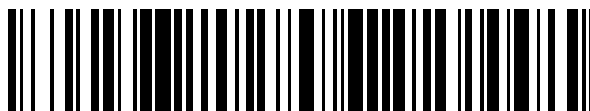


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 611 885**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.01.2012 PCT/IB2012/050428**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.08.2012 WO12104776**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2012 E 12704135 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2016 EP 2670753**

54 Título: **Derivados heterocíclicos novedosos**

30 Prioridad:

31.01.2011 US 201161437956 P

28.10.2011 US 201161552905 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.05.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

RADETICH, BRANKO;
YU, BING y
ZHU, YANYI

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 611 885 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

Derivados heterocíclicos novedosos

Campo de la Invención

La invención se refiere a derivados de purina y a las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos,

5 Antecedentes de la Invención

La superfamilia de las cinasas de fosfatidil-inositol-3 comprende 4 diferentes cinasas de lípido o de proteína relacionadas con PI3K. Las clases I, II y III son cinasas de lípido que difieren en virtud de sus especificidades del sustrato, mientras que las PI3Ks clase IV (también denominadas como PIKKs) son cinasas de proteína. Las cinasas de fosfatidil-inositol-3 clase I comprenden una familia de cinasas de lípido que catalizan la transferencia de fosfato hasta la posición D-3' de los lípidos de inositol para producir fosfoinositol-3-fosfato (PIP), fosfoinositol-3,4-difosfato (PIP₂), y fosfoinositol-3,4,5-trifosfato (PIP₃) que, a su vez, actúan como segundos mensajeros en las cascadas de señalización mediante el atracamiento de la proteínas que contienen homología con pleckstrina, FYVE, Phox y otros dominios de enlace de fosfolípido en una variedad de complejos de señalización con frecuencia en la membrana de plasma ((Vanhaesebroeck y colaboradores, *Annu. Rev. Biochem.* 70: 535 (2001); Katso y colaboradores, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17: 615 (2001)). De las dos PI3Ks Clase I, las PI3Ks Clase IA son heterodímeros compuestos de una subunidad catalítica p110 (isoformas α , β , δ) constitutivamente asociada con una subunidad reguladora que puede ser p85 α , p55 α , p50 α , p85 β o p55 γ . La subclase de Clase IB tiene un miembro de la familia, un heterodímero compuesto de una subunidad catalítica p110 γ asociada con una de dos subunidades reguladoras, p101 o p84 (Fruman y colaboradores, *Annu Rev. Biochem.* 67: 481 (1998); Suire y colaboradores, *Curr. Biol.* 15: 566 (2005)). Los dominios modulares de las subunidades p85/55/50 incluyen los dominios de Homología con Src (SH2) que se enlazan a los residuos de fosfotirosina en un contexto específico de la secuencia sobre las cinasas de tirosina receptoras y citoplásmicas activadas, lo cual da como resultado la activación y localización de las PI3Ks Clase IA. La PI3K Clase IB es directamente activada por los receptores acoplados con proteína-G que se enlazan a un repertorio diverso de ligandos peptídicos y no peptídicos (Stefens y colaboradores, *Cell* 89: 105 (1997)); Katso y colaboradores, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17: 615-675 (2001)). En consecuencia, los productos de fosfolípido resultantes de la PI3K Clase I enlazan los receptores corriente arriba con las actividades celulares corriente abajo, incluyendo proliferación, sobrevivencia, quimiotaxis, tráfico celular, movilidad, metabolismo, respuestas inflamatorias y alérgicas, transcripción y traducción (Cantley y colaboradores, *Cell* 64: 281 (1991); Escobedo y Williams, *Nature* 335:85 (1988); Fantl y colaboradores, *Cell* 69: 413 (1992)).

En muchos casos, PIP₂ y PIP₃ reclutan la Akt, el producto del homólogo humano del oncogén viral v-Akt, hacia la membrana de plasma, en donde actúa como un punto nodal para muchas sendas de señalización intracelulares importantes para el crecimiento y la sobrevivencia (Fantl y colaboradores, *Cell* 69: 413-423(1992); Bader y colaboradores, *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 sobrevivencia a través de la activación de Akt, es uno de los eventos más prevalecientes en el cáncer humano, y se ha demostrado que se presenta en múltiples niveles. El gen supresor de tumor *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 α , *PIK3CA*, y para *Akt*, y se ha demostrado un aumento de la expresión de proteína de sus productos genéticos en varios cánceres humanos. Adicionalmente, se han descrito mutaciones y la translocalización de p85 α que sirven para aumentar el complejo p85-p110 en los cánceres humanos. También se han descrito mutaciones en mal sentido somáticas en *PIK3CA* que activan las sendas de señalización corriente abajo en frecuencias significativas en una amplia diversidad de cánceres humanos (Kang y colaboradores, *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 102: 802 (2005); Samuels y colaboradores, *Science* 304: 554 (2004); Samuels y colaboradores, *Cancer Cell* 7: 561-573 (2005)). Estas observaciones muestran que la desregulación de la cinasa de fosfoinositol-3 y los componentes corriente arriba y corriente abajo de esta senda de señalización, es una de las desregulaciones más comunes asociadas con los cánceres humanos y las enfermedades proliferativas (Parsons y colaboradores, *Nature* 436: 792 (2005); Hennessey y colaboradores, *Nature Rev. Drug Dis.* 4: 988-1004 (2005)).

El objetivo de rapamicina de mamífero (mTOR) es un miembro de PI3K Clase IV. mTOR se ensambla a una red de señalización que transduce señales de nutrientes y otros diferentes estímulos para regular una amplia gama de funciones celulares, incluyendo crecimiento, proliferación, sobrevivencia, autofagia, diversos tipos de diferenciación y metabolismo celular. En las células de mamífero, la proteína de mTOR se encuentra formando complejo en dos entidades distintas denominadas como mTORC1 y mTORC2. El complejo de mTORC1, es decir mTOR asociado con raptor, ha sido el objeto de numerosos estudios. Es mTORC1 el que integra los ingresos de nutrientes y factor de crecimiento, y es a su vez responsable de la regulación del crecimiento celular, principalmente a través de los reguladores de la síntesis de proteínas, tales como 4EBP1 o RPS6. La regulación de mTORC1 requiere de la activación de PI3K y Akt para la activación, significando que mTORC1 es un efector de la senda de PI3K. Se ha demostrado que mTOR, cuando está asociado en el complejo de mTOR 2 (mTORC2), es responsable de la

activación de Akt mediante la fosforilación de S473 (numeración de Akt 1) (Sarbasov y colaboradores, *Science* 307: 7098 (2005)). Por consiguiente, mTORC2 se considera aquí como un activador de Akt corriente arriba. Es interesante que mTOR, por consiguiente, se puede considerar importante tanto corriente arriba como corriente abajo de Akt. Por consiguiente, la inhibición catalítica de mTOR podría representar una manera única de dirigir un bloqueo muy fuerte en la senda de PI3K-Akt, mediante la dirección de los efectores tanto corriente arriba como corriente abajo.

También se ha demostrado un vínculo entre la inhibición de mTOR y la autofagia (Ravikumar y colaboradores, *Nat Genet.* 36(6): 585-95 (2004)). La autofagia es esencial para la homeostasia neuronal, y su disfunción se ha vinculado a la neurodegeneración. La pérdida de autofagia en las neuronas provoca enfermedad neurodegenerativa en los ratones (Komatsu y colaboradores, *Nature* 441: 880-4 (2006); Hara y colaboradores, *Nature* 441: 885-9 (2006)) sugiriendo una función crítica para la autofagia con el fin de mantener la homeostasia de proteína en las neuronas. Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por inclusiones de proteínas mal plegadas como una de sus marcas. La inducción de autofagia potencia la eliminación de proteínas mal plegadas y, por consiguiente, se propone como una terapia para las proteinopatías neurodegenerativas.

La enfermedad de Huntington (HD) es un trastorno neurodegenerativo dominante autosomal en donde una mutación del gen IT15 que codifica la proteína Huntingtina (Htt) conduce a la expansión de poliglutamina en el Exón1 de Htt. La acumulación intracelular de esta proteína Htt mutante y la atrofia cerebral (en particular de la corteza y el estriato) son las características principales de la enfermedad de Huntington (HD). Clínicamente conduce a la alteración del movimiento y a la disfunción cognitiva además de alteraciones psiquiátricas y pérdida de peso.

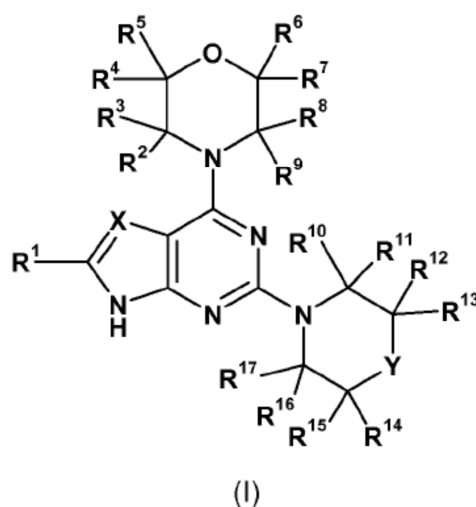
La inhibición de mTOR induce autofagia y reduce la acumulación de Htt mutante y la muerte celular mediada por Htt mutante en los modelos *in vitro* e *in vivo* de la enfermedad de Huntington (HD) (Ravikumar y colaboradores, *Nat Genet.* 36(6): 585-95 (2004)). Por consiguiente, la inhibición de mTOR proporciona una oportunidad para la intervención farmacéutica y la modulación de los procesos celulares alterados característicos de la enfermedad de Huntington (HD).

En vista de lo anterior, los inhibidores de las PI3Ks Clase I y mTOR se consideran valiosos en el tratamiento de enfermedades proliferativas y de otros trastornos, en particular, HD.

La presente invención se refiere a novedosos derivados de purina que tienen una actividad inhibidora de PI3K Clase I y/o de mTOR, a su preparación, a su uso médico, y a los medicamentos que los comprenden.

Resumen de la invención

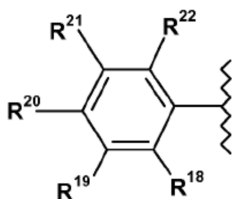
En un primer aspecto, la invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I), o a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

X representa N o CH;

R¹ representa:



en donde:

5 R¹⁸ y R²² representan independientemente hidrógeno, halógeno, hidroxilo, o hidroxi-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-;

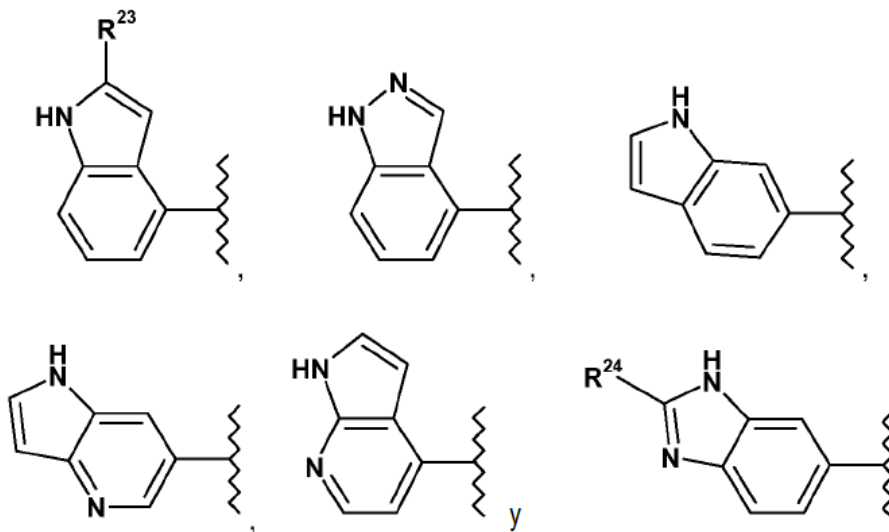
R¹⁹ y R²¹ representan independientemente hidrógeno, amino, hidroxilo, carboxi, alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono, amino-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-;

alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-C(=O)-NH-, alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-S(=O)_m-NH- o hidroxi-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-;

10 m representa 0, 1 o 2;

R²⁰ representa hidrógeno, halógeno o alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono; o

R¹ se selecciona a partir del grupo que consiste en:



en donde:

15 R²³ representa hidrógeno o metilo;

R²⁴ representa hidrógeno, oxo o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ y R¹⁷ representan independientemente hidrógeno o metilo;

o R² y R⁸ forman juntos un puente de etileno;

20 o R² y R⁶ forman juntos un puente de metileno;

o R¹² y R¹⁴ forman juntos un puente de etileno; y

Y representa O, CHR²⁵ o CR²⁶R²⁷

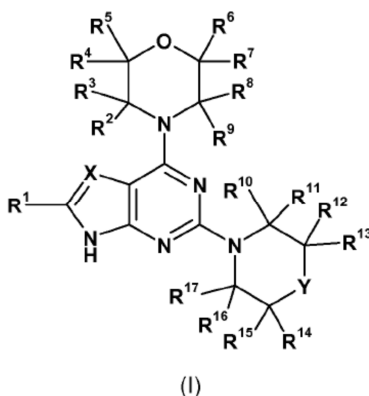
en donde:

R²⁵ representa hidroxilo o alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono; y

R²⁶ y R²⁷ representan independientemente hidrógeno o halógeno;

5 con la condición de que el compuesto de la fórmula (I) es diferente de 2,6-di-morfolin-4-il-8-fenil-9H-purina.

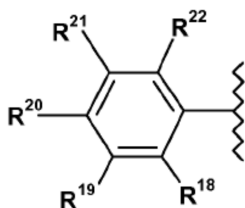
En un segundo aspecto, la invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I), o a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

10 X representa N o CH;

R¹ representa:



en donde:

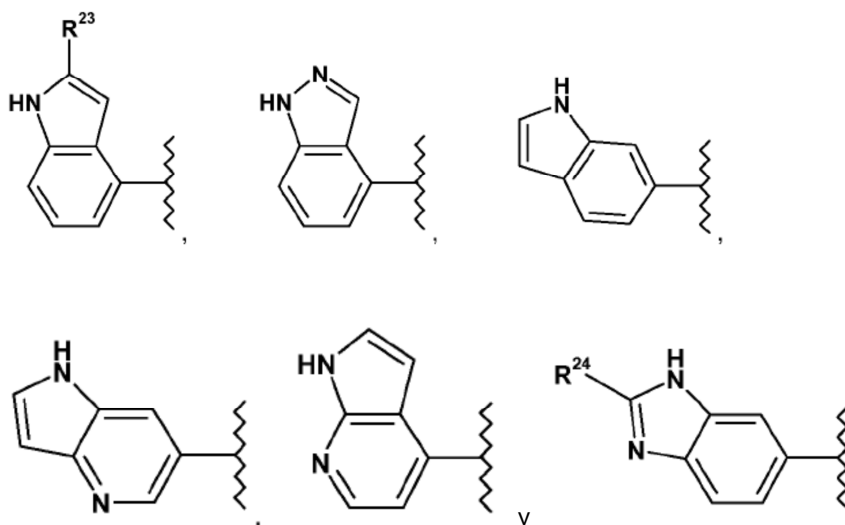
15 R¹⁸ y R²² representan independientemente hidrógeno, halógeno, hidroxilo, o hidroxilo-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-;

R¹⁹ y R²¹ representan independientemente hidrógeno, amino, hidroxilo, carboxi, alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono, amino-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-, alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-C(=O)-NH-, alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-S(=O)_m-NH- o hidroxilo-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-;

m representa 0, 1 o 2;

20 R²⁰ representa hidrógeno, halógeno o alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono; o

R¹ se selecciona a partir del grupo que consiste en:



en donde:

R²³ representa hidrógeno o metilo;

5 R²⁴ representa hidrógeno, oxo o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ y R¹⁷ representan independientemente hidrógeno o metilo; o R⁵ y R⁶ forman juntos un puente de etileno; y

Y representa O, CHR²⁵ o CR²⁶R²⁷

en donde:

10 R²⁵ representa hidroxi o alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono; y

R²⁶ y R²⁷ representan independientemente hidrógeno o halógeno;

con la condición de que el compuesto de la fórmula (I) es diferente de 2,6-di-morfolin-4-il-8-fenil-9H-purina.

Definiciones

Como se utiliza en la presente, el término "halógeno" o "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo, y yodo.

15 Como se utiliza en la presente, el término "alquilo de 1 a 3 átomos de carbono" se refiere a una fracción de hidrocarburo completamente saturado ramificado o no ramificado que tiene hasta 3 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquilo de 1 a 3 átomos de carbono incluyen metilo, etilo, propilo normal e iso-propilo.

20 Como se utiliza en la presente, el término "alcoxilo de 1 a 3 átomos de carbono" se refiere a alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-O-, en donde el alquilo de 1 a 3 átomos de carbono es como se define anteriormente en la presente. Los ejemplos representativos de alcoxilo de 1 a 3 átomos de carbono incluyen metoxilo, etoxilo, propoxilo y 2-propoxilo.

25 Como se utiliza en la presente, el término "hidroxi-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono" se refiere a un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono como se define anteriormente en la presente, en donde uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono es reemplazado por OH. Los ejemplos representativos de hidroxi-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono incluyen, pero no se limitan a, hidroxi-metilo, 2-hidroxi-etilo, 2-hidroxi-propilo y 3-hidroxi-propilo.

30 Como se utiliza en la presente, el término "amino-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono" se refiere a un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono como se define anteriormente en la presente, en donde uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono es reemplazado por un grupo amino primario. Los ejemplos representativos de amino-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono incluyen, pero no se limitan a, amino-metilo, 2-amino-etilo, 2-amino-propilo y 3-amino-propilo.

Descripción Detallada de la Invención

La presente invención proporciona compuestos y formulaciones farmacéuticas de los mismos que pueden ser útiles en el tratamiento o en la prevención de enfermedades, condiciones y/o trastornos modulados mediante la inhibición de PI3Ks Clase I y/o mTOR.

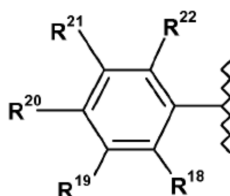
5 Realización 1: Un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se describe anteriormente en la presente.

Realización 2: Un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se describe anteriormente en la presente.

10 Realización 3: Un compuesto de acuerdo con la realización 1 o con la realización 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X representa N.

Realización 4: Un compuesto de acuerdo con la realización 1 o con la realización 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X representa CH.

Realización 5: Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R¹ representa:



15 en donde:

R¹⁸ y R²² representan independientemente hidrógeno, halógeno, hidroxilo, o hidroxilo-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-;

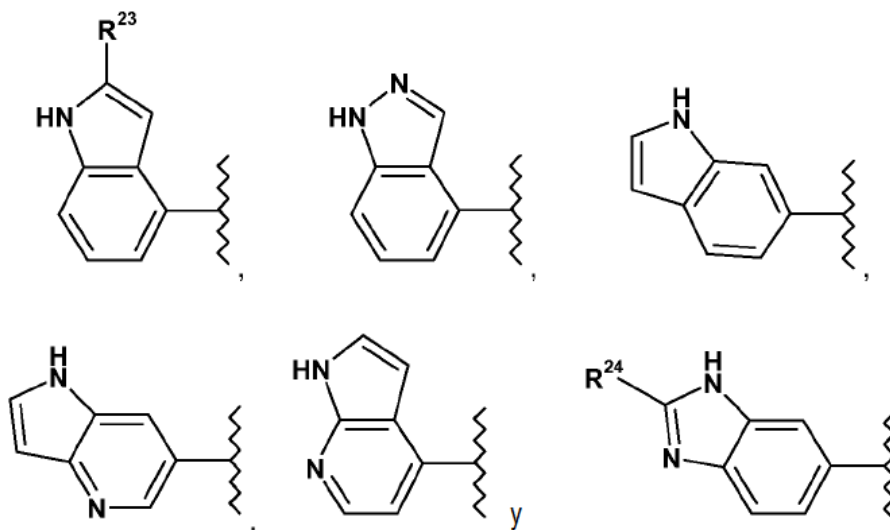
20 R¹⁹ y R²¹ representan independientemente hidrógeno, amino, hidroxilo, carboxi, alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono, amino-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-, alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-C(=O)-NH-, alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-S(=O)_m-NH- o hidroxilo-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-;

m representa 0, 1 o 2; y

R²⁰ representa hidrógeno, halógeno o alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono.

25 Realización 6: Un compuesto de acuerdo con la realización 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde cuando menos uno de R¹⁸, R¹⁹, R²⁰, R²¹ y R²² no es hidrógeno.

Realización 7: Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R¹ se selecciona a partir del grupo que consiste en:



en donde:

R^{23} representa hidrógeno o metilo; y

R^{24} representa hidrógeno, oxo o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono.

- 5 Realización 8: Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Y representa O;

Realización 9: Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Y representa CHR^{26} o $CR^{27}R^{28}$.

