvió en dicloro-metano (DCM) (2 ml), y entonces se trató en hexano (4 ml). Los cristales se filtraron y se lavaron con hexano (3 ml), para dar el compuesto del título (36 mg, 44%). t<sub>R</sub>: 1,10 min (LC-EM 1); ESI-EM: 466,3 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

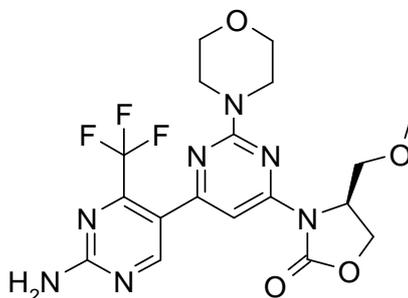
20

Etapa 4.1: (3aS,7aS)-3-(6-cloro-2-morfolin-4-il-pirimidin-4-il)-hexahidro-benzo-oxazol-2-ona

5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 2.2, pero utilizando un producto a partir de la etapa 4.2. La reacción se llevó a cabo a 100°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se filtró a través de Hyflo y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc: 9:1 → 1:1), para dar el compuesto del título.  $t_R$ : 1,20 min (LC-EM 1); ESI-EM: 339,2/341,2 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

Etapa 4.2(3aS,7aS)-Hexahidro-benzo-oxazol-2-ona

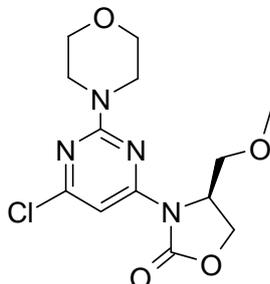
10 El (1S,2S)-2-amino-ciclohexanol (750 mg, 6,51 mmol), y el clorofornato de 2-nitro-fenilo (1378 mg, 6,84 mmol) se agitaron en DCE (15 ml) con DIEA (2,39 ml, 13,68 mmol) en un frasco sellado a 90°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se vertió en un embudo separador con 50 ml de EtOAc y 50 ml de una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La fase acuosa se lavó con 50 ml de EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con 50 ml de H<sub>2</sub>O, 50 ml de salmuera, se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc: 7:3 → 3:7), para dar el compuesto del título (770 mg, 5,13 mmol).  $t_R$ : 0,69 min (LC-EM 1); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, <dmso>) δ ppm 1,19 -1,44 (m, 3 H) 1,45 -1,61 (m, 1 H) 1,65 (d, J = 9,77 Hz, 1 H) 1,76 (d, J = 11,34 Hz, 1 H) 1,82 -1,93 (m, 1 H) 1,93 -2,10 (m, 1 H) 3,03 - 3,23 (m, 1 H) 3,74 (td, J = 11,34, 3,52 Hz, 1 H) 7,53 (sa, 1 H)

**Ejemplo 5:** (S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-metoxi-metiloxazolidin-2-ona

20 En un frasco para microondas, a una disolución del producto a partir de la etapa 5.1 (116 mg, 0,28 mmol), y el producto intermedio B (90 mg, 0,31 mmol) en DME (2,1 ml), se le agregaron una disolución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,7 ml), y PdCl<sub>2</sub>(dppf)<sub>2</sub>.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (23 mg, 0,03 mmol). La mezcla se burbujeó con argón durante 5 min. Se agitó a 120°C durante 15 min bajo irradiación con microondas. La mezcla de reacción se absorbió en dicloro-metano (DCM) y agua. Las capas se separaron, y la fase acuosa se extrajo dos veces más con algo de dicloro-metano (DCM).  
 25 Entonces las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, y se evaporaron. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/MeOH: 100% → 95% de dicloro-metano (DCM)). El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea en fase inversa (MeCN/H<sub>2</sub>O: 10% → 100% de MeCN), para dar el compuesto del título (19 mg, 13%).  $t_R$ : 0,91 min (LC-EM 1); ESI-EM: 456,1

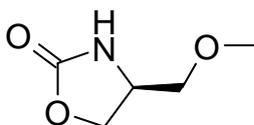
[M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

Etapa 5.1: (S)-3-(6-cloro-2-morfolin-4-il-pirimidin-4-il)-4-metoxi-metiloxazolidin-2-ona



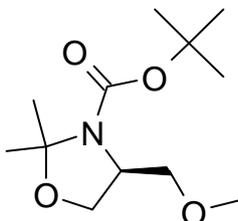
5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 2.2, pero utilizando un producto a partir de la etapa 5.2. La reacción se llevó a cabo a 115°C durante 80 min. La mezcla de reacción se concentró y se absorbió con dicloro-metano (DCM)/agua. Las capas se separaron, y la fase acuosa se extrajo tres veces con dicloro-metano (DCM). Las fases orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc: 100% → 60% de heptano), para dar el compuesto del título (116 mg, 22%). t<sub>R</sub>: 0.98 min (LC-EM 1); ESI-EM: 329,2 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

10 Etapa 5.2: (S)-4-metoxi-metiloxazolidin-2-ona



15 Se agregó TsOH (800 mg, 4,21 mmol) a una disolución amarilla del producto a partir de la etapa 5.3 (1,013 g, 4,13 mmol) en metanol (MeOH) (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 90 min. Entonces se agregó TsOH (140 mg, 0,74 mmol), y se agitó durante 70 min a temperatura ambiente. Entonces se removió el disolvente y el residuo se disolvió en dicloro-metano (DCM) (6 ml) con trietil-amina (1,44 ml, 10,32 mmol). Se agregó lentamente una disolución de trifosgeno (0,613 g, 2,07 mmol) en dicloro-metano (DCM) (4 ml) a la mezcla. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas 30 min. La reacción se apagó con unas cuantas gotas de agua. Entonces se acidificó hasta un pH = 4 con la adición del regulador, y entonces las capas se separaron. La primera fase acuosa se extrajo una vez más con algo de dicloro-metano (DCM). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio, y se evaporaron. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/MeOH: 100% → 90% DCM), para dar el compuesto del título (231 mg, 38%). ESI-EM: 132,1 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

Etapa 5.3: Terc-butil-éster del ácido (S)-4-metoxi-metil-2,2-dimetiloxazolidina-3-carboxílico

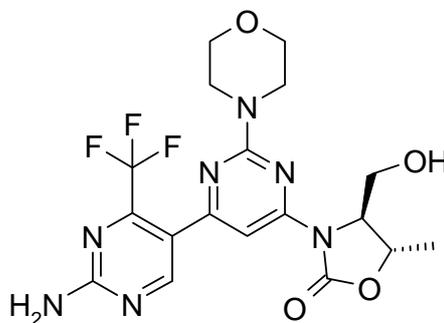


25 Se agregó NaH (265 mg, 6,63 mmol) a una disolución amarilla de (S)-1-Boc-2,2-dimetil-4-hidroximetiloxazolidina (AstaTech Inc., Bristol, Pensilvania) (1 g, 4,19 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (10 ml). Entonces la mezcla se agitó durante 15 min a temperatura ambiente. Se agregó yoduro de metilo (323 µl, 5,19 mmol) a la suspensión amarilla, y la mezcla se agitó durante 2 horas y media a temperatura ambiente. Entonces se agregó agua para apagar la reacción. El disolvente se removió. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/MeOH: 5% → 10% de MeOH), para dar el compuesto del título (1,013 g, 94%). ESI-EM: 246,1 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM

30

1);  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1,48 (s, 9 H) 1,53 (sa, 6 H) 3,30 (m, 1 H) 3,36 (s, 3 H) 3,41 - 3,63 (m, 2 H) 3,88 - 4,00 (m, 2 H)

**Ejemplo 6:** (4S,5S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metiloxazolidin-2-ona



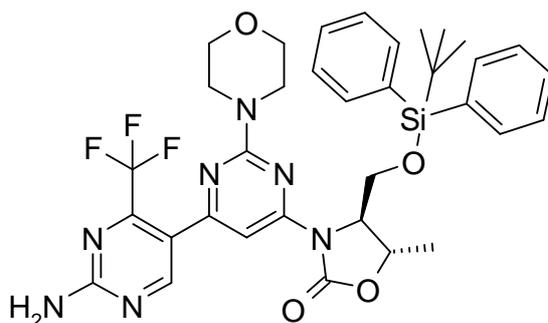
5

Una disolución del producto a partir de la etapa 6.1 (600 mg, 0,82 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (5 ml) se trató con HF.piridina en tetrahidrofurano (THF) (7,14 ml, 57,5 mmol) durante 4 días a temperatura ambiente en un frasco de plástico. Entonces, la mezcla de reacción se agregó por goteo a una mezcla agitada de una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (300 ml) y EtOAc (200 ml). Entonces se agregó  $\text{NaHCO}_3$  sólido hasta un pH de aproximadamente 8, y se separaron las capas. La fase acuosa se lavó con 100 ml de EtOAc, los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con agua y salmuera. Se secaron entonces sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron, y se evaporaron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/EtOH: 99:1  $\rightarrow$  95:5). Las fracciones se combinaron y se concentraron. El residuo se sonicó en dicloro-metano (DCM), y entonces se agregó hexano. Los cristales obtenidos se filtraron y se volvieron a purificar 3 veces mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/EtOAc: 9:1  $\rightarrow$  3:7, luego Hexano/THF: 9:1  $\rightarrow$  1:1, y luego Hexano/THF: 7:3  $\rightarrow$  1:1), para dar el compuesto del título (243 mg, 64%).  $t_R$ : 0,80 min (LC-EM 1); ESI-EM: 456,6  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (LC-EM 1).

10

15

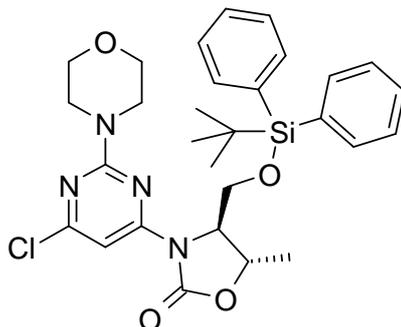
Etapa 6.1: (4S,5S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-5-metiloxazolidin-2-ona



20

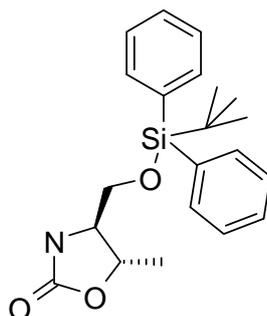
El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para el ejemplo 1, pero utilizando un producto a partir de la etapa 6.2. La reacción se llevó a cabo a  $80^\circ\text{C}$  durante 1 hora. Después de la extracción, el residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/EtOH: 95.5:0.5  $\rightarrow$  97:3), para dar el compuesto del título.  $t_R$ : 1,43 min (LC-EM 1); ESI-EM: 694,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (LC-EM 1).

Etapa 6.2: (4S,5S)-4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-3-(6-cloro-2-morfolin-4-il-pirimidin-4-il)-5-metiloxazolidin-2-ona



5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 2.2, pero utilizando un producto a partir de la etapa 6.3. La reacción se llevó a cabo a 100°C durante 3 horas 30 min. La mezcla de reacción se absorbió con EtOAc, y se lavó con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/ EtOAc: 100% → 30% de heptano.), para dar el compuesto del título (116 mg, 22%). t<sub>R</sub>: 1,51 min (LC-EM 1); ESI-EM: 567,4/569,5 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

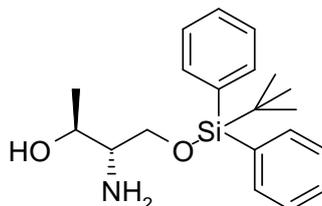
Etapa 6.3: (4S,5S)-4-(terc-butil-difenil-silaniloxy-metil)-5-metiloxazolidin-2-ona



10 El producto a partir de la etapa 6.4 (3,2 g, 9,31 mmol) se disolvió en dicloro-metano (DCM) (32 ml), y se trató con Et<sub>3</sub>N (3,25 ml, 23,29 mmol). La disolución se inundó con Argón y se agitó durante 5 min a temperatura ambiente. Entonces, se trató con trifosgeno (1,382 g, 4,66 mmol), y se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La reacción se apagó con una disolución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (10 ml), y se agitó durante 10 min a temperatura ambiente.

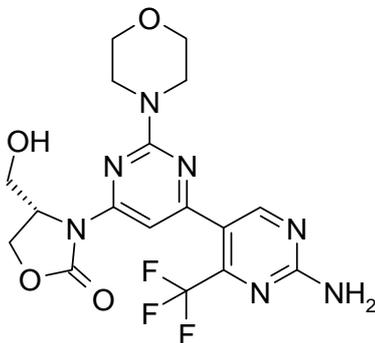
15 La capa de agua se separó, y la fase orgánica se lavó con agua. La fase acuosa combinada se extrajo 3 veces con dicloro-metano (DCM). La fase orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc: 100% → 50% de heptano), para dar el compuesto del título (2,22 g, 61%). t<sub>R</sub>: 1,28 min (LC-EM 1); ESI-EM: 387,3 [M+18]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

Etapa 6.4: (2S,3S)-3-amino-4-(terc-butil-difenil-silaniloxy)-butan-2-ol

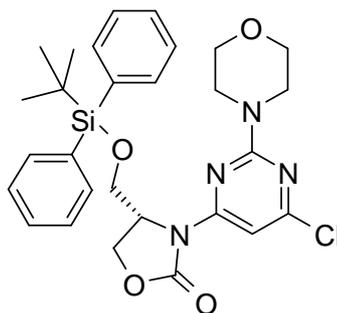


20 El D-treoninol (2 g, 19,02 mmol) se disolvió en N,N-dimetil-formamida (DMF) (15 ml), se trató con imidazol (3,89 g, 57,1 mmol), y se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. Entonces, se agregó por goteo TBDPS-Cl (5.13 ml, 19,97 mmol) a la disolución de la reacción bajo argón. La disolución de la reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Entonces se diluyó en EtOAc, y se lavó dos veces con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/ EtOAc: 100% → 0% de heptano.), para dar el compuesto del título (3.21 g, 47%). t<sub>R</sub>: 0,98 min (LC-EM 1); ESI-EM: 344,3 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

25

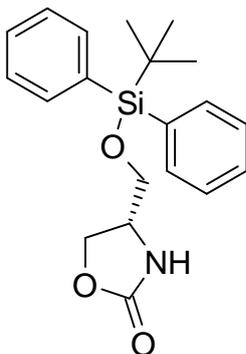
**Ejemplo 7:** (S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetiloxazolidin-2-ona

Una disolución del producto a partir de la etapa 7.1 (200 mg, 0,35 mmol), el producto intermedio B (131 mg, 0,39 mmol), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 M, 526 μl, 1,05 mmol), y tetrakis de paladio (24 mg, 0,21 mmol) en DME (4 ml), bajo argón, se agitó a 80°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se trató con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se diluyó en EtOAc, y las partes insolubles se filtraron. La torta del filtro se lavó tres veces con EtOAc, y el filtrado se evaporó. Entonces el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (THF) y se agregó una disolución de TBAF (1 N, 351 μl, 0,35 mmol). La mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. El disolvente se removió, y el residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/EtOH: 99:1 → 95:5), para dar el compuesto del título. t<sub>R</sub>: 0,74 min (LC-EM 1).

10 Etapa 7.1: (R)-4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-3-(6-cloro-2-morfolin-4-il-pirimidin-4-il)-oxazolidin-2-ona

El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 2.2, pero utilizando un producto a partir de la etapa 7.2. La reacción se llevó a cabo a 100°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc: 9:1 → 6:4), para dar el compuesto del título. t<sub>R</sub>: 1,53 min (LC-EM 1); ESI-EM: 553,4/555,5 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

15

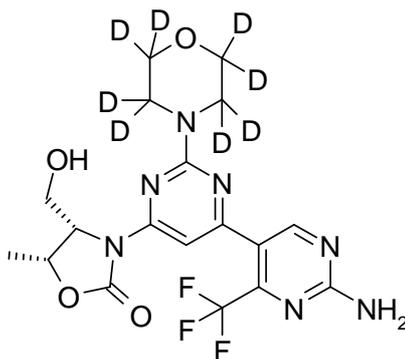
Etapa 7.2: (R)-4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-oxazolidin-2-ona

El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 6.4, pero utilizando la (S)-4-(hidroximetil)-oxazolidin-2-ona (SpeedChemical Corp. Shanghai), y dicloro-metano (DCM), en lugar de la N,N-dimetil-

20

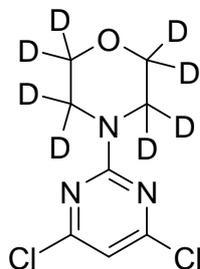
formamida. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua, y se extrajo dos veces con Et<sub>2</sub>O. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, y se evaporaron. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc: 98:2 → 4:6). El residuo se trató con hexano y Et<sub>2</sub>O. Los cristales obtenidos se filtraron para dar el compuesto del título. t<sub>R</sub>: 1,26 min (LC-EM 1), <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO) δ ppm 0,98 (s, 9 H) 3,51 - 3,63 (m, 2 H) 3,88 (dd, J = 8,60, 4,30 Hz, 1 H) 4,14 (dd, J = 8,60, 4,69 Hz, 1 H) 4,30 - 4,38 (m, 1 H) 7,37 - 7,50 (m, 6 H) 7,57 - 7,65 (m, 4 H) 7,71 (s, 1 H).

**Ejemplo 8:** (4S,5R)-3-(2'-amino-2-(D8-morfolin-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metiloxazolidin-2-ona



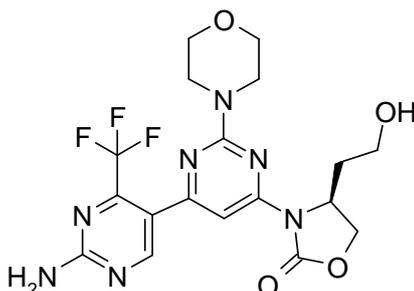
El compuesto del título se preparó en analogía a la secuencia completa descrita en el ejemplo 6, pero utilizando un producto a partir de la etapa 8.1 en lugar del producto intermedio A, y el D-alo-treoninol en lugar del D-treoninol. t<sub>R</sub>: 0,79 min (LC-EM 1); ESI-EM: 464,5 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

Etapla 8.1: 4-(4,6-dicloro-pirimidin-2-il)-D8-morfolina



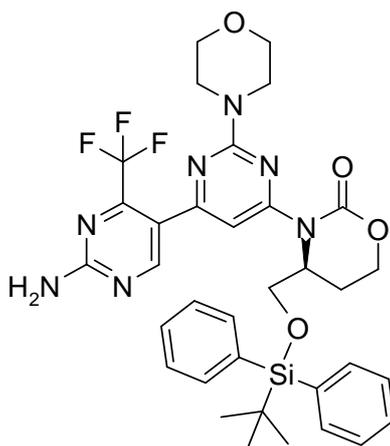
La 2,4,6-tricloro-pirimidina se disolvió en EtOH con Et<sub>3</sub>N y D8-morfolina. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Entonces se diluyó con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo dos veces con EtOAc. Los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con salmuera. Entonces se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc: 0% de hexano → 40%). t<sub>R</sub>: 0,94 min (LC-EM 1); ESI-EM: 242,3/244,2 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

**Ejemplo 9:** (S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-(2-hidroxi-etil)-oxazolidin-2-ona



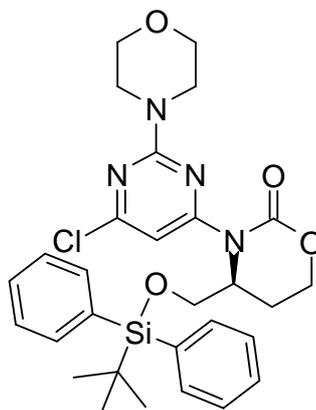
El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el ejemplo 6, pero utilizando un producto a partir de la etapa 9.1. La extracción se llevó a cabo en dicloro-metano (DCM). El residuo se purificó mediante HPLC de preparación (H<sub>2</sub>O/ACN), y entonces mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/MeOH, 100:0 → 95:5). t<sub>R</sub>: 0,78 min (LC-EM 1); ESI-EM: 456,2 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

- 5 Etapa 9.1: (S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-[1,3]-oxazinan-2-ona



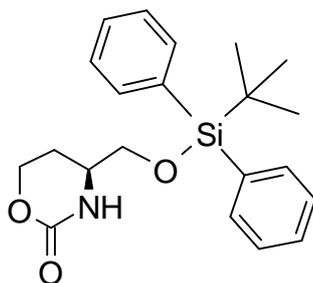
- 10 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para el ejemplo 1, pero utilizando un producto a partir de la etapa 9.2. La reacción se llevó a cabo a 120°C durante 15 min. La mezcla de reacción se disolvió en dicloro-metano (DCM), y se extrajo con H<sub>2</sub>O. La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 8:2 → 4:6). t<sub>R</sub>: 1,54 min (LC-EM 1); ESI-EM: 694,3 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

Etapa 9.2: (S)-4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-3-(6-cloro-2-morfolin-4-il-pirimidin-4-il)-[1,3]-oxazinan-2-ona



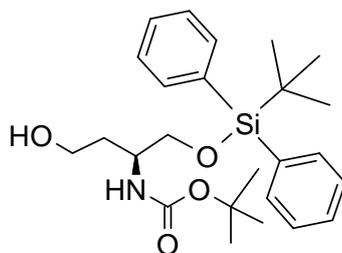
- 15 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 2.2, pero utilizando un producto a partir de la etapa 9.3. La reacción se llevó a cabo a 115°C durante 2.5 horas. La mezcla se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación (H<sub>2</sub>O/ACN), entonces mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 9:1 → 0:100). t<sub>R</sub>: 1,49 min (LC-EM 1); ESI-EM: 567,3 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

Etapa 9.3: (S)-4-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-[1,3]-oxazinan-2-ona



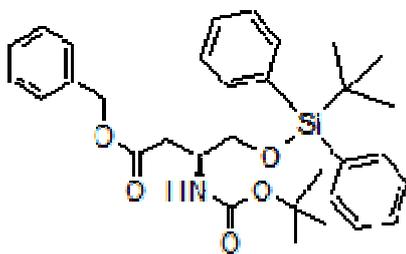
5 A una disolución del producto a partir de la etapa 9.4 (900 mg, 2,03 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (40 ml), bajo argón, se le agregó NaH al 60% en aceite (160 mg, 4,0 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla se diluyó con EtOAc, y se extrajo con H<sub>2</sub>O. La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 100:0 → 0:100). t<sub>R</sub>: 1,23 min (LC-EM 1); ESI-EM: 370,2 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

Etapa 9.4: Terc-butil-éster del ácido [(S)-1-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-3-hidroxi-propil]-carbámico



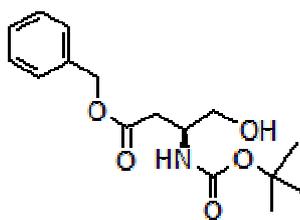
10 A una disolución del producto a partir de la etapa 9.5 (40 g, 73 mmol) en terc-butil-metil-éter (TBME) (400 ml) a 0°C, se le agregó por goteo LiBH<sub>4</sub> (2M en tetrahidrofurano (THF), 74 ml, 146 mmol), y la mezcla se agitó a 0°C durante 10 min, entonces se calentó hasta la temperatura ambiente, y se agitó durante 5 horas. La mezcla de reacción se apagó con H<sub>2</sub>O, y entonces con una disolución de ácido cítrico 0,5 M. La mezcla se extrajo con terc-butil-metil-éter (TBME). La fase orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se concentró. El producto se utilizó sin mayor purificación.

Etapa 9.5: Bencil-éster del ácido (S)-3-terc-butoxi-carbonil-amino-4-(terc-butil-difenil-silaniloxi)-butírico



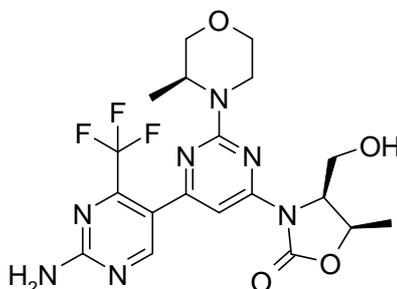
15 El producto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 6.4. R<sub>f</sub>: 0,7 (hexano/EtOAc, 8:2).

Etapa 9.6: Bencil-éster del ácido (S)-3-terc-butoxi-carbonil-amino-4-hidroxi-butírico



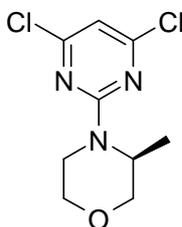
A una disolución del 4-bencil-éster de ácido Boc-L-aspartico (100 g, 309 mmol) en DME (1.8 L) a -20°C, se le agregó NMM (34 ml, 309 mmol), y entonces por goteo cloro-formato de isobutilo (40 ml, 309 mmol), y la mezcla se agitó a -20°C durante 20 min. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se enfrió hasta -20°C. Se agregó en porciones NaBH<sub>4</sub> (17,5 g, 463 mmol), a -20°C. La mezcla se dejó calentar, y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se apagó con una disolución de ácido cítrico al 20%, y entonces se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se lavó con una disolución de NaHCO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O y salmuera, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró, y se concentró. El producto se utilizó sin mayor purificación para la siguiente etapa.

**Ejemplo 10:** (4S,5R)-3-[2'-amino-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il]-4-hidroxi-metil-5-metiloxazolidin-2-ona



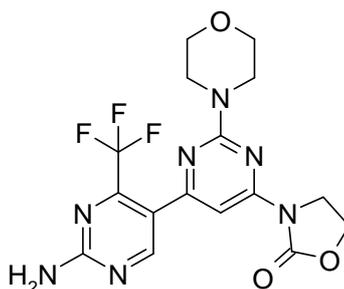
El compuesto del título se preparó en analogía a la secuencia entera descrita para el ejemplo 6, pero utilizando el producto a partir de la etapa 10.1 en lugar del producto intermedio A, y el D-alo-treoninol en lugar del D-treoninol. La mezcla se agregó por goteo a una disolución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Después de la adición, se agregó una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (el pH final fue de alrededor de 7 a 8. Se diluyó con agua, y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró, y se evaporó. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación (Waters Sun Fire C18, 30 x 100 mm, 5 μm; ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%-agua/acetonitrilo; gradiente de acetonitrilo del 5 al 100% en 20 min). El residuo se recrystalizó en Et<sub>2</sub>O/hexano (3 / 1). Los cristales se filtraron y se lavaron con hexano, para dar el compuesto del título. t<sub>R</sub>: 2,89 min (HPLC 1); ESI-EM: 470,3 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1); p.f. 217,7°C (establecimiento).

Etapas 10.1: (S)-4-(4,6-dicloro-pirimidin-2-il)-3-metil-morfolina



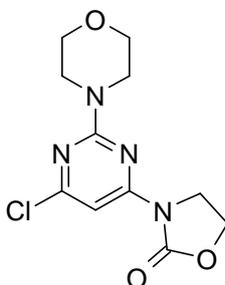
La 2,4,6-tricloro-pirimidina (100 mg, 0,53 mmol) se disolvió en dioxano (2 ml) con di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (280 μl, 1,6 mmol), y (S)-3-metil-morfolina (54 mg, 0,53 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 130°C bajo irradiación con microondas durante 15 min. Entonces se diluyó con EtOAc, y se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación (Waters Sun Fire C18, 30 x 100 mm, 5 μm; ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%-agua/acetonitrilo; gradiente de acetonitrilo del 5 al 100% en 20 min), para proporcionar el compuesto del título (45 mg, 34%). t<sub>R</sub>: 3,70 min (HPLC 1); ESI-EM: 248,2/250,2 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

**Ejemplo 11 (para propósitos de comparación):** 3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-oxazolidin-2-ona



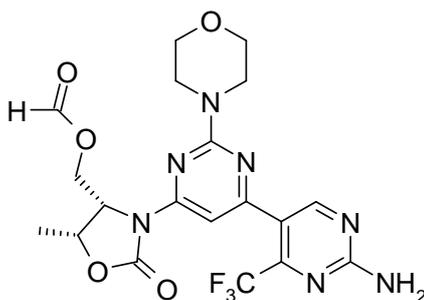
5 El compuesto del título se preparó en analogía al ejemplo 5 (incluyendo la etapa 5.1), pero utilizando el producto a partir de la etapa 11.1. La reacción se llevó a cabo a 100°C durante 1 hora. La extracción se llevó a cabo en EtOAc. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 100:0 → 0:100).  $t_R$ : 0,87 min (LC-EM 1); ESI-EM: 412,4  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

Etapa 11.1: 3-(6-cloro-2-morfolin-4-il-pirimidin-4-il)-oxazolidin-2-ona



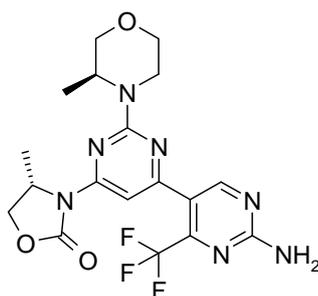
El compuesto del título se preparó en analogía a la secuencia entera descrita para la etapa 2.2, pero utilizando oxazolidin-2-ona.  $t_R$ : 0,93 min (LC-EM 1); ESI-EM: 285,5/287,4  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

10 **Ejemplo 12:** (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-metil-2-oxo-oxazolidin-4-il-metil-éster de ácido fórmico



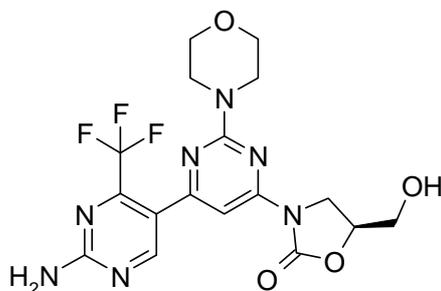
15 El compuesto del ejemplo 18 (47 mg, 0,10 mmol) se disolvió en ácido fórmico (80  $\mu$ l, 2,09 mmol), y se almacenó a 5°C durante 4 días. Entonces se dejó calentar hasta la temperatura ambiente, y se almacenó durante 2 días. Se absorbió entonces con EtOAc, y se lavó con una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y salmuera. La fase orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación (Waters Sun Fire C18, 30 x 100 mm, 5  $\mu$ m; ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%-agua/acetonitrilo; gradiente de acetonitrilo del 5 al 70% en 20 min), para proporcionar el compuesto del título (57 mg, 80%).  $t_R$ : 0,88 min (LC-EM 1); ESI-EM: 484,4  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

20 **Ejemplo 13:** (S)-3-[2'-amino-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il]-4-metiloxazolidin-2-ona



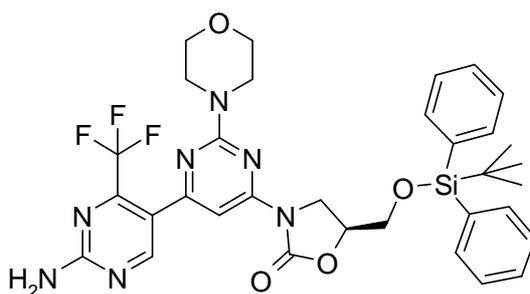
- 5 El compuesto del título se preparó en analogía a la secuencia entera descrita para el ejemplo 11, pero utilizando el producto a partir de la etapa 10.1 en lugar del producto intermedio A, y la (S)-4-metil-2-oxazolidinona en lugar de la oxazolidin-2-ona. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/EtOH: 99,8 / 0,2 → 98 / 2), y entonces mediante HPLC de preparación (Waters Sun Fire C18, 30 x 100 mm, 5 μm; ácido trifluoroacético (TFA) al 0,1%-agua/acetonitrilo; gradiente de acetonitrilo del 5 al 100% en 20 min), para proporcionar el compuesto del título (35 mg, 32%).  $t_R$ : 0,98 min (LC-EM 1); ESI-EM: 440,1 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

**Ejemplo 14:** (S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroximetiloxazolidin-2-ona

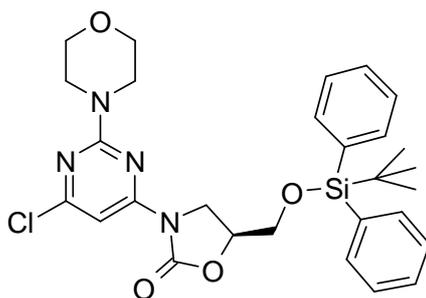


- 10 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para el ejemplo 6, pero utilizando el producto a partir de la etapa 14.1. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/MeOH, 100:0 → 95:5).  $t_R$ : 0,77 min (LC-EM 1); ESI-EM: 442,2 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

Etapa 14.1: (S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-oxazolidin-2-ona

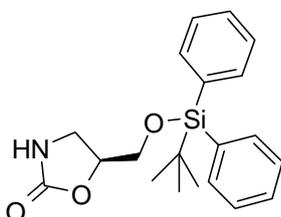


- 15 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para el ejemplo 5, pero utilizando el producto a partir de la etapa 14.2. La reacción se llevó a cabo a 100°C en un baño de un aceite durante 1 hora. La extracción se llevó a cabo en EtOAc. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 100:0 → 0:100).  $t_R$ : 1,40 min (LC-EM 1); ESI-EM: 680,3 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).
- 20 Etapa 14.2: (S)-5-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-3-(6-cloro-2-morfolin-4-il-pirimidin-4-il)-oxazolidin-2-ona



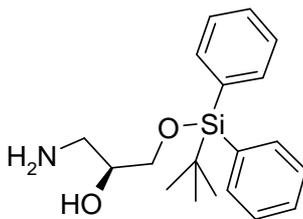
5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 2.2, pero utilizando el producto a partir de la etapa 14.3. Después de la extracción, el residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/ EtOAc, 100:0 → 40:60).  $t_R$ : 1,49 min (LC-EM 1); ESI-EM: 553,3  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

Etapa 14.3: (S)-5-(terc-butil-difenil-silaniloxi-metil)-oxazolidin-2-ona



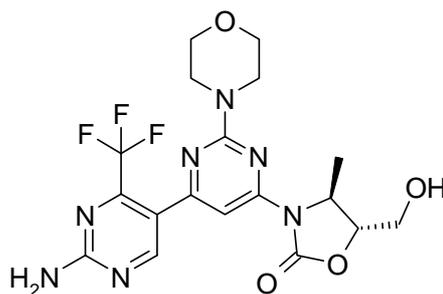
10 A una disolución del producto a partir de la etapa 14.4 (2,72 g, 8,27 mmol), y  $Et_3N$  (2,88 ml, 20,67 mmol) en diclorometano (DCM), bajo argón, se le agregó por goteo trifosgeno (982 mg, 3,31 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. La mezcla de reacción se apagó con una disolución de  $NH_4Cl$ . La fase orgánica se secó ( $Na_2SO_4$ ), se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 100:0 → 0:100).  $t_R$ : 1,21 min (LC-EM 1); ESI-EM: 373,2  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

Etapa 14.4: (S)-1-amino-3-(terc-butil-difenil-silaniloxi)-propan-2-ol



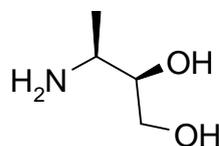
15 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 6.4, pero utilizando el (S)-3-amino-propano-1,2-diol, y utilizando  $Et_3N$  en lugar de imidazol. Después de la extracción, el residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/MeOH, 100:0 → 90/10).  $t_R$ : 0,93 min (LC-EM 1); ESI-EM: 330,2  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

20 **Ejemplo 15:** (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroximetil-4-metioxazolidin-2-ona



El compuesto del título se preparó en analogía a la secuencia entera descrita para el ejemplo 6, pero utilizando el producto a partir de la etapa 15.1 en lugar del D-treoninol.  $t_R$ : 0,98 min (LC-EM 1); ESI-EM: 344,3  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

Etapa 15.1: (2R,3S)-3-amino-butano-1,2-diol

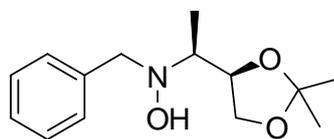


5

El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento de la etapa 19.1, pero utilizando el producto a partir de la etapa 15.2. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/EtOH: 99,8 / 0,2 → 98 / 2), y entonces mediante HPLC de preparación (Waters Sun Fire C18, 30 x 100 mm, 5  $\mu$ m; ácido trifluoroacético (TFA) al 0,1%-agua/acetonitrilo; gradiente de acetonitrilo del 5 al 100% en 20 min), para proporcionar el compuesto del título (35 mg, 32%).  $t_R$ : 0,98 min (LC-EM 1); ESI-EM: 440,1  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

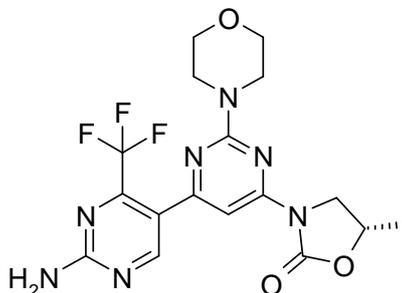
10

Etapa 15.2: N-bencil-N-((S)-1-((R)-2,2-dimetil-[1,3]-dioxolan-4-il)-etil)-hidroxilamina



El compuesto del título es el segundo isómero formado durante la etapa 19.2 (1,07 g, 57%).  $t_R$ : 0,91 min (LC-EM 1); ESI-EM: 252,2  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

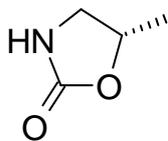
15 **Ejemplo 16:** (S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-metiloxazolidin-2-ona



El compuesto del título se preparó en analogía al ejemplo 11, pero utilizando el producto a partir de la etapa 16.1 en lugar de la (R)-4-metil-2-oxazolidinona. La reacción se llevó a cabo a 100°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se absorbió con EtOAc. Se lavó dos veces con una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc: 0% → 85% de EtOAc), para dar el compuesto del título (9,6 mg, 58%).  $t_R$ : 0,94 min (LC-EM 1); ESI-EM: 426,2  $[M+H]^+$  (LC-EM 1).

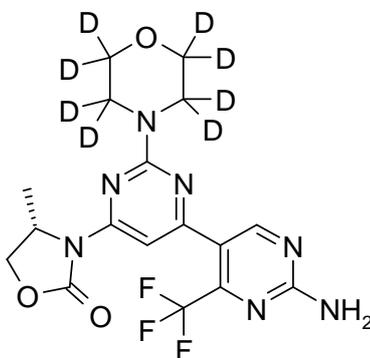
20

Etapa 16.1: (S)-5-metiloxazolidin-2-ona



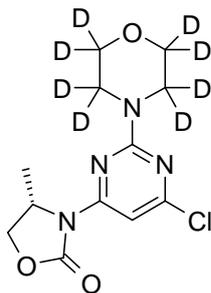
5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 6.3, pero utilizando (S)-1-amino-propan-2-ol. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 3 horas. La reacción se apagó con una disolución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (10 ml), y se agitó durante 10 min a temperatura ambiente. La capa de agua se separó, y la fase orgánica se lavó con agua. Las capas acuosas combinadas se extrajeron 3 veces con dicloro-

10 **Ejemplo 17:** (S)-3-(2'-amino-2-D8-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-4-metiloxazolidin-2-ona



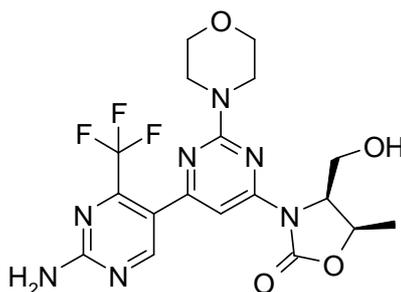
15 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para el ejemplo 4, pero utilizando el producto a partir de la etapa 17.1. Después de completarse, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/ EtOH, 99,5:0,5 → 98:2). El residuo se trituró en dicloro-metano (DCM) y se lavó con hexano, para proporcionar el compuesto del título. t<sub>R</sub>: 0,89 min (LC-EM 1); ESI-EM: 434,4 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1); R<sub>f</sub>: 0,67 (DCM/EtOH, 95:5).

Etapa 17.1: (S)-3-(6-cloro-2-D8-morfolin-4-il-pirimidin-4-il)-4-metiloxazolidin-2-ona



20 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 2.2, pero utilizando el producto a partir de la etapa 8.1 y (S)-4-metil-2-oxazolidinona. La extracción se llevó a cabo en dicloro-metano (DCM). El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/ EtOAc, 9:1 → 7:3). t<sub>R</sub>: 0,97 min (LC-EM 1); ESI-EM: 307,3/309,3 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

**Ejemplo 18:** (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metiloxazolidin-2-ona



El compuesto del título se preparó en analogía a la secuencia entera descrita para el ejemplo 6, pero utilizando el D-allo-treoninol en lugar del D-treoninol. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 33 horas. La mezcla se agregó por goteo a una disolución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Después de la adición, el pH fue de alrededor de 7 a 8. Se diluyó con agua, y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró, y se evaporó. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación (Waters Sun Fire C18, 30 x 100 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%-agua / acetonitrilo; gradiente de acetonitrilo del 5 al 60% en 20 min). Las fracciones se combinaron y se basificaron con una disolución de  $\text{NaHCO}_3$  al 5%. El producto se precipitó y se filtró. Para eliminar el paladio residual, el producto se disolvió en dicloro-metano (DCM) / metanol (MeOH) (4 / 1), y se pasó a través de un cartucho SPE de MP-Tiol de Polymerlabs, y entonces se evaporó el disolvente. Se produjo un número de lotes basándose en este método, y varios se procesaron para proporcionar el material cristalino como sigue.

#### Lote A:

Para la preparación de este lote, el producto no se pasó a través de un cartucho SPE de MP-Tiol de Polymerlabs. Las fracciones puras obtenidas después de la HPLC de preparación se combinaron y se trataron con  $\text{NaHCO}_3$ . El  $\text{CH}_3\text{CN}$  se evaporó sobre lo cual, el producto se cristalizó. El producto se recolectó mediante filtración, se lavó con agua, y se secó, para dar el compuesto del título como un sólido blanco. p.f. 221,3°C (establecimiento).

#### Lote B:

Para la preparación de este lote, el producto no se pasó a través de un cartucho SPE de MP-Tiol de Polymerlabs. Las fracciones puras obtenidas después de la HPLC de preparación se combinaron y se trataron con  $\text{NaHCO}_3$  sólido. El  $\text{CH}_3\text{CN}$  se evaporó, sobre lo cual, el producto se cristalizó. La mezcla acuosa se mantuvo durante 1 hora en el refrigerador, se filtró, se lavó con agua, y se secó bajo un alto vacío (HV) durante la noche, para proporcionar un sólido blanco, m = 298 mg. p.f. 249,9°C (establecimiento).

#### Lote C:

Para la preparación de este lote, el producto no se pasó a través de un cartucho SPE de MP-Tiol de Polymerlabs. Las fracciones puras obtenidas después de la HPLC de preparación se combinaron y se evaporaron. El residuo se absorbió en  $\text{CH}_3\text{CN}$ , y entonces se agregó agua que contenía ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%, seguida por  $\text{NaHCO}_3$  sólido. La disolución se concentró y el precipitado se filtró, se lavó con agua, y se secó, para dar el producto del título como un sólido blanco. p.f. 237,9°C (establecimiento).

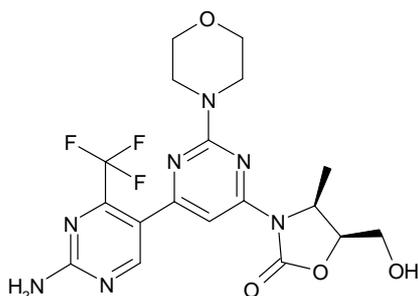
#### Lote D:

Después de pasar a través del cartucho SPE de MP-Tiol de Polymerlabs, el disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en  $\text{CH}_3\text{CN}$  y entonces se diluyó con la misma cantidad de agua. El  $\text{CH}_3\text{CN}$  se evaporó y, justo antes de la cristalización del producto, se agregaron algunos cristales del Lote B. Entonces se evaporó completamente el  $\text{CH}_3\text{CN}$ , y la suspensión se enfrió en el refrigerador. Entonces se filtró, se recolectó, y se secó bajo un alto vacío (HV) durante la noche, para proporcionar el producto del título como un sólido blanco, p.f. 259,0°C (establecimiento).

#### Lote E:

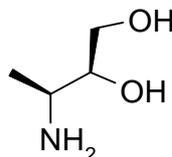
El mismo procedimiento que se describe para el Lote C, pero se agregaron algunos cristales del Lote D con el objeto de inducir la cristalización. El producto del título se obtuvo como un sólido blanco, p.f. 258,8°C (establecimiento).

**Ejemplo 19:** (4S,5S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroxi-4-metiloxazolidin-2-ona



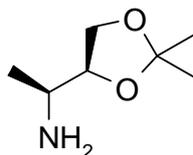
5 El compuesto del título se preparó en analogía a la secuencia entera descrita para el ejemplo 6, pero utilizando el producto a partir de la etapa 19.1 en lugar de D-treoninol. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 16 horas 30 min. La mezcla se agregó por goteo a una disolución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Después de la adición, se diluyó con agua, y se extrajo dos veces con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró, y se evaporó. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación (Waters Sun Fire C18, 30 x 100 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%-agua / acetonitrilo; gradiente de acetonitrilo del 5 al 80% en 20 min), para dar el compuesto del título (16,3 mg, 75%).  $t_{\text{R}}$ : 2,79 min (HPLC 1); ESI-EM: 456,1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

Etapa 19.1: (2S,3S)-3-amino-butano-1,2-diol



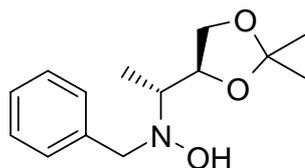
10 El producto a partir de la etapa 19.2 se agitó en HCl en disolución en EtOH durante 2 horas a temperatura ambiente. El disolvente se removió, para dar el compuesto del título como una sal de HCl (303 mg, 100%).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{dms}\text{-}d_6$ )  $\delta$  ppm 1,08 (d,  $J = 6,65$  Hz, 3 H) 3,18 - 3,33 (m, 1 H) 3,33 - 3,45 (m, 1 H) 3,61 - 3,72 (m, 1 H) 7,85 (sa, 2 H)

Etapa 19.2: (S)-1-((S)-2,2-dimetil-[1,3]-dioxolan-4-il)-etil-amina



15 El producto a partir de la etapa 19.3 (producto 2, que se eluyó al final, 538 mg, 2,14 mmol) se disolvió en AcOH (25 ml) con Pd/C (100 mg), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 11 horas bajo condiciones de  $\text{H}_2$ . Entonces se filtró sobre Celite, y entonces el disolvente se removió, para dar el compuesto del título (311 mg, 100%).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{dms}\text{-}d_6$ )  $\delta$  ppm 0,90 -1,04 (m, 3 H) 1,16 -1,38 (m, 6 H) 2,76 -2,90 (m, 1 H) 3,75 (dd,  $J = 13,86, 7,22$  Hz, 2 H) 3,90 (sa, 1 H);  $t_{\text{R}}$ : 3,13 min (HPLC 1).

Etapa 19.3: N-bencil-N-[(R)-1-((S)-2,2-dimetil-[1,3]-dioxolan-4-il)-etil]-hidroxilamina y N-bencil-N-[(S)-1-((S)-2,2-dimetil-[1,3]-dioxolan-4-il)-etil]-hidroxilamina



**Producto 1**



**Producto 2**

25 A una disolución bien agitada de 1,48 g (6,29 mmol) del producto a partir de la etapa 19.4 en 80 ml de  $\text{Et}_2\text{O}$ , se le agregaron 6,29 ml (6,29 mmol) de  $\text{Et}_2\text{AlCl}$  1 M en hexanos en una porción, y se continuó la agitación durante 15 min. La mezcla entonces se enfrió hasta  $-60^\circ\text{C}$ , y se trató con 6,29 ml (18,87 mmol) de bromuro de metil-magnesio 3 M

en Et<sub>2</sub>O. La mezcla se agitó durante 2 horas a -60°C, y entonces se dejó calentar lentamente hasta la temperatura ambiente con agitación durante la noche. Después de eso, la reacción se trató con NaOH (2 M, 40 ml). Después de agitar durante 15 min a temperatura ambiente, la mezcla se extrajo 3 veces con 120 ml de Et<sub>2</sub>O. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en metanol (MeOH), y se purificó mediante HPLC de preparación en fase inversa en 8 inyecciones (H<sub>2</sub>O [ + ácido trifluoroacético (TFA) al 0,1%] / CH<sub>3</sub>CN, 97:3 a 50:50 en 20 min):

5

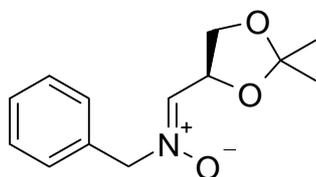
10

– Las fracciones 1 a 3 se recolectaron juntas y se basificaron con aproximadamente 2 g de NaHCO<sub>3</sub>, antes de concentrarse. La capa resultante se extrajo con 150 ml de Et<sub>2</sub>O 2 veces, y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, y se evaporaron a sequedad, para dar 1,01 g de un aceite incoloro, el cual se cristalizó lentamente (aproximadamente 99% puro según <sup>1</sup>H RMN; HPLC Rt = 2,36; ESI-EM: 252,2 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1))-> Producto 1.

15

– Las fracciones 5 a 7 se recolectaron juntas y se basificaron con aproximadamente 2 g de NaHCO<sub>3</sub>, antes de concentrarse. La suspensión resultante se extrajo con 150 ml de Et<sub>2</sub>O 2 veces, y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, y se evaporaron a sequedad, para dar 363 mg de un sólido blanco (aproximadamente 99% puro según <sup>1</sup>H RMN; HPLC Rt = 2,44; ESI-EM: 252,3 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1))-> Producto 2.

#### Etapa 19.4: Óxido de (S,Z)-N-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-metileno)-1-fenil-metanamina

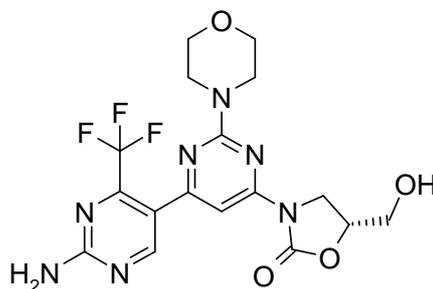


20

25

1,50 g (11,53 mmol) de (R)-2,2-dimetil-1.3-dioxolano-4-carboxaldehído (Fluorochem, Hadfield, Reino Unido (UK)) se disolvieron en 60 ml de dicloro-metano (DCM), y se trataron con 1,64 g (11,53 mmol) de sulfato de sodio. La mezcla de reacción se inundó con argón, y se trató con una disolución de 1,42 g (11,53 mmol) de N-bencil-hidroxilamina (preparada a partir de la sal de clorhidrato comercialmente disponible) en 20 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se agitó bajo argón a temperatura ambiente durante 16,5 horas, y entonces se filtró. Se agregó gel de sílice al filtrado, y se absorbió previamente, antes de purificarse mediante cromatografía sobre gel de sílice (gradiente: Heptano/EtOAc, del 0% al 100% en 30 min). Las fracciones 20 a 80 se recolectaron y se evaporaron a sequedad, y se secaron al vacío durante la noche, para dar 1,48 g de un sólido blanco (aproximadamente 100% puro según la HPLC, Rt = 1,43); ESI-EM: 236,2 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1))

#### Ejemplo 20: (R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroximetiloxazolidin-2-ona



30

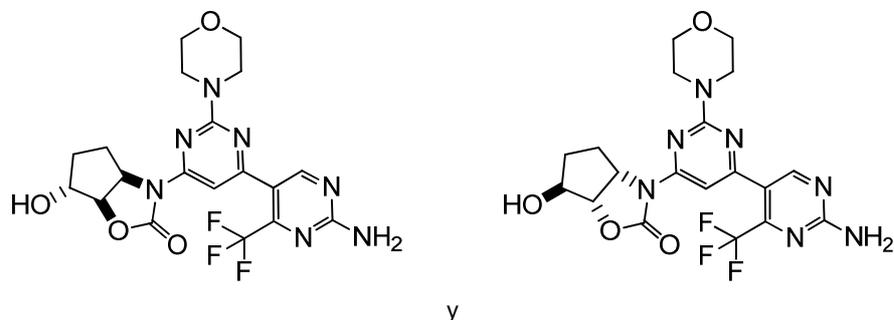
35

El compuesto del título se preparó en analogía a la secuencia entera descrita para el ejemplo 6, pero utilizando (R)-3-amino-propano-1,2-diol en lugar de D-treoinol. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 16 horas. Entonces la mezcla de reacción se apagó cuidadosamente con NaHCO<sub>3</sub>. Entonces se diluyó con EtOAc, y se lavó dos veces con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró, y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (DCM/EtOH: 0% → 10% de MeOH), para dar el compuesto del título (22,8 mg, 38%). t<sub>R</sub>: 0,77 min (HPLC 1); ESI-EM: 442,2 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 1).

#### Ejemplo 21: (3aR,6aR)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidinil-6-il)-tetrahydro-furo-[3,4-d]-oxazol-2(3H)-ona



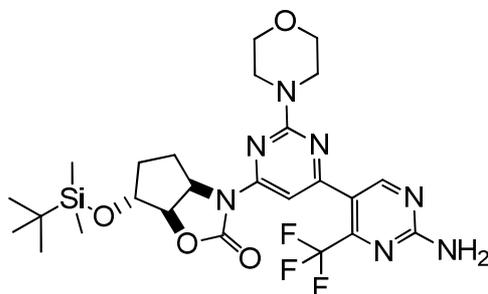
**Ejemplo 22:** (3aR\*,6R\*,6aR\*)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-6-hidroxi-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona



y

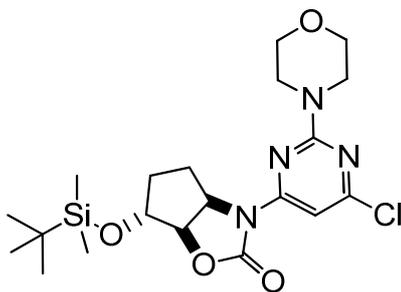
5 A una disolución de la (3aR\*,6R\*,6aR\*)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-6-((terc-butil-dimetil-silil)-oxi)-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona (810 mg, 1,253 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (12 ml), se le agregó por goteo TBAF 1M en tetrahidrofurano (THF) (1,0 ml, 1,0 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a 0°C y durante 2 horas a temperatura ambiente antes de la evaporación. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano-tetrahidrofurano (THF), 60:40 → 0:100). El residuo se trituró en Et<sub>2</sub>O, se filtró, y se secó. El residuo se purificó mediante HPLC de preparación (Waters Sun Fire C18, 30 x 100 mm, 5 μm; ácido trifluoro-acético (TFA) al 0,1%-agua/acetonitrilo; gradiente de acetonitrilo del 5 al 100% en 20 min), para proporcionar el compuesto del título (430 mg, 72%); t<sub>R</sub> = 0,93 min (UPLC 1), t<sub>R</sub> = 0,81 min (LC-EM 3); ESI-EM: 468 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3).

Etapa 22.1: (3aR\*,6R\*,6aR\*)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-6-((terc-butil-dimetil-silil)-oxi)-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona



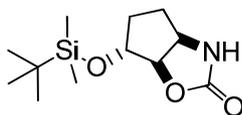
15 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para el ejemplo 21 a partir de la (3aR\*,6R\*,6aR\*)-6-((terc-butil-dimetil-silil)-oxi)-3-(6-cloro-2-morfolino-pirimidin-4-il)-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona y el producto intermedio B, y utilizando Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> en lugar de PdCl<sub>2</sub>(dppf)-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en lugar de K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, para proporcionar el compuesto del título después de la cristalización a partir de EtOAc/hexano, como un sólido blanco: t<sub>R</sub> = 1,62 min (UPLC 1), t<sub>R</sub> = 1,47 min (LC-EM 3); ESI-EM: 582 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3).

Etapa 22.2: (3aR\*,6R\*,6aR\*)-6-((terc-butil-dimetil-silil)-oxi)-3-(6-cloro-2-morfolino-pirimidin-4-il)-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona



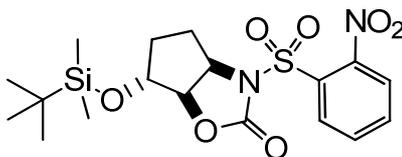
El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 21.1 a partir de la (3aR\*,6R\*,6aR\*)-6-((terc-butil-dimetil-silil)-oxi)-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona y el producto intermedio A:  $t_R = 1,76$  min (UPLC 1),  $t_R = 1,58$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 455, 457  $[M+H]^+$  (LC-EM 3).

5 Etapa 22.3: (3aR\*,6R\*,6aR\*)-6-((terc-butil-dimetil-silil)-oxi)-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona



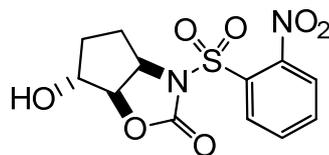
10 A una suspensión de la (3aR\*,6R\*,6aR\*)-6-((terc-butil-dimetil-silil)-oxi)-3-((2-nitro-fenil)-sulfonil)-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona (1,47 g, 3.32 mmol), y  $Cs_2CO_3$  (2,164 g, 6,64 mmol) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (25 ml), se le agregó N-acetil-L-cisteína (0.921 g, 5.65 mmol), y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evaporó, y el residuo se suspendió en una disolución saturada de  $NaHCO_3$ , y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $MgSO_4$ , se filtraron, y se concentraron. Se obtuvo el compuesto del título después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 90:10  $\rightarrow$  50:50), como un aceite amarillo (0,84 g, 98%): TLC (heptano/EtOAc, 1:1)  $R_f = 0.28$ .