- 10 Realización 10: Un compuesto de acuerdo con la realización 1 o con la realización 2, el cual se selecciona a partir de:

3-[2-(2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenol;

3-(2,4-dimorfolino-7H-pirrol-2-il)-[2,3-d]-pirimidin-6-il)-fenol;

2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-8-(1H-pirrol-2-il)-[2,3-b]-piridin-4-il)-9H-purina;

{2-fluoro-5-[6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;

- 15 2-(4,4-difluoro-piperidin-1-il)-8-(1H-indol-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;

5-[2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-1,3-dihidro-benzo-imidazol-2-ona;

{5-[2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-2-metoxi-fenil}-metanol;

8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]oct-3-il)-9H-purina;

ácido 2-metoxi-5-[6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-benzoico;

- 20 {4-cloro-3-[6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;

3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-bencil-amina;

1-{3-[6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-etanol;

- 2,6-di-morfolin-4-il-8-(1H-pirrolo-[3,2-b]-piridin-6-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 1-[8-(1H-Indol-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-2-il]-piperidin-4-ol;
- 5 {3-[2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-5-metoxi-fenil}-metanol;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2-(3-metil-morfolin-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- {3-[2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-4-fluoro-fenil}-metanol;
- 8-(1H-Indol-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
- 10 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2-(4-metoxi-piperidin-1-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
- 15 8-(1H-indazol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
- 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil-amina;
- N-[3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-acetamida;
- 8-(2-metil-1H-indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
- 20 3-[2-(2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil-amina;
- N-[3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metan-sulfonamida;
- {2-[2-(2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
- [2-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol;
- 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol;
- 25 [3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol;
- 2-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol;
- 3-[2-(2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenol;
- 3-(2,4-dimorfolino-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-6-il)-fenol;
- 2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-8-(1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-4-il)-9H-purina;
- 30 {2-fluoro-5-[6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
- 2-(4,4-difluoro-piperidin-1-il)-8-(1H-indol-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;

- 5-[2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-1,3-dihidro-benzo-imidazol-2-ona;
 {5-[2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-2-metoxi-fenil}-metanol;
 8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-il)-9H-purina;
 ácido 2-metoxi-5-[6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-benzoico;
 5 {4-cloro-3-[6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-bencil-amina;
 1-{3-[6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-etanol;
 2,6-di-morfolin-4-il-8-(1H-pirrol-3,2-b)-piridin-6-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 10 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 1-[8-(1H-Indol-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-2-il]-piperidin-4-ol;
 {3-[2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-5-metoxi-fenil}-metanol;
 8-(1H-Indol-4-il)-2-(3-metil-morfolin-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 {3-[2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-4-fluoro-fenil}-metanol;
 15 8-(1H-Indol-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-6-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-6-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
 20 8-(1H-Indol-4-il)-2-(4-metoxi-piperidin-1-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-indazol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil-amina;
 25 N-[3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-acetamida;
 8-(2-metil-1H-indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
 3-[2-(2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil-amina;
 N-[3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metan-sulfonamida;
 {2-[2-(2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
 30 [2-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol;
 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol;

- [3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol;
 2-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol;
 6-(3,3-dimetil-morfolin-4-il)-8-(1H-indol-6-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
 6-(3,3-dimetil-morfolin-4-il)-8-(1H-indol-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
 5 8-(2,3-dihidro-1H-indol-4-il)-2-(3-metil-morfolin-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 8-(2,3-dihidro-1H-indol-4-il)-2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-2-(3-metil-morfolin-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-6-il)-2-(3-metil-morfolin-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-bis-(3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 10 8-(1H-Indol-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-2-(3-metil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-6-il)-2-morfolin-4-il-6-(2-oxa-5-aza-biciclo-[2.2.1]-hept-5-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-2-(3-metil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(2-oxa-5-aza-biciclo-[2.2.1]-hept-5-il)-9H-purina;
 15 8-(1H-Indol-6-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-6-(3-metil-morfolin-4-il)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-6-il)-2-morfolin-4-il-6-(3-oxa-8-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-8-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(3-oxa-8-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-8-il)-9H-purina;
 6-(1H-Indol-4-il)-4-(3-metil-morfolin-4-il)-2-(3-metil-morfolin-4-il)-7H-pirrol-2,3-d]-pirimidina;
 20 6-(1H-Indol-4-il)-2,4-di-morfolin-4-il-7H-pirrol-2,3-d]-pirimidina;

y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Realización 11: Un compuesto de acuerdo con la realización 1 o con la realización 2, el cual se selecciona a partir de:

- 3-[2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenol;
 25 3-(2,4-dimorfolino-7H-pirrol-2,3-d]-pirimidin-6-il)-fenol;
 2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-8-(1H-pirrol-2,3-b]-piridin-4-il)-9H-purina;
 {2-fluoro-5-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
 2-(4,4-difluoro-piperidin-1-il)-8-(1H-indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 5-[2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-1,3-dihidro-benzo-imidazol-2-ona;
 30 {5-[2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-2-metoxi-fenil}-metanol;
 8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-il)-9H-purina;

- ácido 2-metoxi-5-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-benzoico;
 {4-cloro-3-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-bencil-amina;
 1-{3-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-etanol;
- 5 2,6-di-morfolin-4-il-8-(1H-pirrol-3,2-b)-piridin-6-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 1-[8-(1H-Indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-2-il]-piperidin-4-ol;
 {3-[2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-5-metoxi-fenil}-metanol;
- 10 8-(1H-Indol-4-il)-2-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
 {3-[2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-4-fluoro-fenil}-metanol;
 8-(1H-Indol-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-6-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 15 8-(1H-Indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-6-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-2-(4-metoxi-piperidin-1-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
 8-(1H-indazol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
- 20 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil-amina;
 N-[3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-acetamida;
 8-(2-metil-1H-indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
 3-[2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil-amina;
- 25 N-[3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metan-sulfonamida;
 {2-[2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
 [2-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol;
 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol;
 [3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol;
- 30 2-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol;
 3-[2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenol;

- 3-(2,4-dimorfolino-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-6-il)-fenol;
- 2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-8-(1H-pirrolo-[2,3-b]-piridin-4-il)-9H-purina;
- {2-fluoro-5-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
- 2-(4,4-difluoro-piperidin-1-il)-8-(1H-indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 5 5-[2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-1,3-dihidro-benzo-imidazol-2-ona;
- {5-[2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-2-metoxi-fenil}-metanol;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-il)-9H-purina;
- ácido 2-metoxi-5-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-benzoico;
- {4-cloro-3-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
- 10 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-bencil-amina;
- 1-{3-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-etanol;
- 2,6-di-morfolin-4-il-8-(1H-pirrolo-[3,2-b]-piridin-6-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 15 1-[8-(1H-Indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-2-il]-piperidin-4-ol;
- {3-[2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-5-metoxi-fenil}-metanol;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- {3-[2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-4-fluoro-fenil}-metanol;
- 8-(1H-Indol-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
- 20 8-(1H-Indol-6-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2-(4-metoxi-piperidin-1-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina;
- 25 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-indazol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
- 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil-amina;
- N-[3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-acetamida;
- 30 8-(2-metil-1H-indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
- 3-[2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil-amina;

- N-[3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metan-sulfonamida;
- {2-[2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil]-metanol;
- [2-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol;
- 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol;
- 5 [3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol;
- 2-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol;
- 6-(3,3-dimetil-morfolin-4-il)-8-(1H-indol-6-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
- 6-(3,3-dimetil-morfolin-4-il)-8-(1H-indol-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(2,3-dihidro-1H-indol-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 10 8-(2,3-dihidro-1H-indol-4-il)-2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-il)-9H-purina;
- 15 8-(1H-Indol-4-il)-2-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-2-morfolin-4-il-6-(1S,4S)-2-oxa-5-aza-biciclo-[2.2.1]-hept-5-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(1S,4S)-2-oxa-5-aza-biciclo-[2.2.1]-hept-5-il-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-il)-9H-purina;
- 20 8-(1H-Indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-6-il)-2-morfolin-4-il-6-(3-oxa-8-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-8-il)-9H-purina;
- 8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(3-oxa-8-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-8-il)-9H-purina;
- 6-(1H-Indol-4-il)-4-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-7H-pirrol-2,3-d]-pirimidina;
- 6-(1H-Indol-4-il)-2,4-di-morfolin-4-il-7H-pirrol-2,3-d]-pirimidina;
- 25 y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Tomando en cuenta uno o más de un átomo de carbono asimétrico, el cual puede estar presente en un compuesto de la fórmula (I), un compuesto correspondiente de la fórmula (I) puede existir en una forma ópticamente activa pura o en la forma de una mezcla de isómeros ópticos, por ejemplo, en la forma de una mezcla racémica. Todos estos isómeros ópticos puros y todas sus mezclas, incluyendo las mezclas racémicas, son parte de la presente invención.

- 30 Como se utiliza en la presente, el término "un isómero óptico" o "un estereoisómero" se refiere a cualquiera de las diferentes configuraciones estereoisoméricas, las cuales pueden existir para un compuesto dado de la presente invención, e incluyen los isómeros geométricos. Se entiende que un sustituyente se puede unir en un centro quiral de un átomo de carbono. El término "quiral" se refiere a las moléculas que tienen la propiedad de no poderse superponer en su compañera de imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a las moléculas que se pueden superponer en su compañera de imagen especular. Por consiguiente, la invención incluye los
- 35 enantiómeros, diaestereómeros o racematos del compuesto. Los "enantiómeros" son un par de estereoisómeros

que son imágenes especulares que no pueden ser superpuestas entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla "racémica". El término se utiliza para designar una mezcla racémica donde sea apropiado. Los "diaestereoisómeros" son estereoisómeros que tienen cuando menos dos átomos asimétricos, pero los cuales no son imágenes especulares entre sí. La estereoquímica absoluta es especificada según el sistema R-S de Cahn-Ingold-Prelog. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica de cada átomo de carbono quiral puede especificarse ya sea por R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta se desconoce pueden designarse como (+) o (-) dependiendo de la dirección (dextrógira o levógira) en que rotan el plano de luz polarizada según la longitud de onda de la línea D del sodio. Ciertos compuestos descritos en la presente contienen uno o más centros o ejes asimétricos y pueden, por consiguiente, dar origen a los enantiómeros, los diaestereómeros, y a otras formas estereoisoméricas que puedan ser definidas, en términos de la estereoquímica absoluta, como (R) o (S).

Dependiendo de la elección de los materiales de partida y de los procedimientos, los compuestos pueden estar presentes en la forma los isómeros ópticos puros racematos y mezclas de diaestereoisómeros, dependiendo del número de átomos de carbono asimétricos. La presente invención pretende incluir todos las posibles mezclas racémicas, las mezclas diaestereoméricas, y las formas ópticamente puras. Los isómeros (R) y (S) ópticamente activos se pueden preparar utilizando sintones quirales o reactivos quirales, o se pueden resolver empleando las técnicas convencionales. 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 es posible que los intermediarios y los compuestos de la presente invención puedan existir en diferentes formas tautoméricas, y todas estas formas están abarcadas dentro del alcance de la invención. El término "tautómero" o "forma tautomérica" se refiere a los isómeros estructurales de diferentes energías que son interconvertibles por medio de una barrera de baja energía. Por ejemplo, los tautómeros de protones (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen interconversiones por medio de la migración de un protón, tales como isomerizaciones de ceto-enol e imina-enamina. Un ejemplo específico de un tautómero de protones es la fracción de imidazol en donde el protón puede migrar entre los dos átomos de nitrógeno del anillo. Los tautómeros de valencia incluyen interconversiones mediante la reorganización de algunos de los electrones de enlace.

Cualesquiera mezclas de isómeros resultantes se pueden separar con base en las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes, en los isómeros geométricos u ópticos puros o sustancialmente puros, diaestereómeros, racematos, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionaria.

Cualesquiera racematos resultantes de los productos finales o de los intermediarios se pueden resolver en los antípodas ópticos mediante métodos conocidos, por ejemplo, mediante la separación de las sales diaestereoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o base ópticamente activos, y liberando el compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, por consiguiente, se puede emplear una fracción básica para resolver los compuestos de la presente invención en sus antípodas ópticos, por ejemplo, mediante la cristalización fraccionaria 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 se pueden resolver mediante cromatografía quiral, por ejemplo, cromatografía de líquidos a alta presión (HPLC), utilizando un adsorbente quiral.

Como se utilizan en la presente, 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 las propiedades y la efectividad biológica de los compuestos de esta invención y, las cuales típicamente no son biológicamente o de otra manera indeseables. En muchos casos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales de ácido y/o de base en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o de grupos similares de los mismos.

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I), como se define en la presente, en forma libre. En otra realización, la invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I), como se define en la presente, en forma de sal. En otra realización, la invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I), como se define en la presente, en forma de sal de adición de ácido. En una realización adicional, la invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I), como se define en la presente, en forma de sal farmacéuticamente aceptable. En todavía una realización adicional, la invención se refiere a cualquiera de los compuestos de los Ejemplos en forma libre. En todavía una realización adicional, la invención se refiere a cualquiera de los compuestos de los Ejemplos en forma de sal. En todavía una realización adicional, la invención se refiere a cualquiera de los compuestos de los Ejemplos en forma de sal de adición de ácido. En todavía una realización adicional, la invención se refiere a cualquiera de los compuestos de los Ejemplos en forma de sal farmacéuticamente aceptable.

Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden formar con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ejemplo, las sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, canfor-sulfonato, cloruro/clorhidrato, clorteofilonato, citrato, etandisulfonato,

fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, lauril-sulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metil-sulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato ácido/fosfato diácido, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfo-salicilato, tartrato, tosilato, y trifluoroacetato.

- 5 Los ácidos inorgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares. Los ácidos orgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las 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 metan-sulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido sulfosalicílico, y similares. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables se pueden formar con bases inorgánicas y orgánicas.

- 10 Las bases inorgánicas a partir de las cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, las sales de amonio y de los metales de las columnas I a XII de la Tabla Periódica. En ciertas realizaciones, las sales se derivan 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.

Las bases orgánicas a partir de las cuales se pueden derivar las 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 de iones, y similares. Ciertas aminas orgánicas incluyen isopropil-amina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietil-amina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

- 20 Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir de una fracción básica o ácida, mediante los métodos químicos convencionales. En términos generales, estas sales se pueden preparar mediante la reacción de las formas del 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.
- 25 Estas reacciones típicamente se llevan a cabo en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos. En términos generales, es recomendable 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 se pueden encontrar, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20^a 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).

- Adicionalmente, los compuestos de la presente invención, incluyendo sus sales, también se pueden obtener en la forma de sus hidratos, o pueden incluir otros solventes utilizados para su cristalización. Los compuestos de la presente invención pueden formar, inherentemente o por diseño, solvatos, con solventes farmacéuticamente aceptables (incluyendo agua); por consiguiente, se pretende que la invención abarque las formas tanto solvatadas como no solvatadas. 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 solvente. Estas moléculas de solvente son aquéllas comúnmente utilizadas en la técnica farmacéutica, que son conocidas como inocuas para el receptor, por ejemplo, agua, etanol, y similares. El término "hidrato" se refiere al complejo en donde la molécula de solvente es agua.

- 40 Los compuestos de la invención, es decir, los compuestos de la fórmula (I) que contienen grupos capaces de actuar como donadores y/o aceptores para los enlaces de hidrógeno, pueden ser capaces de formar co-cristales con formadores de co-cristales adecuados. Estos co-cristales se pueden preparar a partir de los compuestos de la fórmula (I) mediante los procedimientos de formación de co-cristales conocidos. Estos procedimientos incluyen molienda, calentamiento, co-sublimación, co-fusión, o contacto en solución de los compuestos de la fórmula (I) con el formador de co-cristales bajo condiciones de cristalización, y el aislamiento de los co-cristales formados de esta manera. Los formadores de co-cristales adecuados incluyen aquéllos descritos en la Publicación Internacional Número WO 2004/078163. Por consiguiente, la invención proporciona además co-cristales, los cuales comprenden un compuesto de la fórmula (I).

- Los compuestos de la presente invención, incluyendo las sales, hidratos y solvatos de los mismos, pueden formar, inherentemente o por diseño, polimorfos.

- Cualquier fórmula dada en la presente también pretende representar las formas no marcadas así como las formas isotópicamente marcadas de los compuestos. Los compuestos isotópicamente marcados tienen las estructuras ilustradas por las fórmulas dadas en la presente, excepto que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa seleccionados. Los ejemplos de los isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención incluyen los isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, y cloro, tales como ²H, ³H, ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵C, ¹⁸N, ¹⁸F, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ³⁶Cl, ¹²⁵I, respectivamente. La invención incluye diferentes compuestos isotópicamente marcados, como se definen en la presente, por ejemplo, aquéllos en

donde hay isótopos radioactivos presentes, tales como ^3H y ^{14}C , o aquéllos en donde hay isótopos no radioactivos presentes, tales como ^2H y ^{13}C . Estos compuestos isotópicamente marcados son útiles en los estudios metabólicos (con ^{14}C), en los estudios de cinética de reacción (con, por ejemplo, ^2H o ^3H), 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 del fármaco o del sustrato en el tejido, o en el tratamiento radioactivo de los pacientes. En particular, un compuesto de ^{18}F o marcado puede ser particularmente deseable para los estudios de PET o SPECT. Los compuestos isotópicamente marcados de la fórmula (I) se pueden preparar en términos generales mediante las técnicas convencionales conocidas por los expertos en este campo o mediante procesos análogos a aquéllos descritos en los ejemplos y en las preparaciones acompañantes, utilizando reactivos isotópicamente marcados apropiados en lugar del reactivo no marcado previamente empleado.

Además, la sustitución con isótopos más pesados, en particular deuterio (es decir, ^2H o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, un aumento de la vida media *in vivo* o requerimientos de dosificación reducida o una mejora en el índice terapéutico. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera como un sustituyente de un compuesto de la fórmula (I). La concentración de este isótopo más pesado, específicamente deuterio, se puede definir por el factor de enriquecimiento isotópico. El término "factor de enriquecimiento isotópico", como se utiliza en la presente, significa la proporción entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo especificado. Si un sustituyente en un compuesto de esta invención es denotado como deuterio, este compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de cuando menos 3,500 (52.5 por ciento de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), de cuando menos 4,000 (60 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 4,500 (67.5 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 5,000 (75 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 5,500 (82.5 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,000 (90 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,333.3 (95 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,466.7 (97 por ciento de incorporación de deuterio), de cuando menos 6,600 (99 por ciento de incorporación de deuterio), o de cuando menos 6,633.3 (99.5 por ciento de incorporación de deuterio).

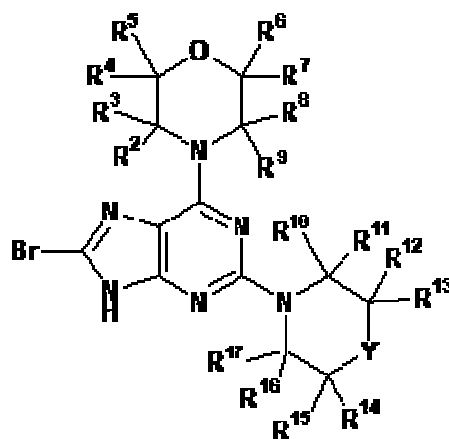
Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquéllos en donde el solvente de cristalización puede ser isotópicamente sustituido, por ejemplo, D_2O , d_6 -acetona, d_6 -DMSO.

Los compuestos de la presente invención se pueden sintetizar mediante las rutas sintéticas que incluyen procesos análogos a aquéllos bien conocidos en el campo de la química, en particular a la luz de la descripción contenida en la presente. 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 este campo (por ejemplo, se preparan mediante los métodos descritos en términos generales en Louis F. Fieser y Mary Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, Volúmenes 1-19, Wiley, Nueva York (Ediciones 1967-1999), 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 de Beilstein)).

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 intermediarios clave. Para conocer una descripción más detallada de los pasos de reacción individuales, véase la sección de Ejemplos más adelante. Los expertos en este campo apreciarán que se pueden utilizar 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, se pueden sustituir con 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 se pueden modificar adicionalmente a la luz de esta divulgación utilizando la química convencional bien conocida por los expertos en este campo.

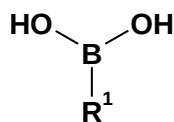
En un aspecto adicional, la invención se refiere a un proceso para la preparación de un compuesto de la fórmula (I), en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, el cual comprende:

(a) cuando X representa N en un compuesto de la fórmula (I), la reacción de un compuesto de la fórmula (IIa):

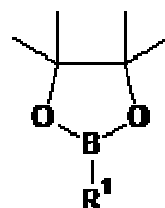


(IIa)

en donde $R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ y R^{17} son como se definen para la fórmula (I), con un compuesto de la fórmula (III) o (IV):



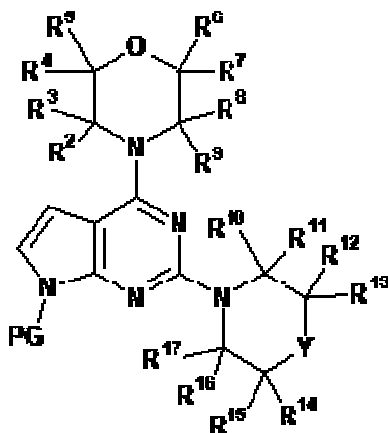
(III)



(IV)

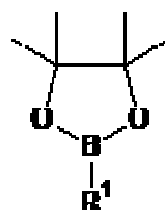
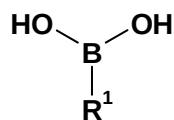
en donde R^1 es como se define para la fórmula (I), o

b) cuando X representa CH en un compuesto de la fórmula (I), la reacción de un compuesto de la fórmula (IIb):



(IIb)

en donde $R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ y R^{17} son como se definen para la fórmula (I), y PG es un grupo protector, con un compuesto de la fórmula (III) o (IV):



(III)

(IV)

en donde R^1 es como se define para la fórmula (I),

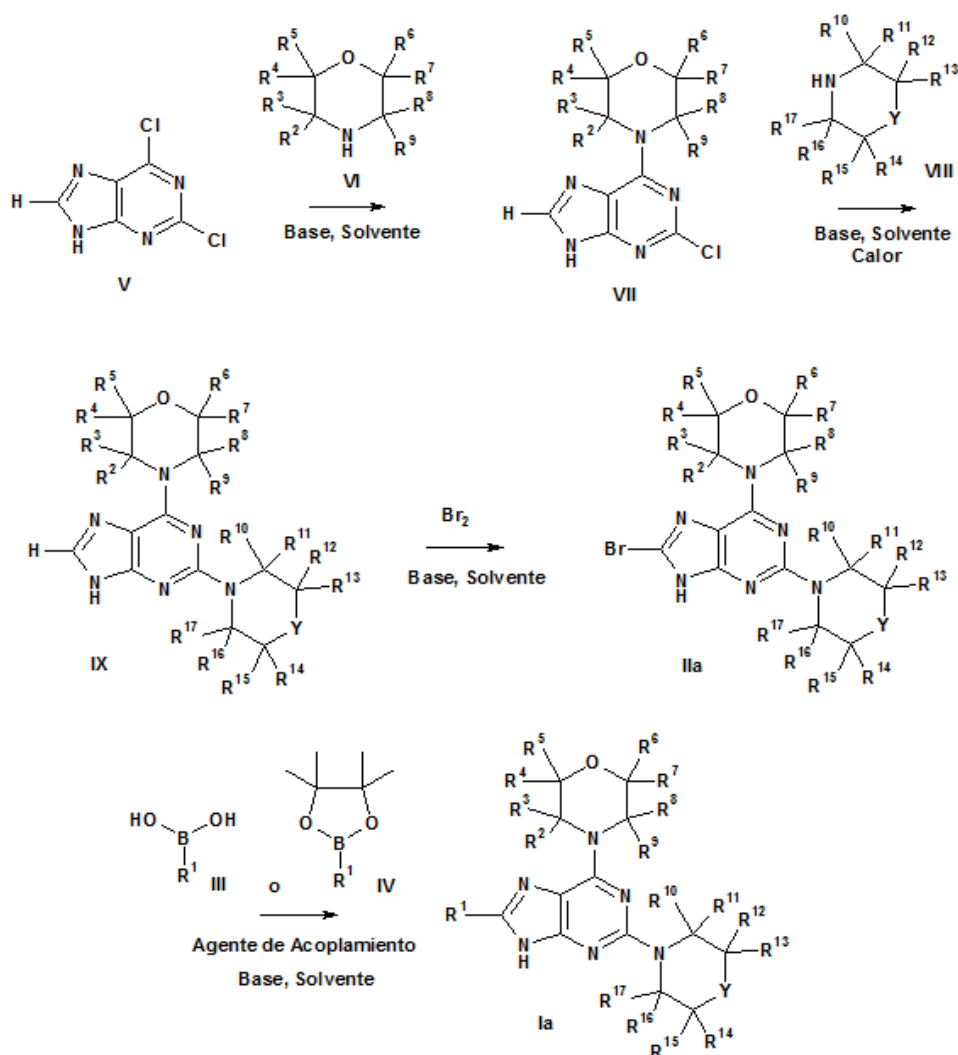
y posteriormente

- i) la reducción, oxidación u otra funcionalización opcional del compuesto resultante,
 - 5 ii) la disociación de cualesquiera grupos protectores presentes,
 - iii) la recuperación del compuesto que se puede obtener de esta manera de la fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y/o
 - iv) la separación opcional de las mezclas de isómeros ópticamente activos en sus formas isoméricas ópticamente activas individuales.
- 10 Las reacciones se pueden efectuar de acuerdo con los métodos convencionales. Por ejemplo, la reacción descrita en el paso (a) anterior se puede llevar a cabo en la presencia de un catalizador de metal adecuado, por ejemplo, tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio, de una base adecuada, por ejemplo, fluoruro de cesio, de un solvente adecuado, por ejemplo, acetonitrilo/agua, y a una temperatura adecuada, por ejemplo, de 50°C a 150°C, de una manera más adecuada, de 90°C a 130°C.
- 15 La reacción descrita en el paso (b) anterior se puede llevar a cabo en la presencia de un catalizador adecuado, por ejemplo, acetato de paladio(II), de un oxidante adecuado, por ejemplo, acetato de cobre (II), de un solvente adecuado, por ejemplo, ácido acético, y a una temperatura adecuada, por ejemplo, de 0°C a 50°C, o de una manera más adecuada, a temperatura ambiente.
- 20 Dentro del alcance de este texto, solamente un grupo fácilmente removible que no sea un constituyente del producto final deseado particular de los compuestos de la presente invención se designa como un "grupo protector", a menos que el contexto lo indique de otra manera. La protección de los grupos funcionales mediante estos grupos protectores, los grupos protectores mismos, y sus reacciones de disociación se describen, por ejemplo, en los trabajos de referencia convencionales, tales como J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, Londres y Nueva York 1973, en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Tercera Edición, Wiley, Nueva York 1999, en "The Peptides"; Volumen 3 (Editores: E. Gross y J. Meienhofer), Academic Press, Londres y Nueva York 1981, en "Methoden der organischen Chemie" (Métodos de química orgánica), Houben Weyl, 4a. Edición, Volumen 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, en H.-D. Jakubke y H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Aminoácidos, péptidos, proteínas), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, y Basilea 1982, y en Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Química de carbohidratos: monosacáridos y derivados), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Una característica de los grupos protectores es que se pueden remover fácilmente (es decir, sin la presentación de reacciones secundarias indeseadas), por ejemplo, mediante solvolisis, reducción, fotólisis, o de una manera alternativa, bajo condiciones fisiológicas (por ejemplo, mediante disociación enzimática).
- 25 Las sales de los compuestos de la presente invención que tengan cuando menos un grupo formador de sal, se pueden preparar de una manera conocida por los expertos en este campo. Por ejemplo, las sales de los compuestos de la presente invención que tengan grupos ácidos, se pueden formar, por ejemplo, mediante el tratamiento de los compuestos con compuestos de metales, tales como las sales de metales alcalinos de ácidos carboxílicos orgánicos adecuados, por ejemplo, la sal sódica del ácido 2-etil-hexanoico, con compuestos de metales alcalinos o de metales alcalinotérreos orgánicos, tales como los hidróxidos, carbonatos, o carbonatos ácidos correspondientes, tales como
- 30 hidróxido, carbonato, o carbonato ácido de sodio o de potasio, con los compuestos de calcio correspondientes o con amoníaco o una amina orgánica adecuada, utilizándose de preferencia cantidades estequiométricas o solamente un pequeño exceso del agente formador de sal. Las sales de adición de ácido de los compuestos de la presente invención se obtienen de la manera acostumbrada, por ejemplo, mediante el tratamiento de los compuestos con un ácido o un reactivo de intercambio de aniones adecuado. Las sales internas de los compuestos de la presente
- 35 invención que contengan grupos ácidos y básicos formadores de sales, por ejemplo, un grupo carboxilo libre y un grupo amino libre, se pueden formar, por ejemplo, mediante la neutralización de las sales, tales como las sales de adición de ácido, hasta el punto isoeléctrico, por ejemplo, con bases débiles, o mediante el tratamiento con intercambiadores de iones.
- 40 Las sales se pueden convertir en los compuestos libres de acuerdo con los métodos conocidos por los expertos en este campo. Las sales de metales y de amonio se pueden convertir, por ejemplo, mediante el tratamiento con los ácidos adecuados; y las sales de adición de ácido, por ejemplo, mediante el tratamiento con un agente básico adecuado.
- 45 Para estos compuestos que contienen un átomo de carbono asimétrico, los compuestos existen en formas isoméricas ópticamente activas individuales, o como mezclas de las mismas, por ejemplo, como mezclas racémicas o diaestereoméricas. La presente invención abarca ambos isómeros R y S ópticamente activos individuales así
- 50
- 55

como mezclas, por ejemplo, mezclas racémicas o diaestereoméricas, de los mismos. En adición, la presente invención abarca todos los isómeros geométricos y de posición. Por ejemplo, si un compuesto de la presente invención incorpora un doble enlace o un anillo fusionado, ambas formas *cis* y *trans*, así como las mezclas, están abarcadas dentro del alcance de la invención.

- 5 Las mezclas diaestereoméricas se pueden separar en sus diaestereoisómeros individuales con base en sus diferencias físico-químicas mediante los métodos bien conocidos por los expertos en este campo, tal como mediante cromatografía y/o cristalización fraccionaria. Los enantiómeros se pueden separar mediante la conversión de la mezcla enantiomérica en una mezcla diaestereomérica mediante la reacción con un compuesto ópticamente activo apropiado (por ejemplo, un auxiliar quiral, tal como un alcohol quiral o cloruro de ácido de Mosher), separar los
- 10 diaestereoisómeros, y convertir (por ejemplo, hidrolizar) los diaestereoisómeros individuales hasta los enantiómeros puros correspondientes. También, algunos de los compuestos de la presente invención pueden ser atropisómeros (por ejemplo, bi-arilos sustituidos), y se consideran como parte de esta invención. Los enantiómeros también se pueden separar mediante el uso de una columna quiral de HPLC comercialmente disponible.
- 15 La invención incluye además cualquier variante de los presentes procesos, en donde se utiliza como material de partida un producto intermediario que se pueda obtener en cualquier etapa de los mismos, y se llevan a cabo los pasos restantes, o en donde los materiales de partida se forman *in situ* bajo las condiciones de reacción, o en donde los componentes de la reacción se utilizan en la forma de sus sales como el material ópticamente puro. Los compuestos de la invención e intermediarios también se pueden convertir unos en otros de acuerdo con los métodos conocidos generalmente por los expertos en este campo.
- 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 intermediarios clave. Para conocer una descripción más detallada de los pasos de reacción individuales, véase la sección de Ejemplos más adelante. Los expertos en este campo apreciarán que se pueden utilizar 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
- 25 adelante, se pueden sustituir con 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 se pueden modificar adicionalmente a la luz de esta divulgación utilizando la química convencional bien conocida por los expertos en este campo.

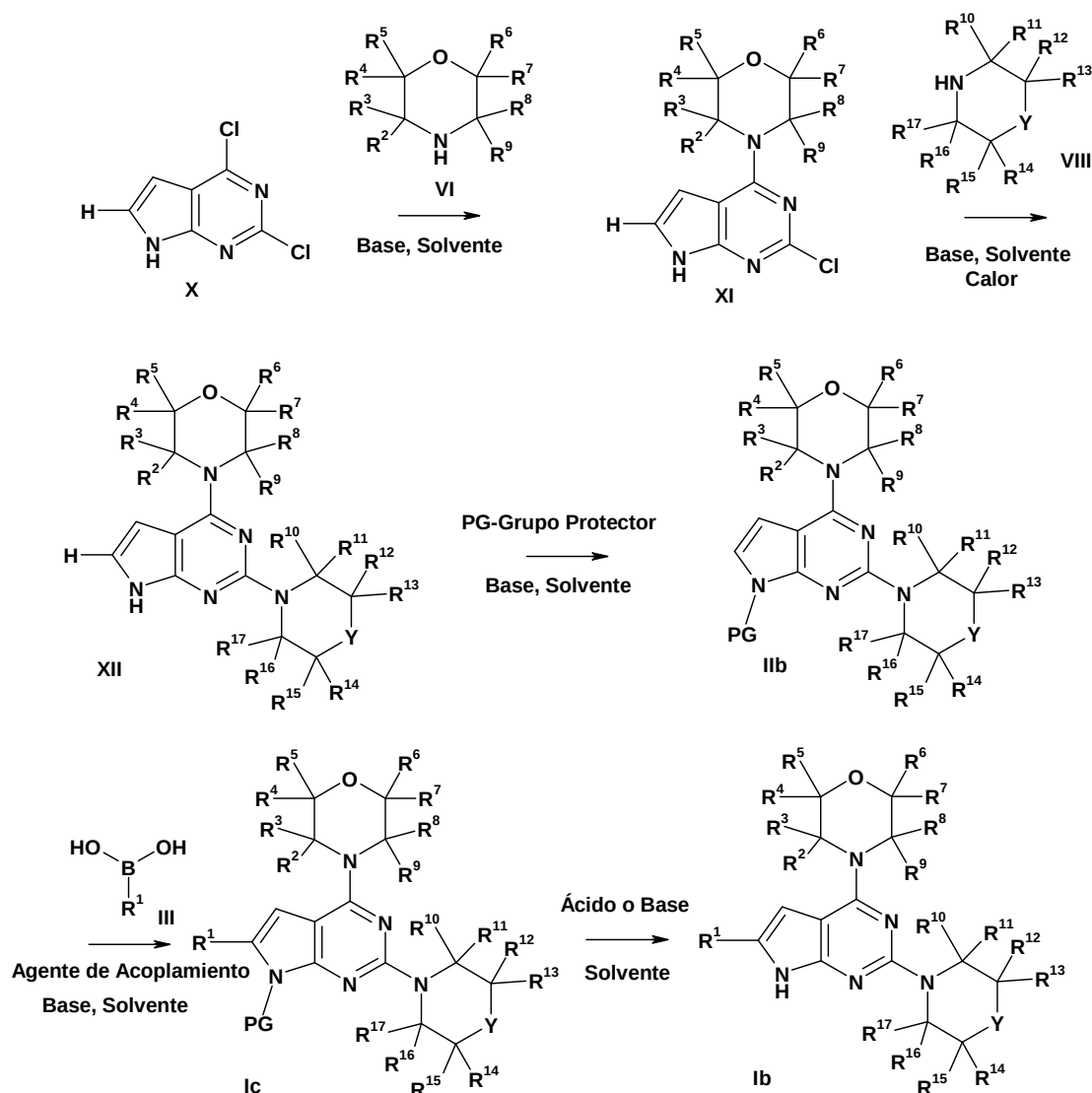
Esquema 1. Procedimiento General 1 para la síntesis de los compuestos de purina



En términos generales, los compuestos de la fórmula Ia se pueden preparar de acuerdo con el esquema 1 en cuatro pasos, empezando a partir del intermediario comercialmente disponible V. Con respecto a los pasos individuales en el esquema mostrado anteriormente, el paso uno involucra la preparación del Intermediario VII mediante el desplazamiento del cloro con el nucleófilo, tal como el intermediario de morfolino funcionalizado VI. El intermediario IX se puede preparar mediante la reacción del intermediario VII con el Intermediario VIII en la presencia de una base adecuada, tal como di-isopropil-etil-amina, un solvente, tal como dimetil-acetamida, y calor. El paso tres involucra la bromación del Intermediario IX hasta el Intermediario IIa que se puede hacer utilizando bromo en un solvente apropiado, tal como dicloro-metano.

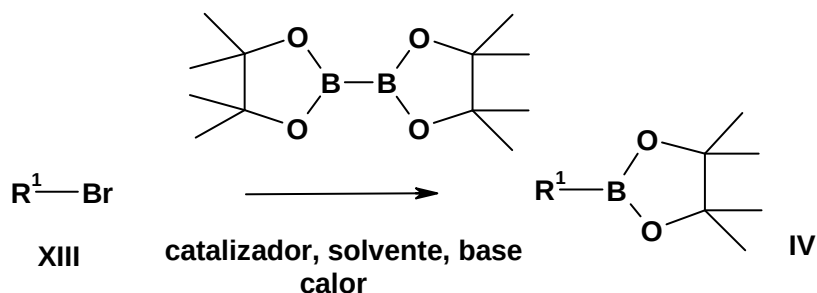
- 10 Los compuestos objetivo de la estructura Ia se pueden preparar mediante el acoplamiento del Intermediario II con una variedad de ácidos o ésteres borónicos comercialmente disponibles o sintetizados de la estructura III o IV utilizando catalizadores de metales más frecuentemente ejemplificados por los complejos de paladio comercialmente disponibles.

Esquema 2. Procedimiento General para la síntesis de los compuestos de pirrolo-pirimidina



En términos generales, los compuestos de la fórmula Ib se pueden preparar de acuerdo con el esquema 2 en cinco pasos, empezando a partir del intermediario comercialmente disponible X. Con respecto a los pasos individuales en el esquema 2, el paso uno involucra la preparación del Intermediario XI mediante el desplazamiento del cloro con el nucleófilo, tal como el intermediario de morfolino funcionalizado VI. El intermediario XII se puede preparar mediante la reacción del Intermediario XI con el Intermediario VIII en la presencia de un solvente, tal como dimetil-acetamida, una base, tal como di-isopropil-etil-amina, y calor. El paso tres involucra la protección del Intermediario XII hasta el Intermediario IIb utilizando un grupo de protección adecuado, tal como cloruro de bencilo o Cloruro-SEM en la presencia de una base, tal como hidruro de sodio, y un solvente, tal como tetrahidrofurano (THF). El paso cuatro involucra el acoplamiento del Intermediario IIb con el ácido borónico adecuado en la presencia de un solvente adecuado, tal como ácido acético, un oxidante, tal como acetato de cobre, y un catalizador de paladio comercialmente disponible. El paso final para obtener los compuestos objetivo ejemplificados por la estructura Ib involucra la remoción del grupo de protección utilizando un ácido, una base, o catalizadores adecuados, tales como paladio.

Esquema 3. Procedimiento General para la síntesis de ésteres borónicos



Los ésteres borónicos de la fórmula IV se pueden preparar de acuerdo con el esquema 3 en un paso, en donde R¹ es como se describe en la fórmula (I). El paso involucra hacer reaccionar el bromuro de arilo o bromuro de heteroarilo sustituido de la fórmula XIII con bis-(pinacolato)-diboro en la presencia de un catalizador de paladio comercialmente disponible, un solvente, tal como dioxano, a una temperatura en el intervalo de 80°C a 120°C.

Los compuestos de la fórmula (I), en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, posteriormente en la presente referidos con frecuencia como "agentes de la invención", exhiben valiosas propiedades farmacológicas, cuando se prueban *in vitro*, y, por consiguiente, pueden ser útiles en medicamentos, en terapia, o para utilizarse como productos químicos de investigación, por ejemplo, como compuestos de herramienta.

Los agentes de la invención son inhibidores de PI3Ks Clase I y mTOR. Las propiedades inhibitoras de un compuesto de la invención hacia las PI3Ks Clase I y mTOR se pueden evaluar en las pruebas como se describen a continuación en la presente.

Ensayos Biológicos

Prueba 1: Ensayo de Cinasa PI3

Ensayo KinaseGlo de PI3K: 50 nanolitros de las diluciones del compuesto se dosificaron en las placas de estireno no enlazante (NBS) negras de bajo volumen de 384 pozos (Costar Cat. No. NBS#3676). El L-a-fosfatidil-inositol (PI), proporcionado como una solución de 10 miligramos/mililitro en metanol (MeOH), se transfirió a un tubo de vidrio, y se secó bajo un haz de nitrógeno. Entonces se volvió a suspender en Octil-Glucósido (OG) al 3 por ciento poniéndolo en vórtex, y se almacenó a 4°C. 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 la solución en seguida de una reacción de cinasa.

Se agregaron 5 microlitros de una mezcla de PI/OG con el subtipo de PI3K (Tabla 1). Las reacciones de cinasa se iniciaron mediante la adición de 5 microlitros de mezcla-ATP que contenía, en un volumen final, 10 microlitros de TRIS-HCl 10 mM, pH de 7.5, MgCl₂ 3 mM, NaCl 50 mM, CHAPS al 0.05 por ciento, DTT 1 mM, y ATP 1 μM, y se realizaron a temperatura ambiente. Las reacciones se interrumpieron con 10 microlitros de KinaseGlo, y las placas se leyeron 10 minutos más tarde en un lector Synergy2 utilizando un tiempo de integración de 0.1 segundos por pozo. Se agregaron 2.5 μM de un inhibidor de cinasa PI3 Clase 1-pan (estándar) a las placas de ensayo para generar la inhibición del 100 por ciento de la reacción de cinasa, y la inhibición del 0 por ciento fue dada por el vehículo de solvente (sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 90 por ciento en agua). El estándar se utilizó como un compuesto de referencia, y se incluyó en todas las placas de ensayo en la forma de 16 puntos de dilución por duplicado.

Clonación de PI3Ks

La construcción de PI3Kα es una fusión del dominio iSH2 de p85α y la isoforma p110 respectiva. El fragmento p85α y el gen de la isoforma p110 se generaron mediante PCR a partir del ADNc de la primera cadena generado mediante reacción RT-PCR a partir del ARN comercial de placenta, testículos y cerebro, como se describe a continuación.

Construcciones y proteínas de PI3Kα

BV1075: La construcción para Baculovirus BV-1075 se generó mediante un ligamiento en tres partes comprendido de un fragmento p85 y un fragmento p110α clonado en el vector pBlueBac4.5. El fragmento p85 se derivó a partir del plásmido p1661-2 digerido con Nhe/Spe. El fragmento p110α derivado a partir de su clon se verificó mediante secuenciación, y se utilizó en LR410 como un fragmento SpeI/HindIII. Para la generación del vector de expresión de baculovirus LR410, se utilizó la reacción Gateway LR para transferir el inserto al vector pBlueBac4.5 adaptado con Gateway (Invitrogen). El vector de clonación pBlueBac4.5 (Invitrogen) se digirió con Nhe/HindIII. Esto dio como

resultado la construcción PED 153.8. El componente p85 (iSH2) se generó mediante PCR utilizando el ORF 318 como una plantilla, y un cebador hacia adelante KAC1028 (5'-gctagcatgagagaatgatagat-tatatgaag-aatatacc) (SEQ ID NO: 1), y dos cebadores en reversa, KAC1029 (5'-gcctccaccac-ctccgctg-gttaaagctgttcatacggttgc) (SEQ ID NO: 2) y KAC1039 (5'-tactagtc-cgcctccac-cacctccgctccaccacccgccc) (SEQ ID NO: 3). Los dos cebadores en reversa se traslapan e incorporan un enlazador Gly 12x y la secuencia N-terminal del gen p110 α en el sitio SpeI. El fragmento de la PCR se clonó en pCR^{2.1} TOPO (Invitrogen). De los clones resultantes, se determinó que el p1661-2 era correcto de acuerdo con la secuenciación. Este plásmido se digirió con Nhe y SpeI, y el fragmento resultante se aisló en gel, y se purificó para la sub-clonación.

El fragmento de la clonación de p110 α se generó mediante la digestión enzimática del clon LR410 (véase anteriormente) con Spe I y HindIII. El sitio SpeI está en la región codificante del gen p110 α . El fragmento resultante se aisló en gel, y se purificó para la sub-clonación. El vector de clonación, pBlueBac4.5 (Invitrogen), se preparó mediante digestión enzimática con Nhe y HindIII. El vector de corte se purificó con una columna Qiagen, y entonces se desfosforiló con fosfatasa alcalina de intestino de ternera (CIP) (BioLabs). Después de completarse la reacción de CIP, el vector de corte se purificó nuevamente en columna para generar el vector final. Se llevó a cabo un ligamiento en tres partes utilizando la ligasa Roche Rapid y las especificaciones del vendedor. El plásmido final se verificó mediante secuenciación.

Secuencia de proteína de BV 1075 (SEQ ID NO: 4):

```

1 MREYDRLYEE YTRTSQEIQM KRTAIEAFNE TIKIFEEQCQ TQERYSKEYI EKFKREGNEK
61 EIQRIMHNYD KLKSRRISEII DSRRLLEEDL KKQAAEYREI DKRMNSIKPG GGGGGGGGGG
121 GLVECLLPNG MIVTLECLRE ATLITIKHEL FKEARKYPLH QLLQDESSYI FVSVTQEAER
181 EEEFFDETRRL CDLRLFQPFLL KVIIEPVGNRE EKILNREIGF AIGMPVCEFD MVKDPEVQDF
241 RRNILNVCKE AVDLRDLNSP HSRAMYVYPP NVESPELKP HIYNKLDKGQ IIVVIWVIVS
301 PNNDKQKYTL KINHDCVPEQ VIAEAIRKKT RSMLLSSEQL KLCVLEYQ GK YILKVCGCDE
361 YFLEKYPLSQ YKYIRSCIML GRMPNMLMA KESLYSQLPM DCFTMPSYSR RISTATPYMN
421 GETSTKSLWV INSALRIKIL CATYVNVNIR DIDKIYVRTG IYHGGEPLCD NVNTQRVPCS
481 NPRWNEWLNY DIYIPDLRA ARLCLSICSV KGRKGAKKEH CPLAWGNINL FDYDTLVSG
541 KMALNLWPVP HGLEDLLNPI GVTGSNPNKE TPCLELEFDW FSSVVKFPDM SVIEEHANWS
601 VSREAGFSYS HAGLSNRLAR DNELRENDKE QLKAISTRDP LSEITEQEKD FLWSHRHYCV
661 TIPEILPKLL LSVKWSNRDE VAQMYCLVKD WPPIKPEQAM ELLDCNYPDP MVRGFAVRCL
721 EKYLTDDKLS QYLIQLVQVL KYEQYLDNLL VRFLKKALT NQRIGHFFFW HLKSEMHNKT
781 VSQRFGLLE SYCRACGMYL KHLNRQVEAM EKLINLTDIL KQEKKDETQK VQMKFLVEQM
841 RRPDFMDALQ GFLSPLNPAH QLGNLRLLEC RIMSSAKRPL WLNWENPDIM SELLFQNNIE
901 IFKNGDDLRLQ DMLTLQIIRI MENIWQNQGL DLRMLPYGCL SIGDCVGLIE VVRNSHTIMQ
961 IQCKGGLKGA LQFNSHTLHQ WLKDKNKGEI YDAAIDLFTR SCAGYCVATF ILGIGDRHNS
1021 NIMVKDDGQL FHIDFGHFLD HKKKKFGYKR ERVPFVLTQD FLIVISKGAQ ECTKTREFER
1081 FQEMCYKAYL AIRQHANLFI NLFSSMLGSG MPQLQSFDDI AYIRKTLALD KTEQEALEYF
1141 MKQMNDAAHG GWTTKMDWIF HTIKQHALNE LGGAHHHHHH (SEQ ID NO: 4)

```

Purificación de construcciones de PI3K α

PI3K α se purificó en dos pasos cromatográficos: Cromatografía de afinidad de metal inmovilizado (IMAC) sobre una resina de Ni-Sepharose (GE Healthcare), y filtración de gel utilizando una columna Superdex 200 26/60 (GE Healthcare). Todos los reguladores se enfriaron hasta 4°C, y la lisis se llevó a cabo enfriando sobre hielo. El fraccionamiento de la columna se llevó a cabo a temperatura ambiente.

Típicamente, las células congeladas a partir de 10 litros del cultivo celular Tn5 se volvieron a suspender en "Regulador de Lisis": Tris-Cl 20 mM, pH de 7.5, NaCl 500 mM, glicerol al 5 por ciento, imidazol 5 mM, NaF 1 mM, 0.1 microgramos/mililitro de ácido ocláico (OAA), BME 5 mM, inhibidor de proteasa en cóctel Complete 1x – sin EDTA (20 tabletas/1 litro de regulador, Roche Applied Sciences), benzonasa (25 Unidades/mililitro de regulador, EMD Biosciences) en una proporción de 1:6 por volumen/volumen del aglomerado al regulador de lisis, y se sometieron a lisis mecánicamente mediante rebote en 20 recorridos utilizando un pistilo de ajuste hermético. El lisado se centrifugó a 45,000 g durante 30 minutos, y el sobrenadante se cargó sobre una columna IMAC previamente equilibrada (3 mililitros de resina/100 mililitros de lisado). La columna se lavó con 3 a 5 volúmenes de columna de

regulador de lisis, seguido por un segundo lavado con 3 a 5 volúmenes de columna de Tris-Cl 20 mM, pH de 7.5, NaCl 500 mM, glicerol al 5 por ciento, imidazol 45 mM, NaF 1 mM, 0.1 microgramos/mililitro de OAA, BME 5 mM, cóctel inhibidor de proteasa 1x Complete – sin EDTA. La proteína se eluyó con Tris-Cl 20 mM, pH de 7.5, NaCl 0.5 M, glicerol al 5 por ciento, imidazol 250 mM, NaF 1 mM, 0.1 microgramos/ mililitro de OAA, BME 5 mM, cóctel inhibidor de proteasa 1x Complete – sin EDTA. Las fracciones pertinentes se analizaron mediante SDS-PAGE y se reservaron de conformidad con lo anterior. La proteína se purificó adicionalmente mediante filtración de gel en una columna Superdex 200 26/60 equilibrada en Tris-Cl 20 mM, pH de 7.5, NaCl 0.5 M, glicerol al 5 por ciento, NaF 1 mM, DTT 5 mM, cóctel inhibidor de proteasa 1x Complete – sin EDTA. Las fracciones pertinentes se analizaron mediante SDS-PAGE y se reservaron de conformidad con lo anterior. Se agregó a la reserva un volumen igual de Regulador de Diálisis (Tris-Cl 20 mM, pH de 7.5, NaCl 500 mM, glicerol al 50 por ciento, NaF 5 mM, DTT 5 mM), y luego se dializó contra el Regulador de Diálisis en dos cambios (un cambio durante la noche). La proteína se almacenó a -20°C.

Prueba 2: Ensayo bioquímico de mTOR

Las IC₅₀ para los compuestos que interactúan con mTOR se evaluaron utilizando el ensayo rastreador de FRAP1/mTOR TR-FRET (Invitrogen por Life Technologies). Se agregaron FRAP1/mTOR (PV4753) y el Anticuerpo LanthaScreen Eu-Anti-GST (PV5594) (volumen total de 14 microlitros) a cada pozo de una placa ProxiPlate-384 Plus (Perkin-Elmer) de 384 pozos. Los compuestos se diluyeron en serie en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (12 puntos, factor de dilución 4X), y entonces se agregó a cada pozo 1 microlitro del compuesto diluido, y se mezcló pasándolo por pipeta utilizando un Biomek FX (Beckman Coulter). Se agregaron a cada pozo 5 microlitros de Rastreador de Cinasa mTOR 314 (PV6087), se mezclaron, y las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Las concentraciones finales de los componentes son: Anticuerpo FRAP1/3 nM LanthaScreen Eu-Anti-GST 6 nM / Rastreador de Cinasa mTOR 31450 nM / compuestos no marcados, 4.8×10^{-6} -20 μM. La composición del regulador de ensayo final es: HEPES 50 mM (pH de 7.5), NaCl 50 mM, MgCl₂ 5 mM, EGTA 1 mM, Pluronic F-127 al 0.01 por ciento. Las placas se midieron en un lector de placas (Perkin Elmer, EnVision), utilizando una excitación a 340 nanómetros y una emisión en dos longitudes de ondas, Emisión-1 665 nanómetros y Emisión-2 615 nanómetros. La proporción de TR-FRET para cada pozo (Emisión-1 665/Emisión-2 615) se graficó contra la concentración del compuesto utilizando el software GraphPad Prism, y las IC₅₀ se determinaron utilizando regresión no lineal con eliminación del excedente.