15 Etapa 22.4: (3aR\*,6R\*,6aR\*)-6-((terc-butil-dimetil-silil)-oxi)-3-((2-nitro-fenil)-sulfonil)-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona



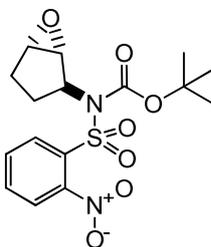
20 A una disolución de la (3aR\*,6R\*,6aR\*)-6-hidroxi-3-((2-nitro-fenil)-sulfonil)-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona (1,2 g, 3,66 mmol), y 2,6-lutidina (0,851 ml, 7,31 mmol) en  $CH_2Cl_2$  (25 ml), se le agregó por goteo, a 0°C, el trifluorometan-sulfonato de terc-butil-dimetil-sililo (1,091 ml, 4,75 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 0°C, seguido por 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con  $CH_2Cl_2$ , y se lavó con una disolución acuosa de  $NaH_2PO_4$  al 20% y  $H_2O$ , se secó sobre  $MgSO_4$ , se filtró, y se concentró. Se obtuvo el compuesto del título después de la cristalización a partir de EtOAc/heptano, como un sólido blanco (1,5 g, 88%): TLC (heptano/EtOAc, 1:1)  $R_f = 0,54$ ;  $t_R = 1,58$  min (UPLC 1),  $t_R = 1,43$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 460  $[M+NH_4]^+$  (LC-EM 3).

25 Etapa 22.5: (3aR\*,6R\*,6aR\*)-6-hidroxi-3-((2-nitro-fenil)-sulfonil)-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona



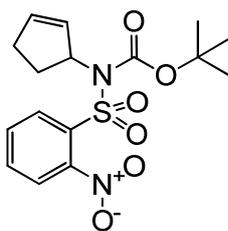
- 5 A una disolución del (1R\*,2S\*,5S\*)-6-oxabicyclo[3.1.0]-hexan-2-il-((2-nitro-fenil)-sulfonyl)-carbamato de terc-butilo (2,0 g, 5,10 mmol) en metanol (MeOH) (40 ml), se le agregó Amberlyst 15 (4,0 g), y la suspensión resultante se agitó durante 1.5 horas a 25°C. La mezcla de reacción se filtró y se concentró. Se obtuvo el compuesto del título después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano-EtOAc, 90:10 → EtOAc), como un sólido color beige (1,24 g, 73%): TLC (heptano/EtOAc, 1:2)  $R_f = 0,36$ ;  $t_R = 0,80$  min (UPLC 1),  $t_R = 0,77$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 346  $[M+NH_4]^+$  (LC-EM 3).

Etapa 22.6: (1R\*,2S\*,5S\*)-6-oxabicyclo[3.1.0]-hexan-2-il-((2-nitro-fenil)-sulfonyl)-carbamato de terc-butilo



- 10 A una suspensión del ciclopent-2-en-1-il-((2-nitro-fenil)-sulfonyl)-carbamato de terc-butilo (2,75 g, 7,46 mmol), y  $NaHCO_3$  (1,254 g, 14,93 mmol) en  $CH_2Cl_2$  (60 ml), se le agregó, en una porción, ácido meta-cloroperoxi-benzoico (2,58 g, 14,93 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con  $CH_2Cl_2$ , y se lavó con una disolución acuosa de  $Na_2SO_3$  al 20%, una disolución saturada de  $NaHCO_3$ , y agua. La fase orgánica se secó sobre  $MgSO_4$  y se concentró. Se obtuvo el compuesto del título después de la cristalización a partir de EtOAc como cristales blancos (2,01 g, 68%): TLC (heptano-EtOAc, 1:1)  $R_f = 0,48$ ;  $t_R = 1,20$  min (UPLC 1),  $t_R = 1,12$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 329  $[M-isobutileno]^+$  (LC-EM 3).

Etapa 22.7: Ciclopent-2-en-1-il-((2-nitro-fenil)-sulfonyl)-carbamato de terc-butilo



- 20 A una suspensión de trifetil-fosfina (3,09 g, 11,77 mmol), 2-nitro-fenil-sulfonyl-carbamato de terc-butilo (3,40 g, 11,23 mmol), y ciclopent-2-en-ol (0,900 g, 10,70 mmol) en tolueno (60 ml), se le agregó por goteo, a -20°C, el azodicarboxilato de dietilo (1,948 ml, 12,30 mmol). La mezcla de reacción se agitó a -20°C durante 2 horas, seguido por 3 horas a 0°C. La mezcla de reacción se concentró, y se obtuvo el compuesto del título después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 95:5 → 3:1), como un sólido blanco (2,79 g, 67%):  $t_R = 1,34$  min (UPLC 1),  $t_R = 1,24$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 386  $[M+NH_4]^+$  (LC-EM 3).

- 25 **Ejemplo 22A:** Primer enantiómero que se eluyó sobre Chiralpak AD de (3aR,6R,6aR)- y (3aS,6S,6aS)-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-6-hidroxi-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona

Estereoquímica absoluta no determinada.

Se obtuvo el compuesto del título después de la separación mediante HPLC de preparación quiral del producto racémico del ejemplo 22. (Columna: Chiralpak AD, 20  $\mu$ m, 5 x 500 mm. Flujo de 70 ml/min. Heptano/EtOH/DEA,

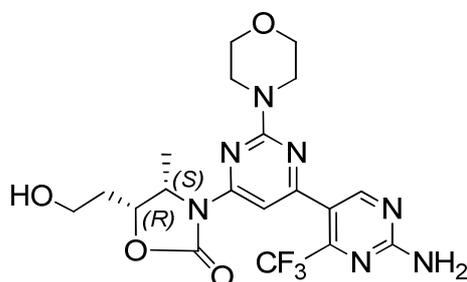
20:80:0,01).  $t_R$ : 17,7 min (Columna: Chiralpak AD-H, 4.6 x 250 mm. Flujo de 1,2 ml/min. Heptano/EtOH, 70:30).

**Ejemplo 22B:** Segundo enantiómero que se eluyó sobre Chiralpak AD de (3aR,6R,6aR)- y (3aS,6S,6aS)-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-6-hidroxi-hexahidro-2H-ciclopenta-[d]-oxazol-2-ona

Estereoquímica absoluta no determinada.

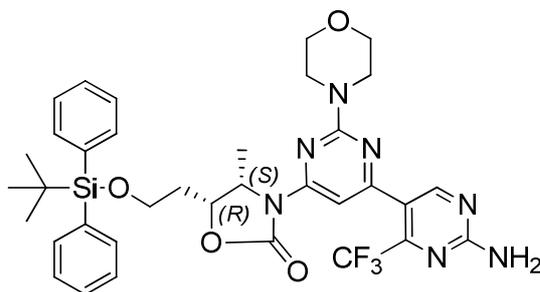
- 5 Se obtuvo el compuesto del título después de la separación mediante HPLC de preparación quiral del producto racémico del ejemplo 22. (Columna: Chiralpak AD, 20  $\mu$ m, 5 x 500 mm. Flujo de 70 ml/min. Heptano/EtOH/DEA, 20:80:0,01).  $t_R$ : 23,3 min (Columna: Chiralpak AD-H, 4.6 x 250 mm. Flujo de 1,2 ml/min. Heptano/EtOH, 70:30).

**Ejemplo 23:** (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-(2-hidroxi-etil)-4-metiloxazolidin-2-ona



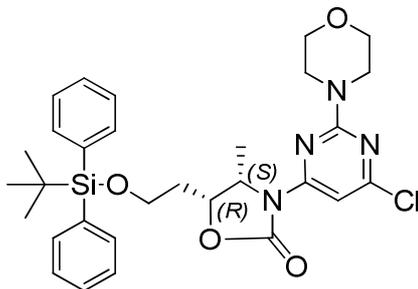
- 10 A una disolución de la (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-(2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-etil)-4-metiloxazolidin-2-ona (2,1 g, 3 mmol) en tetrahidro-furano (THF) (20 ml), se le agregó por goteo TBAF 1M en tetrahidrofurano (THF) (3 ml, 3 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 0°C antes de la evaporación. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc/MeOH, 90:10:1  $\rightarrow$  0:100:10). El producto purificado se recrystalizó a partir de metanol (MeOH), para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (1,17 g, 83%):  $t_R$  = 0,80 min (UPLC 1),  $t_R$  = 0,82 min (LC-EM 3); ESI-EM: 470 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3).
- 15

Etapa 23.1: (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-(2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-etil)-4-metiloxazolidin-2-ona



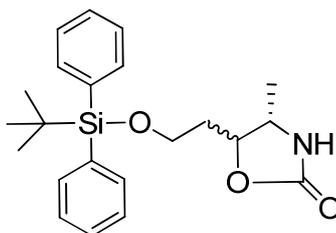
- 20 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para el ejemplo 22.1 a partir de la 4S,5R)-5-(2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-etil)-3-(6-cloro-2-morfolino-pirimidin-4-il)-4-metiloxazolidin-2-ona y el producto intermedio B, para proporcionar el compuesto del título después de la cristalización a partir de MeOH:  $t_R$  = 1,72 min (UPLC 1),  $t_R$  = 1,55 min (LC-EM 3); ESI-EM: 708 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3).

25 Etapa 23.2: (4S,5R)-5-(2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-etil)-3-(6-cloro-2-morfolino-pirimidin-4-il)-4-metiloxazolidin-2-ona



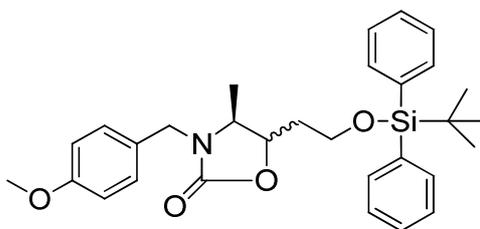
5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 21.1 a partir de una mezcla de 4:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S) de la 5-(2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-etil)-3-(6-cloro-2-morfolino-pirimidin-4-il)-4-metiloxazolidin-2-ona y el producto intermedio A, para proporcionar, después de la remoción del diastereoisómero (4S,5S) mediante dos re-cristalizaciones a partir de THF/MeOH, solamente el diastereoisómero (4S,5R) del compuesto del título:  $t_R = 1,88$  min (UPLC 1),  $t_R = 1,64$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 581, 583  $[M+H]^+$  (LC-EM 3);  $^1H$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  1,08 (s, 9H), 1,36 (d, 3H), 2,02 (m, 2H), 3,70-3,90 (m, 10H), 4,82 (m, 2H), 7,40-7,50 (m, 6H), 7,51 (s, 1H), 7,67 (m, 4H).

Etapa 23.3: (4S,5R)- y (4S,5S)-5-(2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-etil)-4-metiloxazolidin-2-ona



10 A una disolución de una mezcla de 4:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S) de la 5-(2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-etil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona (4,1 g, 7,8 mmol) en acetonitrilo (40 ml), se le agregó una disolución de  $(NH_4)_2Ce(NO_3)_6$  (10,71 g, 19,5 mmol) en  $H_2O$  (20 ml) a  $0^\circ C$ . La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a  $0-5^\circ C$ . La mezcla se agregó a agua helada, y el producto se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con una disolución saturada de  $NaHCO_3$  y salmuera, se secaron sobre  $MgSO_4$ , se filtraron, y se concentraron. Se obtuvo el compuesto del título después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/EtOAc, 10:1  $\rightarrow$  EtOAc), como una mezcla de 4:1 de los diastereómeros (2,2 g, 71%): TLC (hexano-EtOAc, 1:1)  $R_f = 0,23$ ;  $t_R = 1,47$  min (UPLC 1),  $t_R = 1,33$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 401  $[M+NH_4]^+$  (LC-EM 3).

Etapa 23.4: (4S,5R)- y (4S,5S)-5-(2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-etil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona

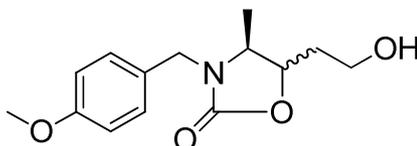


20 A una disolución de una mezcla de 4:1 de los diastereómeros (4S,5R) y (4S,5S) de la 5-(2-hidroxi-etil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona (2,65 g, 10 mmol) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (30 ml), se le agregaron imidazol (1,73 g, 25 mmol), y TBDPSCI (3,57 g, 13 mmol) a  $0-5^\circ C$ . La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró, y el aceite residual se disolvió en terc-butil-metil-éter (TBME), y se lavó con una disolución acuosa de  $KHSO_4$  al 10%,  $H_2O$ , una

25

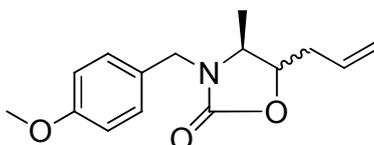
disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y salmuera, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró, y se concentró. Se obtuvo el compuesto del título después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (heptano/ $\text{EtOAc}$ , 20:1  $\rightarrow$  2:1), como una mezcla de 4:1 de los diastereómeros (4,18 g, 80%): TLC (hexano/ $\text{EtOAc}$ , 3:1)  $R_f = 0,27$ ;  $t_R = 1,70$  min (UPLC 1),  $t_R = 1,52$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 526  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (LC-EM 3).

5 Etapa 23.5: (4S,5R)- y (4S,5S)-5-(2-hidroxi-etil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona



10 Una mezcla de 4:1 de la (4S,5R)- y (4S,5S)-5-alil-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona (2,67 g, 10 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ - $\text{MeOH}$ , 2:1 (40 ml), se ozonizó a  $-78^\circ\text{C}$ . Después de la formación completa del ozónido, se agregó  $\text{NaBH}_4$  (0,57 g, 15 mmol), y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agregó a una disolución acuosa de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  al 20%, y el producto se extrajo con  $\text{EtOAc}$ . Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtraron, y se concentraron, para proporcionar el compuesto del título como un aceite amarillo claro (2,65 g, 99%): TLC ( $\text{EtOAc}$ )  $R_f = 0,28$ ;  $t_R = 0,68$  min (UPLC 1),  $t_R = 0,69$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 266  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (LC-EM 3).

Etapa 23.6: (4S,5R)- y (4S,5S)-5-alil-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona

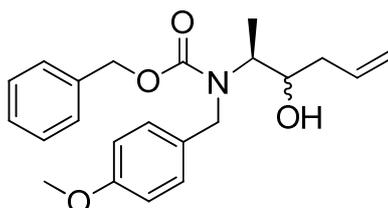


15 A una disolución de una mezcla de 4:1 del ((2S,3R)-3-hidroxi-hex-5-en-2-il)(4-metoxi-bencil)-carbamato de bencilo y el ((2S,3S)-3-hidroxi-hex-5-en-2-il)(4-metoxi-bencil)-carbamato de bencilo (3,55 g, 9,5 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (60 ml), se le agregó, bajo argón, a  $-50^\circ\text{C}$ , una disolución 1M de  $\text{NaHMDS}$  en tetrahidrofurano (THF) (10,5 ml). Después de agitar la mezcla de reacción durante 0.5 horas a  $-40^\circ\text{C}$ , la mezcla se agregó a una disolución acuosa fría de  $\text{KHSO}_4$  al 10%, y el producto se extrajo con  $\text{EtOAc}$ . Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtraron, y se concentraron. Se obtuvo el compuesto del título después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/ $\text{EtOAc}$ , 10:1  $\rightarrow$  1:1), como un aceite incoloro (2,4 g, 97%): TLC (hexano/ $\text{EtOAc}$ , 1:1)  $R_f = 0,42$ ;  $t_R = 1,03$  min (UPLC 1),  $t_R = 0,99$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 262  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (LC-EM 3);  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  1,06 (d, 2,4H), 1,13 (d, 0,6H), 2,30 a 2,40 (m, 2H), 3,25 (m, 0,2H), 3,66 (m, 0,8H, fuerte NOE para la señal en 4,54), 3,75 (s, 3H), 4,07 (d, 1H), 4,10 (m, 0,2H), 4,48 (d, 1H), 4,54 (m, 0,8H), 5,05-5,20 (m, 2H), 5,23 (m, 0,2H), 5,78 (m, 0,8H), 6,92 (d, 2H), 7,22 (d, 0,4H), 7,24 (d, 1,6H).

20

25

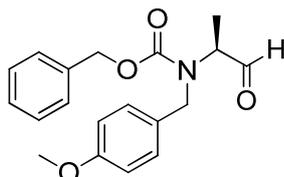
Etapa 23.7: (2S,3R)- y (2S,3S)-4-metoxi-bencil-(1-oxo-propan-2-il)-carbamato de bencilo



30 A una disolución del (S)-4-metoxi-bencil-(1-oxo-propan-2-il)-carbamato de bencilo (3,86 g, 10 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (30 ml), se le agregó polvo de zinc (1,64 g, 25 mmol), una disolución acuosa saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (5 ml),

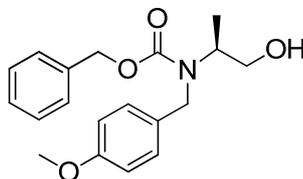
- 5 y bromuro de alilo (2,2 ml, 25 mmol), y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 25-30°C. La mezcla de reacción se diluyó con H<sub>2</sub>O, y el producto se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con una disolución acuosa de KHSO<sub>4</sub> al 10%, H<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron. Se obtuvo el compuesto del título después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → 2:1), como un aceite incoloro, (3,5 g, 97%): t<sub>R</sub> = 1,25 min y 1,27 min (UPLC 1) (mezcla de 4:1 de los diastereoisómeros (2S,3R) y (2S,3S)), TLC (hexano/EtOAc, 1:1) R<sub>f</sub> = 0,51; t<sub>R</sub> = 1,68 min y 1,69 min (LC-EM 3); ESI-EM: 370 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3).

Etapa 23.8: (S)-4-metoxi-bencil-(1-oxo-propan-2-il)-carbamato de bencilo



- 10 A una disolución del (S)-1-hidroxi-propan-2-il(4-metoxi-bencil)-carbamato de bencilo (11,8 g, 35,5 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se le agregaron NaHCO<sub>3</sub> (3,28 g, 39 mmol), KBr (0,25 g, 2,1 mmol), y TEMPO 0,168 g, 1,07 mmol). La mezcla de reacción se enfrió hasta 0-5°C, y se agregó la disolución acuosa de NaClO al 5% (85 ml, 71 mmol), dentro de 30 min. Después de agitar durante 1 hora a 0-5°C, la mezcla de reacción se agregó a una disolución de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, y el producto se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con una disolución acuosa de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O y salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron, para proporcionar el compuesto del título como un aceite amarillo (11,2 g, 96%): TLC (hexano/EtOAc, 1:1) R<sub>f</sub> = 0,55; t<sub>R</sub> = 1,29 min (UPLC 1), t<sub>R</sub> = 1,15 min (LC-EM 3); ESI-EM: 328 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3).

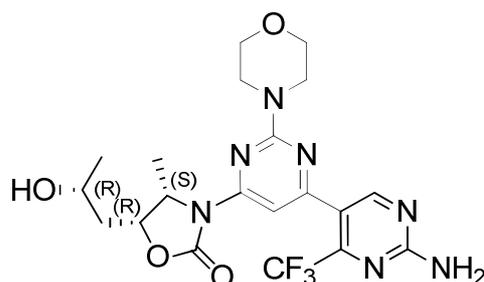
Etapa 23.10: (S)-1-hidroxi-propan-2-il(4-metoxi-bencil)-carbamato de bencilo



- 20 A una disolución del ácido (S)-2-(((benciloxi)-carbonil)(4-metoxi-bencil)-amino)-propanoico [439589-23-8] (16 g, 41,9 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (150 ml), se le agregó lentamente, bajo argón, dimetil-sulfuro de borano (8,4 ml, 84 mmol) a 0-5°C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 0-5°C, seguido por 3 horas a 40-45°C. El exceso de borano se destruyó mediante la adición cuidadosa de metanol, y la mezcla de reacción se evaporó 3 veces con 200 ml de metanol (MeOH) y 2 veces con CHCl<sub>3</sub>. Se obtuvo el compuesto del título después de secar como un aceite incoloro (13,7 g, 99%): TLC (hexano/EtOAc, 1:1) R<sub>f</sub> = 0,22; t<sub>R</sub> = 1,06 min (UPLC 1), t<sub>R</sub> = 1,02 min (LC-EM 3); ESI-EM: 330 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3).

**Ejemplo 24:** primer diastereoisómero que se eluyó en la LC-EM 3 de la (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-((R)-2-hidroxi-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona

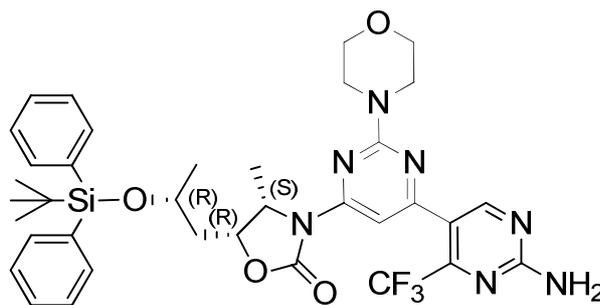
- 30 Estereoquímica absoluta de la fracción de 2-hidroxi-propilo no determinada, configuración (R) arbitrariamente asignada.



5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para el ejemplo 23, a partir de la (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-((R)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona y TBAF, para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc 5:1 → EtOAc/MeOH, 10:1), y de la recristalización a partir de metanol, el compuesto del título como un sólido blanco: TLC (EtOAc)  $R_f = 0.50$ ;  $t_R = 0,88$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 484  $[M+H]^+$  (LC-EM 3).

Etapa 24.1: (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-((R)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona

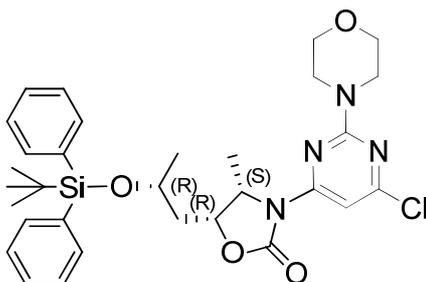
10 Estereoquímica absoluta de la fracción de 2-hidroxi-propilo protegido no determinada, configuración (R) arbitrariamente asignada.



15 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 22.1 a partir de la (4S,5R)-5-((R)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-3-(6-cloro-2-morfolino-pirimidin-4-il)-4-metiloxazolidin-2-ona y el producto intermedio B, para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → EtOAc), el compuesto del título como una espuma color amarillo claro: TLC (hexano/EtOAc, 1:1)  $R_f = 0,45$ ;  $t_R = 1,57$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 722  $[M+H]^+$  (LC-EM 3).

Etapa 24.2: (4S,5R)-5-((R)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-3-(6-cloro-2-morfolino-pirimidin-4-il)-4-metiloxazolidin-2-ona

20 Estereoquímica absoluta de la fracción de 2-hidroxi-propilo protegido no determinada, configuración (R) arbitrariamente asignada.

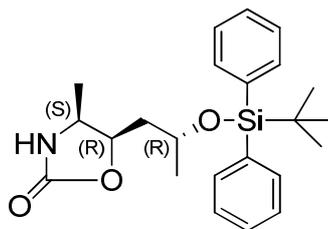


El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 21.1 a partir de la (4S,5R)-5-((R)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona y el producto intermedio A, para proporcionar,

después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → 3:1), el compuesto del título como un aceite incoloro: TLC (hexano/EtOAc, 1:1)  $R_f = 0,65$ ;  $t_R = 1,67$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 595, 597  $[M+H]^+$  (LC-EM 3).

Etapa 24.3: (4S,5R)-5-((R)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona

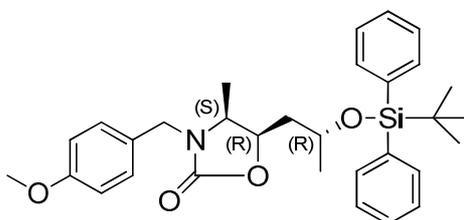
- 5 Estereoquímica absoluta de la fracción de 2-hidroxi-propilo protegido no determinada, configuración (R) arbitrariamente asignada.



- 10 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 23.3 a partir de la (4S,5R)-5-((R)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → EtOAc), el compuesto del título como un aceite incoloro: TLC (hexano/EtOAc, 1:1)  $R_f = 0,28$ ;  $t_R = 1,38$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 415  $[M+NH_4]^+$  (LC-EM 3).

Etapa 24.4: (4S,5R)-5-((R)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona

- 15 Estereoquímica absoluta de la fracción de 2-hidroxi-propilo protegido no determinada, configuración (R) arbitrariamente asignada.

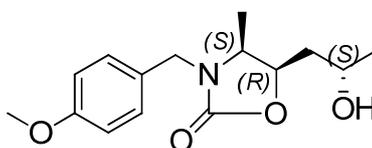


- 20 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 23.4 a partir de la (4S,5R)-5-((R)-2-hidroxi-propil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona (contaminada con el 15% del primer diastereoisómero (2S,4S,5R) que se eluyó a partir de la etapa 24.5), para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → EtOAc), el compuesto del título como un aceite incoloro: TLC (hexano/EtOAc, 3:1)  $R_f = 0,26$ ;  $t_R = 1,55$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 540  $[M+Na]^+$  (LC-EM 3).

Etapa 24.5: (4S,5R)-5-((S)- y (4S,5R)-5-((R)-2-hidroxi-propil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona

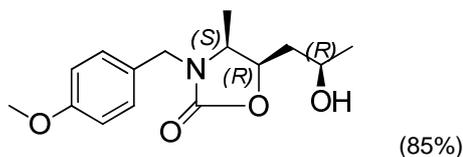
- 25 La estereoquímica absoluta de la fracción de 2-hidroxi-propilo después de reducción de la cetona no fue determinada, la configuración (S) fue arbitrariamente asignada al primer producto que se eluyó del diastereoisómero (4S,5R,5S).

El primer producto que se eluyó es el diastereoisómero (4S,5R,5S):

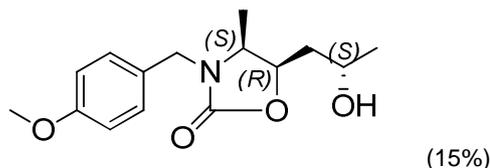


Segundo producto que se eluyó, mezcla de diastereoisómeros (2R,4S,5R) (configuración (2R) arbitrariamente

asignada para la fracción de 2-hidroxi-propilo):



contaminado con el primer diastereoisómero (4S,5R,5S) que se eluyó:



- 5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 23.5 a partir de una mezcla de 3:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S) de la 3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-5-(2-metil-alil)-oxazolidin-2-ona, para proporcionar, después de múltiples separaciones de la mezcla de isómeros 3:3:1:1, mediante cromatografía por evaporación instantánea (gel de sílice RediSep Rf Gold; hexano/EtOAc, 1:1 → EtOAc y tolueno/EtOAc, 3:1 → EtOAc), los dos diastereoisómeros menores individuales (2S,4S,5S) y (2R,4S,5S) y los dos diastereoisómeros mayores individuales (2S,4S,5R) y (2R,4S,5R), como aceites incoloros:
- 10

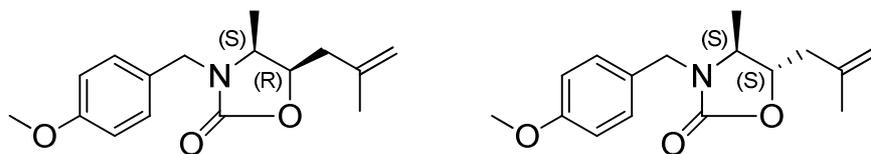
Primer diastereoisómero (2S,4S,5R) del compuesto del título que se eluyó (configuración (2S) arbitrariamente asignada para la fracción de 2-hidroxi-propilo): TLC (EtOAc)  $R_f = 0,39$ ;  $t_R = 0,752$  min (UPLC 1);  $t_R = 0,76$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 280  $[M+H]^+$  (LC-EM 3);  $^1H$  RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1,12 (d, 3H), 1,28 (d, 3H), 1,5-1,63 (m, 1H), 1,81 (m, 1H), 1,90 (d, 1H), 3,68 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 4,03 (d, 1H), 4,14 (m, 1H), 4,60 (ddd, 1H), 4,79 (d, 1H), 6,89 (d, 2H), 7,22 (d, 2H).

15

Segundo diastereoisómero (2R,4S,5R) del compuesto del título que se eluyó (configuración (2R) arbitrariamente asignada para la fracción de 2-hidroxi-propilo) contaminada con el 15% del primer diastereoisómero (2S,4S,5R) que se eluyó: TLC (EtOAc)  $R_f = 0,35$ ;  $t_R = 0,742$  min y  $0,752$  min (UPLC 1);  $t_R = 0,75$  min y  $0,76$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 280  $[M+H]^+$  (LC-EM 3);  $^1H$  RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1,12 (d, 3H), 1,28 (d, 3H), 1,50-1,64 (m, 1H), 1,81 (m, 0,15H), 1,90 (d, 0,15H), 1,94 (m, 0,85H), 2,21 (d, 0,85H), 3,67 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 4,01 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 4,73 (m, 0,85H), 4,79 (d, 0,15H), 4,80 (d, 1H), 6,90 (d, 2H), 7,22 (d, 2H).