Prueba 3: Ensayo de TSC

La siguiente es una descripción de un ensayo de toma de imágenes de alto contenido, utilizando células de fibroblastos embrionarios de ratón TSC1-/- (MEFs), para probar los compuestos para determinar la inhibición de una mTOR constitutivamente activa. El ensayo se basa en el tinte de fosfo-S6 (240/244), utilizando un anticuerpo comercialmente disponible y detección con un anticuerpo secundario fluorescentemente marcado. Este ensayo genera los valores IC₅₀ para los compuestos que inhiben mTOR. Aquí se describe un protocolo de toma de imágenes y un algoritmo de reconocimiento de imágenes para visualizar y medir los cambios en los niveles de pS6 240/244.

Cuantificación del tinte de pS6 utilizando toma y análisis de imágenes de alto contenido:

1. Día 0: Sembrado en placas de células. Se recolectan los MEFs TSC1-/- subconfluentes mediante tripsinización, se vuelven a suspender en el medio de crecimiento, y se cuentan. Se prepara una suspensión celular de 166,666 células/mililitro, y se agregan 30 microlitros a los pozos de una placa de 384 pozos utilizando una pipeta electrónica de múltiples canales. Esto da como resultado que se siembren en placas 5,000 células/pozo. Las placas se someten a rotación brevemente y se ponen a 37°C y con CO₂ al 5 por ciento.

2. Día 1: Las placas de células se lavan en una solución de consunción de suero regulado con fosfato (PBS) (que contiene glucosa, bicarbonato de sodio, HEPES y rojo de fenol), utilizando una lavadora de placas de 384 pozos. El protocolo de lavado aspira el volumen bajando hasta 30 microlitros/pozo antes de la dosificación 60 microlitros/pozo de la solución de consunción de PBS. Los pasos de aspiración y dosificación se repiten 8 veces, y se deja un volumen final de 30 microlitros/pozo. Las placas de células se ponen a 37°C y con CO₂ al 5 por ciento durante 2 horas.

Tratamiento con el compuesto. Se preparan respuestas a la dosis del compuesto en DMSO. Las respuestas a la dosis se diluyen entonces a 1:50 en el medio. Se agregan 10 microlitros del compuesto diluido a 30 microlitros de las células, proporcionando una dilución final de 1:200 del compuesto original y una concentración final de DMSO del 0.5 por ciento. Los tratamientos con el compuesto se llevan a cabo por triplicado. Las placas se ponen a 37°C y con CO₂ al 5 por ciento durante 2 horas. Las células entonces se fijan mediante la adición de 10 microlitros/pozo de fijador de Mirsky concentrado 5x. Esto da como resultado un volumen total de 50 microlitros por pozo y una concentración de fijador de Mirsky 1x. Las placas de células se centrifugan brevemente, y se incuban durante 1 hora

- a temperatura ambiente. Las células se lavan entonces utilizando una lavadora de placas de 384 pozos utilizando un protocolo que aspira el volumen bajando hasta 30 microlitros/pozo antes de dosificar 60 microlitros/ pozo de TBS 1X. Los pasos de aspiración y dosificación se repiten 8 veces, y entonces un paso de aspiración adicional deja un volumen final de 10 microlitros/pozo. El regulador de bloqueo (TBS 1X + Triton X-100 al 0.1 por ciento + albúmina de suero bovino (BSA) al 0.1 por ciento) entonces se agrega a 25 microlitros/pozo, y las placas se incuban a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las placas de células se aspiran entonces bajando hasta 10 microlitros/pozo. El anticuerpo primario (Proteína Ribosomal Fosfo-S6 (Ser240/244) (61H9) mAb de Conejo Cell Signaling # 4838) se diluye a 1:150 en regulador de bloqueo, y entonces se agregan 10 microlitros/pozo a las placas de células. Las placas se incuban durante la noche a 4°C.
- 5
- 10 3. Día 2: Las placas de células se lavan empleando el método de TBS 1X TBS detallado anteriormente, y entonces se agrega una solución de anticuerpo secundario a 10 microlitros/pozo (solución de anticuerpo secundario: regulador de bloqueo + Hoechst 10 microgramos/mililitro + Cy5 secundario de cabra anti-conejo (diluido a 1:150)) (IgG Cy5 de cabra anti-conejo: Chemicon International # AP187/Hoechst 33342: Invitrogen # H3570). Las placas se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente, y luego se lavan con TBS 1X utilizando el protocolo detallado anteriormente sin el paso de aspiración final, lo cual da como resultado un volumen final de 90 microlitros de TBS/pozo.
- 15
- Toma de imágenes. El fondo de la placa se limpia con etanol al 70 por ciento, y entonces se toman las imágenes utilizando el microscopio de epifluorescencia InCell 1000. Se utiliza amplificación 10x, y se toma la imagen de 1 área (campo) por pozo, y esto típicamente captura un total de alrededor de 400 células por pozo. Las imágenes Hoechst33342 se adquieren utilizando una excitación de 360 nanómetros (filtro D360_40x), una emisión de 460 nanómetros (filtro HQ460_40M), y un tiempo de exposición de 200 milisegundos. Las imágenes Cy5 se adquieren utilizando una excitación de 620 nanómetros (filtro Chroma 620_60X), una emisión de 700 nanómetros (filtro Chroma HQ700_75M), y un tiempo de exposición de 200 milisegundos. Se utiliza un espejo de paso de banda doble para todas las imágenes.
- 20
4. Análisis de imágenes: Se utiliza el software de análisis InCell para analizar las imágenes utilizando el algoritmo Dual Object. Primero, se detectan los núcleos en la imagen Hoechst33342 utilizando segmentación Top-Hat y un área nuclear mínima de $10\mu\text{m}^2$. Segundo, las células se definen utilizando un collar de 0.7 micras alrededor de los núcleos. Se mide la intensidad de fluorescencia de Cy5 dentro del collar (intensidad celular), y los resultados se reportan sobre una base de "Promedio por célula".
- 25
5. Cálculo de IC_{50} : Las IC_{50} se calculan graficando los valores de intensidad celular sobre el eje y con los valores de respuesta a la dosis sobre el eje x. Los valores IC_{50} representan la potencia del compuesto contra mTOR.
- 30
- Prueba 4: Ensayo de Autofagia
- La autofagia es una senda catabólica que degrada el citosol a granel en los compartimientos lisosomales, haciendo posible que se reciclen los aminoácidos y los ácidos grasos. Uno de los reguladores clave de la autofagia es el objetivo de rapamicina de mamífero (mTOR), una cinasa de serina/treonina conservada que suprime el inicio del proceso autofágico cuando están disponibles los nutrientes, los factores de crecimiento, y la energía. Para cuantificar la inducción de autofagia por medio de los inhibidores de mTOR, utilizamos un reportero mCherry-GFP-LC3, el cual es susceptible al suministro retroviral en las células de mamífero, a la expresión estable, y al análisis mediante el microscopio de fluorescencia.
- 35
- Reportero mCherry-GFP-LC3
- 40 A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos de la construcción mCherry-GFP-LC3 (SEQ ID NO: 5). La secuencia de mCherry está subrayada, la secuencia de GFP está en negrillas, y la secuencia de LC3A está encerrada en un recuadro.

MVSKGEEDNMAIIEKFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAK
LKVTKGGPLPFAWDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWER
VMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPDGPVMQKKTMGWEA
SSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNV
NIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYKPVATMVSKGEELFT
GVVPILVELDGDVNGHKFSVSGEGEGDATYGKLTCLKFICTTGKLPVPWPT
LVTTLTYGVQCFSRYPDHMKQHDFFKSAMPEGYVQERTIFFKDDGNYKTR
AEVKFEGDTLVNRIELKGIDFKEDGNILGHKLEYNNSHNVYIMADKQKN
GIKVNFKIRHNIEDGSVQLADHYQQNTPIGDGPVLLPDNHYLSTQSALSK
DPNEKRDHMLLEFVTAAGITLGMDELYKSGLRSRAQASNSAVDMPSDRP
FKQRRSFADRCKEVQQIRDQHPSKIPVIERKGEKQLPVLDKTKFLVPD
HVNMSSELVKIIRRRLQLNPTQAFFLLVNQHSMVSVSTPIADIYEQEKDED
GFLYMVYASQETFGF

Posteriormente en la presente se describe un protocolo de toma de imágenes y un algoritmo de reconocimiento de imágenes para visualizar y medir los cambios en la senda de autofagia.

Cuantificación de autofagia utilizando toma y análisis de imágenes de alto contenido:

5

1. Día 0: Sembrado en placas de células. Se recolectan las células de mCherry-GFP-LC3 H4 subconfluentes mediante tripsinización, se vuelven a suspender en el medio de crecimiento, y se cuentan (células H4: línea celular de neuroglioma humano (ATCC)). Se prepara una suspensión celular de 66'000 células/ mililitro, y se agregan 30 microlitros a los pozos de una placa de 384 pozos utilizando una pipeta electrónica de múltiples canales. Esto da como resultado que se siembren en placas 2,000 células/pozo. Las placas de células se someten a rotación brevemente y se ponen a 37°C y con CO₂ al 5 por ciento.

10

2. Día 1: Tratamiento con el compuesto. Se preparan respuestas a la dosis del compuesto en DMSO. Las respuestas a la dosis se diluyen entonces a 1:50 en el medio. Se agregan 10 microlitros del compuesto diluido a 30 microlitros de las células, proporcionando una dilución final de 1:200 del compuesto original y una concentración final de DMSO del 0.5 por ciento. Los tratamientos con el compuesto se llevan a cabo por triplicado. Las placas de 384 pozos se ponen a 37°C y con CO₂ al 5 por ciento. El tratamiento con el compuesto se lleva a cabo durante 16 a 18 horas (véase la Nota 1).

15

3. Día 2: Fijación de células. Las células se fijan mediante la adición de 10 microlitros/pozo de fijador de Mirsky concentrado 5x complementado con 25 microgramos/mililitro de Hoechst33342. Esto da como resultado un volumen total de 50 microlitros por pozo, y una concentración de fijador de Mirsky 1x, y 5 microgramos/mililitro de Hoechst33342. La placa de 384 pozos se somete a rotación brevemente, y se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente. Las células se lavan entonces utilizando una lavadora de placas de 384 pozos utilizando un protocolo que aspira el volumen bajando hasta 10 microlitros/pozo antes de la dosificación de 100 microlitros/pozo de TBS 1X. Los pasos de aspiración y dosificación se repiten 4 veces, y se deja un volumen final de 100 microlitros/ pozo. La placa se sella utilizando una lámina adhesiva de PCR.

20

25

4. Toma de imágenes. El fondo de la placa se limpia con etanol al 70 por ciento, y entonces se toman las imágenes utilizando el microscopio de epifluorescencia automatizado InCell 1000. Se utiliza amplificación 10x, y se toman las imágenes de 4 área diferentes (campos) por pozo, y esto típicamente captura un total de alrededor de 400 células por pozo. Las imágenes Hoechst33342 se adquieren utilizando una excitación de 360 nanómetros (filtro D360_40x), una emisión de 460 nanómetros (filtro HQ460_40M), y un tiempo de exposición de 150 milisegundos. Las imágenes de GFP se adquieren utilizando una excitación de 475 nanómetros (filtro S475_20x), una emisión de 535 nanómetros (filtro HQ535_50M), y un tiempo de exposición de 1 segundo. Las imágenes mCherry se adquieren utilizando una excitación de 535 nanómetros (filtro HQ535_50x), una emisión de 620 nanómetros (filtro HQ620_60M), y un tiempo de exposición de 1 segundo. Se utiliza un espejo de paso de banda cuádruple para todas las imágenes.

5. Análisis de imágenes: Se utiliza el software de análisis InCell para analizar las imágenes utilizando el algoritmo Multi Target Analysis. Primero, se detectan los núcleos en la imagen Hoechst33342 utilizando segmentación Top-Hat y un área nuclear mínima de 50 μm^2 . Las células se definen utilizando un collar de 10 micras alrededor de los núcleos. Segundo, se identifican los puntos (organelos) en la imagen mCherry dentro de las células utilizando la segmentación Multi-Top-Hat. Tercero, se transfiere la máscara de los puntos de mCherry a la imagen de GFP. Cuarto, se mide la intensidad de fluorescencia de GFP dentro de la máscara de puntos mCherry (intensidad de referencia).

6. El parámetro de los "organelos" refleja el punto positivo en mCherry del reportero mCherry-GFP-LC3, y se utiliza para calcular "LC3 punto/célula". Para este propósito, se calcula el número de organelos por célula y se promedia sobre todas las células en un pozo dado (base de promedio por célula). Los números de puntos LC3 positivos en mCherry (eje y) se grafican contra los valores de respuesta a la dosis del compuesto (eje x), y se calculan los valores EC_{50} para cada compuesto. Los valores EC_{50} representan la potencia del compuesto en términos de activación de autofagia (por ejemplo, el aumento en el recuento de puntos LC3 positivo en mCherry).

Notas

1. Se puede observar fácilmente la modulación de autofagia y la redistribución de mCherry-GFP-LC3 después de un tiempo de tratamiento con el compuesto de 3 a 4 horas. Sin embargo, se ven efectos más robustos con tiempos de tratamiento de 16-18 horas.

Los compuestos de los Ejemplos mostraron los valores presentados en la siguiente Tabla 1 cuando se probaron en los ensayos anteriores.

Tabla 1

Ejemplo Número	Prueba 1: PI3K α IC ₅₀ (nM)	Prueba 2: mTOR IC ₅₀ (nM)	Prueba 3: TSC1-/- IC ₅₀ (nM)	Prueba 4: Autofagia EC ₅₀ (nM)
1	20	NT	118	NT
2	1059	40	300	363
3	6530	510	2320	> 2000
4	1800	1424	1865	1551
5	>9100	150	551	2594
6	>9100	30	1452	NT
7	2540	NT	455	NT
8	>9100	41	127	731
9	>9100	3204	7300	> 10000
10	720	1836	5718	> 10000
11	8140	2425	6016	> 2000
12	2870	2023	1964	> 10000
13	430	469	2783	8529
14	>9100	7	349	1284

15	4580	9	62	1781
16	7300	160	460	2000
17	400	399	1511	3193
18	5050	46	70	2500
19	170	134	300	2000
20	6050	6	90	452
21	>9100	237	831	498
22	5860	5	113	761
23	5510	14	138	1610
24	8540	85	632	NT
25	2070	172	452	> 700
26	570	8	81	184
27	40	340	7186	5934
28	9050	372	458	> 200
29	3860	1208	2085	> 5000
30	3010	1447	1515	> 2000
31	590	NT	315	NT
32	2520	1044	1035	NT
33	>9100	380	2987	7733
34	>9100	NT	8002	NT
35	5870	NT	4006	NT
36	20	NT	73	NT
37	10	NT	620	NT
38	480	NT	>50000	NT
NT = No probada				

Como se utiliza en la presente, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, surfactantes, antioxidantes, conservadores (por ejemplo, los agentes antibacterianos, los agentes antifúngicos), los agentes isotónicos, los agentes retardantes de absorción, sales, conservadores, fármacos, estabilizantes de fármacos, aglutinantes, excipientes, los agentes de desintegración, lubricantes, los agentes edulcorantes, los agentes saborizantes, tintes, y similares, y combinaciones de los mismos, como serían conocidos por los expertos en este campo (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Edición, Mack Printing Company, 1990, páginas 1289-1329). Excepto hasta donde cualquier vehículo convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

El término "una cantidad terapéuticamente efectiva" 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 una proteína, o que mitigará los síntomas, aliviará las condiciones, hará más lento o retardará el progreso de la enfermedad, o prevendrá una enfermedad, etc. En una realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, es efectiva para: (1) aliviar, inhibir, prevenir y/o mitigar cuando menos parcialmente una condición, o un trastorno, o una enfermedad (i) mediada por PI3K Clase I y/o mTOR, o (ii) asociada con la actividad de PI3K Clase I y/o mTOR, o (iii) caracterizada por una actividad (normal o anormal) de PI3K Clase I y/o mTOR; o (2) reducir o inhibir la actividad de PI3K Clase I y/o mTOR. En otra realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a una célula, o a un tejido, o a un material biológico no celular, o a un medio, es efectiva para cuando menos reducir o inhibir parcialmente la actividad de PI3K Clase I y/o mTOR. El significado del término "una cantidad terapéuticamente efectiva" como se ilustra en las

realizaciones anteriores para PI3K Clase I y/o mTOR también se aplica mediante el mismo significado a cualesquiera otras proteínas/péptidos/enzimas relevantes, tales como PI3K Clase II o III.

- 5 Como se utiliza en la presente, 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, seres humanos), reses, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un primate. En todavía otras realizaciones, el sujeto es un ser humano.

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

- 10 Como se utiliza en la presente, el término "tratar", "tratando" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno, se refiere, en una realización, a mitigar la enfermedad o el trastorno (es decir, hacer más lento o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o de cuando menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra realización, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a aliviar o mitigar cuando menos un parámetro físico, incluyendo aquéllos que no puedan ser discernibles por el paciente. En todavía otra realización, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a modular la enfermedad o el trastorno, ya sea físicamente (por ejemplo, la estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (por ejemplo, la estabilización de un parámetro físico), o ambos.

Como se utiliza en la presente, el término "prevención" de cualquier enfermedad o trastorno particular se refiere a la administración de un compuesto de la invención a un sujeto antes de que sean evidentes cualesquiera síntomas de esa enfermedad o de ese trastorno.

- 20 Como se utiliza en la presente, 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.

- 25 Como se utiliza en la presente, el término "un", "uno", "el" y términos similares empleados en el contexto de la presente invención (en especial en el contexto de las reivindicaciones), se deben interpretar para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otra manera en la presente o que sea claramente contradicho por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o del lenguaje de ejemplo (por ejemplo, "tal como"), proporcionados en la presente, pretende meramente iluminar mejor la invención, y no presenta una limitación sobre el alcance de la invención reivindicada de otra manera.

- 30 El término "compuestos de la presente invención" (a menos que se identifiquen específicamente de otra manera) se refiere a los compuestos de la fórmula (I), a los compuestos de los Ejemplos, a las sales farmacéuticamente aceptables de estos compuestos, y/o a los hidratos o solvatos de estos compuestos, así como, a todos los estereoisómeros (incluyendo diaestereoisómeros y enantiómeros), tautómeros y compuestos isotópicamente marcados (incluyendo deuterio).

- 35 Los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de las enfermedades, condiciones y trastornos modulados mediante la inhibición de PI3Ks Clase I y de la enzima mTOR; en consecuencia, los compuestos de la presente invención (incluyendo las composiciones y los procesos utilizados en la misma) se pueden utilizar en la elaboración de un medicamento para las aplicaciones terapéuticas descritas en la presente. Por consiguiente, otra realización de la presente invención es una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. En otra realización de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 45 Una formulación típica se prepara mediante la mezcla de un compuesto de la presente invención, y un vehículo, diluyente o excipiente. Los vehículos, diluyentes y excipientes adecuados son bien conocidos por los expertos en este campo, e incluyen materiales tales como carbohidratos, ceras, polímeros solubles y/o hinchables en agua, materiales hidrofílicos o hidrófobos, gelatina, aceites, solventes, agua, y similares. El vehículo, diluyente o excipiente particular utilizado dependerá del medio y propósito para el cual se esté aplicando el compuesto de la presente invención. Los solventes se seleccionan en general basándose en los solventes reconocidos por las personas expertas en la materia como seguros (GRAS) para administrarse a un mamífero. En general, los solventes seguros son los solventes acuosos no tóxicos, tales como agua y otros solventes no tóxicos que sean solubles o miscibles en agua. Los solventes acuosos adecuados incluyen agua, etanol, propilenglicol, polietileno-glicoles (por ejemplo, PEG400, PEG300), etc. y mezclas de los mismos. Las formulaciones también pueden incluir uno o más reguladores, agentes estabilizantes, surfactantes, agentes humectantes, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservadores, antioxidantes, agentes opacantes, derrapantes, auxiliares de procesamiento, colorantes, edulcorantes, agentes perfumantes, agentes saborizantes y otros aditivos conocidos para proporcionar

una presentación elegante del fármaco (es decir, un compuesto de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo) o para ayudar en la elaboración del producto farmacéutico (es decir, del medicamento).

Las formulaciones se pueden preparar empleando los 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 solvente adecuado en la presencia de uno o más de los excipientes. 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.

La composición (o formulación) farmacéutica para su aplicación se puede empacar en una variedad de formas dependiendo del método empleado para administrar el fármaco. En términos generales, un artículo para distribución incluye un recipiente que tenga depositada en el mismo la formulación farmacéutica en una forma apropiada. Los recipientes adecuados son bien conocidos por los expertos en este campo, e incluyen materiales tales como frascos (de plástico y vidrio), bolsitas, ampolletas, 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 paquete. En adición, el recipiente tiene depositada en el mismo una etiqueta que describe el contenido del recipiente. La etiqueta también puede incluir las advertencias apropiadas.

En una realización, la invención se refiere al tratamiento de enfermedades proliferativas celulares, tales como tumor y/o crecimiento de células cancerosas mediado por PI3K y/o mTOR. Las enfermedades pueden incluir aquéllas que muestran una sobre-expresión o amplificación de PI3K alfa, Rheb, la mutación somática de PIK3CA, o mutaciones de la línea germinal, o la mutación somática de PTEN, TSC1, TSC2, o mutaciones y translocalización de p85α que sirve para sobre-regular el complejo p85-p110. En particular, los compuestos son útiles en el tratamiento de cánceres humanos o animales (por ejemplo, de murino), incluyendo, por ejemplo, sarcoma; cáncer pulmón; de bronquios; de próstata; de mama (incluyendo cánceres de mama esporádicos, y a los que padecen de enfermedad de Cowden); de páncreas; cáncer gastrointestinal; de colon; de recto; carcinoma de colon; adenoma colo-rectal; de tiroides; de hígado; de conducto biliar intrahepático; hepatocelular; de glándula suprarrenal; de estómago; gástrico; glioma; glioblastoma; endometrial; melanoma; de riñón; de pelvis renal; de vejiga urinaria; de cuerpo uterino; de cérvix uterino; de vagina; de ovario; mieloma múltiple; de esófago; una leucemia; leucemia mielógena aguda; leucemia mielógena crónica; leucemia linfocítica; leucemia mieloide; de cerebro; un carcinoma del cerebro; de cavidad oral y faringe; de laringe; de intestino delgado; linfoma no de Hodgkin; melanoma; adenoma de colon vellosa; una neoplasia; una neoplasia de carácter epitelial; linfomas; un carcinoma mamario; carcinoma de células basales; carcinoma de células escamosas; queratosis actínica; enfermedades tumorales, incluyendo tumores sólidos; un tumor de cuello o cabeza; policitemia vera; trombocitemia esencial; mielofibrosis con metaplasia mieloide; y enfermedad de Waldenström.

En otras realizaciones, la condición o el trastorno (por ejemplo, mediado por PI3K) se selecciona a partir del grupo que consiste en: policitemia vera, trombocitemia esencial, mielofibrosis con metaplasia mieloide, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), síndrome de enfermedad respiratoria de adultos (ARDS), síndrome de Löffler, neumonía eosinofílica, infestación parasitaria (en particular de metazoarios) (incluyendo eosinofilia tropical), aspergilosis broncopulmonar, poliarteritis nodosa (incluyendo síndrome de Churg-Strauss), granuloma eosinofílico, trastornos relacionados con los eosinófilos que afecten a las vías respiratorias, ocasionados por reacción a fármacos, soriasis, dermatitis por contacto, dermatitis atópica, alopecia areata, eritema multiforme, dermatitis herpetiforme, esclerodermia, vitiligo, angitis por hiper-sensibilidad, urticaria, penfigoide bulloso, lupus eritematoso, pénfigo, epidermolisis bullosa adquirida, trastornos hematológicos autoinmunes (por ejemplo, anemia hemolítica, anemia aplásica, anemia de glóbulos rojos puros, y trombocitopenia idiopática), lupus eritematoso sistémico, policondritis, esclerodermia, granulomatosis de Wegener, dermatomiositis, hepatitis activa crónica, miastenia grave, síndrome de Steven-Johnson, prurito idiopático, enfermedad inflamatoria autoinmune del intestino (por ejemplo, colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn), oftalmopatía endocrina, enfermedad de Graves, sarcoidosis, alveolitis, neumonitis por hiper-sensibilidad crónica, esclerosis múltiple, cirrosis biliar primaria, uveítis (anterior y posterior), fibrosis pulmonar intersticial, artritis soriática, glomerulonefritis, enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, hipertensión, trombosis venosa profunda, embolia, infarto de miocardio, angina inestable, tromboembolia, embolia pulmonar, enfermedades trombolíticas, isquemia arterial aguda, oclusiones trombóticas periféricas, y enfermedad de arterias coronarias, lesiones por reperfusión, retinopatía, tal como retinopatía diabética o retinopatía inducida por oxígeno hiperbárico, y condiciones caracterizadas por una presión intraocular elevada o por secreción del humor acuoso ocular, tales como glaucoma.

Los síndromes adicionales con un vínculo molecular establecido o potencial a la mala regulación de la actividad de cinasa mTOR se describen, por ejemplo, en "K. Inoki y colaboradores; Disregulation of the TSC-mTOR pathway in human disease, Nature Genetics, volumen 37, 19-24"; "D.M. Sabatini; mTOR and cancer: insights into a complex relationship, Nature Reviews, volumen 6, 729-734"; y en "B.T. Hennessy y colaboradores; Exploiting the PI3K/Akt pathway for cancer drug discovery, Nature Reviews, volumen 4, 988-1004", y son como sigue:

- Rechazo de trasplante de órganos o tejidos, por ejemplo, para el tratamiento de receptores de, por ejemplo,

trasplantes de corazón, pulmón, corazón-pulmón combinados, hígado, riñón, páncreas, piel o córnea; enfermedad del injerto contra el huésped, tal como después de trasplante de médula ósea;

- Restenosis;
- Esclerosis tuberosa;
- 5 • Linfangioleiomiomatosis;
- Retinitis pigmentosa y otros trastornos degenerativos retinales;
- Enfermedades autoinmunes, incluyendo encefalomiелitis, diabetes mellitus dependiente de insulina, lupus, dermatomiositis, artritis y enfermedades reumáticas;
- Leucemia linfoblástica aguda resistente a esteroides;
- 10 • Enfermedades fibróticas, incluyendo esclerodermia, fibrosis pulmonar, fibrosis renal, fibrosis quística;
- Hipertensión pulmonar;
- Inmunomodulación;
- Esclerosis múltiple;
- Síndrome de VHL;
- 15 • Complejo de Carney;
- Poliposis adenomatosa familiar;
- Síndrome de poliposis juvenil;
- Síndrome de Birt-Hogg-Duke;
- Cardiomiopatía hipertrófica familiar;
- 20 • Síndrome de Wolf-Parkinson-White;
- Trastornos neurodegenerativos, tales como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, y demencias causadas por mutaciones tau, ataxia espinocerebelar tipo 3, enfermedad de neuronas motoras causada por mutaciones de SOD1, lipofuscinosis ceroides neuronales/enfermedad de Batten (neurodegeneración pediátrica);
- 25 • Degeneración macular húmeda y seca;
- Consunción muscular (atrofia, caquexia), y miopatías, tales como enfermedad de Danon;
- Infecciones bacterianas y virales, incluyendo M. tuberculosis, estreptococos del grupo A, HSV tipo I, infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH);
- Neurofibromatosis, incluyendo Neurofibromatosis tipo 1; y
- 30 • Síndrome de Peutz-Jeghers, enfermedad Cowden.

Los compuestos con una actividad inhibidora sobre mTORC1 han mostrado un beneficio en la inmunomodulación y en el tratamiento de las enfermedades proliferativas, tales como carcinoma de células renales avanzado o los trastornos asociados con la mutación de la línea germinal de Tubero-Esclerosis (TSC).

- 35 La inhibición catalítica de la actividad de cinasa de Ser/Thr mTOR o de la actividad de las cinasas PI3 Clase I, y en particular de la inhibición doble de las cinasas PI3 Clase I y la cinasa mTOR, puede ser útil para el tratamiento de las

enfermedades dependientes de la senda de PI3K/Akt/mTOR. Recientemente se ha descrito la eficacia de un inhibidor doble de cinasa PI3 / mTOR en el glioma maligno (Cancer Cell 9, 341 – 349).

Para los usos anteriores, la dosificación requerida, desde luego, variará dependiendo del modo de administración, de la condición particular que se vaya a tratar, y del efecto deseado. En general, se indica que se obtienen resultados satisfactorios sistémicamente en dosificaciones diarias de aproximadamente 0.03 a aproximadamente 100.0 miligramos/kilogramo de peso corporal, por ejemplo, de aproximadamente 0.03 a aproximadamente 10.0 miligramos/kilogramo de peso corporal. Una dosificación diaria indicada en el mamífero superior, por ejemplo, en los seres humanos, está en el intervalo de aproximadamente 0.5 miligramos a aproximadamente 3 gramos, por ejemplo, de aproximadamente 5 miligramos a aproximadamente 1.5 gramos, convenientemente administrados, por ejemplo, en dosis divididas hasta cuatro veces al día o en una forma retardada. Las formas de dosificación unitaria adecuadas para su administración oral comprenden desde aproximadamente 0.1 hasta aproximadamente 500 miligramos, por ejemplo, de aproximadamente 1.0 a aproximadamente 500 miligramos de ingrediente activo

En términos generales, los compuestos de la presente invención se administrarán como composiciones farmacéuticas mediante cualquiera de las siguientes vías: administración oral, sistémica (por ejemplo, transdérmica, intranasal, o mediante supositorio), o parenteral (por ejemplo, intramuscular, intravenosa, o subcutánea). La forma de administración preferida es la oral utilizando un régimen de dosificación diaria conveniente que se pueda ajustar de acuerdo con el grado del padecimiento. Las composiciones pueden tomar la forma de tabletas, píldoras, cápsulas, semi-sólidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, soluciones, suspensiones, elixires, aerosoles, o cualesquiera otras composiciones apropiadas. Otra forma de administración preferida de los compuestos de la presente invención es la inhalación. Éste es un método efectivo para suministrar un agente terapéutico directamente al tracto respiratorio.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, como se indica anteriormente. Estas sales se pueden preparar de una manera convencional y exhiben el mismo orden de actividad que los compuestos libres.

En consecuencia, la invención también proporciona:

- un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para utilizarse como un medicamento, por ejemplo, en cualquiera de los métodos como se indican en la presente.

- un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para utilizarse como un producto farmacéutico, por ejemplo, en cualquiera de los métodos como se indican en la presente, en particular para el uso en una o más enfermedades mediadas por la cinasa de fosfatidil-inositol-3. En una realización, se proporciona un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para utilizarse en el tratamiento o en la prevención de cáncer o de un trastorno neurodegenerativo. En otra realización, el trastorno neurodegenerativo es enfermedad de Parkinson, de Huntington, o de Alzheimer. En todavía otra realización, el trastorno neurodegenerativo es enfermedad de Huntington.

- el uso de un compuesto de la presente invención, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una o más enfermedades mediadas por la cinasa de fosfatidil-inositol-3. En una realización, se proporciona el uso de un compuesto de la presente invención, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento o la prevención de cáncer o de un trastorno neurodegenerativo. En otra realización, el trastorno neurodegenerativo es enfermedad de Parkinson, de Huntington, o de Alzheimer. En todavía otra realización, el trastorno neurodegenerativo es enfermedad de Huntington.

La PI3K sirve como un nodo de segundo mensajero que integra las sendas de señalización paralelas, está surgiendo una evidencia de que la combinación de un inhibidor de PI3K con inhibidores de otras sendas, será útil en el tratamiento de cáncer y enfermedades proliferativas en los humanos. Aproximadamente del 20 al 30 por ciento de los cánceres de mama humanos sobre-expresan Her-2/neu-ErbB2, el objetivo para el fármaco trastuzumab. Aunque el trastuzumab ha demostrado respuestas durables en algunos pacientes que expresan Her2/neu-ErbB2, solamente responde un subconjunto de estos pacientes. Otros estudios han indicado que este índice de respuesta limitado puede ser sustancialmente mejorado mediante la combinación de trastuzumab con inhibidores de PI3K o de la senda de PI3K/AKT (Chan y colaboradores, *Breast Can. Res. Treat.* 91: 187 (2005), Woods Ignatoski y colaboradores, *Brit. J. Cancer* 82: 666 (2000), Nagata y colaboradores, *Cancer Cell* 6: 117 (2004)).

Una variedad de malignidades humanas expresan mutaciones activadoras o niveles incrementados de Her1/EGFR, y se ha desarrollado un número de anticuerpos e inhibidores de moléculas pequeñas contra esta cinasa de tirosina receptora, incluyendo tarceva, gefitinib y erbitux. Sin embargo, aunque los inhibidores de EGFR demuestran actividad anti-tumoral en ciertos tumores humanos (por ejemplo, NSCLC), fracasan para aumentar la supervivencia global del paciente, en todos los pacientes con tumores que expresan EGFR. Esto se puede racionalizar por el hecho de que muchos objetivos corriente abajo de Her1/EGFR son mutados o desregulados a altas frecuencias en una variedad de malignidades, incluyendo la senda de PI3K/Akt. Por ejemplo, el gefitinib inhibe el crecimiento de

- una línea celular de adenocarcinoma en los ensayos *in vitro*. No obstante, se pueden seleccionar sub-clones de estas líneas celulares, que sean resistentes al gefitinib, que demuestran una mayor activación de la senda de PI3/Akt. La disminución o inhibición de esta senda hace que los sub-clones resistentes sean sensibles al gefitinib (Kokubo y colaboradores, *Brit. J. Cancer* 92: 1711 (2005)). Adicionalmente, en un modelo de cáncer de mama *in vitro* con una línea celular que aloja la mutación PTEN que sobre-expresa la inhibición de EGFR tanto de la senda de PI3/Akt como del EGFR, se produjo un efecto sinérgico (She y colaboradores, *Cancer Cell* 8: 287-297 (2005)). Estos resultados indican que la combinación de gefitinib y los inhibidores de la senda de PI3/Akt sería una estrategia terapéutica atractiva en el cáncer.
- La combinación de AEE778 (un inhibidor de Her-2/neu/ErbB2, VEGFR y EGFR), y RAD001 (un inhibidor de mTOR, un objetivo corriente abajo de Akt) produjo una mayor eficacia combinada que cualquier agente solo en un modelo de xenoinjerto de glioblastoma (Goudar y colaboradores, *Mol. Cancer. Ther.* 4: 101-112 (2005)).
- Los antiestrógenos, tales como tamoxifeno, inhiben el crecimiento de cáncer de mama a través de la inducción del paro del ciclo celular que requiere de la acción del inhibidor del ciclo celular p27Kip. Recientemente, se ha demostrado que la activación de la senda de cinasa Ras-Raf-MAP altera el estado de fosforilación de p27Kip, de tal manera que se atenúa su actividad inhibidora para detener el ciclo celular, contribuyendo de esta manera a la resistencia al antiestrógeno (Donovan, y colaboradores, *J. Biol. Chem.* 276: 40888, (2001)). Como es reportado por Donovan y colaboradores, la inhibición de la señalización de MAPK a través del tratamiento con el inhibidor de MEK revirtió el estado de fosforilación aberrante del p27 en el cáncer refractario a hormonas de las líneas celulares de mama, y al hacerlo de esta manera, restableció la sensibilidad a hormonas. De una manera similar, la fosforilación de p27Kip mediante Akt también abroga su papel para detener el ciclo celular (Viglietto y colaboradores, *Nat Med.* 8: 1145 (2002)).
- De conformidad con lo anterior, en un aspecto adicional, los compuestos de la fórmula I pueden ser útiles en el tratamiento de cánceres dependientes de hormonas, tales como los cánceres de mama y de próstata. Mediante este uso, se tiene como objetivo revertir la resistencia a hormonas que se ve comúnmente en estos cánceres con los agentes contra el cáncer convencionales.
- En los cánceres hematológicos, tales como la leucemia mielógena crónica (CML), la translocalización cromosómica es responsable de la cinasa de tirosina BCR-Abl constitutivamente activada. Los pacientes afligidos responden al imatinib, un inhibidor de cinasa de tirosina de moléculas pequeñas, como un resultado de la inhibición de la actividad de cinasa Abl. Sin embargo, muchos pacientes con la enfermedad en etapa avanzada responden al imatinib inicialmente, pero luego tienen recurrencia posteriormente debido a las mutaciones que confieren resistencia en el dominio de cinasa Abl. Los estudios *in vitro* han demostrado que BCR-Abl emplea la senda de cinasa Ras-Raf para provocar sus efectos. En adición, la inhibición de más de una cinasa en la misma senda proporciona una protección adicional contra las mutaciones que confieren resistencia.
- De conformidad con lo anterior, en otro aspecto, los compuestos de la presente invención se utilizan en combinación con cuando menos un agente adicional seleccionado a partir del grupo de los inhibidores de cinasa, tales como Gleevec®, en el tratamiento de los cánceres hematológicos, tales como leucemia mielógena crónica (CML). Mediante este uso, se tiene como objetivo revertir o prevenir la resistencia al cuando menos un agente adicional.
- Debido a que la activación de la senda de PI3/Akt impulsa la sobrevivencia celular, la inhibición de la senda en combinación con terapias que impulsan la apoptosis en las células de cáncer, incluyendo radioterapia y quimioterapia, dará como resultado mejores respuestas (Ghobrial y colaboradores, *CA Cancer J. Clin* 55: 178-194 (2005)). Como un ejemplo, la combinación del inhibidor de cinasa de PI3 con carboplatina demostró efectos sinérgicos en los ensayos *in vitro* tanto de proliferación como de apoptosis, así como una eficacia tumoral *in vivo* en un modelo de xenoinjerto de cáncer de ovario (Westfall y Skinner, *Mol. Cancer Ther.* 4: 1764-1771 (2005)).
- En adición al cáncer y a las enfermedades proliferativas, existe una evidencia acumulativa de que los inhibidores de las cinasas PI3 Clases 1A y 1B serían terapéuticamente útiles en otras áreas de enfermedad. Se ha demostrado que la inhibición de p110 β , el producto de isoforma PI3K del gen PIK3CB, está involucrada en la activación de las plaquetas inducida por desgarre (Jackson y colaboradores, *Nature Medicine* 11: 507-514 (2005)). Por consiguiente, un inhibidor de PI3K que inhiba p110 β sería útil como un solo agente o en combinación en la terapia anti-trombótica. La isoforma p110 δ , el producto del gen PIK3CD, es importante en la función y diferenciación de las células-B (Clayton y colaboradores, *J. Exp. Med.* 196: 753-763 (2002)), en las respuestas de antígeno dependientes e independientes de células-T (Jou y colaboradores, *Mol. Cell. Biol.* 22: 8580-8590 (2002)), y en la diferenciación de los mastocitos (Ali y colaboradores, *Nature* 431: 1007-1011 (2004)). Por consiguiente, se espera que los inhibidores de p110 δ sean útiles en el tratamiento de las enfermedades autoinmunes impulsadas por las células-B y en asma. Finalmente, la inhibición de p110 γ , el producto de isoforma del gen PIK3CG, da como resultado una respuesta de células-T reducida, pero no de células-B (Reif y colaboradores, *J. Immunol.* 173: 2236-2240 (2004)), y su inhibición demuestra eficacia en modelos de enfermedades autoinmunes en animales (Camps y colaboradores, *Nature Medicine* 11: 936-943 (2005), Barber y colaboradores, *Nature Medicine* 11: 933-935 (2005)).

La invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden cuando menos un compuesto de la presente invención, junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable adecuado para su administración, a un sujeto humano o animal, ya sea solo o junto con otros agentes contra el cáncer.

- La invención proporciona además métodos para el tratamiento de sujetos humanos o animales que sufran de una enfermedad proliferativa celular, tal como cáncer. La invención, por consiguiente, proporciona métodos para el tratamiento de un sujeto humano o animal que necesite dicho tratamiento, el cual comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención, ya sea solo o bien en combinación con uno o más agentes diferentes contra el cáncer. En particular, las composiciones se formularán ya sea juntos como una combinación terapéutica o bien se administrarán por separado. Los agentes contra el cáncer adecuados para utilizarse con un compuesto de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, uno o más compuestos seleccionados a partir del grupo que consiste en inhibidores de cinasa, anti-estrógenos, anti-andrógenos, otros inhibidores, fármacos quimioterapéuticos para cáncer, agentes alquilantes, agentes quelantes, modificadores de la respuesta biológica, vacunas de cáncer, agentes para terapia anti-sentido como se estipulan en seguida:
- 5 A. Inhibidores de cinasa: Los inhibidores de cinasa para utilizarse como agentes contra el cáncer en conjunto con el compuesto de la presente invención, incluyen los inhibidores de las cinasas receptoras del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), tales como quinazolininas de molécula pequeña, por ejemplo gefitinib (Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números US 5457105, US 5616582, y US 5770599), ZD-6474 (WO 01/32651), erlotinib (Tarceva®, US 5,747,498 y WO 96/30347), y lapatinib (US 6,727,256 y WO 02/02552); los inhibidores de cinasa receptora del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), incluyendo SU-11248 (WO 01/60814), SU 5416 (US 5,883,113 y WO 99/61422), SU 6668 (US 5,883,113 y WO 99/61422), CHIR-258 (US 6,605,617 y US 6,774,237), vatalanib o PTK-787 (US 6,258,812), VEGF-Trap (WO 02/57423), B43-Genisteína (WO-09606116), fenretinida (p-hidroxi-fenil-amina del ácido retinoico) (US 4,323,581), IM-862 (WO 02/62826), bevacizumab o Avastin® (WO 94/10202), KRN-951, 3-[5-(metil-sulfonil-piperidin-metil)-indolil]-quinolona, AG-13736 y AG-13925, pirrolo-[2,1-f][1,2,4]-triazinas, ZK-304709, Veglin®, VMDA-3601, EG-004, CEP-701 (US 5,621,100), Cand5 (WO 04/09769); inhibidores de cinasa de tirosina Erb2, tales como pertuzumab (WO 01/00245), trastuzumab, y rituximab; inhibidores de cinasa de proteína Akt, tales como RX-0201; inhibidores de cinasa C de proteína (PKC), tales como LY-317615 (WO 95/17182), y perifosina (US 2003171303); inhibidores de cinasa Raf/Map/MEK/Ras, incluyendo sorafenib (BAY 43-9006), ARQ-350RP, LErafAON, BMS-354825 AMG-548, y otros que se dan a conocer en la
 - 10 Publicación Internacional Número WO 03/82272; inhibidores de cinasa receptora del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR); inhibidores de cinasa dependiente de las células (CDK), incluyendo CYC-202 o roscovitina (WO 97/20842 y WO 99/02162); inhibidores de cinasa receptora del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), tales como CHIR-258, mAb 3G3, AG-13736, SU-11248 y SU6668; e inhibidores de cinasa Bcr-Abl, y proteínas de fusión, tales como STI-571 o Gleevec® (imatinib).
 - 15 B. Antiestrógenos: Los agentes con dirección a estrógeno para utilizarse en la terapia contra el cáncer en conjunto con el compuesto de la presente invención incluyen los moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (SERMs) incluyendo tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno; los inhibidores de aromatasa incluyendo Arimidex® o anastrozol; y los subreguladores de los receptores de estrógeno (ERD), incluyendo Faslodex® o fulvestrant.
 - 20 C. Antiandrógenos: Los agentes con dirección a andrógeno para utilizarse en la terapia contra el cáncer en conjunto con el compuesto de la presente invención incluyen flutamida, bicalutamida, finasterida, amino-glutetamida, quetoconazol, y corticosteroides.
 - 25 D. Otros Inhibidores: Otros inhibidores para utilizarse como agentes contra el cáncer en conjunto con el compuesto de la presente invención incluyen a los inhibidores de farnesil-transferasa de proteína, incluyendo tipifarnib o R-115777 (US 2003134846 y WO 97/21701), BMS-214662, AZD-3409, y FTI-277; inhibidores de topoisomerasa, incluyendo merbarona y diflomotecano (BN-80915); inhibidores de proteína de huso de quinesina mitótica (KSP), incluyendo SB-743921 y MKI-833; moduladores de proteasoma, tales como bortezomib o Velcade® (US 5,780,454), XL-784; moduladores de HSP90, incluyendo AUY922; e inhibidores de ciclo-oxigenasa 2 (COX-2), incluyendo fármacos anti-inflamatorios no esteroideos I (NSAIDs).
 - 30 E. Fármacos quimioterapéuticos de cáncer: Los agentes quimioterapéuticos de cáncer particulares para utilizarse como agentes contra el cáncer en conjunto con el compuesto de la presente invención incluyen anastrozol (Arimidex®), bicalutamida (Casodex®), sulfato de bleomicina (Blenoxane®), busulfano (Myleran®), inyección de busulfano (Busulfex®), capecitabina (Xeloda®), N4-pentoxi-carbonil-5-desoxi-5-fluorocitidina, carboplatina (Paraplatin®), carmustina (BiCNU®), clorambucil (Leukeran®), cisplatina (Platinol®), cladribina (Leustatin®), ciclofosfamida (Cytosan® o Neosar®), citarabina, citosina-arabina (Cytosar-U®), inyección de liposoma de citarabina (DepoCyt®), dacarbazina (DTIC-Dome®), dactinomicina (Actinomycin D, Cosmegen), clorhidrato de daunorrubicina (Cerubidine®), inyección de liposoma de citrato de daunorrubicina (Daunoxome®), dexametasona, docetaxel (Taxotere®), clorhidrato de doxorubicina (Adriamycin®, Rubex®), etoposida (Vepesid®), fosfato de fludarabina (Fludara®), 5-fluoro-uracilo (Adrucil®, Efudex®), flutamida (Eulexin®), tezacitibina, Gemcitabina (difluoro-desoxicitidina), hidroxiurea (Hidrea®), Idarubicina (Idamycin®), ifosfamida (IFEX®), irinotecano (Camptosar®), L-
 - 35
 - 40
 - 45
 - 50
 - 55

asparaginasa (ELSPAR®), leucovorina-calcio, melfalano (Alkeran®), 6-mercapto-purina (Purinethol®), metotrexato (Folex®), mitoxantrona (Novantrone®), milotarg, paclitaxel (Taxol®), Phoenix (Itrio 90/MX-DTPA), pentostatina, polifeprosano 20 con implante de carmustina (Gliadel®), citrato de tamoxifeno (Nolvadex®), teniposida (Vumon®), 6-tioguanina, tiotepa, tirapazamina (Tirazone®), clorhidrato de topotecano para inyección (Hycamptin®), vinblastina (Velban®), vincristina (Oncovin®), y vinorelbina (Navelbine®).

F. Agentes alquilantes: Los agentes alquilantes para utilizarse en conjunto con el compuesto de la presente invención incluyen VNP-40101M o cloretizina, oxaliplatina (US 4,169,846, WO 03/24978 y WO 03/04505), glufosfamida, mafosfamida, etopofos (US 5,041,424), prednimustina; treosulfano; busulfano; irofluveno (acilfluveno); penclomedina; pirazoloacridina (PD-115934); O6-bencilguanina; decitabina (5-aza-2-desoxicitidina); brostalicina; mitomicina C (MitoExtra); TLK-286 (Telcyta®); temozolomida; trabectedina (US 5,478,932); AP-5280 (formulación de platinato de cisplatina); porfiriomicina; y clearazida (mecloretamina).

G. Agentes quelantes: Los agentes quelantes para utilizarse en conjunto con el compuesto de la presente invención incluyen tetratiomolibdato (WO 01/60814); RP-697; T84.66 Quimérico (cT84.66); gadofosveset (Vasovist®); desferoxamina; y bleomicina, opcionalmente en combinación con electroporación (EPT).

H. Modificadores de la respuesta biológica: Los modificadores de la respuesta biológica, tales como los inmunomoduladores, para utilizarse en conjunto con el compuesto de la presente invención, incluyen estaurosporina y análogos macrocíclicos de la misma, incluyendo UCN-01, CEP-701 y midostaurina (véase WO 02/30941, WO 97/07081, WO 89/07105, US 5,621,100, WO 93/07153, WO 01/04125, WO 02/30941, WO 93/08809, WO 94/06799, WO 00/27422, WO 96/13506 y WO 88/07045); escualamina (WO 01/79255); DA-9601 (WO 98/04541 y US 6,025,387); alemtuzumab; interferones (por ejemplo, IFN-a, IFN-b etc.); interleucinas, específicamente IL-2 o aldesleucina, así como IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, y las variantes biológicas de las mismas que tengan secuencias de aminoácidos mayores del 70 por ciento de la secuencia humana nativa; altretamina (Hexalen®); SU 101 o leflunomida (WO 04/06834 y US 6,331,555); imidazoquinolinas, tales como resiquimod e imiquimod (US 4,689,338, 5,389,640, 5,268,376, 4,929,624, 5,266,575, 5,352,784, 5,494,916, 5,482,936, 5,346,905, 5,395,937, 5,238,944, y 5,525,612); y SMIPs, incluyendo benzazoles, antraquinonas, tiosemicarbazonas, y triptantrinas (WO 04/87153, WO 04/64759, y WO 04/60308).