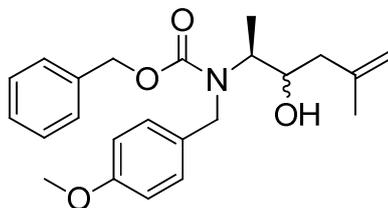
20

#### Etapa 24.6: Diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S) de la 3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-5-(2-metil-alil)-oxazolidin-2-ona



- 25 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 23.6 a partir de una mezcla de 3:1 de los diastereoisómeros (2S,3R) y (2S,3S) del ((2S)-3-hidroxi-5-metil-hex-5-en-2-il)(4-metoxi-bencil)-carbamato de bencilo, para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → 1:1), el compuesto del título como una mezcla de 3:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S):  $t_R = 1,112$  min (UPLC 1);  $t_R = 1,05$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 276  $[M+H]^+$  (LC-EM 3);  $^1H$  RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1,13 (d, 2,2H), 1,20 (d, 0,8H), 1,76 (s, 0,8H), 1,80 (s, 2,2H), 2,23 (ddd, 0,25H), 2,27 (dd, 0,75H), 2,39 (dd, 0,25H), 2,46 (dd, 0,75H), 3,28 (m, 0,25H), 3,68 (m, 0,75H), 3,83 (s, 3H), 3,99 (d, 0,75H), 4,04 (d, 0,35H), 4,14 (m, 0,25H), 4,62 (m, 0,75H), 4,70-4,90 (m, 4H), 6,90 (d, 2H), 7,25 (d, 2H).
- 30

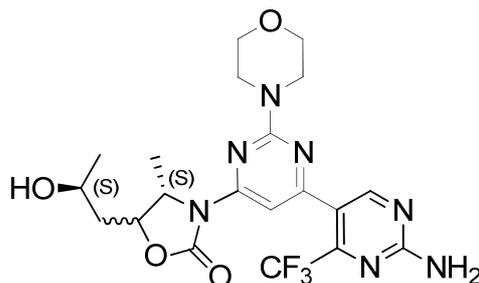
#### Etapa 24.7: Diastereómeros (2S,3R) y (2S,3S) de (3-hidroxi-5-metil-hex-5-en-2-il)(4-metoxi-bencil)-carbamato de bencilo



5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 23.7 a partir del (S)-4-metoxibencil-(1-oxo-propan-2-il)-carbamato de bencilo y el 3-bromo-2-metil-prop-1-eno, para proporcionar el compuesto del título como una mezcla de 3:1 de los diastereómeros (2S,3R) y (2S,3S):  $t_R = 1,322$  min (isómero mayor), y 1.329 min (isómero menor) (UPLC 1);  $t_R = 1,23$  min (isómero mayor), y 1,24 min (isómero menor) (LC-EM 3); ESI-EM: 384  $[M+H]^+$  (LC-EM 3).

**Ejemplo 25:** Segundo producto que se eluyó en la LC EM 3, el cual es una mezcla de 9:1 de (4S,5R)- y (4S,5S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-((S)-2-hidroxi-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona

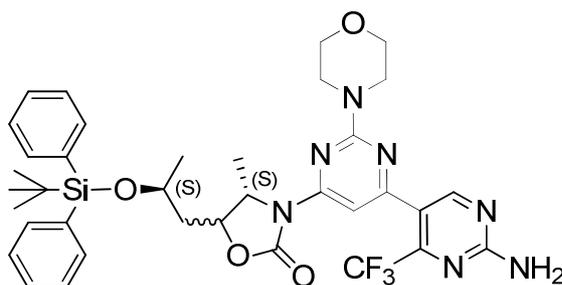
10 Estereoquímica absoluta de la fracción de 2-hidroxi-propilo no determinada, configuración (S) arbitrariamente asignada.



15 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para el ejemplo 23, a partir de una mezcla de 8:1 de (4S,5R)- y (4S,5S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-((S)-2-((terc-butildifenil-silil)-oxi)-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona y TBAF, para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc 5:1  $\rightarrow$  EtOAc/MeOH, 10:1), y de la recristalización a partir de metanol, el compuesto del título como un sólido blanco: TLC (EtOAc)  $R_f = 0,50$ ;  $t_R = 0,87$  min (diastereómero (4S,5S) menor), y 0,89 min (diastereómero (4S,5R) mayor) (LC-EM 3); ESI-EM: 484  $[M+H]^+$  (LC-EM 3).

20 Etapa 25.1: (4S,5R)- y (4S,5S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-((S)-2-((terc-butildifenil-silil)-oxi)-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona

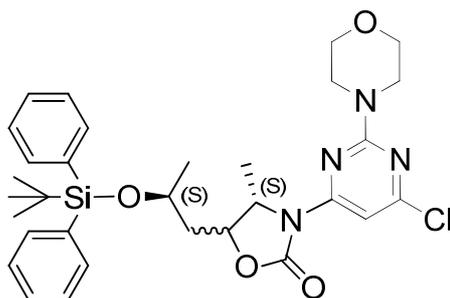
La estereoquímica absoluta de la fracción de 2-hidroxi-propilo protegido no fue determinada, configuración (S) arbitrariamente asignada.



5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 22.1, a partir de una mezcla de 7:1 de (4S,5R)- y (4S,5S)-5-((R)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-3-(6-cloro-2-morfolino-pirimidin-4-il)-4-metiloxazolidin-2-ona y el producto intermedio B, para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → EtOAc), el compuesto del título como una mezcla de 8:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S): TLC (hexano/EtOAc, 1:1)  $R_f = 0,45$ ;  $t_R = 1,58$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 722  $[M+H]^+$  (LC-EM 3).

Etapa 25.2: (4S,5R)- y (4S,5S)-5-((S)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-3-(6-cloro-2-morfolino-pirimidin-4-il)-4-metiloxazolidin-2-ona

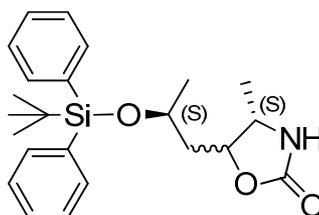
10 Estereoquímica absoluta de la fracción de 2-hidroxi-propilo protegido no determinada, configuración (S) arbitrariamente asignada.



15 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 21.1, a partir de una mezcla de 7:1 de (4S,5R)- y (4S,5S)-5-((S)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona y el producto intermedio A, para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → 3:1), y de la cristalización a partir de MeOH/THF, el compuesto del título como una mezcla de 7:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S): TLC (hexano/EtOAc, 1:1)  $R_f = 0,65$ ;  $t_R = 1,67$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 595, 597  $[M+H]^+$  (LC-EM 3).

Etapa 25.3: (4S,5R)- y (4S,5S)-5-((S)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona

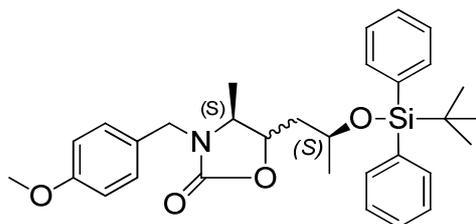
20 Estereoquímica absoluta de la fracción de 2-hidroxi-propilo protegido no determinada, configuración (S) arbitrariamente asignada.



25 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 23.3, a partir de una mezcla de 7:1 de (4S,5R)- y (4S,5S)-5-((S)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona, para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → 2:1), el compuesto del título como un aceite incoloro, como una mezcla de 10:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S): TLC (hexano/EtOAc, 1:1)  $R_f = 0,30$ ;  $t_R = 1,38$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 415  $[M+NH_4]^+$  (LC-EM 3).

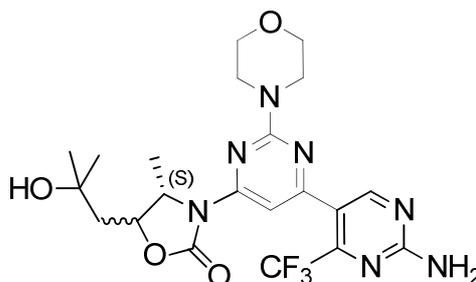
Etapa 25.4: (4S,5R)- y (4S,5S)-5-((S)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona

Estereoquímica absoluta de la fracción de 2-hidroxi-propilo protegido no determinada, configuración (S) arbitrariamente asignada.



5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 23.4, a partir de una mezcla de 7:1 de (4S,5R)- y (4S,5S)-5-((S)-2-hidroxi-propil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona preparada en la etapa 24.5, para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → EtOAc), el compuesto del título como una mezcla de 7:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S): TLC (hexano/EtOAc, 3:1)  $R_f = 0,26$ ;  $t_R = 1,56$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 540  $[M+Na]^+$  (LC-EM 3).

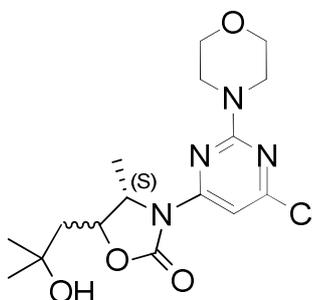
**Ejemplo 26:** (4S,5R)- y (4S,5S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-(2-hidroxi-2-metil-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona



10 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 22.1, a partir de una mezcla de 5:1 de (4S,5R)- y (4S,5S)-3-(6-cloro-2-morfolino-pirimidin-4-il)-5-(2-hidroxi-2-metil-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona y el producto intermedio B, para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc/MeOH, 90:10:1 → 10:100:10), y de la recristalización a partir de metanol, el compuesto del título como un sólido blanco, y como una mezcla de 7:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S): TLC (EtOAc)  $R_f = 0,43$ ;  $t_R = 0,93$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 498  $[M+H]^+$  (LC-EM 3).

15

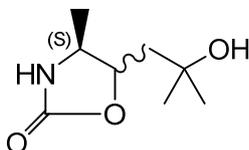
Etapa 26.1: (4S,5R)- y (4S,5S)-3-(6-cloro-2-morfolino-pirimidin-4-il)-5-(2-hidroxi-2-metil-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona



20 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 21.1, a partir de una mezcla de 5:1 de (4S,5R)- y (4S,5S)-5-((S)-2-((terc-butil-difenil-silil)-oxi)-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona y el producto intermedio A, para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 10:1 → EtOAc), el compuesto del título como una espuma color amarillo claro, y como una mezcla de 5:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S): TLC (EtOAc/MeOH, 10:1)  $R_f = 0,55$ ;  $t_R = 1,02$  min (LC-EM 3);

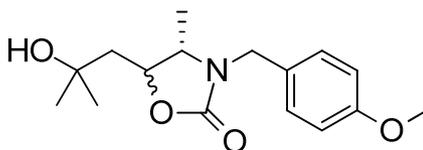
ESI-EM: 371, 373 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3).

Etapa 26.2: (4S,5R)- y (4S,5S)-5-(2-hidroxi-2-metil-propil)-4-metiloxazolidin-2-ona



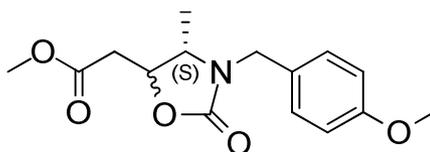
5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa 23.3, a partir de una mezcla de 5:1 de (4S,5R)- y (4S,5S)-5-(2-hidroxi-2-metil-propil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona, para proporcionar, después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano-EtOAc, 1:1 → EtOAc-MeOH 5:1), el compuesto del título como un aceite incoloro, como una mezcla de 5:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S): TLC (EtOAc/MeOH, 10:1)  $R_f = 0,40$ ;  $t_R = 0,41$  min (LC-EM 3); ESI-EM: 174 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3).

10 Etapa 26.3: (4S,5R)- y (4S,5S)-5-(2-hidroxi-2-metil-propil)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metiloxazolidin-2-ona



15 A una disolución de una mezcla de 3:1 de 2-((4S,5R)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-2-oxo-oxazolidin-5-il)-acetato de metilo y 2-((4S,5S)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-2-oxo-oxazolidin-5-il)-acetato de metilo (2,0 g, 6,82 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (50 ml), se le agregó lentamente, bajo argón, una disolución de cloruro de metil-magnesio 3M en tetrahidrofurano (THF) (6,82 ml, 20,46 mmol) a -78°C. Después de la adición, la mezcla de reacción se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. Después de la adición de una disolución acuosa de NH<sub>4</sub>Cl al 10%, se extrajo el producto con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con H<sub>2</sub>O, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron, para proporcionar el compuesto del título después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → EtOAc), como un aceite incoloro, (1,2 g, 59%, mezcla de 3:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S)): TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 10:1)  $R_f = 0,43$ ;  $t_R = 0,80$  min y 0,81 min (LC-EM 3); ESI-EM: 294 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,12 (d, 2,25H), 1,22 (d, 0,75), 1,32 (s, 1,5H), 1,34 (s, 4,5H), 1,68 (dd, 1H), 1,86 (dd, 0,25H), 1,93 (dd, 0,75H), 3,23 (m, 0,25H), 3,64 (m, 0,75H), 3,83 (s, 3H), 3,99 (d, 0,75H), 4,04 (d, 0,25H), 4,26 (d, 0,25H), 4,72 (d, 0,25H), 4,73 (m, 0,75H), 4,80 (d, 0,75H), 6,89 (d, 0,5H), 6,90 (d, 1,5H), 7,23 (d, 0,5H), 7,24 (1,5H).

25 Etapa 26.4: 2-((4S,5R)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-2-oxo-oxazolidin-5-il)-acetato de metilo y 2-((4S,5S)-3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-2-oxo-oxazolidin-5-il)-acetato de metilo

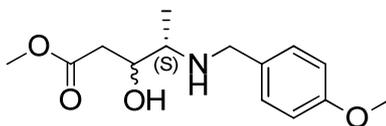


30 A una suspensión de una mezcla de 3:1 de (3R,4S)- y (3S,4S)-3-hidroxi-4-((4-metoxi-bencil)-amino)-pentanoato de metilo (4,1 g, 10,74 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (80 ml), se le agregó DIEA (8,44 ml, 48,3 mmol), y a 0°C, una disolución de carbonato de bis-(tricloro-metilo) (2,389 g, 8,05 mmol) disuelto en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml). Después de agitar durante 0.5 horas a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se agregó a una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>, y el producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Los extractos combinados se lavaron con H<sub>2</sub>O, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron, para proporcionar el compuesto del título después de la purificación mediante cromatografía por evaporación instantánea (hexano/EtOAc, 20:1 → EtOAc) como una espuma color amarillo claro (2,02 g, 63%, mezcla de 3:1 de los diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5S)): TLC (tolueno/EtOAc, 1:1)  $R_f = 0,47$ ;  $t_R = 0,84$  min (LC-

35

EM 3); ESI-EM: 294 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1,11 (d, 2,25H), 1,27 (d, 0,75H), 2,57 (dd, 0,25H), 2,67 (dd, 0,75H), 2,75 (dd, 0,25H), 2,81 (dd, 0,75H), 3,34 (m, 0,25H), 3,70 (s, 0,75H), 3,73 (s, 2,25H), 3,77 (m, 0,75H), 3,83 (s, 3H), 3,99 (d, 0,75H), 4,04 (d, 0,25H), 4,44 (m, 0,25H), 4,75 (d, 0,25H), 4,78 (d, 0,75H), 4,88 (m, 0,75H), 6,90 (d, 2H), 7,22 (d, 0,5H), 7,23 (d, 1,5H).

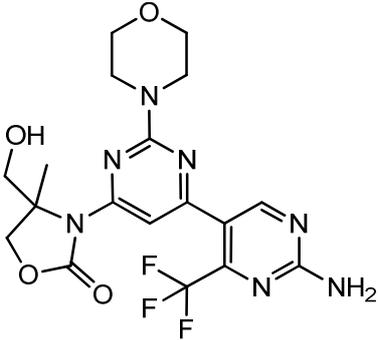
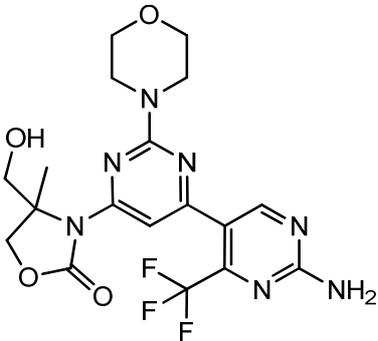
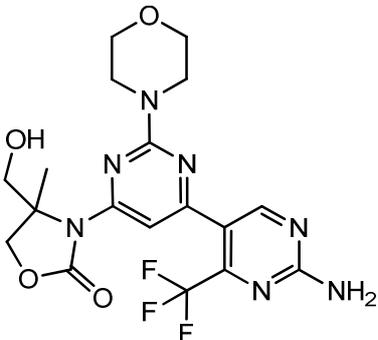
5 Etapa 26.5: (3R,4S)- y (3S,4S)- 3-hidroxi-4-((4-metoxi-bencil)-amino)-pentanoato de metilo

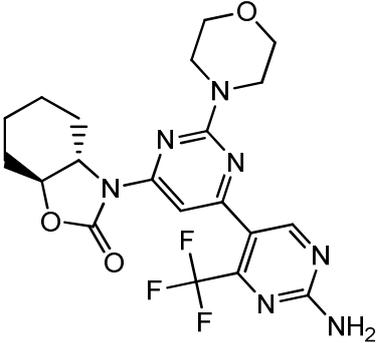
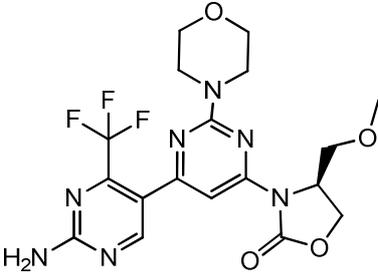
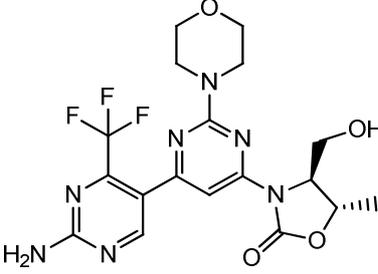
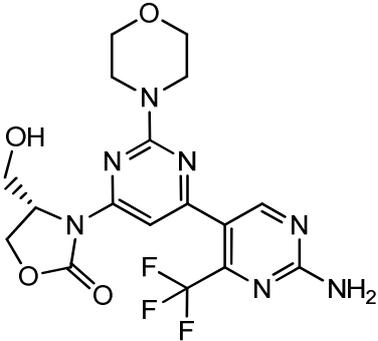


A una suspensión del clorhidrato de (3R,4S)-4-amino-3-hidroxi-pentanoato de metilo [111061-25-7] (2,17 g, 11,8 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (60 ml), y metanol (MeOH) (60 ml), se le agregó NaOAc (1,357 g, 16,54 mmol), y después de 10 min de agitación, p-anisaldehído (1,37 ml, 11,2 mmol) y tamiz molecular (2 g). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la adición de 2 ml de AcOH, se agregó NaBH<sub>3</sub>CN (1,11 g, 17,7 mmol), en porciones, durante un período de 30 min. Después de agitar durante 30 min adicionales a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró, el filtrado se acidificó con HCl 4N acuoso, y se evaporó a sequedad. El residuo se lavó primero con Et<sub>2</sub>O, luego se suspendió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 1:1, y el material inorgánico se filtró. El filtrado se concentró para proporcionar el compuesto del título después de secarse a 50°C durante 4 horas, como un sólido color beige (2,9 g, 80%, mezcla de 3:1 de los diastereoisómeros (3R,4S) y (3S,4S)): t<sub>R</sub> = 0,46 min (diastereoisómero (3R,4S)), y 0,48 min (diastereoisómero (3S,4S)) (LC-EM 3); ESI-EM: 268 [M+H]<sup>+</sup> (LC-EM 3).

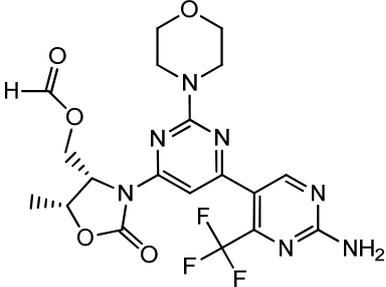
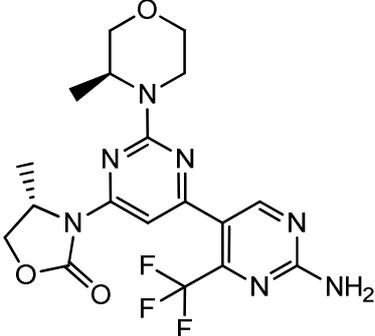
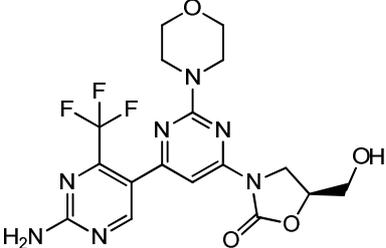
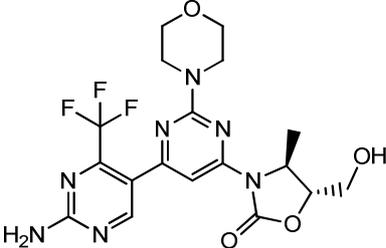
Los datos de <sup>1</sup>H RMN para los compuestos de los ejemplos anteriores se proporcionan en la siguiente Tabla.

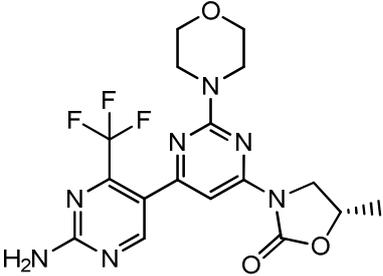
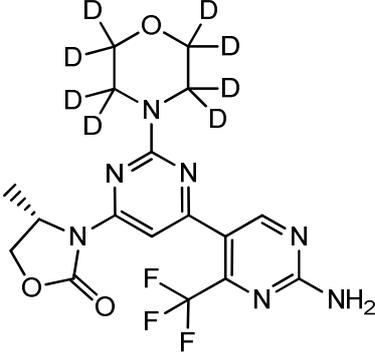
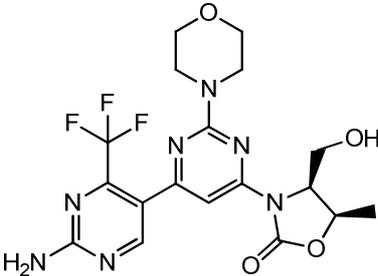
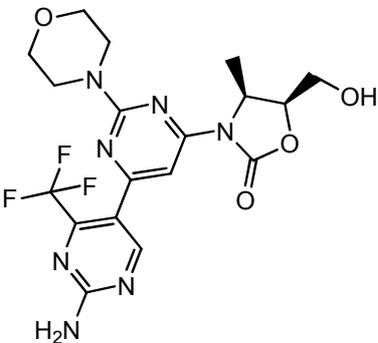
Ejemplo 1		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, <dmsO>) δ ppm 1,41 (d, J = 6,26 Hz, 3 H) 3,67 (dd, J = 15,25, 4,30 Hz, 8 H) 4,10 (dd, J = 8,60, 3,13 Hz, 1 H) 4,52 (t, J = 8,21 Hz, 1 H) 4,73 - 4,85 (m, 1 H) 7,41 (s, 1 H) 7,60 (sa, 2 H) 8,56 (s, 1 H)
Ejemplo 2		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, <CDCl3>) δ ppm 1,52 (s, 3H) 1,61 (s, 3H) 3,76 (s, 8H) 3,99 (dd, J = 11,52 Hz, J = 4,10 Hz, 1H) 4,13 (dd, J = 11,52 Hz, J = 4,49 Hz, 1H) 4,45 (t, J = 4,30 Hz, 1H) 5,47 (s, 2H) 7,64 (s, 1H) 8,58 (s, 1H)

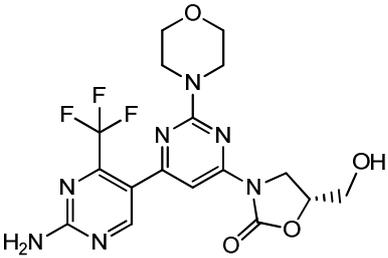
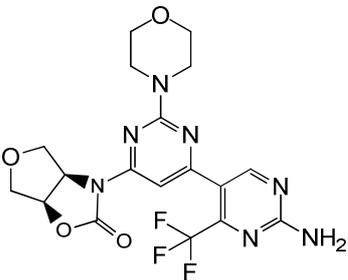
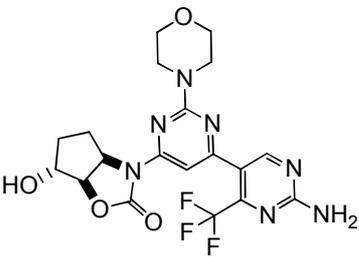
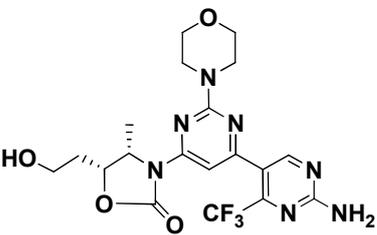
Ejemplo 3 (racémico)		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmso>) $\delta$ ppm 1,55 (s, 3H) 3,51 (dd, $J = 11,34$ Hz, $J = 5,08$ Hz, 1H) 3,65 (s, 8H) 4,05 (d, $J = 8,60$ Hz, 1H) 4,21 (dd, $J = 11,34$ Hz, $J = 5,67$ Hz, 1H) 4,39 (d, $J = 8,60$ Hz, 1H) 5,26 (t, $J = 5,47$ Hz, 1H) 7,41 (s, 1H), 7,59 (sa, 2H), 8,54 (s, 1H)
Ejemplo 3A. Un solo enantiómero. Estereoquímica absoluta no determinada.		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmso>) $\delta$ ppm 1,55 (s, 3H) 3,51 (dd, $J = 11,1$ Hz, $J = 5,3$ Hz, 1H) 3,65 (s, 8H) 4,05 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H) 4,21 (dd, $J = 11,1$ Hz, $J = 5,7$ Hz, 1H) 4,39 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H) 5,26 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H) 7,41 (s, 1H) 7,59 (s, 2H) 8,54 (s, 1H)
Ejemplo 3B. Un solo enantiómero. Estereoquímica absoluta no determinada.		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmso>) $\delta$ ppm 1,55 (s, 3H) 3,51 (dd, $J = 11,1$ Hz, $J = 5,3$ Hz, 1H) 3,65 (s, 8H) 4,05 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H) 4,21 (dd, $J = 11,1$ Hz, $J = 5,7$ Hz, 1H) 4,39 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H) 5,26 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H) 7,41 (s, 1H) 7,59 (s, 2H) 8,54 (s, 1H)

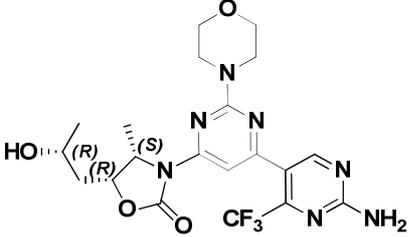
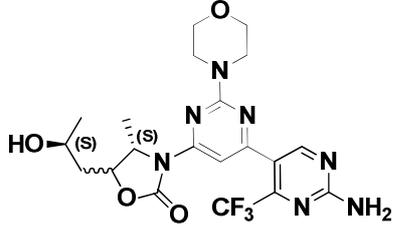
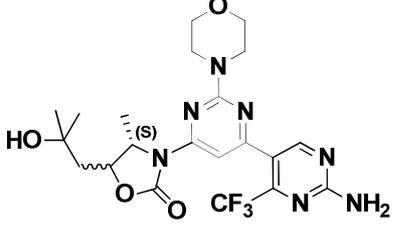
Ejemplo 4		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <math>\text{dms-}d_6</math>) $\delta$ ppm 1,45 (sa, 3 H) 1,57 -1,96 (m, 3 H) 2,13 (d, $J = 12,12$ Hz, 1 H) 2,77 (sa, 1 H) 3,65 (sa, 8 H) 3,83 - 3,95 (m, 1 H) 4,12 (td, $J = 11,53, 3,13$ Hz, 1 H) 7,11 (s, 1 H) 7,61 (sa, 2 H) 8,56 (s, 1 H)
Ejemplo 5		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>) $\delta$ ppm 3,37 - 3,41 (m, 3 H) 3,69 (dd, $J = 9,37, 6,25$ Hz, 1 H) 3,72 - 3,83 (m, 9 H) 4,37 - 4,55 (m, 2 H) 4,83 - 4,97 (m, 1 H) 5,46 (s, 2 H) 7,60 (s, 1 H) 8,58 (s, 1 H)
Ejemplo 6		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ ppm 3,37 - 3,41 (m, 3H), 3,69 (dd, 1 H), 3,72 - 3,83 (m, 10H), 4,37 - 4,55 (m, 2H), 4,83 - 4,97 (m, 1H), 5,46(s, 2H), 7,60 (s, 1H), 8,58 (s, 1H),
Ejemplo 7		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <math>\text{dms-}d_6</math>) $\delta$ ppm 3,57 - 3,72 (m, 9 H) 3,81 - 3,92 (m, 1 H) 4,36 (dd, $J = 8,60, 3,13$ Hz, 1 H) 4,47 (t, $J = 8,60$ Hz, 1 H) 4,75 (s, 1 H) 5,11 (t, $J = 5,67$ Hz, 1 H) 7,46 (s, 1 H) 7,59 (s, 2 H) 8,54 (s, 1 H)