I. Vacunas de cáncer: Las vacunas contra el cáncer para utilizarse en conjunto con el compuesto de la presente invención incluyen Avicine® (*Tetrahedron Lett.* 26:2269-70 (1974)); oregovomab (OvaRex®); Theratope® (STn-KLH); Vacunas de Melanoma; la serie GI-4000 (GI-4014, GI-4015, y GI-4016), que se dirigen a cinco mutaciones en la proteína Ras; GlioVax-1; MelaVax; Advexin® o INGN-201 (WO 95/12660); Sig/E7/LAMP-1, que codifica HPV-16 E7; Vacuna Mage-3 o M3TK (WO 94/05304); HER-2VAX; ACTIVE, que estimula las células-T específicas para tumores; vacuna de cáncer GM-CSF; y vacunas basadas en monocitogenes de *Listeria*.

J. Terapia antisentido: Los agentes contra el cáncer para utilizarse en conjunto con el compuesto de la presente invención también incluyen composiciones antisentido, tales como AEG-35156 (GEM-640); AP-12009 y AP-11014 (oligonucleótidos anti-sentido específicos de TGF-beta2); AVI-4126; AVI-4557; AVI-4472; oblimersen (Genasense®); JFS2; aprinocarsen (WO 97/29780); GTI-2040 (oligonucleótido anti-sentido de ARNm de reductasa de ribonucleótido R2) (WO 98/05769); GTI-2501 (WO 98/05769); oligodesoxinucleótidos antisentido de c-Raf encapsulados en liposomas (LErafAON) (WO 98/43095); y Sirna-027 (ARNm de VEGFR-1 de dirección terapéutica basado en el ARNi).

Los compuestos de la presente invención también se pueden combinar en una composición farmacéutica con sustancias de fármaco broncodilatadoras y antihistamínicas. Estos fármacos broncodilatadores incluyen a los agentes anticolinérgicos o antimuscarínicos, en particular bromuro de ipratropio, bromuro de oxitropio, y bromuro de tiotropio, y agonistas del adreno-receptor β -2, tales como salbutamol, terbutalina, salmeterol, carmoterol, milveterol y, en especial, formoterol o indacaterol. Las sustancias de fármaco antihistamínicas coterapéuticas incluyen clorhidrato de cetirizina, fumarato de clemastina, prometazina, loratadina, desloratadina, difenhidramina, y clorhidrato de fexofenadina.

La invención proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la presente invención, y uno o más compuestos sean útiles para el tratamiento de una enfermedad trombolítica, una enfermedad cardíaca, embolia, etc. Estos compuestos incluyen aspirina, una estreptocinasa, un activador de plasminógeno del tejido, una urocinasa, un anticoagulante, fármacos anti-plaquetarios (por ejemplo, PLAVIX; bisulfato de clopidogrel), una estatina (por ejemplo, LIPITOR o Atorvastatina-calcio), ZOCOR (Simvastatina), CRESTOR (Rosuvastatina), etc.), un bloqueador Beta (por ejemplo, Atenolol), NORVASC (besilato de amlodipina), y un inhibidor de ACE (por ejemplo, lisinopril).

La invención proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la presente invención, y uno o más compuestos que sean útiles para el tratamiento de hipertensión. Estos compuestos incluyen a los inhibidores de ACE, agentes reductores de lípidos, tales como estatinas, LIPITOR (Atorvastatina-calcio), bloqueadores del canal de calcio, tales como NORVASC (besilato de amlodipina).

La invención proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la presente invención, y uno o más compuestos seleccionados a partir del grupo que consiste en fibratos, bloqueadores-beta, inhibidores de NEPI, antagonistas del receptor de angiotensina-2, e inhibidores de la acumulación de plaquetas.

5 La invención proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la presente invención, y un compuesto adecuado para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo artritis reumatoide. Este compuesto se puede seleccionar a partir del grupo que consiste en inhibidores de TNF- α , tales como anticuerpos monoclonales anti-TNF- α (tales como REMICADE, CDP-870) y D2E7 (HUMIRA) y moléculas de fusión de inmunoglobulina con el receptor de TNF (tales como ENBREL), inhibidores de IL-1, antagonistas de receptores o IL-1R α solubles (por ejemplo, KINERET o inhibidores de ICE), agentes anti-inflamatorios no esteroideos (NSSIDA), piroxicam, diclofenaco, naproxeno, flurbiprofeno, fenoprofeno, quetoprofeno, ibuprofeno, 10 fenamatos, ácido mefenámico, indometacina, sulindaco, apazona, pirazolonas, fenil-butazona, aspirina, inhibidores de COX-2 (tales como CELEBREX (celecoxib), PREXIGE (lumiracoxib)), inhibidores de metaloproteasa (de preferencia inhibidores selectivos de MMP-13), inhibidores de p2x7, inhibidores de α 2 α , NEUROTINA, pregabalina, metotrexato de dosis baja, leflunomida, hidroxicloroquina, d-penicilamina, auranofina, u oro parenteral u oral.

15 La invención proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la presente invención, y un compuesto adecuado para el tratamiento de osteoartritis. Este compuesto se puede seleccionar a partir del grupo que consiste en agentes anti-inflamatorios no esteroideos convencionales (posteriormente en la presente NSAIDs), tales como piroxicam, diclofenaco, ácidos propiónicos, tales como naproxeno, flurbiprofeno, fenoprofeno, quetoprofeno e ibuprofeno, fenamatos tales como ácido mefenámico, indometacina, sulindaco, 20 apazona, pirazolonas, tales como fenil-butazona, salicilatos tales como aspirina, inhibidores de COX-2 tales como celecoxib, valdecoxib, lumiracoxib y etoricoxib, analgésicos y terapias intra-articulares tales como corticosteroides y ácidos hialurónicos, tales como hialgano y synvisc.

La invención proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la presente invención, y un agente antiviral y/o un compuesto anti-sepsis. Este agente antiviral se puede seleccionar a partir del grupo que consiste en Viracept, AZT, aciclovir y famciclovir. El compuesto anti-sepsis se puede seleccionar a partir del grupo que consiste en Valant.

La invención proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la presente invención, y uno o más agentes seleccionados a partir del grupo que consiste en agentes para el CNS, tales como antidepresivos (sertralina), fármacos anti-Parkinsonianos (tales como deprenilo, L-dopa, Requip, Mirapex, 30 inhibidores de MAOB tales como selegina y rasagilina, inhibidores de comp, tales como Tasmar, inhibidores de A-2, inhibidores de la reabsorción de dopamina, antagonistas de NMDA, agonistas de Nicotina, agonistas de Dopamina, e inhibidores de sintasa de óxido nítrico neuronal).

La invención proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la presente invención, y uno o más fármacos contra la enfermedad de Alzheimer. Este fármaco contra la enfermedad de Alzheimer se puede seleccionar a partir del grupo que consiste en donepezil, tacrina, inhibidores de α 2 δ , 35 NEUROTINA, pregabalina, inhibidores de Cox-2, propentofilina, o metrifonato.

La invención proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la presente invención, y un agente contra la osteoporosis y/o un agente inmunosupresor. Estos agentes contra la osteoporosis se pueden seleccionar a partir del grupo que consiste en EVISTA (clorhidrato de raloxifeno), droloxifeno, 40 lasofoxifeno, o fosomax. Los agentes inmunosupresores se pueden seleccionar a partir del grupo que consiste en FK-506 y rapamicina.

En otro aspecto de las realizaciones preferidas, se proporcionan kits que incluyen uno o más compuestos de la presente invención, y un componente de combinación como se da a conocer en la presente. Los kits representativos incluyen un compuesto inhibidor de PI3K (por ejemplo, un compuesto de la presente invención), y un inserto de paquete u otra etiqueta que incluye instrucciones para el tratamiento de una enfermedad proliferativa celular mediante la administración de una cantidad inhibidora de PI3K de los compuestos.

La combinación de las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención en forma libre o en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, y que además comprenden un componente de combinación (ya sea en una forma unitaria de dosificación o bien como un kit de partes) en asociación con cuando 50 menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable, se pueden fabricar de una manera convencional mezclando con un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable con los ingredientes activos mencionados.

En consecuencia, la invención proporciona, en otros aspectos

▪ Una combinación, por ejemplo, para utilizarse en cualquiera de los métodos descritos en la presente, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente terapéutico, para su administración simultánea o en 55 secuencia.

- un producto que comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente terapéutico.
- 5 ▪ un producto que comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente terapéutico, como una preparación combinada para utilizarse en terapia, por ejemplo, para utilizarse en cualquiera de las terapias descritas en la presente. En una realización, la terapia es el tratamiento o la prevención de cáncer o de un trastorno neurodegenerativo. En otra realización, la terapia es el tratamiento o la prevención de enfermedad de Parkinson, de Huntington, o de Alzheimer. En todavía otra realización, la terapia es el tratamiento o la prevención de enfermedad de Huntington.
- 10 ▪ una composición farmacéutica combinada, la cual comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente terapéutico.
- una composición farmacéutica combinada la cual comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, otro agente terapéutico, y opcionalmente uno o más materiales portadores y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Esta composición farmacéutica combinada puede estar en la configuración de una forma unitaria de dosificación o como un kit de partes.
- 15 ▪ un método como se define anteriormente, el cual comprende la co-administración, por ejemplo, de una manera concomitante o en secuencia, de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente terapéutico, por ejemplo, como se indica anteriormente.
- 20 ▪ una combinación farmacéutica, por ejemplo, un kit, el cual comprende: a) un primer agente, el cual es un compuesto de la presente invención, como se da a conocer en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y b) otro agente terapéutico, por ejemplo, como se indica anteriormente; en donde este kit puede comprender instrucciones para su administración.

Los siguientes ejemplos de los compuestos de la presente invención ilustran la invención sin limitar su alcance. Los métodos para la preparación de estos compuestos se describen posteriormente en la presente.

25 EJEMPLOS

Abreviaturas

Ac/ac/Oac acetilo $\text{CH}_3\text{CO}-$

AcOEt/EA/EtOAc acetato de etilo

AcOH ácido acético

30 ACN/MeCN/ CH_3CN acetonitrilo

Biotage cromatografía por evaporación instantánea

brs singlete amplio

CDCl_3 cloroformo deuterado

CsF fluoruro de cesio

35 Cu(OAc) acetato de cobre(I)

d doblete

Da dalton

DAD-UV detección de arreglo de diodos ultravioleta / detector de arreglo de diodos ultravioleta

DCM/ CH_2Cl_2 dicloro-metano

40 deg grados

dt doblete triplete

DIPEA di-isopropil-etil-amina

DMA dimetil-acetamida

DMF dimetil-formamida

45 DMSO sulfóxido de dimetilo

- DMSO-d₆ sulfóxido de dimetilo deuterado
dppf 1,1'-bis-(difenil-fosfino)-ferroceno
e.g. por ejemplo
equiv equivalente
- 5 Et₂O etil-éter
EtOH etanol
Gilston/Prep-LC HPLC - cromatografía de líquidos (de alto rendimiento)
/HPLC de preparación
HPLC/LC cromatografía de líquidos de alto rendimiento / cromatografía de líquidos
- 10 hr/hrs horas
i-PrOH iso-propanol
KOAc acetato de potasio
L litros
LC cromatografía de líquidos
- 15 LC-MS cromatografía de líquidos-espectrometría de masas
LC-UV cromatografía de líquidos - con detección ultravioleta
MeOH metanol
CD₃OD metanol deuterado
m multiplete
- 20 MS espectrometría de masas
NMP N-metil-2-pirrolidona/metil-pirrolidona
RMN resonancia magnética nuclear
¹H RMN resonancia magnética nuclear de protones
Pd(OAc)₂ acetato de paladio(II)
- 25 PdCl₂(PPh₃)₂ cloruro de bis-(trifenil-fosfina)-paladio(II)
PdCl₂(dppf) cloruro de 1,1'-bis-(difenil-fosfino)-ferroceno-paladio(II)
PPh₃ trifenil-fosfina
RT/rt temperatura ambiente
s singlete
- 30 t triplete
TFA ácido trifluoro-acético
THF tetrahidrofurano
TLC cromatografía de capa delgada
UV ultravioleta
- 35 uW/MW fuente de calentamiento de microondas
%wt por ciento en peso
Métodos analíticos

RMN: Los espectros de protones se registran en un espectrómetro de ultra-protección Bruker 400 MHz, a menos que se observe de otra manera. Los cambios químicos se reportan en ppm en relación con metanol (δ 3.31), sulfóxido de dimetilo (DMSO) (δ 2.50), o cloroformo (δ 7.26). Una pequeña cantidad de la muestra seca (de 2 a 5 miligramos) se disuelve en un solvente deuterado apropiado (1 mililitro). El brillo se automatiza y los espectros se obtienen con 64 o más barridos.

LC/MS:

La muestra se disuelve en un solvente adecuado, tal como MeCN, DMSO, o MeOH, y se inyecta directamente en la columna utilizando el manejador de muestras automatizado. El análisis se hace empleando uno de los siguientes métodos:

10 Método 1: Los compuestos se analizan sobre una columna Inertsil ODS-3 (C18, 50 x 4.6 milímetros, 3 micras) con una elución en gradiente de 2 minutos (del 20 al 80 por ciento de acetonitrilo/ H₂O/formato de amonio 5mM), y una velocidad de flujo de 4 mililitros / minuto.

15 Método 2: Método de LC/MS GENERAL con fase móvil de ácido (ácido fórmico al 0.1 por ciento), y gradiente rápido. Espectros de masas por electroaspersión (+) y (-), cromatograma de DAD-UV de 200 a 400 nanómetros, rango de exploración de 120 a 1,500 Da. Gradiente: del 20 al 80 por ciento de MeCN/H₂O en 2 minutos (2 mililitros / minuto), inyección de 2 microlitros. Columna: Inertsil ODS3 C-18, de 3 centímetros x 33 milímetros x 3.0 micras, 40 grados C.

20 Método 3: Método de LC/MS GENERAL con fase móvil neutra (NH₄⁺HCOO⁻ 5 mM), y gradiente rápido (del 20 al 80 por ciento). Espectros de masas por electroaspersión (+) y (-), cromatograma de DAD-UV de 200 a 400 nanómetros, rango de exploración de 120 a 1,500 Da. Gradiente: del 20 al 80 por ciento de MeCN/H₂O en 2 minutos (2 mililitros / minuto), inyección de 2 microlitros. Columna: Inertsil ODS3 C-18, de 3 centímetros x 33 milímetros x 3.0 micras, 40 grados C.

25 Método 4: Método de LC/MS para compuestos NO POLARES (grasos) con fase móvil de ácido (ácido fórmico al 0.1 por ciento), y gradiente rápido (del 40 al 90 por ciento). Espectros de masas por electroaspersión (+) y (-), cromatograma de DAD-UV de 200 a 400 nanómetros, rango de exploración de 120 a 1,500 Da. Gradiente: del 40 al 90 por ciento de MeCN/H₂O en 2 minutos (2 mililitros / minuto), inyección de 2 microlitros. Columna: Inertsil C8-3, de 3 centímetros x 33 milímetros x 3.0 micras, 40 grados C.

30 Método 5: Método de LC/MS para compuestos NO POLARES (grasos) con fase móvil neutra (NH₄⁺HCOO⁻ 5 mM), y gradiente rápido (del 40 al 90 por ciento). Espectros de masas por electroaspersión (+) y (-), cromatograma de DAD-UV de 200 a 400 nanómetros, rango de exploración de 120 a 1,500 Da. Gradiente: del 40 al 90 por ciento de MeCN/H₂O en 2 minutos (2 mililitros / minuto), inyección de 2 microlitros. Columna: Inertsil C8-3, de 3 centímetros x 33 milímetros x 3.0 micras, 40 grados C.

35 Método 6: Método de LC/MS con gradiente de rango amplio (del 5 al 95 por ciento) con fase móvil de ácido (ácido fórmico al 0.1 por ciento). Espectros de masas por electroaspersión (+) y (-), cromatograma de DAD-UV de 200 a 400 nanómetros, rango de exploración de 120 a 1,500 Da. Gradiente: del 5 al 95 por ciento de MeCN/H₂O en 2 minutos (2 mililitros / minuto), inyección de 2 microlitros. Columna: Inertsil C8-3, de 3 centímetros x 33 milímetros x 3.0 micras, 40 grados C.

40 Método 7: Método de LC/MS con gradiente de rango amplio (del 5 al 95 por ciento) con fase móvil neutra (NH₄⁺HCOO⁻ 5 mM). Espectros de masas por electroaspersión (+) y (-), cromatograma de DAD-UV de 200 a 400 nanómetros, rango de exploración de 120 a 1,500 Da. Gradiente: del 5 al 95 por ciento de MeCN/H₂O en 2 minutos (2 mililitros / minuto), inyección de 2 microlitros. Columna: Inertsil C8-3, de 3 centímetros x 33 milímetros x 3.0 micras, 40 grados C.

45 Método 8: Método de LC/MS para compuestos POLARES con fase móvil de ácido (ácido fórmico al 0.1 por ciento), y gradiente lento (del 0 al 100 por ciento). Espectros de masas por electroaspersión (+) y (-), cromatograma de DAD-UV de 200 a 400 nanómetros, rango de exploración de 120 a 1,500 Da. Gradiente: del 0 al 100 por ciento de MeCN/H₂O en 2 minutos (2 mililitros / minuto), inyección de 2 microlitros. Columna: Inertsil ODS3 (C-18, de 3 centímetros x 33 milímetros x 3.0 micras, 40 grados C).

50 Método 9: Método de LC/MS para compuestos POLARES con fase móvil neutra (NH₄⁺HCOO⁻ 5 mM), y gradiente lento (del 0 al 100 por ciento). Espectros de masas por electroaspersión (+) y (-), cromatograma de DAD-UV de 200 a 400 nanómetros, rango de exploración de 120 a 1,500 Da. Gradiente: del 0 al 100 por ciento de MeCN/H₂O en 2 minutos (2 mililitros / minuto), inyección de 2 microlitros. Columna: Inertsil ODS3 (C-18, de 3 centímetros x 33 milímetros x 3.0 micras, 40 grados C).

Método 10: Los compuestos se analizan sobre una columna Inertsil ODS-3 (C8, de 30 milímetros x 3.0 milímetros, 3.0 micras) con una elución en gradiente de 2 minutos (del 5 al 90 por ciento de acetonitrilo/H₂O/formato de amonio 5 mM), y una velocidad de flujo de 2 mililitros / minuto.

Método 11: Los compuestos se analizan sobre una columna Inertsil ODS-3 (C8, de 30 milímetros x 3.0 milímetros, 3.0 micras) con una elución en gradiente de 2 minutos (del 5 al 90 por ciento de acetonitrilo/H₂O/ácido fórmico al 0.1 por ciento), y una velocidad de flujo de 2 mililitros / minuto.

La purificación mediante HPLC utiliza una columna C8 o C18 (30 x 100 milímetros, 5 micras, marca: Sunfire o XTerra). La muestra se disuelve en un solvente adecuado, tal como MeCN, DMSO, o MeOH (máximo 5 mililitros), y se inyecta directamente en la columna utilizando el manejador de muestras automatizado. La purificación se lleva a cabo con un gradiente apropiado empleando dos métodos (a menos que se observe de otra manera). El Método 1 consiste en TFA al 0.1 por ciento en el 5 por ciento al 95 por ciento de ACN en H₂O. El Método 2 consiste en NH₄OH 10 mM en el 5 por ciento al 95 por ciento de ACN en H₂O.

10 Síntesis de intermediarios de éster borónico

Los intermediarios de éster borónico utilizados en la preparación de los compuestos de la presente invención son cualquiera de aquéllos comercialmente disponibles, o se pueden preparar como se describe en la literatura, o de una manera análoga, o se pueden preparar como se describe posteriormente en la presente, o de una manera análoga.

Éster Borónico 1: 4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]-dioxaborolan-2-il)-1H-pirrólo-[2,3-b]-piridina

15 A una solución de 4-bromo-7-azaindol (0.48 gramos, 2.41 milimoles) en dioxano (12 mililitros), se le agregó bis-(pinacolato)-diboro, seguido por bis-(difeníl-fosfina)-ferroceno (0.067 gramos, 0.12 milimoles). La mezcla se desgasificó durante 20 minutos utilizando nitrógeno, seguido por la adición de catalizador de PdCl₂(dppf) (0.088 gramos, 0.12 milimoles). La suspensión se desgasificó durante 5 minutos adicionales. El frasco se selló y se colocó en un baño de aceite. La reacción se calentó a 120°C durante 16 horas. Después de completarse, la mezcla de
20 reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, la suspensión se filtró, y el solvente se removió bajo presión reducida. El producto crudo se purificó directamente sobre Biotage utilizando un gradiente del 0 al 100 por ciento de EtOAc/Heptano. Se hizo una purificación adicional utilizando HPLC de preparación (gradiente del 5 por ciento al 95 por ciento con el 3 por ciento de n-propanol/acetonitrilo sobre el 3 por ciento de n-propanol/agua), para proporcionar un sólido blanco (0.054 gramos, 9.2 por ciento) análisis de LC/MS empleando el método 7, masa (ES⁺) m/z 245.4 ¹H
25 RMN (CDCl₃) δ 9.03 (1H, brs), 8.24 (1H, d), 7.42 (1H, d), 7.30 (1H, d), 6.86 (1H,d), 1.31 (12H,s).

Éster Borónico 2: [2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]-dioxaborolan-2-il)-fenil]-metanol

El éster borónico se sintetizó empleando el procedimiento general descrito en el esquema 3. El compuesto se aisló en un 77 por ciento de rendimiento como un aceite amarillo. ¹H RMN (CD₃OD): δ 7.76 (1H, s), 7.67 (1H, d), 6.90 (1H, d), 4.62 (2H, s), 3.83 (3H, s), 1.32 (12H, s).

30 Éster Borónico 3: [3-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]-dioxaborolan-2-il)-fenil]-metanol

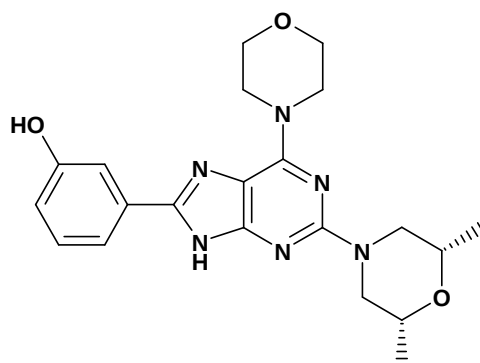
El éster borónico se sintetizó empleando el procedimiento general descrito en el esquema 3. El compuesto se aisló en un 27 por ciento de rendimiento como un sólido color café. ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 7.24 (1H, s), 7.01 (1H, s), 6.99 (1H, s), 5.18 (1H, m), 4.47 (2H, d), 3.75 (3H, s), 1.29 (12H, s).

Éster Borónico 4: BOC-3-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]-dioxaborolan-2-il)-bencilamina

35 A una solución de 3-bromo-bencil-amina (0.79 gramos, 4.24 milimoles), dicarbonato de ditertbutilo (1.82 gramos, 8.5 milimoles, 2.0 equivalentes) en 10 mililitros de CH₂Cl₂, se le agregó trietilamina (1.29 gramos, 12.7 milimoles, 3.0 equivalentes). Después de 2 horas de agitación, la reacción se interrumpió, y la solución se lavó con agua. La capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂. Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre MgSO₄. Después de la
40 remoción del solvente bajo presión reducida, el producto crudo se purificó utilizando cromatografía en columna por evaporación instantánea (Biotage, gradiente del 0 al 60 por ciento de EtOAc/Heptano). Entonces se sintetizó el éster borónico deseado empleando el procedimiento de acoplamiento general descrito en el esquema 3. El compuesto se aisló en un 59 por ciento de rendimiento como un sólido color café. ¹H RMN (CDCl₃): δ 7.61-7.62 (2H, m), 7.27-7.31 (1H, m), 7.24 (1H, t), 4.85 (1H,brs), 4.72 (2 H, brs), 1.37 (9H,s), 1.25 (12 H, s).