Ejemplo 8		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmsO>) $\delta$ ppm 1,49 (d, $J = 6,26$ Hz, 3 H) 3,67 (dd, $J = 11,73, 5,08$ Hz, 1 H) 3,98 (dt, $J = 11,63, 4,35$ Hz, 1 H) 4,64 (dd, $J = 7,23, 3,32$ Hz, 1 H) 4,85 (m, $J = 6,84$ Hz, 1 H) 4,95 (t, $J = 4,89$ Hz, 1 H) 7,48 (s, 1 H) 7,54 - 7,65 (m, 2 H) 8,54 (s, 1 H)
Ejemplo 9		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <cd3od>) $\delta$ ppm 1,86 - 2,00 (m, 1H) 2,18 - 2,34 (m, 1H) 3,65 - 3,85 (m, 10H) 4,38 - 4,46 (m, 1H) 4,49 - 4,60 (m, 1H) 4,91 - 5,02 (m, 1H) 7,51 (s, 1H) 8,53 (s, 1H)
Ejemplo 10		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmsO>) $\delta$ ppm 1,18 (d, $J = 6,65$ Hz, 3 H) 1,49 (d, $J = 6,65$ Hz, 3 H) 3,13 (td, $J = 13,00, 3,71$ Hz, 1 H) 3,33 - 3,44 (m, 1 H) 3,51 - 3,59 (m, 1 H) 3,62 - 3,73 (m, 2 H) 3,89 (dd, $J =$ 11,34, 3,13 Hz, 1 H) 4,00 (dt, $J =$ 11,53, 4,59 Hz, 1 H) 4,20 (d, $J =$ 11,73 Hz, 1 H) 4,52 (d, $J = 5,86$ Hz, 1 H) 4,62 (dd, $J = 7,43, 2,74$ Hz, 1 H) 4,86 (m, 1 H) 4,96 (t, $J =$ 4,69 Hz, 1 H) 7,47 (s, 1 H) 7,59 (s, 2 H) 8,54 (s, 1 H)
Ejemplo 11 (para comparación)		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmsO>) $\delta$ ppm 3,56 - 3,74 (m, 8H) 4,08 - 4,21 (m, 2H) 4,36 - 4,50 (m, 2H) 7,42 (s, 1H) 4,58 (s, 2H) 8,55 (s, 1H)

Ejemplo 12		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmso>) $\delta$ ppm 1,43 (d, $J = 6,26$ Hz, 3 H) 3,66 (dd, $J = 15,84, 3,71$ Hz, 8 H) 4,39 (d, $J = 12,12$ Hz, 1 H) 4,69 (dd, $J = 12,51, 3,52$ Hz, 1 H) 4,91 - 5,04 (m, 2 H) 7,43 (s, 1 H) 7,60 (s, 2 H) 8,22 (s, 1 H) 8,56 (s, 1 H)
Ejemplo 13		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmso>) $\delta$ ppm 1,12 -1,29 (m, 3 H) 1,42 (d, $J = 6,26$ Hz, 3 H) 3,15 (td, $J = 13,00,$ 3,71 Hz, 1 H) 3,35 - 3,47 (m, 1 H) 3,56 (dd, $J = 11,53, 2,93$ Hz, 1 H) 3,70 (d, $J = 11,34$ Hz, 1 H) 3,90 (dd, $J = 11,34, 3,13$ Hz, 1 H) 4,10 (dd, $J = 8,21, 3,13$ Hz, 1 H) 4,22 (d, $J = 12,12$ Hz, 1 H) 4,47 - 4,59 (m, 2 H) 4,73 - 4,85 (m, 1 H) 7,39 (s, 1 H) 7,59 (sa, 2 H) 8,55 (s, 1 H)
Ejemplo 14		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmso>) $\delta$ ppm 3,50 – 3,57 (m, 1H) 3,58 – 3,74 (m, 8H) 3,95 (dd, $J = 10,3$ Hz, $J = 6,1$ Hz, 1H) 4,16 (dd, $J = 10,2$ Hz, $J = 9,4$ Hz, 1H) 4,72 (td, $J =$ 6,1 Hz (2 veces), $J = 2,7, 1\text{H}$ ) 5,2 (t, $J = 5,7, 1\text{H}$ ) 7,42 (s, 1H) 7,58 (s, 2H) 8,55 (s, 1H)
Ejemplo 15		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmso>) $\delta$ ppm 1,32 -1,59 (m, 3 H) 3,49 - 3,76 (m, 10 H) 4,23 - 4,36 (m, 1 H) 4,60 (dt, $J = 6,44, 3,42$ Hz, 1 H) 5,12 - 5,28 (m, 1 H) 7,41 (t, $J =$ 3,12 Hz, 1 H) 7,59 (sa, 2 H) 8,55 (s, 1 H)

Ejemplo 16		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmsO>) $\delta$ ppm 1,40 (d, $J = 6,25$ Hz, 3 H) 3,56 - 3,79 (m, 9 H) 4,29 (dd, $J = 10,54, 8,20$ Hz, 1 H) 4,74 - 4,89 (m, 1 H) 7,41 (s, 1 H) 7,59 (s, 2 H) 8,54 (s, 1 H)
Ejemplo 17		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmsO>) $\delta$ ppm 1,41 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H) 4,1 (dd, $J = 8,6$ Hz, $J = 3,1$ Hz, 1H) 4,52 (t, $J = 8,2$ Hz, 1H) 4,73 - 4,87 (m, 1H) 7,40 (s, 1H) 7,59 (s, 2H) 8,56 (s, 1H)
Ejemplo 18		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmsO>) $\delta$ ppm 1,49 (d, $J = 6,26$ Hz, 3 H) 3,58 - 3,72 (m, 9 H) 3,99 (dt, $J = 11,83, 4,64$ Hz, 1 H) 4,64 (dd, $J = 7,43, 2,74$ Hz, 1 H) 4,85 (m, 1 H) 4,96 (t, $J = 4,69$ Hz, 1 H) 7,48 (s, 1 H) 7,59 (s, 2 H) 8,54 (s, 1 H)
Ejemplo 19		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <dmsO>) $\delta$ ppm 1,30 (d, $J = 6,26$ Hz, 3 H) 3,59 - 3,77 (m, 10 H) 4,64 - 4,73 (m, 1 H) 4,85 (t, $J = 6,84$ Hz, 1 H) 5,15 (t, $J = 5,47$ Hz, 1 H) 7,40 (s, 1 H) 7,59 (s, 2 H) 8,55 (s, 1 H)

Ejemplo 20		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, <math>\text{dms}\text{o}>>) \delta ppm 3,51 - 3,76 (m, 10 H) 3,95 (dd, $J = 10,35, 6,05$ Hz, 1 H) 4,16 (t, $J = 9,76$ Hz, 1 H) 4,66 - 4,82 (m, 1 H) 5,20 (t, $J = 5,66$ Hz, 1 H) 7,42 (s, 1 H) 7,59 (s, 2 H) 8,55 (s, 1 H)
Ejemplo 21		$^1\text{H RMN}$ (600 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ ppm 3,60-3,75 (m, 8H), 4,12 (m, 4H), 5,15 (m, 1H), 5,26 (m, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,62 (s, 2H), 8,59 (s, 1H),
Ejemplo 22 mezcla de 1:1 de diastereoisómeros (3aR,6R, 6aR) y (3aS, 6S,6aS)		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ ppm 1,04 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 1,60- 1,75 (m, 2H), 1,80-1,95 (m, 1H), 2,24 (m, 1H), 3,60-3,80 (m, 8H), 4,18 (m, 1H), 4,72 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 5,01 (dt, $J = 1,8, 7,3$ Hz, 1H), 5,26 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,62 (s, 2H), 8,58 (s, 1H),
Ejemplo 23		$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta$ ppm 1,30 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 1,87 (m, 2H), 3,5-3,75 (m, 10H), 4,73 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 4,83 (m, 2H), 7,44 (s, 1H), 7,62 (s, 2H), 8,58 (s, 1H),

<p>Ejemplo 24, primer diastereoisómero que se eluyó en la LC EM 3, configuración (R) arbitrariamente asignada.</p>		<p><sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,26 (d, J = 6,2 Hz, 3H), 1,32 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 1,75 (m, 1H), 1,96 (m, 1H), 3,41 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 3,43 (da, 1H), 3,69 (m, 8H), 4,03 (m, 1H), 4,72 (m, 1H), 4,80 (m, 1H), 5,38 (m, 2H), 7,50 (s, 1H), 8,51 (s, 1H),</p>
<p>Ejemplo 25 segundo producto que se eluyó en la LC EM 3, configuración (S) arbitrariamente asignada.</p>		<p><sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 9:1 mezcla de diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5R) δ ppm 1,25 (d, J = 6,2 Hz, 3H), 1,32 (d, J = 6,3 Hz, 2,7H), 1,48 (d, J = 6,3 Hz, 0,3H), 1,64 (m, 0,9H), 1,77 (m, 0,1H), 1,86 (m, 0,9H), 1,93 (m, 0,1H), 3,70 (m, 8H), 4,06 (m, 2H), 4,37 (m, 0,1H), 4,46 (m, 0,1H), 4,77 (m, 0,9H), 4,84 (m, 0,9H), 5,38 (m, 2H), 7,51 (s, 1H), 8,51 (s, 1H),</p>
<p>Ejemplo 26</p>		<p><sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 10:1 mezcla de diastereoisómeros (4S,5R) y (4S,5R): δ ppm 1,30 (sa, 8,4H), 1,33 (s, 0,3H)*, 1,56 (0,3H)*, 1,79 (d, 1H), 1,95 (dd, 1H), 3,70 (sa, 8H), 4,43 (m, 0,2H)*, 4,70-4,90 (m, 1,8H), 5,36 (sa, 2H), 7,51 (s, 1H), 8,51 (s, 1H),</p>

#### Propiedades físicas adicionales

Los materiales cristalinos obtenidos a partir de los ejemplos 10 y 18, lotes A - E se caracterizaron adicionalmente como sigue.

#### 5 Determinación del punto de fusión:

El punto de fusión se determinó mediante calorimetría de exploración diferencial (DSC). La calorimetría de exploración diferencial (DSC) se midió utilizando un TA Instruments, DSC 2000, Serie No. 100036. Una muestra de 1 a 5 mg se pesó en una bandeja de aluminio estándar (bandeja + tapa, TA 900786.901, 900779.901). El instrumento se operó utilizando el software Thermal Advantage Q-Serie V.2.6.0.367 y el software Thermal Advantage V4.6.9. Los acontecimientos térmicos se caracterizaron utilizando el Universal Analysis V4.3A Build 4.3.0.6. Las muestras se midieron contra una bandeja vacía. La muestra se trató según el siguiente protocolo:

Etapas 1: EQUILIBRAR A -40°C.

Etapas 2: CALENTAMIENTO A 10°C/minuto/ 300°C.

Modulación: No

15 Las gráficas obtenidas se muestran en las figuras 1, 3, 5, 7, 9 y 11.

Difracción en polvo de rayos-X (PXRD):

5 Una cantidad de muestra de aproximadamente 2-5 mg se coloca sobre un portaobjetos de vidrio del objetivo, y se centró en el haz de rayos-X en un Bruker D8 GADDS Discover con un ánodo de CuKa (n.º de serie 002482). La distancia de la Muestra-Detector fue de 30 cm. Se registraron dos marcos entre 5º y 40º 2-theta. Los marcos se fusionaron utilizando el software GADDS 4.1.27. La evaluación se condujo utilizando EVA 10.0.0.

Las gráficas obtenidas se muestran en las figuras 2, 4, 6, 8, 10 y 12.

Los picos 2-theta [º] representativos se proporcionan en las siguientes tablas:

Figura 2 (PXRD ejemplo 10)

<b>2-theta [º]</b>	<b>Intensidad</b>
9,9	media
14,2	media
20,1	alta
23,2	media
29,7	media

Figura 4 (PXRD ejemplo 18A)

<b>2-theta [º]</b>	<b>Intensidad</b>
8,7	media
10,6	alta
18,5	baja
25,3	media
30,3	media

10

Figura 6 (PXRD ejemplo 18B)

<b>2-theta [º]</b>	<b>Intensidad</b>
10,3	media
15,2	alta
16,0	media
22,7	media
23,7	media

Figura 8 (PXRD ejemplo 18C)

<b>2-theta [°]</b>	<b>Intensidad</b>
10,3	media
15,2	alta
16,0	media
20,3	media
29,0	baja

Figura 10 (PXRD ejemplo 18D)

<b>2-theta [°]</b>	<b>Intensidad</b>
10,3	media
15,2	alta
16,0	media
16,8	baja
20,3	media

Figura 12 (PXRD ejemplo 18E)

<b>2-theta [°]</b>	<b>Intensidad</b>
10,2	media
15,1	alta
15,9	media
20,1	media
29,0	media

## 5 Actividad Biológica

La eficacia de los compuestos de la presente invención como inhibidores de cinasa PI3 puede demostrarse como sigue:

Preparación de diluciones de los compuestos (384 pocillos)

- 10 Los compuestos de prueba se disolvieron en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (10 mM), y se transfirieron a tubos Matrix en forma de V o de fondo plano de 1,4 ml portadores de un chip Matrix 2D único mediante cubos de compuestos Novartis individuales. Los números de estos chips se vincularon distintivamente a los Números de Novartis Pharma. Las disoluciones de suministro se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  si no se utilizaron inmediatamente. Para el procedimiento de prueba, los frascos se descongelaron y se identificaron mediante un escáner en donde se generó una hoja de cálculo que guió las siguientes etapas del procesamiento.
- 15 Los compuestos se diluyeron manualmente en sulfóxido de dimetilo (DMSO) para los experimentos individuales (96 pocillos hicieron posibles 10 compuestos en 8 concentraciones (puntos individuales)) como se describe, o bien se prepararon como se describe a continuación si se probaban para su perfilación en 384 pocillos. Este formato hizo

posible el ensayo de máximo 40 compuestos de prueba individuales en 8 concentraciones (puntos individuales), incluyendo 4 compuestos de referencia. El protocolo de dilución incluyó la producción de “placas de pre-dilución”, “placas maestras” y “placas de ensayo”.

- 5 Placas de pre-dilución: Se utilizaron placas de polipropileno de 96 pocillos como las placas de pre-dilución. Se preparó un total de 4 placas de pre-dilución, incluyendo 10 compuestos de prueba cada una, en las posiciones de la placa A1-A10, un compuesto estándar en A11, y un control de sulfóxido de dimetilo (DMSO) en A12. El patrón de las etapas de dilución se resume en la Tabla 1. Se han escrito programas para ejecutar estas etapas de pipeta en los robots HamiltonSTAR.

Tabla 1 Patrón de dilución para las placas de pre-dilución

Fila	Vol. (µL)	Conc. (µM)		Vol. (µL) DMSO		Vol. (µL)	Conc. (µM)	Proporción de dil.	Concentración final (µM)
A	30	10.000	+	135	→	165	1'820	1:5.5	<b>10</b>
B	50	1.820	+	116	→	166	546	1:3.33	<b>3</b>
C	50	546	+	100	→	150	182	1:3	<b>1</b>
D	50	182	+	116	→	166	54.6	1:3.33	<b>0,3</b>
E	50	54,6	+	100	→	150	18.2	1:3	<b>0,1</b>
F	50	18,2	+	116	→	166	5.46	1:3.33	<b>0,03</b>
G	50	5,46	+	100	→	150	1.82	1:3	<b>0,01</b>
H	50	1,82	+	116	→	166	0.546	1:3.33	<b>0,003</b>

El DMSO se saturó con H<sub>2</sub>O hasta una concentración del 10%. Vol: Volumen, Conc: Concentración. Proporción de dil.: Proporción de dilución. Conc. Fin.: Concentración final.

- 10 Placas maestras: 100 µl de las diluciones de los compuestos individuales, incluyendo el compuesto estándar y los controles de las 4 “placas de pre-dilución”, se transfirieron a una “placa maestra” 384, incluyendo las siguientes concentraciones 1,820, 564, 182, 54,6, 18,2, 5,46, 1,82 y 0,546 µM, respectivamente, en sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 90%.

- 15 Placas de ensayo: Luego se prepararon “placas de ensayo” idénticas pasando por pipeta 50 nl de cada una de las diluciones de los compuestos de las “placas maestras” hacia las “placas de ensayo” de 384 pocillos. Los compuestos se mezclaron con 4,5 µl de los componentes de los ensayos más 4.5 µl de enzima, correspondiendo a una dilución de 1:181 que hizo posible la concentración final de 10, 3,0, 1,0, 0,3, 0,1, 0,03, 0,01 y 0,003 µM, respectivamente. La preparación de las “placas maestras” fue manejada por el robot Matrix PlateMate Plus, y la replicación de las “placas de ensayo” por el robot HummingBird.

- 20 Método para generar las construcciones de expresión

- 25 Las PI3K $\alpha$ , PI3K $\beta$ , PI3K $\delta$  humanas catalíticamente activas, y mTOR, se clonaron, se expresaron, y se purificaron como se describe (Maira SM, Stauffer F, Brueggen J, Furet P, Schnell C, Fritsch C, Brachmann S, Chène P, de Pover A, Schoemaker K, Fabbro D, Gabriel D, Simonen M, Murphy L, Finan P, Sellers W, García-Echeverría C (2008), *Mol Cancer Ther.* 7: 1851-63, y Maira SM, Pecchi S, Brueggen J, Huh K, Schnell C, Fritsch C, Nagel T, Wiesmann M, Brachmann S, Dorsch M, Chène P, Schoemaker K, de Pover A, Menezes D, Fabbro D, Sellers W, García-Echeverría C, Voliva CF (2011), *Mol. Cancer Ther.* aceptado).

Ensayos bioquímicos para PI3Kalfa, PI3Kbeta

- 30 El reactivo de detección de ATP basado en la luminiscencia KinaseGlo se obtuvo en Promega (Número de Catálogo V6714, n.º de lote 236161) a través de Catalys, Wallisellen, Suiza. El (L-alfa-fosfatidil-inositol (PI), hígado, bovino) se obtuvo en Avanti Polar Lipid (n.º de cat. 840042C, n.º de lote LPI-274), el fosfatidil-inositol-4,5-bis-fosfato (PIP(4,5)2 (Avanti, n.º de cat. 840046X) o el L- $\alpha$ -fosfatidil-inositol (PI) se obtuvo en Avanti Polar Lipid (n.º de cat. 840042C, n.º

de lote LPI-274). La L- $\alpha$ -fosfatidil-serina (PS) fue de Avanti Polar Lipid (n.º de cat. 840032C), el n-octil-glucósido de Avanti Polar Lipid (Número de Catálogo 10634425001). La luminiscencia es una lectura bien establecida para determinar las concentraciones de ATP y, por consiguiente, puede utilizarse para seguir la actividad de muchas cinasas independientemente de su sustrato. El Ensayo de Cinasa Luminiscente KinaseGlo (Promega, Madison/WI, EUA) es un método de HTS homogéneo para medir la actividad de cinasa mediante la cuantificación de la cantidad de ATP restante en disolución en seguida de una reacción de cinasa.

Se dosificaron 50 nl de las diluciones de los compuestos sobre placas de estireno no enlazante (NBS) negras de 384 pocillos de bajo volumen (Costar n.º de cat. NBS n.º 3676) como se describe en la sección 8.2. El L- $\alpha$ -fosfatidil-inositol (PI), proporcionado como una disolución de 10 mg/ml en metanol (MeOH), se transfirió hacia dentro de un tubo de vidrio, y se secó bajo un haz de nitrógeno. Entonces se volvió a suspender en octil-glucósido al 3% mediante vórtex, y se almacenó a 4°C. Se agregaron 5  $\mu$ l de una mezcla de PI/OG con los subtipos PI3Ka y PI3Kb. Las reacciones de cinasa se iniciaron mediante la adición de 5  $\mu$ l de mezcla-ATP que contenía, en un volumen final, 10  $\mu$ l de TRIS-HCl 10 mM, pH de 7.5, MgCl<sub>2</sub> 3 mM, NaCl 50 mM, CHAPS al 0.05%, DTT 1 mM, y ATP 1  $\mu$ M, y se desarrollaron a temperatura ambiente. Las reacciones se detuvieron con 10  $\mu$ l de KinaseGlo, y las placas se leyeron 10 min después en un lector Synergy2 utilizando un tiempo de integración de 0.1 segundos por pocillo. Se agregaron 2,5  $\mu$ M de NVP-BGT226 (estándar) a las placas de ensayo, para generar la inhibición del 100% de la reacción de cinasa, y la inhibición del 0% fue dada por el vehículo de disolvente (sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 90% en agua). Se utilizó NVP-BGT226 como un compuesto de referencia y se incluyó en todas las placas de ensayo en forma de 16 puntos de dilución por duplicado.

Los valores CI<sub>50</sub> del porcentaje de inhibición de cada compuesto en 8 concentraciones (usualmente 10, 3,0, 1,0, 0,3, 0,1, 0,030, 0,010 y 0,003  $\mu$ M) n = 2, se derivaron mediante el ajuste de una curva sigmoidal de respuesta a la dosis a una gráfica de la lectura del ensayo sobre la concentración del inhibidor como se describe. Todos los ajustes se llevaron a cabo con el programa XLfit4 (ID Business Solutions, Guildford, Reino Unido (UK)).

#### Ensayos bioquímicos para PI3Kdelta, PI3Kgamma

El Kit de Ensayo de Cinasa Universal TR-FRET Adapta™ se adquirió en Invitrogen Corporation (Carlsbad/CA, EUA) (Número de Catálogo PV5099). El kit contiene los siguientes reactivos: Anticuerpo Adapta Eu-anti-ADP (anticuerpo anti-ADP marcado con europio en disolución salina regulada con HEPES, n.º de cat. PV5097), rastreador de ADP marcado con Alexa Fluor® 647 (rastreador de ADP marcado con Alexa Fluor® 647 en disolución salina regulada con HEPES, n.º de cat. PV5098), regulador de dilución de TR-FRET registrado, pH de 7.5 (Número de Catálogo PV3574).

El sustrato PIK3CD de fosfatidil-inositol se obtuvo en Invitrogen (vesículas que consisten en PI 2 mM en HEPES 50 mM, pH de 7.5; n.º de cat. PV5371). El sustrato PIK3CG de fosfatidil-inositol-4,5-bisfosfato (PIP(4,5)2 se obtuvo en Invitrogen (PIP2:PS vesículas unilamelares grandes que consisten en PIP2 1 mM: PS 19 mM en HEPES 50 mM, pH de 7,5, MgCl<sub>2</sub> 3 mM, EGTA 1 mM; n.º de cat. PV5100).

La transferencia de energía de resonancia con fluorescencia resuelta en el tiempo (TR-FRET) es una tecnología basada en la transferencia de energía entre dos tintes adyacentes, a partir de un electrón excitado en un tinte (el donador) hasta un electrón de un tinte adyacente (el aceptor) a través de la resonancia, y entonces se libera como un fotón. Esta transferencia de energía se detecta mediante un aumento en la emisión de fluorescencia del aceptor, y una disminución en la emisión de fluorescencia del donador. Los ensayos de transferencia de energía de resonancia resuelta en el tiempo (TR-FRET) para las cinasas de proteína utilizan quelatos de lantánidos de terbio o europio de un largo tiempo de vida como la especie donadora, los cuales superan la interferencia a partir de la autofluorescencia del compuesto o la dispersión de luz a partir de los compuestos precipitados, mediante la introducción de un retardo después de la excitación mediante una fuente de excitación de foco de destello. Los resultados se expresan con frecuencia como una proporción de las intensidades de los fluoróforos del aceptor y el donador. La naturaleza radiométrica de este valor corrige las diferencias en los volúmenes de ensayo entre los pocillos, así como corrige los efectos del apagado debidos a los compuestos coloreados. El ensayo Adapta™ se puede dividir en dos fases: una fase de reacción de cinasa y una fase de detección de ADP. En la fase de reacción de cinasa, todos los componentes de la reacción de cinasa se agregan al pocillo, y la reacción se deja incubar durante un período de tiempo establecido específico para cada cinasa. Después de la reacción, se agrega al pocillo de ensayo una disolución de detección de anticuerpo anti-ADP marcado con Eu, rastreador de ADP marcado con Alexa Fluor® 647, y EDTA (para detener la reacción de cinasa). El ADP formado mediante la reacción de cinasa desplazará al rastreador de ADP marcado con Alexa Fluor® 647 a partir del anticuerpo, dando como resultado una disminución en la señal de TR-FRET. En presencia de un inhibidor, se reduce la cantidad de ADP formado mediante la reacción de cinasa, y la interacción del anticuerpo-rastreador intacta resultante mantiene una alta señal de TR-FRET. En el ensayo Adapta™, el donador (anticuerpo de europio anti-ADP) se excita a 340 nm, y transferirá su energía al aceptor (rastreador de ADP marcado con Alexa Fluor® 647). La emisión a partir del Alexa Fluor® 647 se puede monitorear con un filtro centrado en 665 nanómetros debido a que se localiza entre los picos de emisión del donador, los cuales se mide a 615/620 nanómetros.

Se dosificaron 50 nl de las diluciones de los compuestos sobre una placa de poliestireno blanca de pequeño volumen de 384 pocillos, como se describe en la sección 2.2. Entonces se incuban 5 µl de PI3Kg y PI3Kd y sustrato de lípido (PI o PIP2:PS), seguidos por 5 µl de ATP (volumen final del ensayo de 10 µl) a temperatura ambiente. El regulador de reacción estándar para el ensayo de TR-FRET Adapta™ contenía Tris-HCl 10 mM, pH de 7,5, MgCl<sub>2</sub> 3 mM, NaCl 50 mM, DTT 1 mM, CHAPS al 0.05%. Las reacciones se detuvieron con 5 µl de una mezcla de EDTA que contenía el anticuerpo anti-ADP marcado con Eu y el rastreador de ADP marcado con Alexa Fluor® 647 en el regulador de dilución de TR-FRET (registrado por IVG). Las placas se leen de 15 a 60 min más tarde en un lector Synergy2 utilizando un tiempo de integración de 0,4 segundos y un retraso de 0.05 segundos. El control para la inhibición del 100% de la reacción de cinasa se llevó a cabo mediante el reemplazo del PI3K por el regulador de reacción estándar. El control para la inhibición del 0% fue dado por el vehículo de disolvente de los compuestos (sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 90% en H<sub>2</sub>O). El compuesto estándar NVP-BGT226 se utilizó como un compuesto de referencia y se incluyó en todas las placas de ensayo en forma de 16 puntos de dilución por duplicado.

Los datos se analizan utilizando el software Excel fit o Graphpad Prism. Los valores CE<sub>50</sub> se derivaron mediante el ajuste de una curva sigmoideal de respuesta a la dosis a una gráfica de la lectura del ensayo sobre la concentración del inhibidor. Todos los ajustes se llevaron a cabo con el programa XLfit4 (ID Business Solutions, Guildford, Reino Unido (UK)). La determinación de los valores CE<sub>50</sub> del porcentaje de inhibición de cada compuesto en 8 concentraciones (usualmente 10, 3,0, 1,0, 0,3, 0,1, 0,030, 0,010 y 0,003 µM) n = 2, se derivaron mediante el ajuste de una curva sigmoideal de respuesta a la dosis a una gráfica de la lectura del ensayo sobre la concentración del inhibidor. Todos los ajustes se llevaron a cabo con el programa XLfit4 (ID Business Solutions, Guildford, Reino Unido (UK)).

#### Ensayo bioquímico para mTOR

Los ensayos de TR-FRET para las cinasas de proteína utilizan quelatos de lantánido de terbio o europio de largo tiempo de vida como la especie donadora, los cuales superan la interferencia por la autofluorescencia del compuesto o la dispersión de luz a partir de los compuestos precipitados, mediante la introducción de un retraso después de la excitación mediante una fuente de excitación de foco de destello. Los resultados se expresan con frecuencia como una proporción de las intensidades de los fluoróforos del aceptor y el donador. La naturaleza radiométrica de este valor corrige las diferencias en los volúmenes de ensayo entre los pocillos, así como corrige los efectos del apagado debidos a los compuestos coloreados.

Los ensayos de enlace se basan en el enlace y desplazamiento de los inhibidores de cinasa competitivos con ATP marcados con Fluor® 647 a la cinasa de interés. Los "Rastreadores de Cinasa" de Invitrogen se han desarrollado para dirigirse a una amplia gama de objetivos de cinasa, y se basan en los inhibidores de cinasa competitivos con ATP, haciéndolos adecuados para la detección de cualesquiera compuestos que se enlacen al sitio de ATP o a un sitio aloestérico que altere la conformación del sitio de ATP. Los inhibidores que se enlazan al sitio de ATP incluyen los inhibidores de cinasa tanto del Tipo I, que se enlazan exclusivamente con el sitio de ATP, como los inhibidores del Tipo II (por ejemplo, Gleevec®/ Imatinib, Sorafenib, BIRB-796), que se enlazan tanto con el sitio de ATP como con el sitio hidrofóbico expuesto en la conformación DFG-fuera (no activa). Los inhibidores del Tipo III son los compuestos que no compiten con el ATP, y son regularmente referidos como inhibidores aloestéricos. Un estudio de 15 diversos inhibidores de Tipo III demostró que se detectaron todos salvo un compuesto en el ensayo de enlace con una potencia equivalente a los ensayos de actividad. La única excepción fue un compuesto competitivo con el sustrato y, por consiguiente, no es un verdadero inhibidor aloestérico.