Ejemplo 1

45 Síntesis de 3-[2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenol



a) 2-cloro-6-morfolin-4-il-9H-purina

A una solución de 2,6-dicloro-9H-purina (1.2 gramos, 6.35 milimoles) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (5 mililitros), se le agregó morfolina (553 miligramos, 6.35 milimoles), seguida por di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.2 mililitros, 6.87 milimoles), por goteo por medio de una jeringa. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora hasta que se formó un precipitado. La mezcla de reacción se vertió entonces en agua, y el precipitado se filtró. Después de secar bajo un alto vacío, se aisló la 2-cloro-6-morfolin-4-il-9H-purina como un sólido blancuzco. (1.5 gramos, 99 por ciento) LC/MS análisis método 7, masa (ES+) m/z 240.2 ¹H RMN (DMSO-d₆): 13.21 (1H, brs), 8.15 (1H, s), 4.18 (4H, brs), 3.72 (4H, t)

b) 2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina

A la solución de 2-cloro-6-morfolin-4-il-9H-purina (1.5 gramos, 6.26 milimoles) en DMA (5 mililitros), se le agregó cis-2,6 dimetil-morfolina (1.42 gramos, 12.52 milimoles), seguida por DIPEA (2.1 mililitros, 12.02 milimoles). La mezcla se agitó a 130°C durante 40 horas. Después de completarse la reacción, la solución se vertió en agua. La capa acuosa se extrajo con EtOAc tres veces. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, y el solvente se removió bajo presión reducida, para proporcionar la 2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina (1.96 gramos, 98 por ciento), como un sólido amarillo. LC/MS análisis método 7, masa (ES+) m/z 319.2 ¹H RMN (DMSO-d₆): 12.37 (1H, s), 7.76 (1H, s), 4.38 (2H, d), 4.12 (4H, brs), 3.69 (4H, m), 3.54 (2H, m), 2.40 (2H, m), 1.14 (6H, d).

c) 8-bromo-2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina

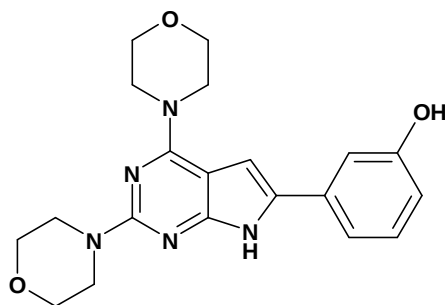
A una solución de 2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina (860 miligramos, 2.70 milimoles) en CH₂Cl₂ (5 mililitros), se le agregó bromo (0.04 mililitros, 3.24 milimoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se agregó tiosulfato de sodio saturado. La capa acuosa se extrajo con dicloro-metano dos tiempos. Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄ y el solvente se removió bajo presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna por evaporación instantánea (gradiente del 0 al 70 por ciento de EtOAc/Heptano), para proporcionar el producto como un sólido grisáceo (362.1 miligramos, 34 por ciento). LC/MS análisis utilizando método 7, masa (ES+) m/z 399.1 ¹H RMN (CDCl₃): 4.31 (2H, d), 4.09 (4H, brs), 3.74 (4H, m), 3.59 (2H, m), 2.51 (2H, m), 1.18 (6H, d).

d) 3-[2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenol

A un matraz de fondo redondo se le agregaron, 8-bromo-2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina (38.2 miligramos, 0.096 milimoles), fluoruro de cesio 58.4 miligramos, 0.39 milimoles), ácido 3-hidroxi-fenil-borónico (39.8 miligramos, 0.29 milimoles), y tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio (8.9 miligramos, 7.69 milimoles), seguidos por 1 mililitro de mezcla de solvente de acetonitrilo/agua (proporción 10/1). La suspensión se calentó a 115°C, y se agitó durante la noche. Después de completarse la reacción, la suspensión se enfrió y se filtraron los sólidos. El solvente se removió bajo presión reducida, y el producto crudo se purificó directamente mediante HPLC de preparación, para proporcionar el 3-[2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenol (18.5 miligramos, 47 por ciento), como un sólido amarillo. LC/MS análisis método 7, masa (ES+) m/z 411.2, tiempo de retención 1.40 minutos. ¹H RMN (CDCl₃): 7.34 (1H, d), 7.24 (2H, m), 6.87 (1H, d), 4.35 (2H, d), 4.30 (4H, brs), 3.80 (4H, m), 3.57 (2H, m), 2.53 (2H, t), 1.16 (6H, d).

Ejemplo 2

3-(2,4-di-morfolin-4-il-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-6-il)-fenol



a) 2,4-di-morfolin-4-il-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidina

En un frasco de 20 mililitros, se disolvió 2,4-dicloro-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidina (0.19 gramos, 1.011 milimoles, 1.0 equivalentes) en NMP (2 mililitros). Entonces se agregaron di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.392 gramos, 0.514 mililitros, 3.03 milimoles, 3.0 equivalentes), y morfolina (0.264 gramos, 0.264 mililitros, 3.03 milimoles, 3.0 equivalentes). La mezcla de reacción entonces se transfirió en un envase de microondas de 5 mililitros y se calentó a 200°C durante 30 minutos. La reacción entonces se enfrió hasta la temperatura ambiente, y se diluyó con 35 mililitros de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó entonces con una solución de cloruro de amonio saturada (30 mililitros, 2 veces). La capa orgánica entonces se secó con MgSO_4 , se filtró, y se removió bajo presión reducida, para obtener un aceite color café. El aceite entonces se purificó utilizando cromatografía por evaporación instantánea utilizando gradiente del 20 por ciento hasta 100 por ciento de EtOAc/Heptano. El compuesto se aisló como un sólido blanco (239.1 miligramos, 82 por ciento de rendimiento). ^1H RMN (CDCl_3): δ 9.67(1H, brs), 6.74(1H, m), 6.29(1H, d), 3.82(8H, dt), 3.72 (8 H, m)

b) 4-di-morfolin-4-il-7-(2-trimetil-silanil-etoxi-metil)-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidina

Una solución de 2,4-di-morfolin-4-il-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidina (180 miligramos, 0.622 milimoles, 1.0 equivalentes) en 25 mililitros de DMF se enfrió a 0°C utilizando un baño de hielo bajo una atmósfera de nitrógeno. Entonces se le agregó hidruro de sodio en aceite (al 60 por ciento en peso, 34.8 miligramos, 0.871 milimoles, 1.4 equivalentes), y la reacción se agitó durante 1 hora a 0°C. A la mezcla de reacción se le agregó 2-(cloro-metoxi)-etil-trimetil-silano (154 microlitros, 145 miligramos, 0.871 milimoles, 1.4 equivalentes), y la reacción se dejó calentar hasta la temperatura ambiente durante la noche. La reacción se apagó mediante la adición de 5 mililitros de H_2O entonces se vertió en 30 mililitros de EtOAc. La fase orgánica se lavó entonces dos veces con una solución de cloruro de amonio saturada acuosa (25 mililitros, 2 veces). La capa orgánica entonces se secó con MgSO_4 , se filtró, y se removió bajo presión reducida, para obtener el aceite color café oscuro. El aceite se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea utilizando gradiente de 0 por ciento al 70 por ciento de EtOAc/Heptano. El producto se aisló como un sólido blanco (205 miligramos, 79 por ciento de rendimiento). ^1H RMN (CDCl_3): δ 6.91 (1H, d), 6.46(1H, d), 5.55 (2H, s), 3.94 (8H, dt), 3.82(8H, brs), 3.57 (2H, t), 0.95 (2H, t), 0.00 (9H, s)

c) 3-[2,4-di-morfolin-4-il-7-(2-trimetil-silanil-etoxi-metil)-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-6-il]-fenol

A un frasco de 20 mililitros con un septo se le agregaron, 4-di-morfolin-4-il-7-(2-trimetil-silanil-etoxi-metil)-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidina (40 miligramos, 0.095 milimoles, 1 equivalente), acetato de paladio(II) (2.15 miligramos, 0.0095 milimoles, 0.1 equivalentes), acetato de cobre(II) (3.5 miligramos, 0.019 milimoles, 0.2 equivalentes), y ácido 3-hidroxi-fenil-borónico (26.3 miligramos, 0.191 milimoles, 2 equivalentes), seguidos por ácido acético (5 mililitros). La reacción se agitó luego bajo 1 atmósfera de aire durante 15 horas a temperatura ambiente. La reacción se enfrió a 0°C y se le agregó bicarbonato de sodio saturada acuosa lentamente para apagar el ácido. La reacción entonces se diluyó con acetato de etilo (40 mililitros), y se lavó con solución de bicarbonato saturada acuosa (20 mililitros, 2 veces). La capa orgánica se removió entonces bajo presión reducida. El producto crudo se purificó directamente utilizando HPLC de preparación en sistema de fase inversa (gradiente del 5 por ciento hasta 100 por ciento $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ con ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 por ciento en agua como modificador). Después de liofilizar las fracciones que contuvieron el producto deseado, se obtuvo un total de 34.6 miligramos de producto de arilación C2 y C3. La fracción temprana contuvo el producto de arilación C2 (8.1 miligramos, 16.9 por ciento de rendimiento). ^1H RMN (CDCl_3): δ 7.24 (1H, brs), 7.21 (1H, brs), 6.82 (1H, d), 6.44 (1H, s), 5.50 (2H, s), 3.87 (4H, m), 3.83 (4H, m), 3.79 (11H, m), 0.98 (2H, t), 0.00 (9H, s)

d) 3-(2,4-di-morfolin-4-il-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-6-il)-fenol

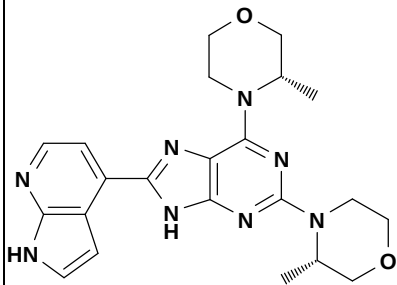
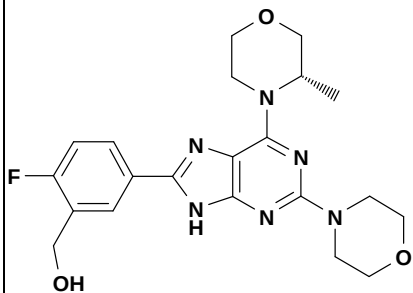
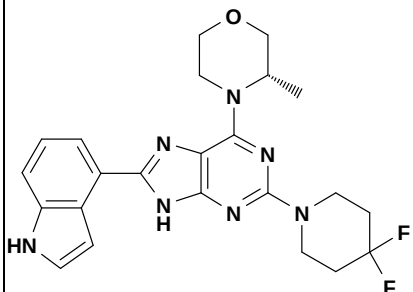
A un matraz de fondo redondo se le agregaron 3-[2,4-di-morfolin-4-il-7-(2-trimetil-silanil-etoxi-metil)-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-6-il]-fenol (8.1 miligramos, 0.016 milimoles), y fluoruro de cesio (72.4 miligramos, 0.477 milimoles, 30 equivalentes), seguidos por acetona (6 mililitros). La reacción se calentó durante 6 horas a 40°C. La reacción entonces se apagó mediante la adición de una solución de cloruro de amonio saturada acuosa (10 mililitros). La acetona se removió bajo presión reducida, y la fase acuosa se extrajo con dicloro-metano (DCM) (15 mililitros, 3 veces). La fase orgánica combinada se removió bajo presión reducida, y el producto crudo se purificó directamente utilizando HPLC de preparación en fase inversa (del 5 por ciento al 70 por ciento de $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$, con n-propanol en agua como modificador) para obtener el producto deseado como un sólido blanco (4.1 miligramos, 67.8 por ciento de

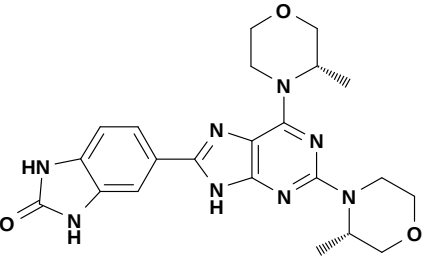
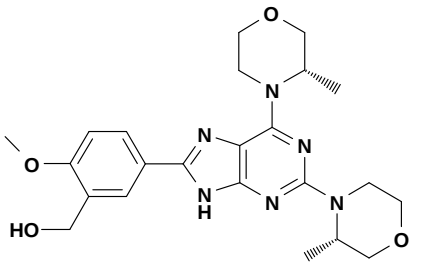
rendimiento). LC/MS análisis método 7, masa (ES+) m/z 382.4, tiempo de retención 1.05 minutos ¹H RMN (CDCl₃): δ 10.15 (1H, brs), 7.15 (1H, t), 7.02 (1H, d), 6.67 (1H, brs), 6.65 (2H, m), 6.52 (1H, s), 3.82 ppm (8H, dt), 3.64 (8H, m)

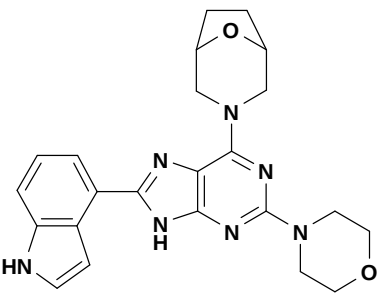
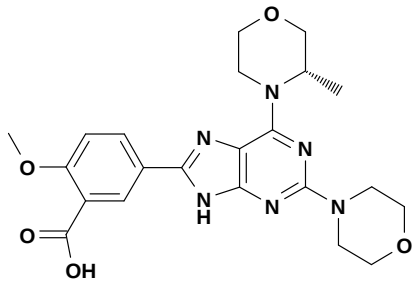
Ejemplos 3 a 38

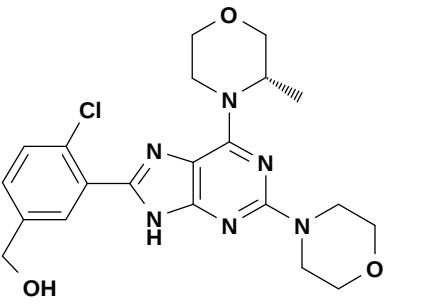
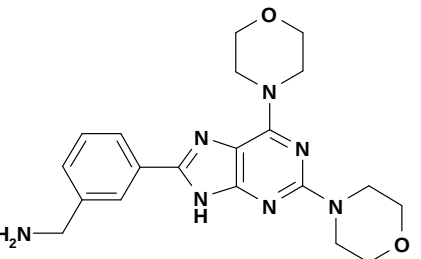
5 Los ejemplos 3 a 38 en la siguiente Tabla 2 se pueden hacer empleando procedimientos análogos a aquéllos descritos en el Ejemplos 1 y 2, utilizando el intermediario de ácido borónico o de éster borónico apropiado.

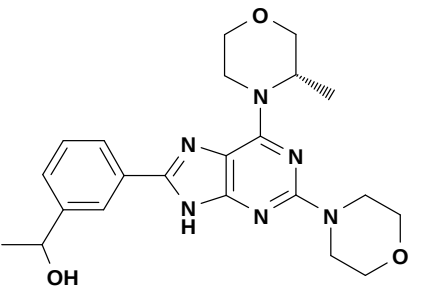
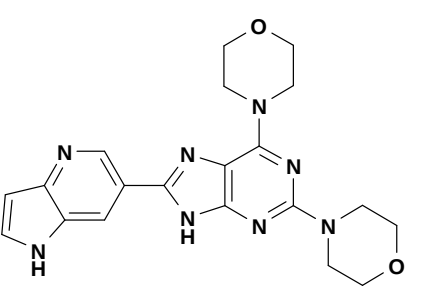
Tabla 2

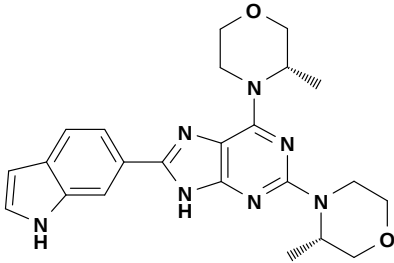
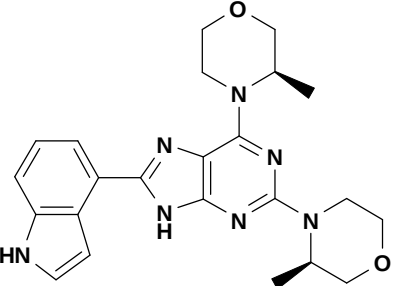
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
3	 2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-8-(1H-pirrólo-[2,3-b]-piridin-4-il)-9H-purina	¹ H RMN (CDCl ₃): 12.66 (1H, s), 8.26 (1H, s), 8.04 (1H, s), 7.62 (1H, s), 7.29 (1H, s), 5.80 (1H, m), 4.58 (2H, m), 4.14-3.98 (3H, m), 3.89-3.53 (6H, m), 3.45-3.34 (2H, m), 1.53 (3H, d), 1.41 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.15 minutos. Masa (ES⁺): 435.5
4	 (2-fluoro-5-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil)-metanol	¹ H RMN (CD ₃ OD): 8.12 (1H, dd), 7.90 (1H, m), 7.17 (1H, t), 5.43 (1H, brs), 5.07 (1H, brs), 4.73 (2H, s), 3.99 (1H, dd), 3.81 (2H, d), 3.75-3.68 (8H, m), 3.66-3.62 (1H, dd), 3.48-3.40 (1H, m), 1.38 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.45 minutos. Masa (ES⁺): 429.3
5	 2-(4,4-difluoro-piperidin-1-il)-8-(1H-indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.54 (2H, d), 7.46 (1H, d), 7.35 (1H, m), 7.26 (1H, m), 7.20 (1H, m), 5.51 (1H, brs), 5.10 (1H, brs), 4.02 (1H, dd), 3.94 (4H, m), 3.83 (2H, m), 3.70 (1H, m), 3.50 (1H, m), 1.97 (4H, m), 1.44 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.58 minutos. Masa (ES⁺): 454.3

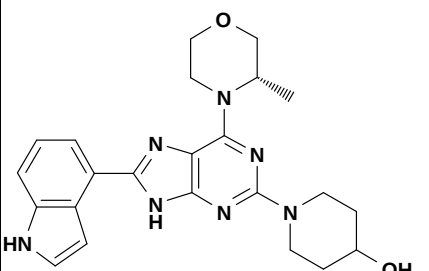
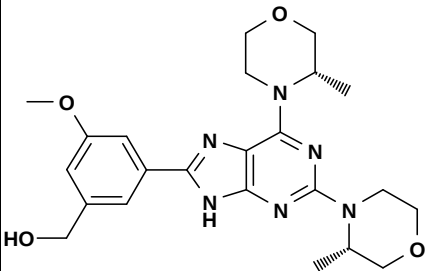
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
6	 5-[2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-1,3-dihidro-benzo-imidazol-2-ona	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.68 (2H, m), 7.11 (1H, d), 5.40 (1H, brs), 5.05 (1H, brs), 4.66 (1H, m), 4.24 (1H, m), 3.99-3.92 (2H, m), 3.81-3.67 (4H, m), 3.60-3.48 (2H, m), 3.25-3.13 (2H, m), 1.39 (3H,d), 1.25 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.02 minutos. Masa (ES+): 451.6
7	 {5-[2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-2-metoxi-fenil}-metanol	¹ H RMN (CDCl ₃): 7.88 (2H, m), 6.97 (1H, s), 5.45 (1H, brs), 4.77 (2H, s), 4.58 (1H, brs), 4.21 (1H, brs), 4.08 (1H, brs), 4.07-3.71 (11H, m), 3.56 (2H, m), 3.31 (1H, brs), 1.46 (3H, d), 1.33 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.09 minutos. Masa (ES+): 455.6

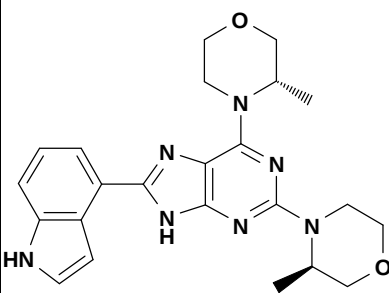
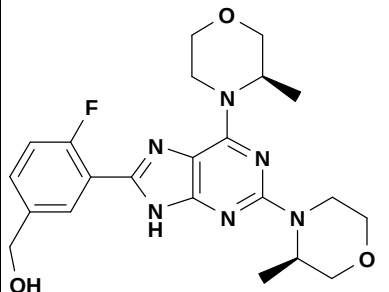
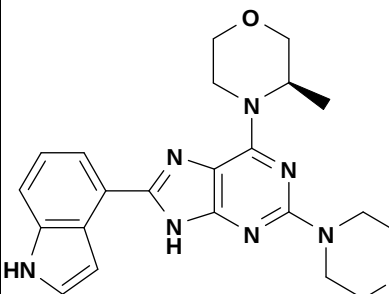
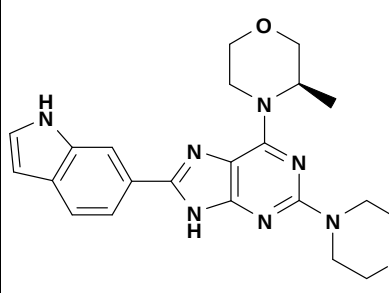
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
8	 8-(1H-Indol-4-yl)-2-morfolin-4-yl-6-(8-oxa-3-aza-bicyclo-[3.2.1]-oct-3-yl)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.53 (1H, d), 7.47 (1H, d), 7.36 (1H, d), 7.24 (1H, d), 7.20 (1H, t), 5.17 (2H, brs), 4.50 (2H, s), 3.74 (8H, m), 3.39 (2H, m), 1.95 (4H, m)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.16 minutos. Masa (ES⁺): 432.5
9	 ácido 2-metoxi-5-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-yl)-2-morfolin-4-yl-9H-purin-8-il]-benzoico	¹ H RMN (DMSO-d ₆): 12.91 (1H, s), 8.25 (1H, s), 8.10 (1H, d), 7.20 (1H, d), 5.34 (1H, brs), 5.00 (1H, brs), 3.98 (1H, m), 3.86 (3H, s), 3.76 (1H, m), 3.72-3.62 (10H, m), 3.56-3.49 (1H, m), 1.29 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 0.99 minutos. Masa (ES⁺): 455.6

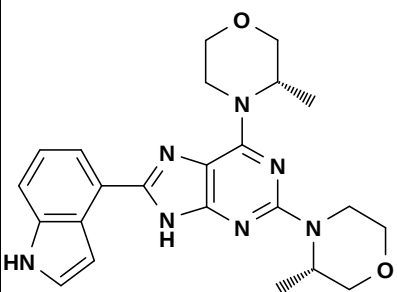
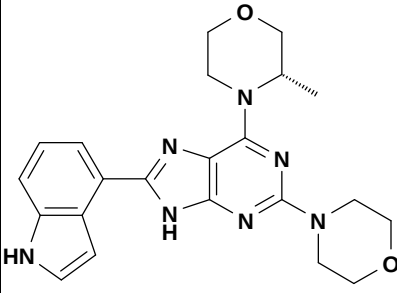
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
10	 (4-cloro-3-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil)-metanol	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.79 (1H, m), 7.51 (1H, m), 7.44 (1H, m), 5.38 (1H, brs), 4.65 (2H, s), 4.62 (1H, s), 3.99 (1H, dd), 3.79 (2H, m), 3.73 (8H, m), 3.64 (1H, m), 3.41 (1H, m), 1.38 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.28 minutos. Masa (ES+): 445.6
11	 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-bencil-amina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 8.16 (1H, s), 8.01 (1H, d), 7.58 (1H, t), 7.52 (1H, m), 4.28 (4H, m), 4.20 (2H, s), 3.82 (4H, m), 3.75 (8H, m)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 0.73 minutos. Masa (ES+): 396.5