En contraste con la mayor parte de la actividad basada en la fluorescencia de los ensayos de cinasa, los ensayos de enlace de cinasa de Eu<sup>3+</sup> LanthaScreen® se pueden leer continuamente, lo cual facilita la evaluación de los compuestos con una cinética de enlace lenta. También, a diferencia de la mayoría de los ensayos de actividad, los ensayos de enlace pueden llevarse a cabo utilizando preparaciones de cinasa ya sea activa o no activada, las cuales hacen posible la caracterización de los compuestos que se enlazan preferencialmente a las cinasas no activadas, tales como Gleevec®/ imatinib, y algunos inhibidores aloestéricos.

En el ensayo de enlace de cinasa Lanthascreen™, el donador (anticuerpo Eu<sup>3+</sup> anti-GST) se excita a 340 nanómetros, y transferirá su energía al aceptor (inhibidor de cinasa competitivo con ATP marcado con Alexa Fluor® 647 = Rastreador-314). La emisión a partir del Rastreador-314 (inhibidor Alexa Fluor® 647) se puede monitorear con un filtro centrado en 665 nanómetros debido a que se localiza entre los picos de emisión del donador, los cuales se miden a 615/620 nanómetros. El enlace de ambos, el Rastreador-314 y el anticuerpo Eu<sup>3+</sup> anti-GST, a la cinasa, da como resultado un alto grado de FRET a partir del fluoróforo del donador de Eu<sup>3+</sup> al fluoróforo del aceptor Alexa-Fluor® 647 sobre el Rastreador-314. El enlace de un inhibidor a la cinasa compite por el enlace con el rastreador, lo cual da como resultado una pérdida de FRET.

Se dosificaron 50 nl de las diluciones de los compuestos sobre placas de poliestireno blancas de pequeño volumen de 384 pocillos, como se describe en la sección 2.2. Entonces se incubaron 5 µl de GST-mTOR y anticuerpo de europio anti-GST, seguidos por 5 µl del Rastreador-314 (volumen final del ensayo de 10 µl), a temperatura ambiente.

El regulador de reacción estándar para el ensayo de enlace de cinasa Lanthascreen™ contenía HEPES 50 mM, pH de 7,5, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, EGTA 1 mM, Pluronic F-127 al 0,01%. Las placas se leen 60 min más tarde en un lector Synergy2 utilizando un tiempo de integración de 0,2 microsegundos y un retraso de 0,1 micro-segundos.

5 Para calcular la proporción de emisión, la señal emitida a 665 nm a partir del aceptor (Rastreador-314 marcado con Alexa Fluor® 647) se divide entre la señal emitida a 620 nm a partir del donador (anticuerpo de Eu<sup>3+</sup> anti-GST).

El control para la inhibición del 0% fue dado por el vehículo de disolvente de los compuestos (sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 90% en H<sub>2</sub>O). El control para la inhibición relativa del 100% se llevó a cabo mediante la adición de 10 µM en la mezcla que contenía GST-mTOR y anticuerpo de europio anti-GST. Se da un control adicional para la inhibición absoluta del 0% por el anticuerpo de Eu<sup>3+</sup> anti-GST sin GST-mTOR.

10 Ensayos celulares para PI3Kalfa, beta y delta

AlphaScreen (Ensayo Homogéneo de Proximidad Luminiscente Amplificado, ALPHA, Perkin Elmer) es una tecnología de ensayo de proximidad basado en perlas no radioactivas, para estudiar las interacciones biomoleculares en un formato de placa de microtitulación homogénea. El nombre de marca *SureFire* denota los ensayos AlphaScreen que se adaptan para cuantificar la fosforilación de las proteínas celulares endógenas en los lisados celulares, utilizando pares de anticuerpos emparejados, los cuales consisten en un anticuerpo anti-fosfo-

15 cinasa y un anticuerpo anti-cinasa. El ensayo permite hacer la caracterización de la señalización de cinasa en las células, así como la medición de los efectos del inhibidor de cinasa. La tecnología AlphaScreen proporciona varias ventajas sobre las técnicas de ensayo convencionales, tales como ELISA, debido a que evita los tardados procedimientos de lavado y reduce el manejo de placas. Adicionalmente, es miniaturizable al menos hasta un formato de 384 pocillos, y proporciona sensibilidad bajando hasta el rango femtomolar, dependiendo de la afinidad de los anticuerpos incluidos en el kit de ensayo AlphaScreen *SureFire* individual. Se alcanza una alta sensibilidad mediante un mecanismo de amplificación intrínseca, el cual involucra la producción de moléculas de oxígeno singletes. Los kits de ensayo *SureFire* están comercialmente disponibles para los objetivos específicos, e incluyen pares de anticuerpos validados (PerkinElmer). Este reporte describe los procedimientos comunes aplicados para los ensayos AlphaScreen *SureFire*, y los etapas semi-automatizados respectivos para la perfilación rutinaria de los

20 inhibidores de cinasa en ensayos basados en células.

25

Las líneas celulares de Rata-1 que sobre-expresaban establemente las isoformas de PI3K de clase I activadas de Rata-1 pBABEpuro Myr-HA-hp110 delta (Rata-1\_PI3Kdelta), y Rata-1 pBABEpuro Myr-HA-hp110alfa (Rata-1\_PI3Kalfa), y Rata-1 pBABEpuro Myr-HA-hp110 beta (Rata-1\_PI3beta), se prepararon como se describe (Maira SM, Stauffer F, Brueggen J, Furet P, Schnell C, Fritsch C, Brachmann S, Chène P, de Pover A, Schoemaker K, Fabbro D, Gabriel D, Simonen M, Murphy L, Finan P, Sellers W, García-Echeverría C (2008), *Mol Cancer Ther.* 7: 1851-63, y Maira SM, Pecchi S, Brueggen J, Huh K, Schnell C, Fritsch C, Nagel T, Wiesmann M, Brachmann S, Dorsch M, Chène P, Schoemaker K, de Pover A, Menezes D, Fabbro D, Sellers W, García-Echeverría C, Voliva CF (2011), *Mol. Cancer Ther.*, aceptado). Todas las líneas celulares se cultivaron en un medio de crecimiento Complete (DMEM alto en glucosa, suero bovino fetal al 10% (v/v), MEM NEAA al 1% (v/v), HEPES 10 mM, L-glutamina 2 mM, puromicina (10 µg/ml para Rata-1\_PI3Kdelta y Rata-1\_PI3Kalfa, 4 µg /ml para Rata-1\_PI3beta), Pen/Strep al 1% (v/v)), hasta una confluencia del 90% a 37°C / CO<sub>2</sub> al 5% / humedad del 90% en una incubadora con CO<sub>2</sub> humidificada, y se dividieron dos veces por semana.

30

35

Se utilizaron los siguientes materiales para la detección de p-AKT(S473) en los lisados celulares de Rata-1: medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) alto en glucosa (Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, n.º de cat. 41965), Suero bovino fetal inactivado por calor, Calificado (HI FBS; Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, n.º de lote 16140), aminoácidos no esenciales MEM (NEAA; Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, n.º de cat. 11140), HEPES (Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, n.º de cat. 15630), Penicilina/Estreptomocina (Pen/Strep, 100x; Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, n.º de cat. 15140-122), L-Glutamina (Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, n.º de cat. 25030), Puromicina (Sigma Aldrich, Buchs, Suiza, n.º de cat. P9620), sulfóxido de dimetilo (DMSO) (MERCK, Dietikon, Suiza, n.º de cat. 8.02912.2500), H<sub>2</sub>O, MilliQ- H<sub>2</sub>O a menos que se informe de otra manera (MILLIPORE QGARD00R1, Millipore, Zug, Suiza), albúmina de suero bovino (BSA; Sigma Aldrich, Buchs, Suiza, n.º de cat. A8412), p-Akt 1/2 *SureFire* (Ser473) Kit de Ensayo (PerkinElmer, Schwerzenbach, Suiza, n.º de cat. TGRAS50K).

40

45

El ensayo *SureFire* de p-Akt(S473) mide la fosforilación de a Akt 1/2 celular endógena en Ser473 en los lisados celulares. Utilizando células de Rata-1 que expresaban establemente las versiones marcadas con myr-HA de las isoformas subunitarias catalíticas p110 PI3Kdelta, PI3Kalfa, o PI3Kbeta humanas, el ensayo se desarrolló como un protocolo de dos placas en un formato de 384 pocillos.

50

Para la prueba de los compuestos, las células se sembraron en una densidad de 4,000 (Rata-1\_PI3Kdelta), 7,500 (Rata-1\_PI3Kalfa), o 6,200 (Rata-1\_PI3Kbeta) células en 20 µl del medio de crecimiento Complete en placas de 384 pocillos tratadas con el cultivo celular, y se hicieron crecer a 37°C / CO<sub>2</sub> al 5% / humedad del 90% durante 24 horas. Poco antes de la transferencia de los compuestos, se removió el medio Complete, se agregaron 30 µl de regulador

55

de ensayo (DMEM alto en glucosa, 1x MEM NEAA, HEPES 10 mM, L-glutamina 2 mM, albúmina de suero bovino (BSA) al 0,1% (peso/volumen)), y se transfirieron 10  $\mu$ l de las diluciones previas de los compuestos a las células. Para la prueba después de febrero de 2010, el regulador de ensayo fue sustituido por el medio de crecimiento Complete, el cual reveló resultados similares (no se muestran los datos). Después del tratamiento con el compuesto durante 1 hora, las células se lisaron mediante la adición de 20  $\mu$ l de regulador de lisis complementado con albúmina de suero bovino (BSA) al 0,24% (p/v). La detección de p-AKT(Ser473) se llevó a cabo con el kit de ensayo de p-Akt 1/2 (Ser473) SureFire según las instrucciones del fabricante, utilizando 5  $\mu$ l del lisado celular en un volumen de detección total de 12  $\mu$ l.

Los valores  $CI_{50}$  del porcentaje de inhibición de cada compuesto en 8 concentraciones (usualmente 10, 3,0, 1,0, 0,3, 0,1, 0,030, 0,010 y 0,003  $\mu$ M) n = 2, se derivaron mediante el ajuste de una curva sigmoide de respuesta a la dosis a una gráfica de la lectura del ensayo sobre la concentración del inhibidor como se describe. Todos los ajustes se llevaron a cabo con el programa XLfit4 (ID Business Solutions, Guildford, Reino Unido (UK)).

#### Ensayo celular para mTOR

Se desarrolló un ensayo basado en células (formato de 384 pocillos) para la determinación de los efectos del compuesto sobre la actividad de cinasa celular de mTOR en células MEF (fibroblastos embrionarios de ratón) derivadas a partir de ratones que carecían de TSC1 (complejo de tuberoesclerosis 1), un potente supresor de la actividad de cinasa de mTOR. Debido a la falta de TSC1, la cinasa de mTOR se activa constitutivamente, dando como resultado la fosforilación permanente de Thr 389 de S6 cinasa 1 (S6K1), que es uno de los objetivos corriente abajo de mTOR.

Utilizando un Kit SureFire que hace posible la determinación de la fosforilación de Thr389 sobre S6K1, se desarrolló, se validó, y se implementó un ensayo en el formato Alpha-Screen que permite hacer la determinación cuantitativa de fosfo-T389 de S6K1 en los lisados celulares. El tratamiento de las células MEF TSC1-/- con los inhibidores específicos de mTOR (o inhibidores de la ruta de mTOR), de manera dependiente de la dosis, reduce los niveles de fosfo-T389 en S6K1, permitiendo hacer el cálculo de los valores  $CI_{50}$ . Éstos estuvieron según los valores obtenidos con el ensayo bioquímico de mTOR de enlace de ATP, haciendo posible hacer una comparación cuantitativa de la potencia de los inhibidores de mTOR.

Las células TSC1-/- MEFs (Kwiatkowski, D. J., Zhang, H., Bandura, J. L., Heiberger, K. M., Glogauer, M., el-Hashemite, N., y Onda, H. (2002) *Hum. Mol. Genet.* 11, 525–534) se cultivaron en un medio DMEM alto en glucosa complementado con suero bovino fetal (FBS) al 10% (Invitrogen), Glutamina 2 mM, y Penicilina/Estreptomicina al 1% (peso/volumen) a 37°C, con CO<sub>2</sub> al 5%.

El kit SureFire para la determinación de la fosforilación de P70S6cinasa se adquirió en Perkin Elmer (p70S6K p-T389, n.º TGR70S50K), y el ensayo se llevó a cabo según las instrucciones del proveedor y según el método genérico para los ensayos SureFire. Poco después, se transfirieron 5  $\mu$ l del lisado celular por pocillo a las placas Proxi-plates blancas de 384 pocillos (para la lectura luminiscente), y se mezclaron con 7  $\mu$ l de A y 5  $\mu$ l de B (volumen final: 12  $\mu$ l). Después de 3 horas de incubación en la oscuridad a temperatura ambiente, se leyó la luminiscencia con el Lector Envision (Perkin Elmer). Las células no tratadas se utilizaron como control (control alto), y las células tratadas con BEZ235 3  $\mu$ M se utilizaron como el control bajo. La ventana de ensayo entre las señales obtenidas para los controles alto y bajo, se definió como el 100%, y los efectos del compuesto se expresaron como el porcentaje de inhibición. Los valores  $CI_{50}$  se calcularon a partir de las curvas de respuesta a la dosis mediante una extrapolación gráfica.

Los resultados obtenidos utilizando los ensayos anteriormente descritos se proporcionan en las siguientes tablas, en donde SEM es el error estándar del promedio, y n es el número de mediciones de los datos.

#### Bioquímica de PI3Kalfa

n.º de ejemplo	PI3Ka / $CI_{50}$ [ $\mu$ mol l-1]	SEM	n
18	0,009	0,001	6
15	0,026	0,012	3
1	0,008	0,001	4
4	0,014	-	1

ES 2 598 118 T3

n.º de ejemplo	PI3Ka / CI <sub>50</sub> [µmol l <sup>-1</sup> ]	SEM	n
10	0,008	0,002	3
19	0,006	-	1
13	0,203	-	1
20	0,024	0,003	6
6	0,013	0,006	2
8	0,013	-	1
5	0,011	-	1
16	0,030	0,010	2
7	0,021	-	1
12	0,030	-	1
2	0,023	-	1
3	0,021	-	1
9	0,384	-	1
11 (comparador)	0,038	0,013	3
3A	0,030	-	1
17	0,017	-	1
14	0,057	0,020	2
3B	0,031	-	1
21	0,019	-	1
22	0,006	0,001	2
22A	0,007	0,001	2
22B	0,026	-	1
23	0,006	0,001	3
24	0,005	0,001	2
25	0,005	-	1*
26	0,005	-	1*
ejemplo 10 del documento WO2007/084786	0,044	0,004	23
ejemplo 331 del documento WO2007/084786	0,592	0,076	3
ejemplo 17 del documento WO2007/084786	0,125	-	1

ES 2 598 118 T3

n.º de ejemplo	PI3Ka / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
ejemplo 324 del documento WO2007/084786	0,359	0,074	3
ejemplo 18 del documento WO2007/084786	0,107	-	1
ejemplo 344 del documento WO2007/084786	0,134	0,028	3
ejemplo 85 del documento WO2007/084786	0,028	0,012	2
* una medición separada diferente dio un valor de <0,003 µM.			

Bioquímica de PI3Kbeta

n.º de ejemplo	PI3Kb / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
18	0,004	0,001	6
15	0,021	0,009	3
1	0,006	0,001	4
4	0,007	-	1
10	0,038	0,025	3
19	0,005	-	1
13	0,146	-	1
20	0,011	0,002	6
6	0,007	0,003	2
8	0,004	-	1
5	0,011	-	1
16	0,020	0,009	2
7	0,006	-	1
12	0,049	-	1
2	0,020	-	1
3	0,018	-	1
9	0,041	-	1
11 (comparador)	0,012	0,002	3
3A	0,012	-	1
17	0,007	-	1
14	0,018	0,003	2
3B	0,032	-	1

n.º de ejemplo	PI3Kb / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
21	0,035	-	1
22	0,048	0,038	2
22A	0,086	0,038	2
22B	0,058	-	1
23	0,011	0,007	2
24	0,016	-	1
25	0,011	0,003	2
26	0,124	0,067	2
ejemplo 10 del documento WO2007/084786	0,165	0,018	22
ejemplo 331 del documento WO2007/084786	2,747	0,200	3
ejemplo 17 del documento WO2007/084786	0,214	-	1
ejemplo 324 del documento WO2007/084786	1,249	0,468	3
ejemplo 18 del documento WO2007/084786	0,192	-	1
ejemplo 344 del documento WO2007/084786	0,875	0,321	3
ejemplo 85 del documento WO2007/084786	0,037	0,023	2

Bioquímica de PI3Kdelta

n.º de ejemplo	PIK3d / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
18	0,008	0,001	5
15	0,015	0,003	3
1	0,007	0,002	4
4	0,004	-	1
10	0,012	0,003	3
19	0,009	-	1
13	0,021	-	1
20	0,023	0,007	6
6	0,011	0,001	2
8	0,021	-	1
5	0,004	-	1
16	0,021	0,001	2

ES 2 598 118 T3

n.º de ejemplo	PIK3d / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
7	0,017	-	1
12	0,059	-	1
2	0,075	-	1
3	0,012	-	1
9	0,032	-	1
11 (comparador)	0,029	0,016	3
3A	0,041	-	1
17	0,008	-	1
14	0,017	0,002	2
3B	0,063	-	1
21	0,017	-	1
22	0,006	0,0025	2
22A	0,004	0,0020	2
22B	0,005	-	1
23	0,009	0,0003	3
24	0,009	0,0022	2
25	0,007	0,0025	2
26	0,012	0	2
ejemplo 10 del documento WO2007/084786	0,236	0,057	11
ejemplo 331 del documento WO2007/084786	2,316	0,246	3
ejemplo 17 del documento WO2007/084786	0,296	-	1
ejemplo 324 del documento WO2007/084786	0,692	0,037	3
ejemplo 18 del documento WO2007/084786	0,153	-	1
ejemplo 344 del documento WO2007/084786	1,039	0,585	2
ejemplo 85 del documento WO2007/084786	0,080	0,039	2

Bioquímica de PI3Kgamma

n.º de ejemplo	PIK3g / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
18	0,253	0,070	6
15	0,338	0,043	3

ES 2 598 118 T3

n.º de ejemplo	PIK3g / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
1	0,276	0,068	4
4	0,238	-	1
10	0,158	0,011	3
19	0,184	-	1
13	0,386	-	1
20	0,601	0,216	6
6	0,258	0,027	2
8	0,237	-	1
5	0,329	-	1
16	0,770	0,319	2
7	0,529	-	1
12	1,661	-	1
2	0,348	-	1
3	0,516	-	1
9	1,130	-	1
11 (comparador)	0,998	0,350	3
3A	2,197	-	1
17	0,328	-	1
14	1,232	0,679	2
3B	1,794	-	1
21	0,370	-	1
22	0,145	0,035	2
22A	0,110	0,035	2
22B	0,410	-	1
23	0,207	0,087	3
24	0,540	0,340	2
25	0,205	0,095	2
26	0,290	0,050	2
ejemplo 10 del documento WO2007/084786	1,898	0,675	11

ES 2 598 118 T3

n.º de ejemplo	PIK3g / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
ejemplo 331 del documento WO2007/084786	4,626	*	3
ejemplo 17 del documento WO2007/084786	5,270	-	1
ejemplo 324 del documento WO2007/084786	4,322	0,023	3
ejemplo 18 del documento WO2007/084786	8,789	-	1
ejemplo 344 del documento WO2007/084786	> 9,1	**	2
ejemplo 85 del documento WO2007/084786	0,464	0,231	2
* 2 de los 3 valores > 9.1. No hubo cálculo de SEM posible. ** Ambos valores > 9.1. No hubo cálculo de SEM posible.			

Ensayo celular de PI3Kalfa

n.º de ejemplo	Rata1-PI3Ka / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
18	0,038	0,011	7
15	0,079	0,026	4
1	0,048	0,006	5
4	0,031	-	1
10	0,061	0,013	3
19	0,050	0,007	2
13	0,058	-	1
20	0,158	0,033	5
6	0,094	0,015	3
8	0,081	-	1
5	0,093	-	1
16	0,108	-	1
7	0,120	0,007	2
12	0,113	-	1
2	0,134	-	1
3	0,147	-	1
9	0,147	-	1
11 (comparador)	0,256	0,076	3
3A	0,176	-	1

n.º de ejemplo	Rata1-PI3Ka / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
17	0,178	-	1
14	0,277	0,075	2
3B	0,215	-	1
21	0,085	-	1
22	0,095	0,009	2
22A	0,086	0,009	2
22B	0,148	-	1
23	0,020	0,007	4
24	0,045	0	2
25	0,045	0,013	2
26	0,058	0,031	2
ejemplo 10 del documento WO2007/084786	0,117	0,012	20
ejemplo 331 del documento WO2007/084786	1,770	0,080	2
ejemplo 17 del documento WO2007/084786	0,460	-	1
ejemplo 324 del documento WO2007/084786	1,730	0,420	2
ejemplo 18 del documento WO2007/084786	0,669	-	1
ejemplo 344 del documento WO2007/084786	1,247	0,035	3
ejemplo 85 del documento WO2007/084786	0,126	0,017	4

Ensayo celular de PI3Kbeta

n.º de ejemplo	Rata1-PI3Kb / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
18	0,088	0,035	6
15	0,114	0,010	3
1	0,065*	0,029	3
4	0,183	-	1
10	0,173	0,060	4
19	0,071	-	1
13	0,240	-	1
20	0,124	0,032	5
6	0,147	0,128	2

ES 2 598 118 T3

n.º de ejemplo	Rata1-PI3Kb / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
8	0,108	-	1
5	0,314	-	1
16	0,160	-	1
7	0,132	-	1
12	0,123	-	1
2	0,278	-	1
3	0,193	-	1
9	0,226	-	1
11 (comparador)	0,184	0,031	3
3A	0,093	-	1
17	0,171	-	1
14	0,157	0,026	2
3B	0,331	-	1
21	0,046	-	1
22	0,077	0,017	2
22A	0,060	0,017	2
22B	0,125	-	1
23	0,027	0,013	4
24	0,034	0,013	2
25	0,043	0,009	2
26	0,075	0,037	2
ejemplo 10 del documento WO2007/084786	0,523	0,047	18
ejemplo 331 del documento WO2007/084786	8,220	**	2
ejemplo 17 del documento WO2007/084786	1,540	-	1
ejemplo 324 del documento WO2007/084786	5,310	**	2
ejemplo 18 del documento WO2007/084786	1,580	-	1
ejemplo 344 del documento WO2007/084786	4,035	0,540	4
ejemplo 85 del documento WO2007/084786	0,229	0,049	4
* Cuarta medición 3,9 µM, ausente. ** El segundo valor fue > 10. Por consiguiente, no fue posible el cálculo de SEM.			

ES 2 598 118 T3

Ensayo celular de PI3Kdelta

n.º de ejemplo	Rata1-PI3Kd / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
18	0,028	0,006	7
15	0,053	0,020	4
1	0,027	0,005	4
4	0,013	-	1
10	0,052	0,011	3
19	0,034	0,010	2
13	0,042	-	1
20	0,111	0,017	5
6	0,037	0,003	3
8	0,054	-	1
5	0,023	-	1
16	0,087	-	1
7	0,070	0,015	3
12	0,092	-	1
2	0,081	-	1
3	0,073	-	1
9	0,078	-	1
11 (comparador)	0,138	0,050	3
3A	0,059	-	1
17	0,155	-	1
14	0,101	0,008	2
3B	0,172	-	1
21	0,061	-	1
22	0,027	-	1
22A	0,027	-	1
22B	0,005	-	1
23	0,016	0,002	4
24	0,007	0	4

ES 2 598 118 T3

n.º de ejemplo	Rata1-PI3Kd / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
25	0,013	0,002	5
26	0,011	0,004	4
ejemplo 10 del documento WO2007/084786	0,548	0,034	20
ejemplo 331 del documento WO2007/084786	5,220	*	2
ejemplo 17 del documento WO2007/084786	1,030	-	1
ejemplo 324 del documento WO2007/084786	6,540	0,040	2
ejemplo 18 del documento WO2007/084786	1,290	-	1
ejemplo 344 del documento WO2007/084786	2,768	0,184	4
ejemplo 85 del documento WO2007/084786	0,238	0,065	4

\* El segundo valor fue > 10. Por consiguiente no fue posible el cálculo de SEM.

Ensayo celular de mTOR

n.º de ejemplo	mTOR S6K(T389)_TSC1ko / CI <sub>50</sub> [µmol l-1]	SEM	n
18	0,794	0,070	7
15	0,727	*	2
1	0,964	0,228	3
4	0,647	0,013	2
10	2,020	**	4
19	0,423	0,050	2
13	1,950	-	1
20	> 2,27		8
6	0,574	0,100	4
8	0,994	-	1
5	1,41	0,05	2
16	0,942		4
7	1,23	0,09	2
12	1,100	-	1
3	0,759	0,048	2
9	1,260	*	2

n.º de ejemplo	mTOR S6K(T389)_TSC1ko / Cl <sub>50</sub> [µmol l <sup>-1</sup> ]	SEM	n
11 (comparador)	1,410	***	5
3A	1,570	0,170	2
17	0,867	-	1
14	> 2,27	****	3
3B	1,111	0,230	2
21	0,942	0,025	2
22	1,386	0,734	2
22A	2,120	0,730	2
22B	2,3	-	1
23	1,111	0,320	2
24	1,830	-	1
25	1,830	-	1
26	0,857	-	1
ejemplo 10 del documento WO2007/084786	0,602	0,067	10
ejemplo 331 del documento WO2007/084786	> 2,27	****	4
ejemplo 17 del documento WO2007/084786	2,120	*	2
ejemplo 324 del documento WO2007/084786	> 2,27	****	4
ejemplo 18 del documento WO2007/084786	> 2,27	****	2
ejemplo 344 del documento WO2007/084786	> 2,27	****	3
ejemplo 85 del documento WO2007/084786	1,001	0,055	3
<p>* El segundo valor fue &gt; 2,27. Por consiguiente, no fue posible el cálculo de SEM.  ** 3 de los 4 valores fueron &gt; 2,27. Por consiguiente, no fue posible el cálculo de SEM.  *** 3 de los 5 valores fueron &gt; 2,27. Por consiguiente, no fue posible el cálculo de SEM.  **** Todos los valores fueron &gt; 2,27. Por consiguiente, no fue posible el cálculo de SEM.</p>			

El efecto inespecífico (evidencia de unión de tubulina) se midió como sigue.

Descripción del ensayo Cytospin:

5 Ensayo Cytospin de paro de G2/M del ciclo celular para detectar las actividades de enlace (inespecífico) de la unión de tubulina de los derivados de MAPP: 5 x 10<sup>5</sup> células A2058 se cultivaron en placa en un grupo de 6 pocillos, con 2 ml de DMEM (alto en glucosa conteniendo piruvato de sodio al 1%, glutamina al 1%, y suero fetal bovino (FCS) al 10%). 18 horas más tarde, se agregaron los artículos de prueba en una concentración de 5 µM (salpicando 1 µl de una disolución 10 mM del artículo de prueba). 24 horas más tarde, las células se tripsinizaron y se transfirieron a un tubo cónico de 15 ml. Las células entonces se aglomeraron mediante centrifugación, y se volvieron a suspender con suero regulado con fosfato (PBS)/O (que contenía suero fetal bovino (FCS) al 10%). Las células se contaron con un contador CASY, y cada una de las muestras se equilibró a 1 x 10<sup>6</sup> células / ml. Entonces se transfirieron 200 µl (2 x 10<sup>5</sup> células) a tubos Cytospin de 1,5 ml (Heraeus Sepatec, Ref 1152), y se centrifugaron durante 5 min a 50 x g a

10

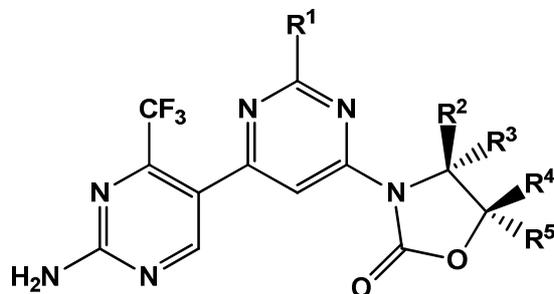
- 5 4°C, con un sistema Cytospin, que contenía un sistema Sepatech (Heraeus, n.º de ref. 3425), ajustado encima de un portaobjetos de un microscopio (Thermo-Scientific, n.º de ref. PH040820). Las células se fijaron entonces durante 15 min a temperatura ambiente, y se tiñeron con el ensayo Diff Quick® (Medion Diagnostics, n.º de ref. 130832), siguiendo las recomendaciones del fabricante. El ADN condensado que refleja el paro de G2/M se reveló mediante teñido punteado en las células, cuando se examinaron los portaobjetos bajo el microscopio. El teñido se evaluó visualmente para determinar la presencia del ADN condensado, y se le dio una calificación, en donde 0 = ADN no condensado observado (que indica que no hay actividad inespecífica), 1 = (que indica una actividad inespecífica débil), 2 = (que indica una actividad inespecífica media), 3 = cantidad grande de ADN condensado observada (que indica una actividad inespecífica fuerte).
- 10 Los datos obtenidos empleando este método se muestran en la siguiente tabla:

n.º de ejemplo	Calificación
18	0
15	0
1	0
4	0
10	0
19	0
13	0
20	1-2
6	0
8	0
5	0
16	0
7	n.d.
12	0
2	n.d.
3	0
9	n.d.
11 (comparador)	3
3A	0
17	0
14	0
3B	0
21	0
22	0

<b>n.º de ejemplo</b>	<b>Calificación</b>
22A	n.d.
22B	n.d.
23	0
24	0
25	0
26	0
ejemplo 10 del documento WO2007/084786	3
ejemplo 331 del documento WO2007/084786	0
ejemplo 17 del documento WO2007/084786	0
ejemplo 324 del documento WO2007/084786	0
ejemplo 18 del documento WO2007/084786	0
ejemplo 344 del documento WO2007/084786	0
ejemplo 85 del documento WO2007/084786	3
n.d. = no determinado.	

REIVINDICACIONES

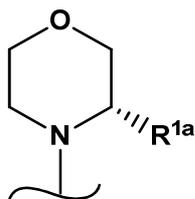
1. Compuesto de fórmula (I):



(I)

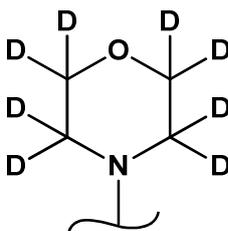
en donde,

5  $R^1 =$



en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

o  $R^1 =$



10 en donde D = deuterio;

$R^2 = H$ , y  $R^3 = H$ ;

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ; o

$R^4 = -CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ ;

o

15  $R^2 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2OCH_3$ ,  $-CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH_2CH(OH)CH_3$  o  $-CH_2C(OH)(CH_3)_2$  y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$ ,  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH(OH)CH_3$  o  $-CH_2C(OH)(CH_3)_2$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ;

o

$R^3 = H$ , y  $R^4 = H$ ;

5  $R^2$  y  $R^5$  se unen y forman  $-(CH_2)_4-$ ;

o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

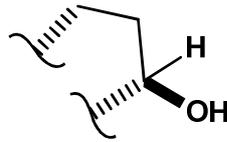
$R^2 = -CH_2OH$ , y  $R^3 = -CH_3$ ; o

$R^2 = H$  o  $-CH_3$ , y  $R^3 = -CH_2OH$ ;

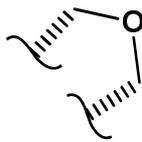
10 o

$R^2 = H$ , y  $R^4 = H$ ; y

$R^3$  y  $R^5$  se unen y forman el grupo:



o el grupo:



15

o

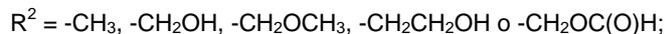
$R^3 = H$ , y  $R^5 = H$ ; y

$R^2$  y  $R^4$  se unen y forman el grupo:



20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

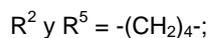
2. Compuesto según la reivindicación 1, en donde,



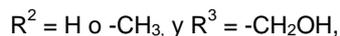
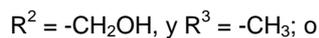
5  $R^4 = H, \text{ y } R^5 = -CH_3 \text{ o } -CH_2OH, \text{ o}$



o

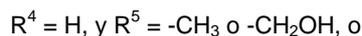
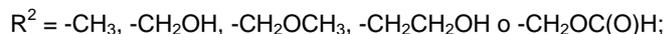


10 o



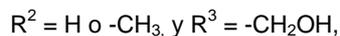
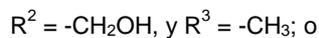
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 3. Compuesto según la reivindicación 1, o la reivindicación 2, en donde,



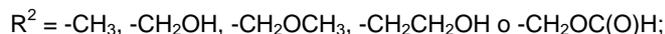
20  $R^4 = H \text{ o } -CH_3 \text{ y } R^5 = H \text{ o } -CH_3;$

o

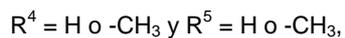


25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde,

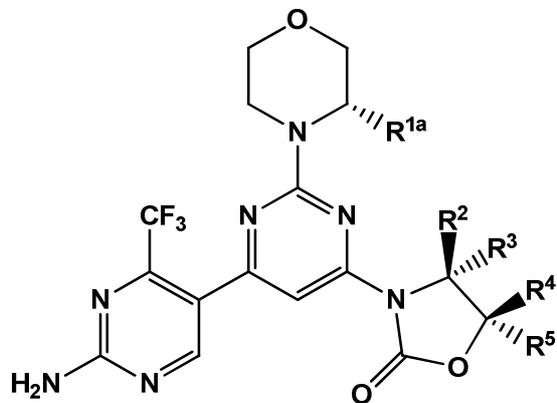


30  $R^4 = H, \text{ y } R^5 = -CH_3 \text{ o } -CH_2OH, \text{ o}$



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, de fórmula (IA'):

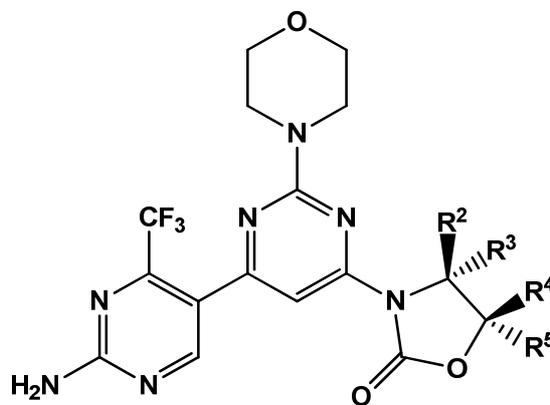


(IA'),

en donde  $R^{1a} = H$  o  $-CH_3$

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Compuesto según la reivindicación 1, de fórmula (IA):



(IA)

en donde,

$R^2 = -CH_3, -CH_2OH, -CH_2OCH_3, -CH_2CH_2OH$  o  $-CH_2OC(O)H$ ;

10  $R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3, -CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 7. Compuesto según la reivindicación 6, en donde,

$R^2 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3, -CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

$R^4 = H$ , y  $R^5 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ , o

$R^4 = H$  o  $-CH_3$  y  $R^5 = H$  o  $-CH_3$ ,

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. Compuesto según la reivindicación 7, en donde,

$R^2 = -CH_3$  o  $-CH_2OH$ ;

$R^3 = H$ ;

$R^4 = -CH_3, -CH_2OH$  o  $-CH_2CH_2OH$ , y  $R^5 = H$ , o

10  $R^4 = H$ , y  $R^5 = CH_3$  o  $-CH_2OH$ ,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

9. Compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 1, que se selecciona de:

(S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-metiloxazolidin-2-ona,

(S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5,5-dimetiloxazolidin-2-ona,

15 3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-4,5'-bipirimidin-6-il)-4-(hidroximetil)-4-metiloxazolidin-2-ona racémica,

(S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-4,5'-bipirimidin-6-il)-4-(hidroximetil)-4-metiloxazolidin-2-ona,

(R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-4,5'-bipirimidin-6-il)-4-(hidroximetil)-4-metiloxazolidin-2-ona,

(3aS,7aS)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-hexahidro-benzo-oxazol-2-ona,

(S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-metoximetil-oxazolidin-2-ona,

20 (4S,5S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona,

(S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-oxazolidin-2-ona,

(4S,5R)-3-(2'-amino-2-(D8-morfolin-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona,

(S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-(2-hidroxi-etil)-oxazolidin-2-ona,

25 (4S,5R)-3-[2'-amino-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il]-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona,

(4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-metil-2-oxo-oxazolidin-4-il-metil-éster del ácido fórmico,

(S)-3-[2'-amino-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il]-4-metil-oxazolidin-2-ona,

(S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroximetil-oxazolidin-2-ona,

30 (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroximetil-4-metil-oxazolidin-2-ona,

(S)-3-(2'-amino-2-morfolin-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-metil-oxazolidin-2-ona,

(S)-3-(2'-amino-2-D8-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-4-metiloxazolidin-2-ona,

(4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona,  
 (4S,5S)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroximetil-4-metil-oxazolidin-2-ona,  
 (R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-5-hidroximetil-oxazolidin-2-ona,  
 (3aR,6aR)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-tetrahidrofuro-[3,4-d]-oxazol-2(3H)-ona,

5 (3aR\*,6R\*,6aR\*)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-6-hidroxihexahidro-2H-ciclopenta[d]oxazol-2-ona racémica,

(3aR,6R,6aR)-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-6-hidroxihexahidro-2H-ciclopenta[d]oxazol-2-ona,

10 (3aS,6S,6aS)(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-6-hidroxihexahidro-2H-ciclopenta[d]oxazol-2-ona, y

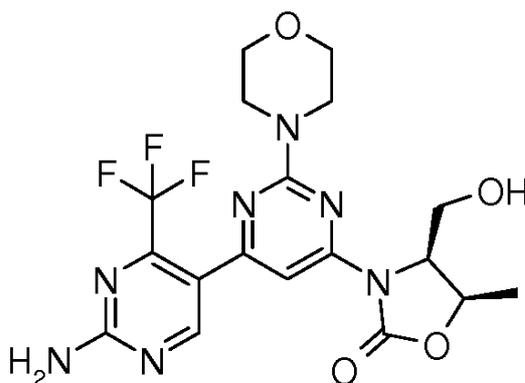
(4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-(2-hidroxietil)-4-metiloxazolidin-2-ona.

10. Compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 1, seleccionado de (4S,5R)-3-[2'-amino-2-((S)-3-metil-morfolino-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il]-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona,

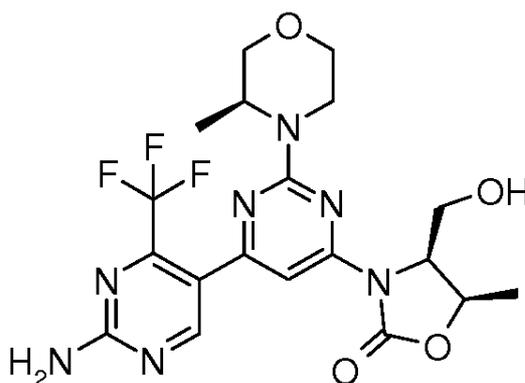
15 (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona, o

(4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-(2-hidroxietil)-4-metiloxazolidin-2-ona.

11. Compuesto (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4-il-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il)-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona, según la reivindicación 1, de estructura:

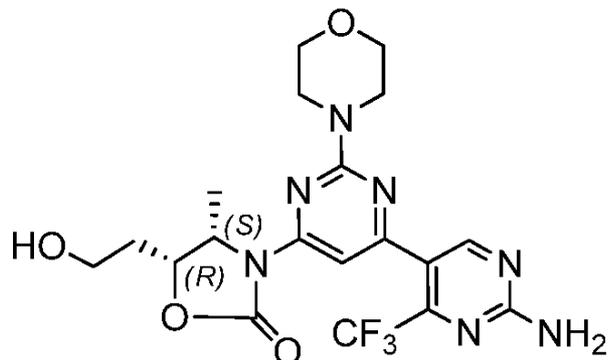


20 12. Compuesto (4S,5R)-3-[2'-amino-2-((S)-3-metil-morfolino-4-il)-4'-trifluorometil-[4,5']-bipirimidinil-6-il]-4-hidroximetil-5-metil-oxazolidin-2-ona, según la reivindicación 1, de estructura:



13. Compuesto (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-5-(2-hidroxietil)-4-

metiloxazolidin-2-ona, según la reivindicación 1, de estructura:



- 5 14. Composición farmacéutica, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.
15. Composición farmacéutica según la reivindicación 14, formulada como una dispersión sólida de dicho compuesto.
- 10 16. Combinación que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales.
17. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como un medicamento.
18. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer.
- 15 19. Compuesto para su uso según la reivindicación 18, en el que el cáncer se selecciona de un tumor sólido, un carcinoma de cerebro, un carcinoma de riñón, un carcinoma de hígado, un carcinoma de glándula suprarrenal, un carcinoma de vejiga, un carcinoma de mama, un carcinoma de estómago, un carcinoma de esófago, un carcinoma de ovario, un carcinoma de colon, un carcinoma de recto, un carcinoma de próstata, un carcinoma de páncreas, un carcinoma de pulmón, un carcinoma de vagina, un carcinoma de tiroides, sarcoma, glioblastomas, mieloma múltiple
- 20 o cáncer gastrointestinal, un tumor de cuello, un tumor de cabeza, carcinoma de células escamosas, leucemia linfocítica crónica, linfoma no de Hodgkin, mieloma de células plasmáticas, linfoma de Hodgkin o una leucemia.
20. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en forma amorfa.
21. Composición farmacéutica según la reivindicación 14 o reivindicación 15, en la que dicho compuesto está en forma amorfa.

25

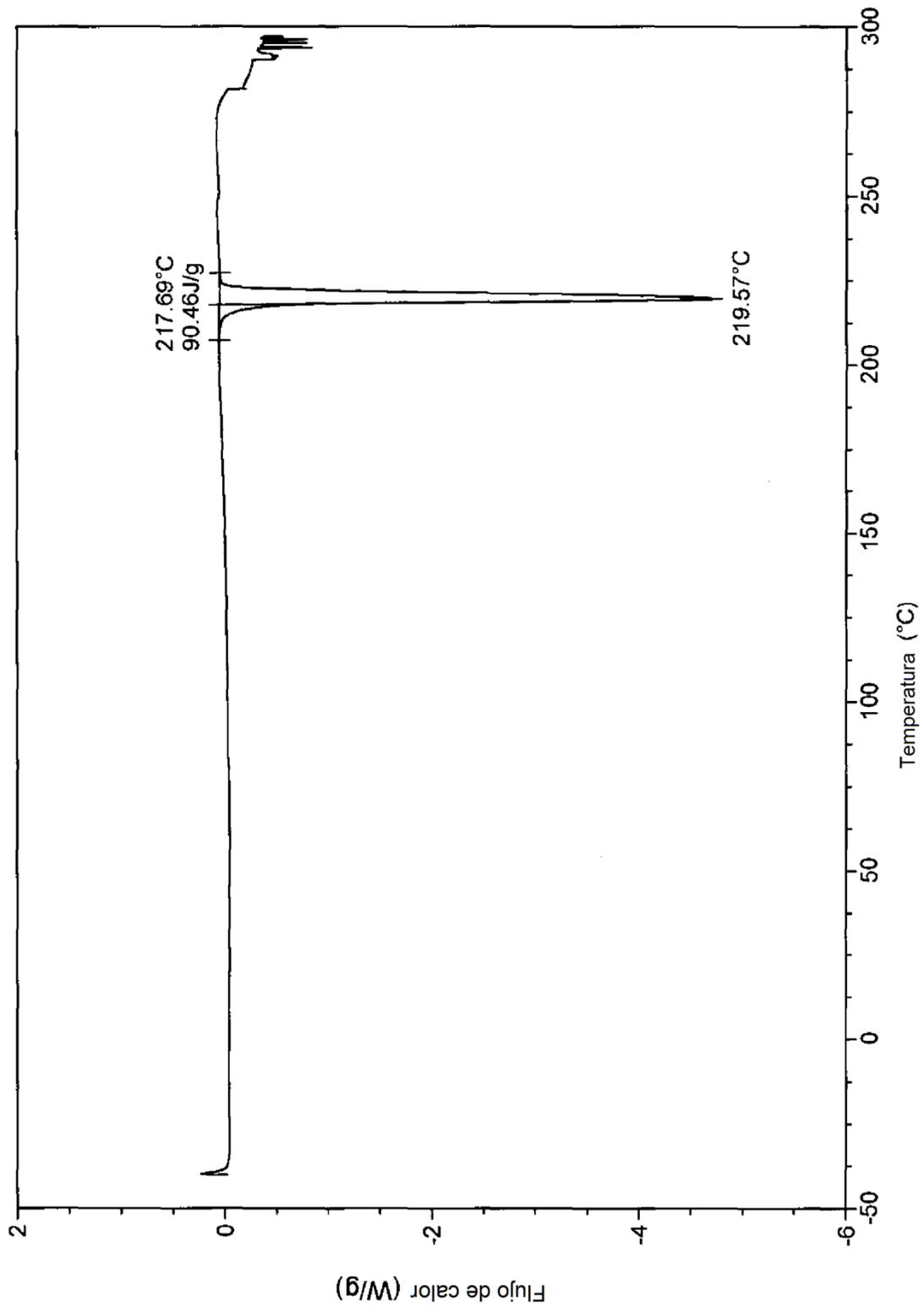
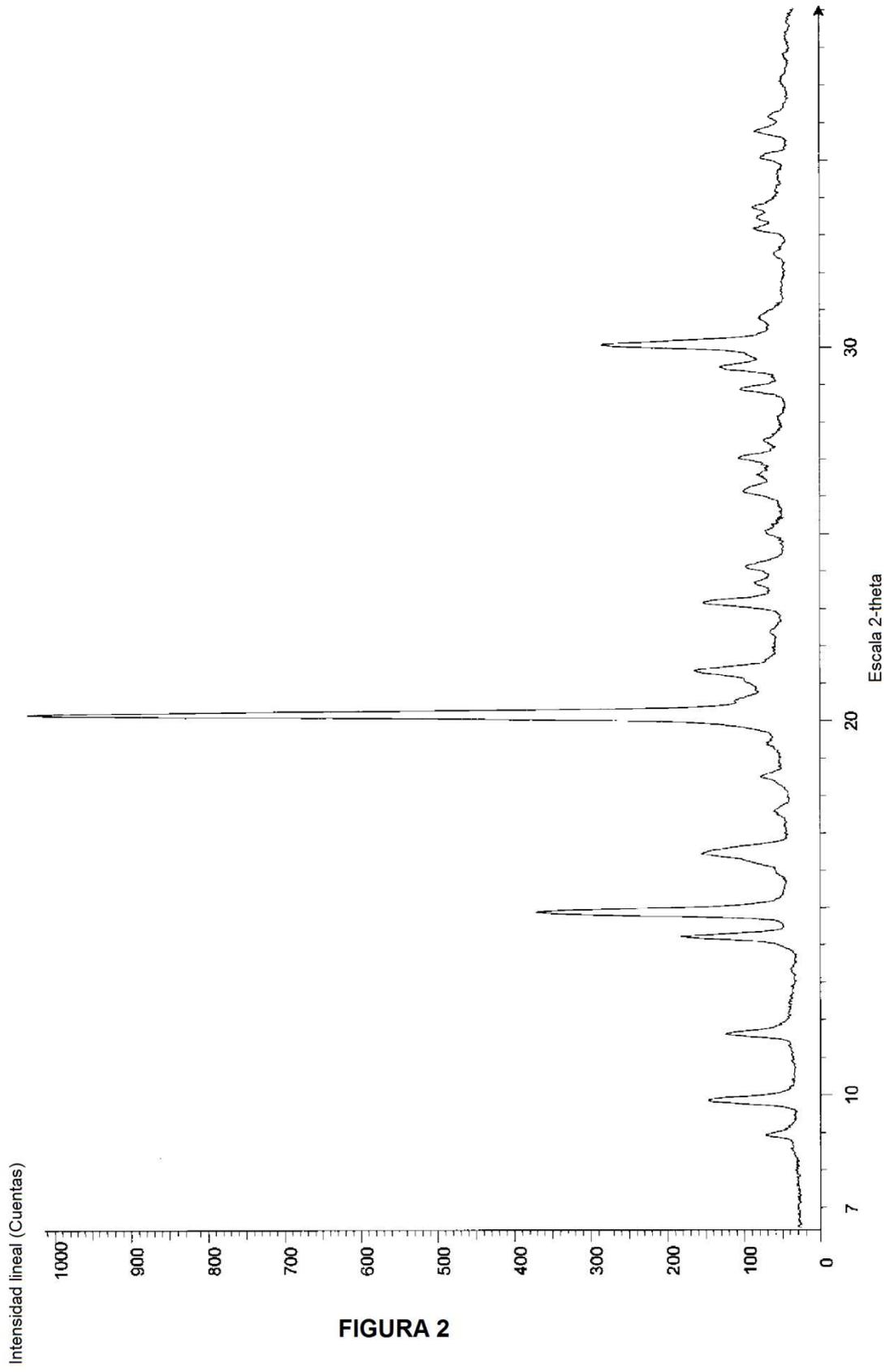


FIGURA 1



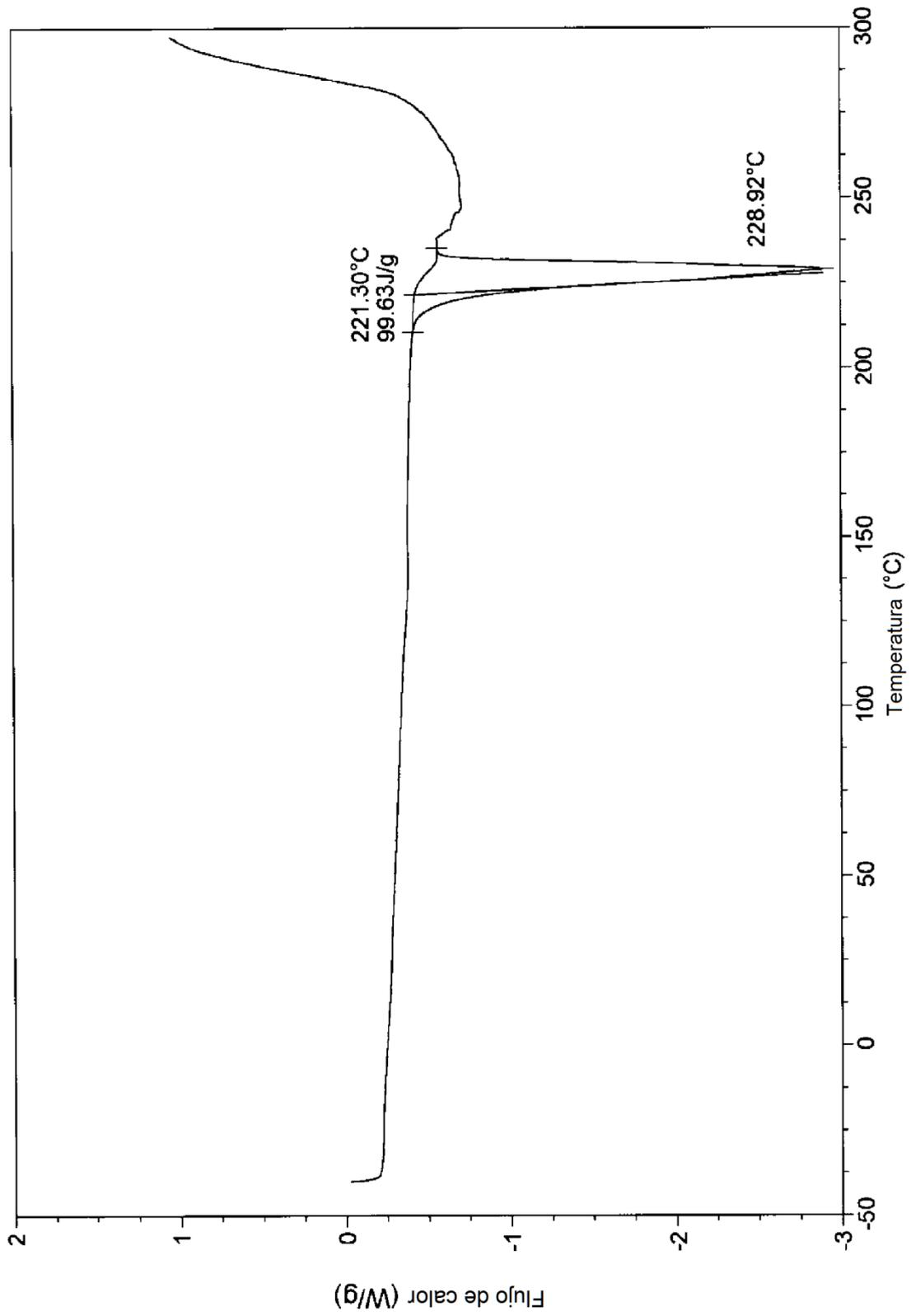
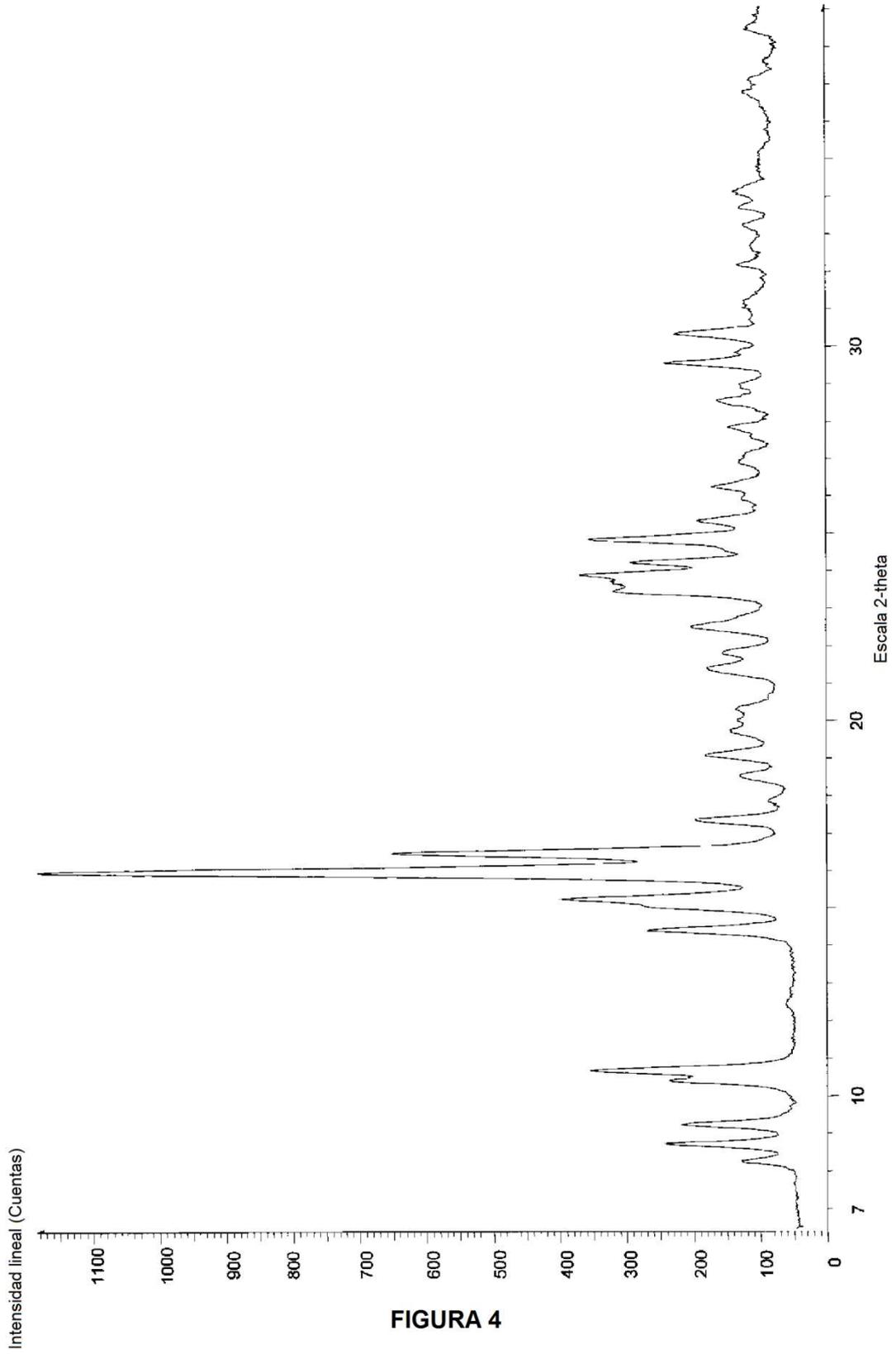


FIGURA 3



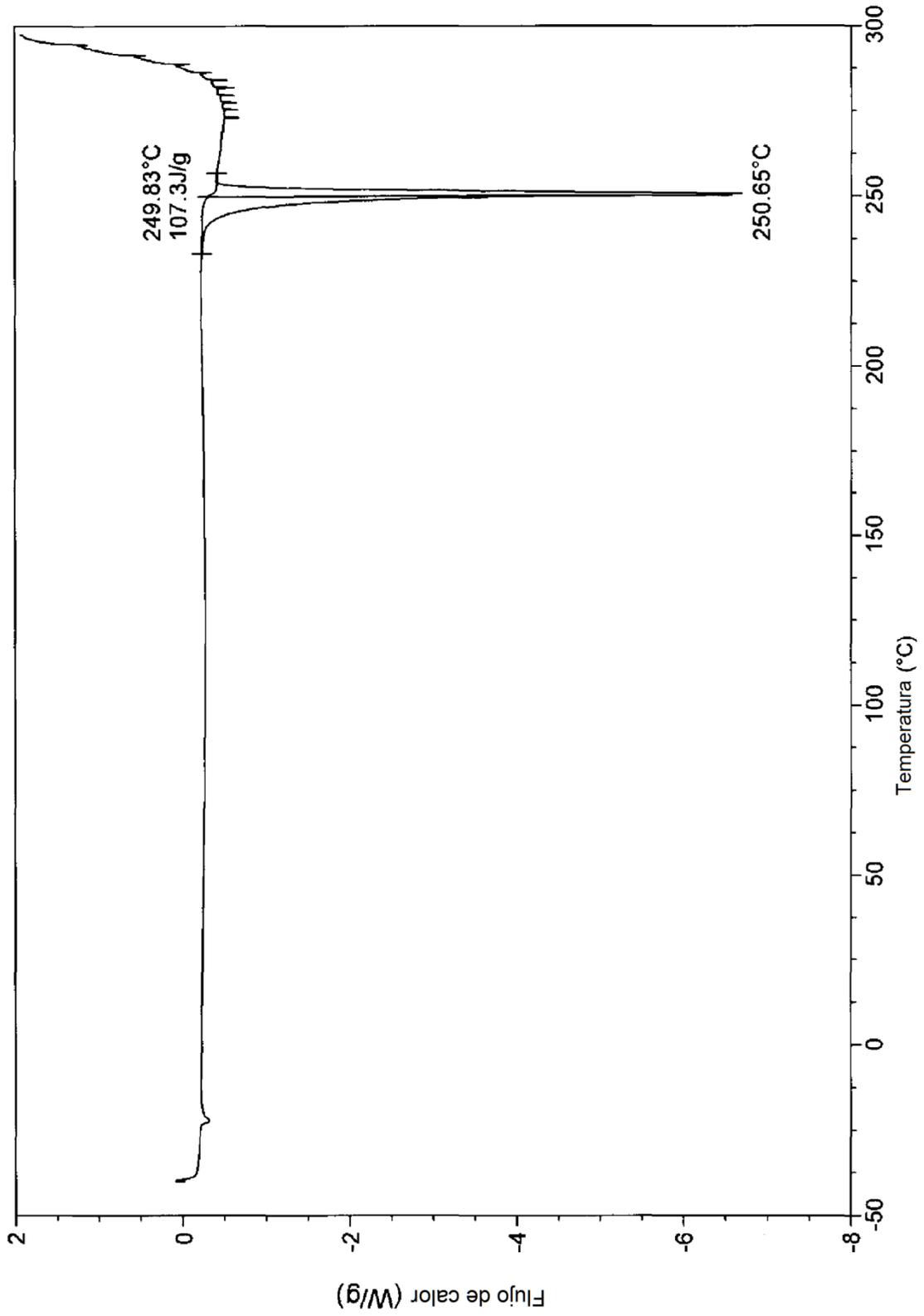


FIGURA 5

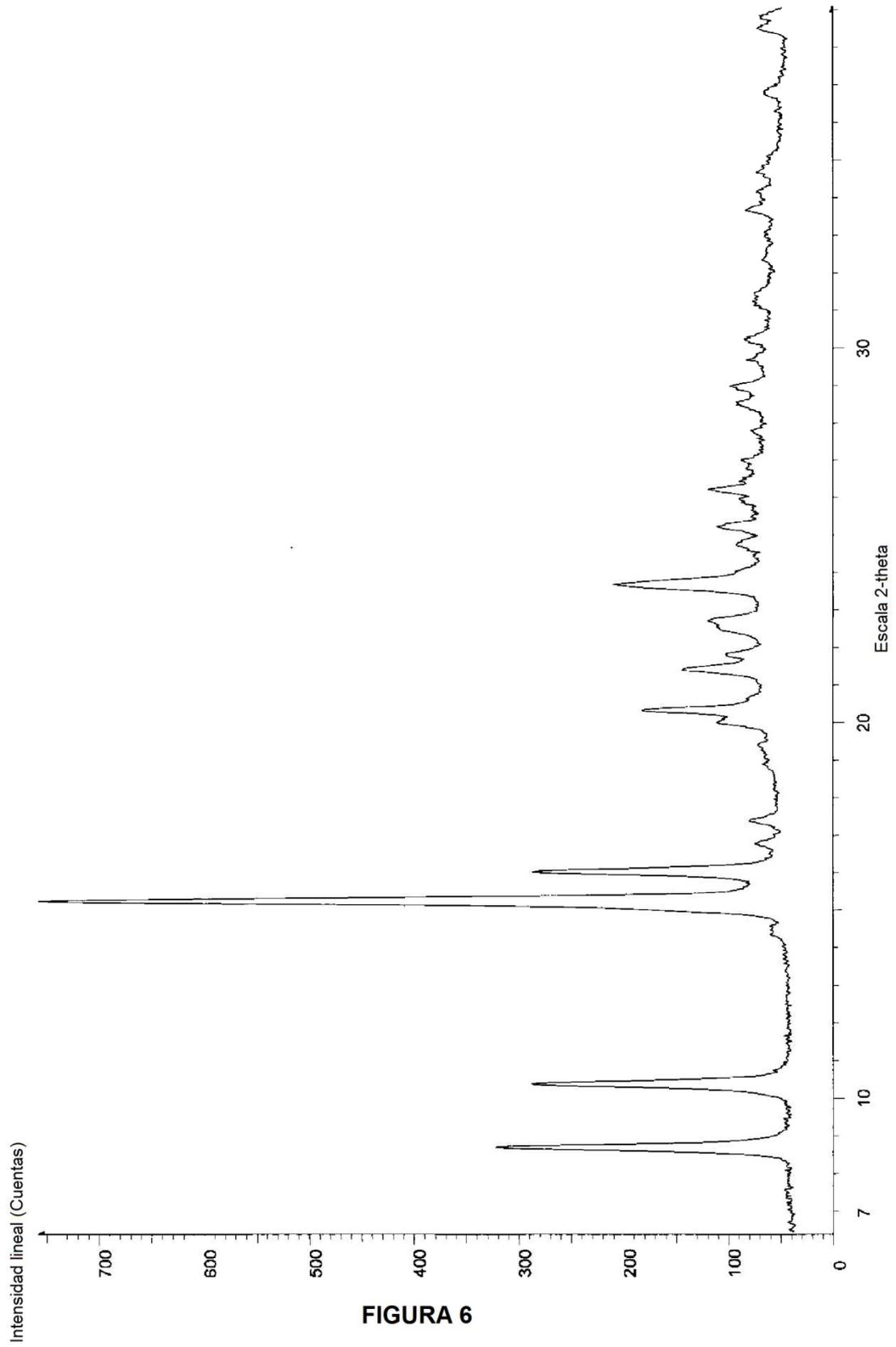


FIGURA 6

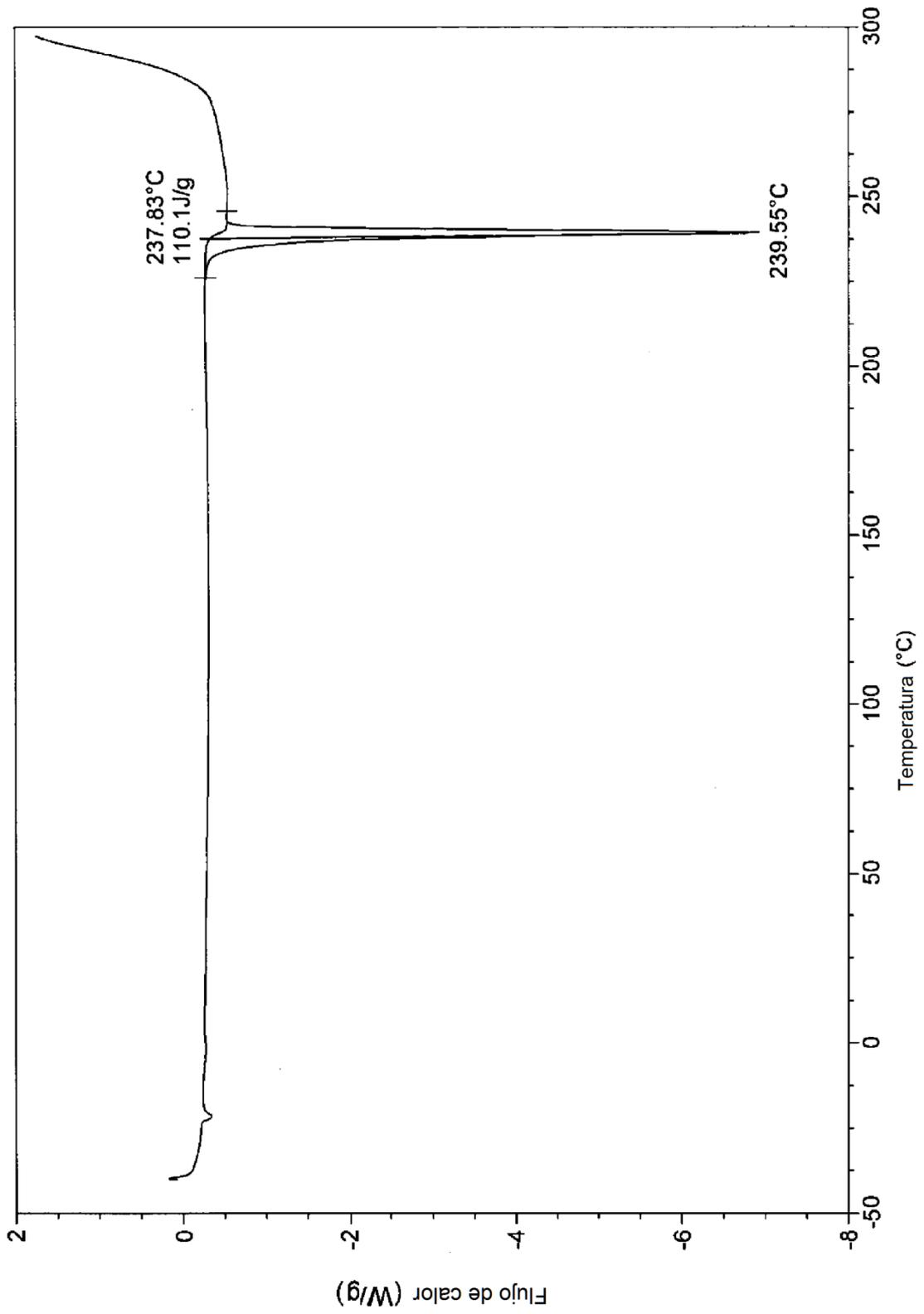


FIGURA 7

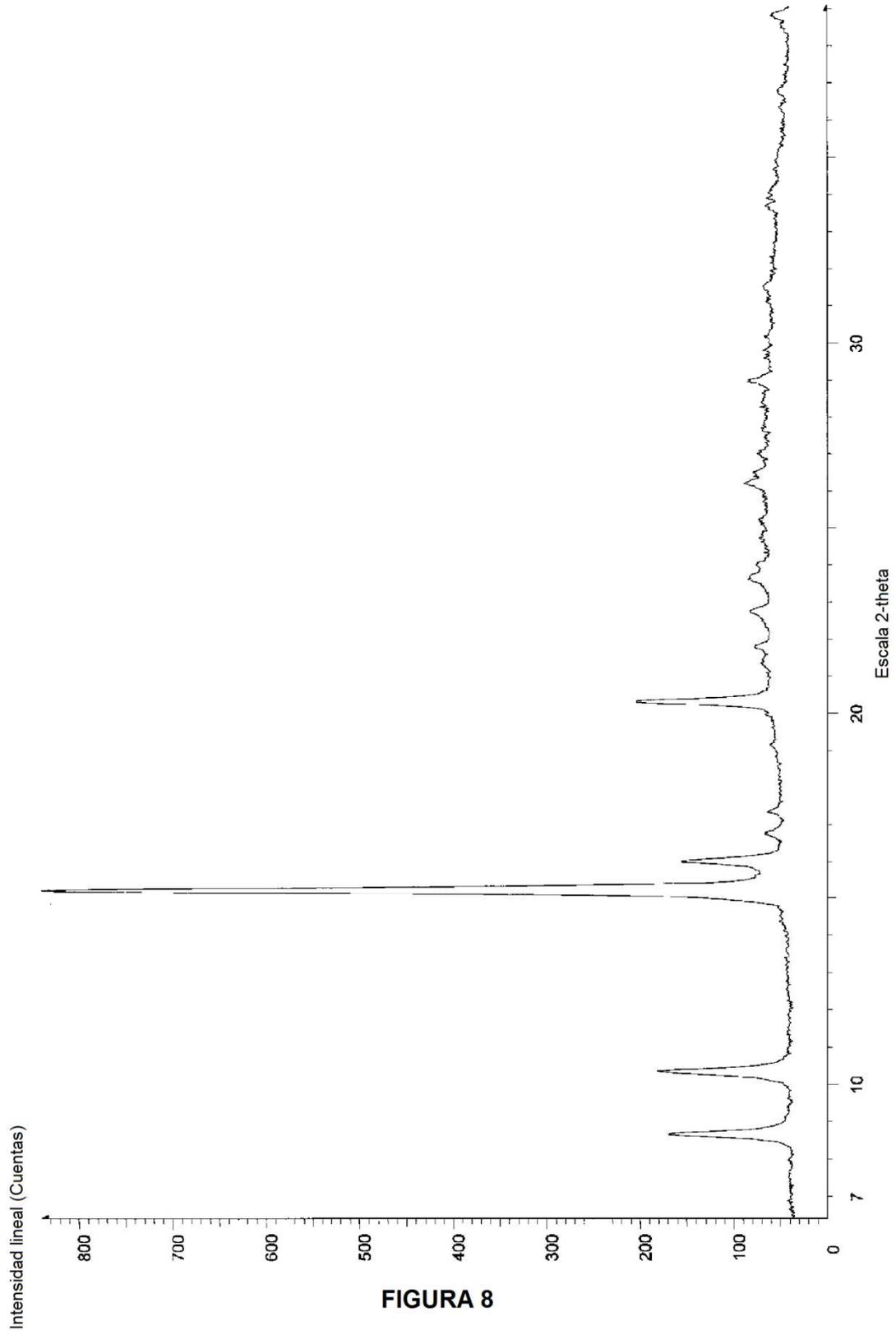


FIGURA 8

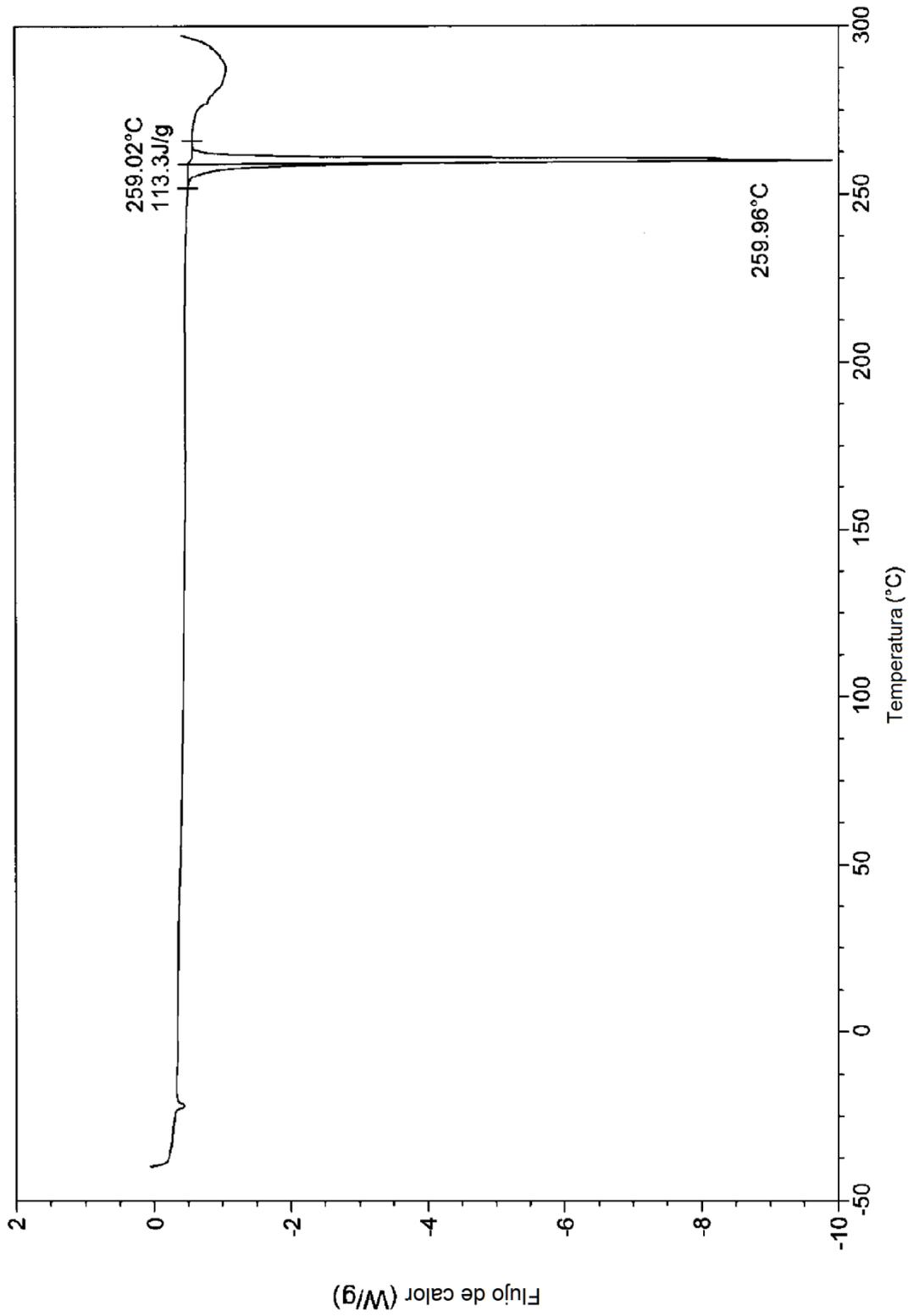


FIGURA 9

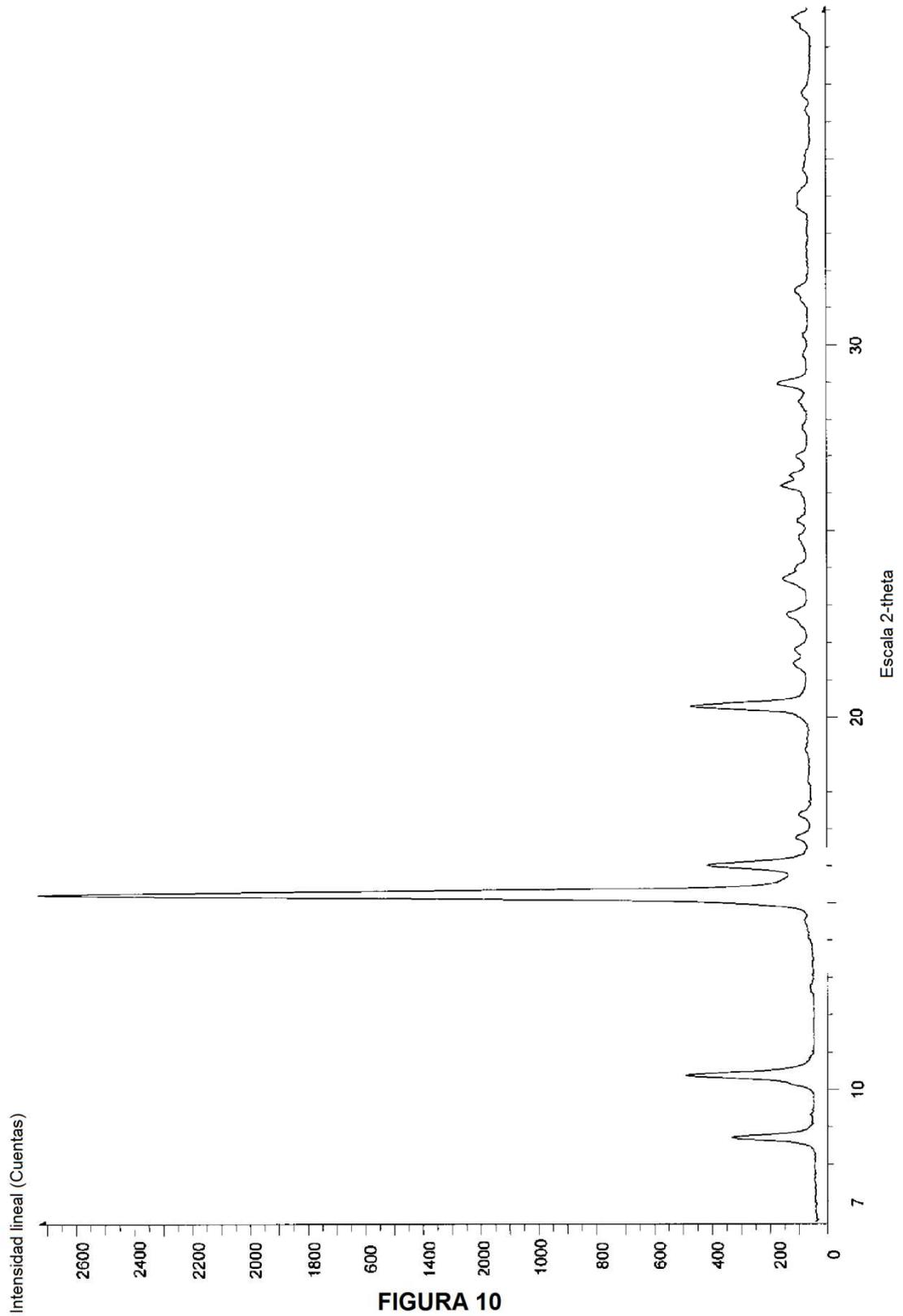


FIGURA 10

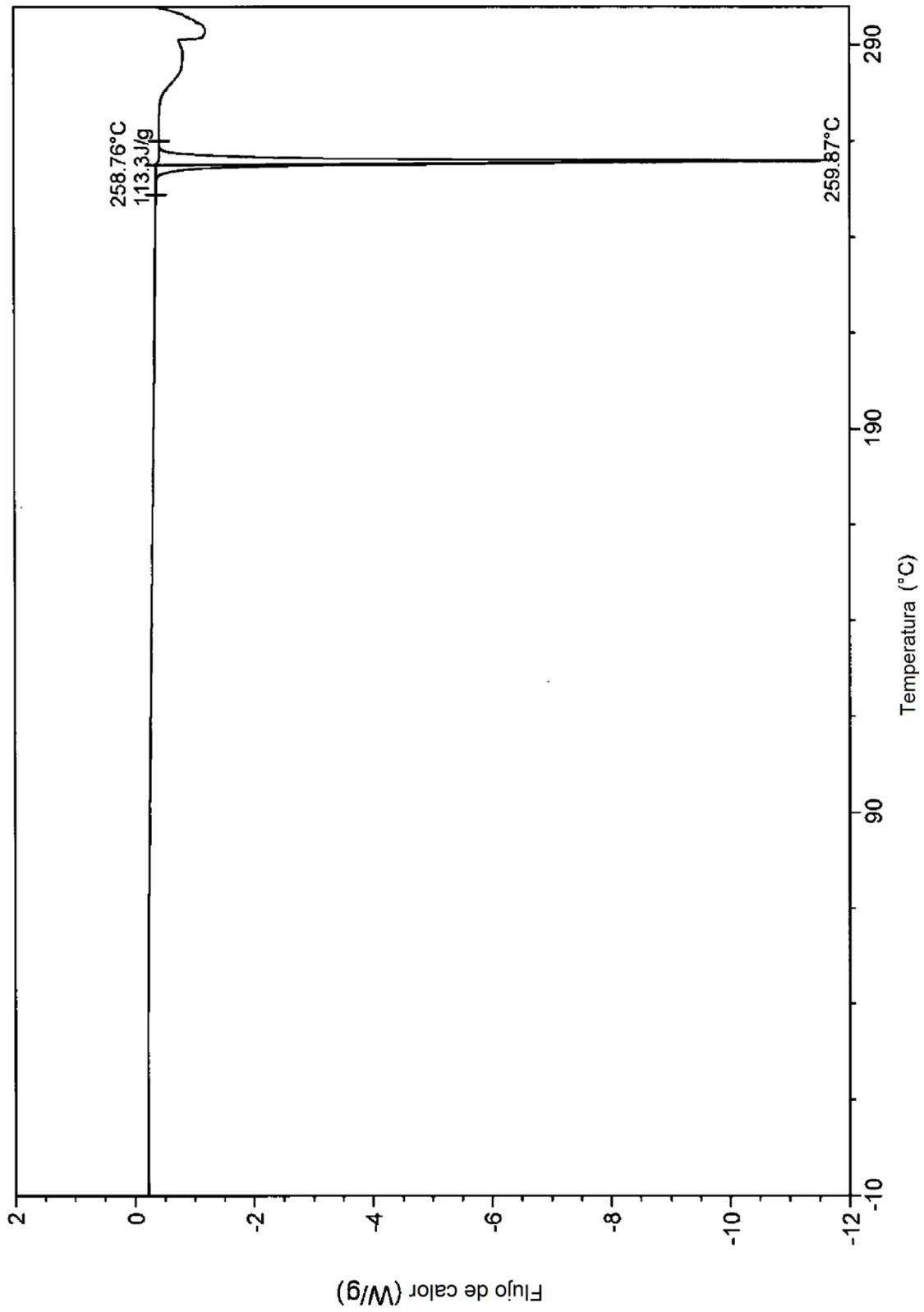


FIGURA 11

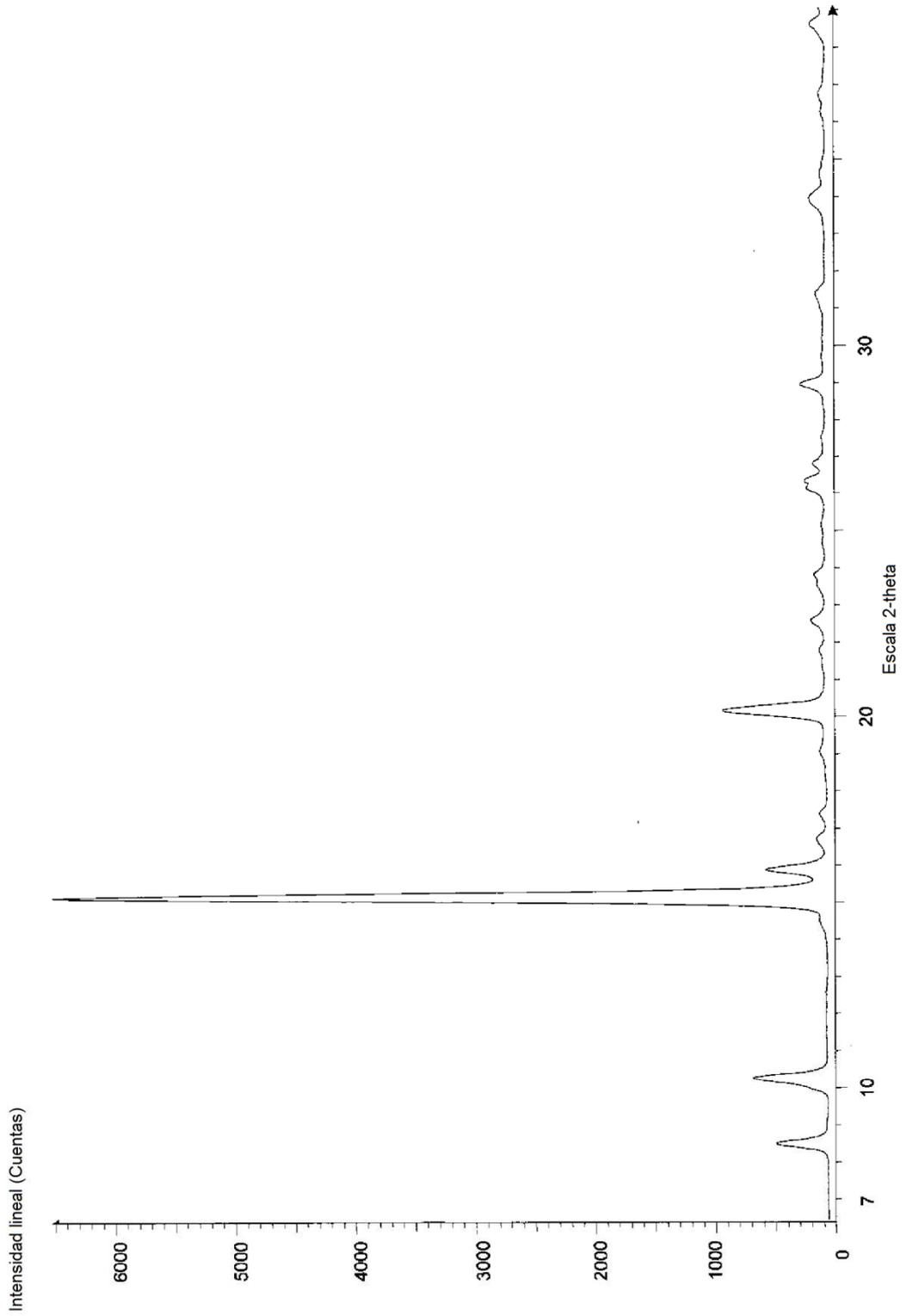


FIGURA 12