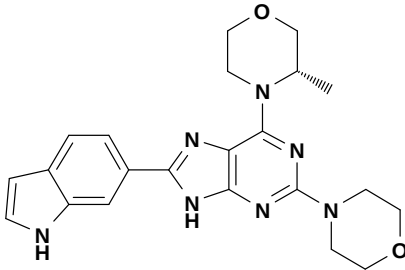
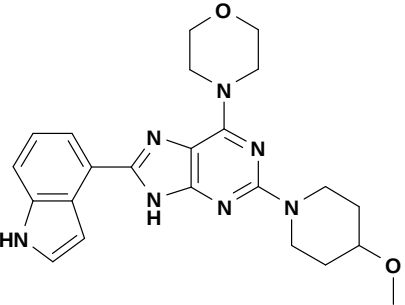
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
12	 1-{3-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-etanol	¹ H RMN (CD ₃ OD): 8.01 (1H, s), 7.86 (1H, m), 7.42 (2H, d), 5.42 (1H, brs), 5.08 (1H, brs), 4.01 (1H, dd), 3.82 (2H, m), 3.73 (8H, m), 3.66 (1H, m), 3.47 (1H, m), 1.49 (3H,d), 1.38 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.13 minutos. Masa (ES+): 425.5
13	 2,6-di-morfolin-4-il-8-(1H-pirrol-3,2-b)-piridin-6-il-9H-purina	¹ H RMN (DMSO-d ₆): 13.05 (1H, brs), 11.50 (1H, s), 9.05 (1H, s), 8.37 (1H, s), 7.72 (1H, d), 6.59 (1H, d), 4.20 (4H, brs), 3.75 (4H, m), 3.66 (4H, m), 3.64 (4H, m)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 0.94 minutos. Masa (ES+): 407.4

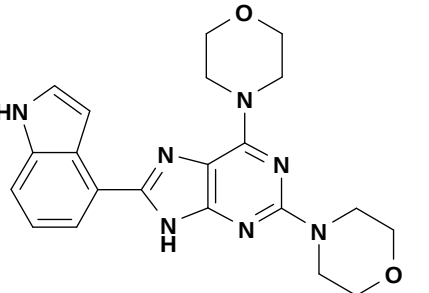
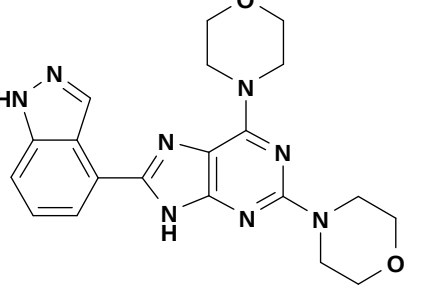
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
14	 8-(1H-Indol-6-yl)-2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 8.03 (1H, s), 7.64 (2H, m), 7.33 (1H, d), 6.49 (1H, d), 5.41 (1H, brs), 5.04 (1H, brs), 4.67 (1H, m), 4.26 (1H, dd), 4.01 (1H, dd), 3.94 (1H, dd), 3.82 (2H, s), 3.80-3.65 (3H, m), 3.58-3.43 (2H, m), 3.20 (1H, m), 1.40 (3H, d), 1.26 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.30 minutos. Masa (ES⁺): 434.5
15	 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.54 (1H, d), 7.47 (1H, d), 7.35 (1H, d), 7.25 (1H, d), 7.20 (1H, t), 5.53 (1H, brs), 5.11 (1H, brs), 4.68 (1H, m), 4.28 (1H, m), 4.03 (1H, m), 3.99 (1H, m), 3.85 (2H, m), 3.73 (3H, m), 3.56 (2H, m), 3.25 (1H, m), 1.45 (3H, d), 1.27 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.45 minutos. Masa (ES⁺): 434.3

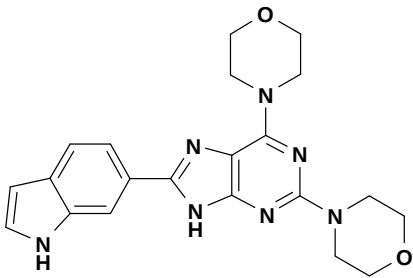
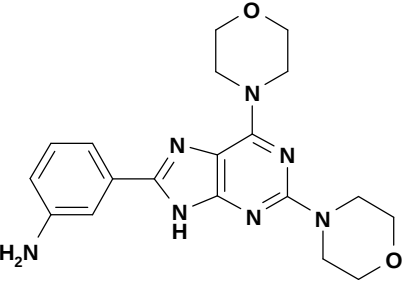
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
16	 1-[8-(1H-Indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-2-il]-piperidin-4-ol	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.54 (1H, d), 7.47 (1H, d), 7.35 (1H, d), 7.25 (1H, d), 7.20 (1H, t), 5.50 (1H, brs), 5.11 (1H, brs), 4.45 (2H, m), 4.04 (1H, m), 3.85 (2H, m), 3.81 (1H, m), 3.70 (1H, m), 3.48 (1H, m), 3.18 (2H, m), 1.89 (2H, m), 1.50 (2H, m), 1.45 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.28 minutos. Masa (ES⁺): 434.4
17	 {3-[2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-5-metoxi-fenil}-metanol	¹ H RMN (CD ₃ OD): δ 7.57 (1H,s), 7.44 (1H,s), 7.00 (1H,s), 5.40 (1H,brs), 5.07 (1H,brs), 4.67 (1H,m), 4.65 (2H,s), 4.26 (1H,dd), 4.01 (1H,dd), 3.93(1H,dd), 3.87 (3H,s), 3.81 (2H,d), 3.77-3.63 (3H,m), 3.58-3.40 (2H,m), 3.25-3.13 (1H,m), 1.39 (3H,d), 1.25 (3H,d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.30 minutos. Masa (ES⁺): 455.3

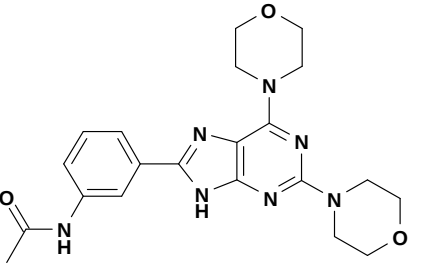
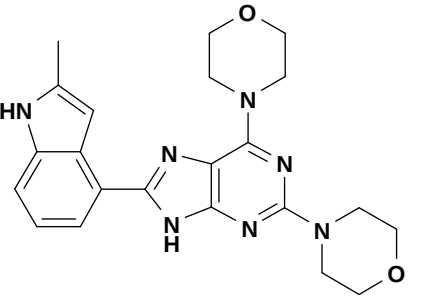
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
18	 8-(1H-Indol-4-il)-2-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): δ 7.54 (1H,d), 7.47 (1H,d), 7.35 (1H,d), 7.24 (1H,d), 7.20 (1H,m), 5.49 (1H,brs), 5.13 (1H,brs), 4.68 (1H,m), 4.26 (1H,dd), 4.04 (1H,dd), 3.95 (3H,m), 3.84 (2H,s), 3.79-3.67 (3H,m), 3.59-3.47 (2H,m), 3.27-3.20 (1H,m), 1.44 (3H,d), 1.27 (3H,d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.21 minutos. Masa (ES ⁺): 434.5
19	 {3-[2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-4-fluoro-fenil}-metanol	¹ H RMN (CD ₃ OD): δ 8.09 (1H,dd), 7.42 (1H,m), 7.22 (1H,dd), 5.43 (1H,brs), 5.08 (1H,brs), 4.67 (1H,m), 4.64 (2H,s), 4.27 (1H,dd), 4.01 (1H,dd), 3.94 (1H,dd), 3.81 (2H,s), 3.78-3.63 (3H,m), 3.56-3.41 (2H,m), 3.26-3.13 (1H,m), 1.39 (3H,d), 1.26 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.30 minutos. Masa (ES ⁺): 443.4
20	 8-(1H-Indol-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (CDCl ₃): δ 10.25 (1H,brs), 8.38 (1H,s), 7.51 (2H,t), 7.39 (1H,t), 7.32 (2H,m), 5.59 (1H,brs), 5.19 (1H,brs), 4.10 (1H,dd), 3.88 (2H,s), 3.84-3.76 (8H,m), 3.71 (1H,m), 3.61 (1H,m), 1.52 (3H,d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.15 minutos. Masa (ES ⁺): 420.5
21	 8-(1H-Indol-6-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (CDCl ₃): δ 11.53 (1H,brs), 8.36 (1H,s), 7.93 (1H,s), 7.71 (1H,m), 7.56 (1H,m), 7.31 (1H,m), 6.60 (1H,s), 5.53 (1H,brs), 5.23 (1H,brs), 4.10 (2H,m), 3.88 (2H,m), 3.74 (1H,m), 3.69 (4H,m), 3.60 (4H,m), 1.58 (3H,d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.19 minutos. Masa (ES ⁺): 420.5

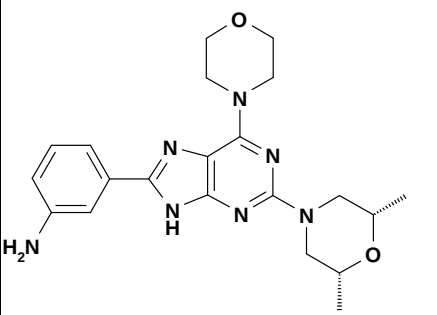
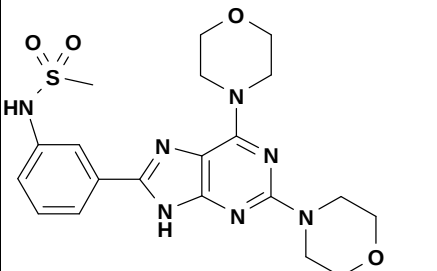
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
22	 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): δ 7.54 (1H,d), 7.47 (1H,d), 7.35 (1H,d), 7.24 (1H,d), 7.20 (1H,t), 5.53 (1H,brs), 5.09 (1H,brs), 4.69 (1H,m), 4.27 (1H,dd), 4.04 (1H,dd), 3.96 (1H,dd), 3.85 (2H,s), 3.79-3.07 (3H,m), 3.59-3.49 (2H,m), 3.27-3.13 (1H,m), 1.45(3H,d), 1.27 (3H,d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.20 minutos. Masa (ES⁺): 434.4
23	 8-(1H-Indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (CDCl ₃): δ 10.28 (1H,brs), 8.38 (1H,s), 7.50 (2H,d), 7.39 (1H,m), 7.29 (2H,m), 5.60 (1H,brs), 5.20 (1H,brs), 4.11 (1H,dd), 3.88 (2H,s), 3.77 (8H,s), 3.71 (1H,m), 3.60 (1H,m), 1.51 (3H,d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.10 minutos. Masa (ES⁺): 420.5

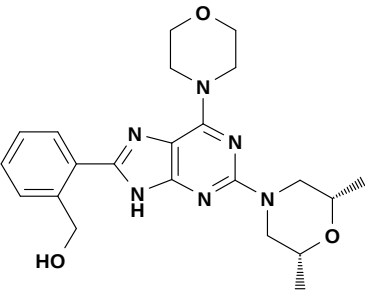
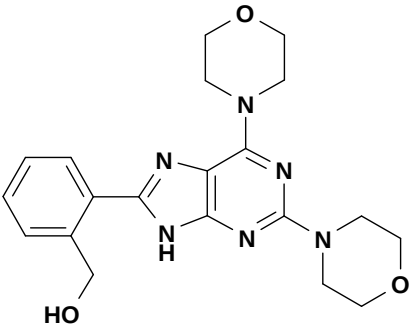
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
24	 8-(1H-Indol-6-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (CDCl ₃): δ 12.19 (1H,brs), 8.47 (1H,s), 7.90 (1H,s), 7.68 (2H,m), 7.29 (1H,m), 6.59 (1H,s), 5.54 (1H,brs), 5.32 (1H,brs), 4.10 (1H,dd), 3.89 (2H,s), 3.77-3.50 (10H,m), 1.49 (3H,m)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.40 minutos. Masa (ES⁺): 420.5
25	 8-(1H-Indol-4-il)-2-(4-metoxi-piperidin-1-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (CDCl ₃): δ 10.5 (1H,brs), 8.38 (1H,s), 7.50 (2H,t), 7.38 (1H,m), 7.30 (1H,m), 4.40 (3H,m), 4.30 (3H,m), 3.91 (4H,m), 3.46 (1H,m), 3.41 (3H,s), 3.37 (2H,m), 1.97 (2H,m), 1.66 (2H,m)	Método 7: C8-Rango Amplio Neutral Tiempo de retención: 1.15 minutos. Masa (ES⁺): 434.5

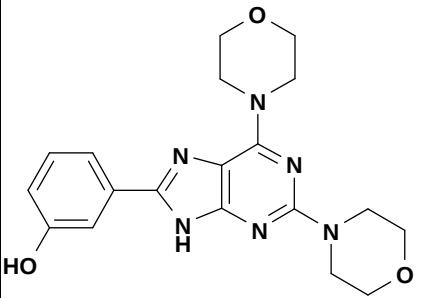
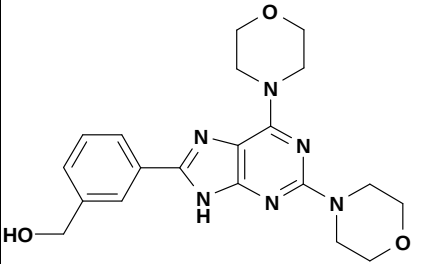
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
26	 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD) δ 7.65 (1H,d), 7.62 (1H,d), 7.44 (1H,d), 7.28 (1H,t), 7.12 (1H,d), 4.25 (4H,brs), 3.90 (4H,m), 3.80 (8H,m)	Método 7: C8-Rango Amplio Neutral Tiempo de retención: 1.3 minutos. Masa (ES+): 406.2
27	 8-(1H-indazol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 8.70 (1H,s), 7.70 (1H,d), 7.60 (1H,d), 7.40 (1H,t), 7.32 (1H,m), 4.20 (4H,brs), 3.85 (4H,m), 3.65 (8H,m)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.2 minutos. Masa (ES+): 407.3

No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
28	 8-(1H-Indol-6-yl)-2,6-di-morfolin-4-yl-9H-purina	¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 8.10 (1H,s), 7.75 (1H,d), 7.60 (1H,d), 7.45 (1H,m), 6.95 (1H,s), 4.19 (4H,brs), 3.75 (4H,m), 3.65 (8H,m)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.32 minutos. Masa (ES+): 406.2
29	 3-(2,6-di-morfolin-4-yl-9H-purin-8-yl)-fenil-amina	¹ H RMN (CD ₃ OD) δ 8.15 (2H,m), 7.67 (1H,t), 7.48 (1H,m), 4.35 (4H,brs), 3.86 (4H,m), 3.80 (8H,brs)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.16 minutos. Masa (ES+): 382.3

No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
30	 N-[3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-acetamida	¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 8.22 (1H,s), 7.70 (1H,d), 7.46 (1H,t), 4.20 (4H,brs), 3.75 (4H,m), 3.65 (8H,m), 2.10 (3H,s)	Método 3: C18-General-Neutro Tiempo de retención: 1.22 minutos. Masa (ES+): 424.1
31	 8-(2-metil-1H-indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 7.60 (1H,d), 7.32 (1H,d), 7.05 (1H,t), 6.90 (1H,s), 4.25 (4H,brs), 3.80 (4H,m), 3.65 (8H,m), 2.45 (3H,s)	Método 3: C18-General-Neutro Tiempo de retención: 1.36 minutos. Masa (ES+): 420.3

No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
32	 3-[2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil-amina	¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 7.85 (1H,brs), 7.80 (1H,m), 7.45 (1H,t), 7.17 (1H,d), 4.42 (2H,d), 4.19 (4H,brs), 3.75 (4H,m), 3.55 (2H,m), 2.45 (2H,m), 1.15 (6H,d)	Método 3: C18-General-Neutro Tiempo de retención: 1.35 minutos. Masa (ES+): 410.3
33	 N-[3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metan-sulfonamida	¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 7.89 (1H,s), 7.76 (1H,d), 7.43 (1H,t), 7.27 (1H,d), 4.19 (4H,brs), 3.75 (4H,m), 3.65 (8H,m), 3.05 (s, 3H)	Método 3: C18-General-Neutro Tiempo de retención: 1.23 minutos. Masa (ES+): 460.2

No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
34	 [2-[2-((2S,6R)-2,6-dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil]-metanol	¹ H RMN (CDCl ₃) δ 11.0 (1H, brs), 7.70 (1H, m), 7.45 (3H, m), 4.72 (2H, s), 4.41 (2H, d), 4.24 (4H, s), 3.88 (4H, m), 3.57 (2H, m), 2.52 (2H, m), 1.23 (6H, d)	Método 3: C18-General-Neutro Tiempo de retención: 1.43min Masa (ES+): 425.3
35	 [2-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol	¹ H RMN (CDCl ₃) δ 7.44 (1H, m), 7.19 (3H, m), 4.48 (2H, s), 4.0 (4H, brs), 3.63 (4H, m), 3.43 (8H, s)	Método 3: C18-General-Neutro Tiempo de retención: 1.22min Masa (ES+): 397.4

No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
36	 3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol	¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 12.88 (1H, brs), 9.59 (1H, s), 7.46 (2H, m), 7.25 (1H, m), 6.79 (1H, m), 4.18 (4H, brs), 3.73 (4H, m), 3.65 (8H, m)	Método 3: C18-General-Neutro Tiempo de retención: 1.18min Masa (ES ⁺): 383.3
37	 [3-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol	¹ H RMN (DMSO-d ₆) δ 12.95 (1H, brs), 8.03 (1H, s), 7.90 (1H, d), 7.42 (1H, m), 7.35 (1H, m), 5.27 (1H, t), 4.55 (2H, d), 4.19 (4H, brs), 3.74 (4H, m), 3.64 (8H, m)	Método 3: C18-General-Neutro Tiempo de retención: 1.15min Masa (ES ⁺): 397.3

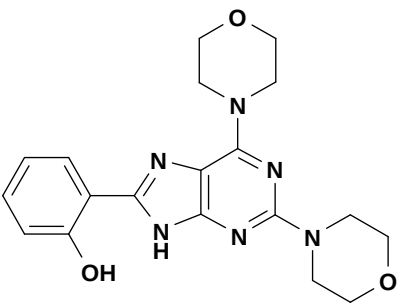
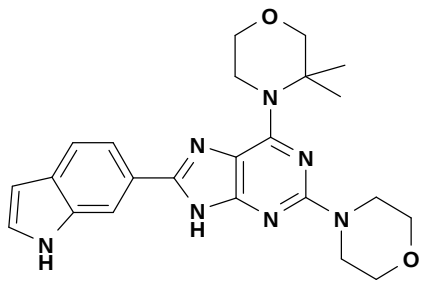
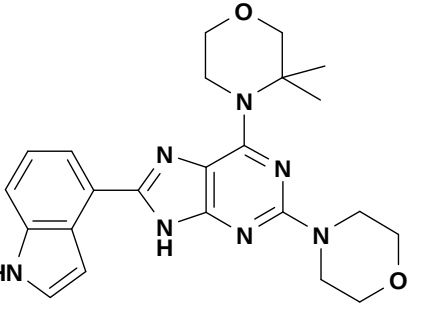
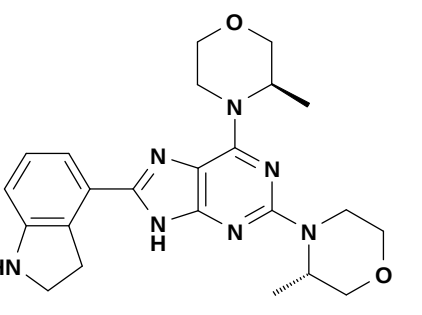
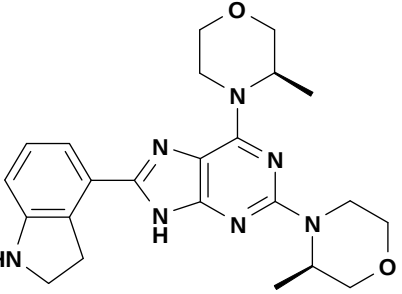
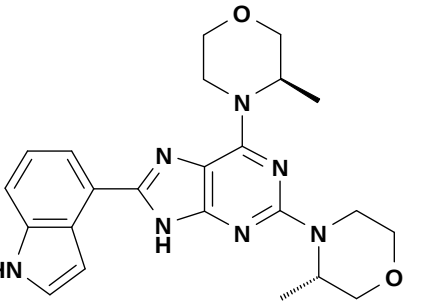
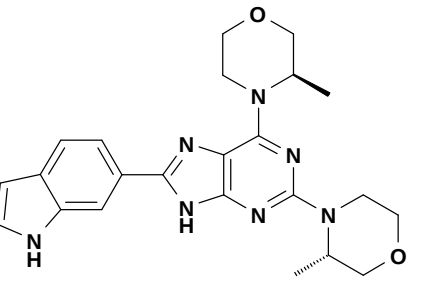
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
38	 2-(2,6-di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol	¹ H RMN (CD ₃ OD) δ 7.77 (1H, d), 7.28 (1H, t), 6.95 (2H, m), 4.55 (1H, brs), 4.16 (4H, m), 3.82 (4H, m), 3.74 (8H, s)	Método 3: C18-General-Neutro Tiempo de retención: 1.44min Masa (ES+): 383.4

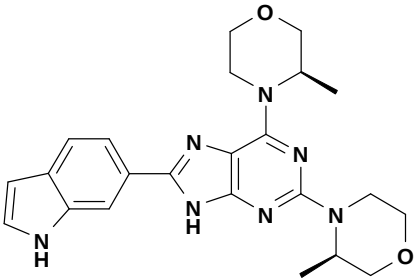
Tabla 3

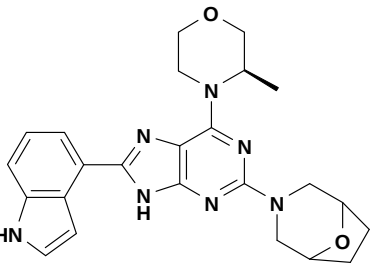
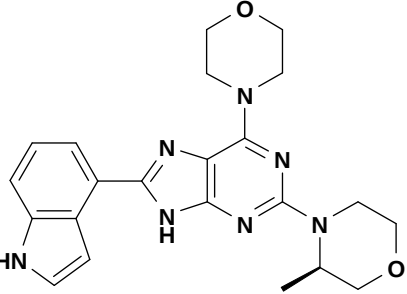
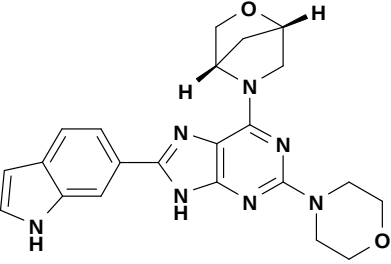
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
39	 6-(3,3-dimetil-morfolin-4-il)-8-(1H-indol-6-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 8.04 (1H, s), 7.64 (2H, m), 7.34 (1H, d), 6.49 (1H, d), 4.34 (2H, m), 4.01 (2H, m), 3.77 (8H, s), 3.52 (2H, s), 1.60 (6H, s)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.18 minutos Masa (ES+): 434

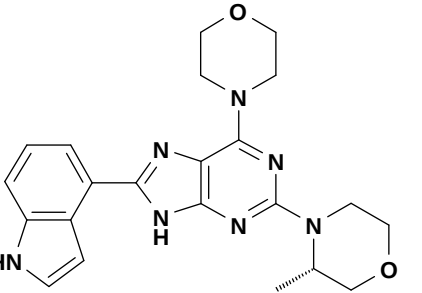
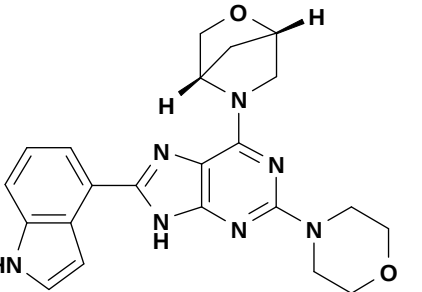
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
40	 6-(3,3-dimetil-morfolin-4-il)-8-(1H-indol-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.55 (1H, d), 7.49 (1H, d), 7.36 (1H, d), 7.20 (2H, m), 4.49 (2H, m), 4.03 (2H, m), 3.77 (8H, s), 3.53 (2H, s), 1.62 (6H, s)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.12 minutos Masa (ES ⁺): 434.5
41	 8-(2,3-dihidro-1H-indol-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.87 (1H, d), 7.53 (1H, t), 7.43 (1H, d), 5.42 (1H, brs), 5.05 (1H, brs), 4.60 (1H, m), 4.17 (1H, d), 4.02 (2H, m), 3.40-3.90 (12H, m), 1.45 (3H, d), 1.32 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.30 minutos Masa (ES ⁺): 436.6

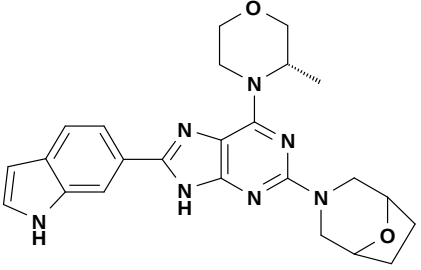
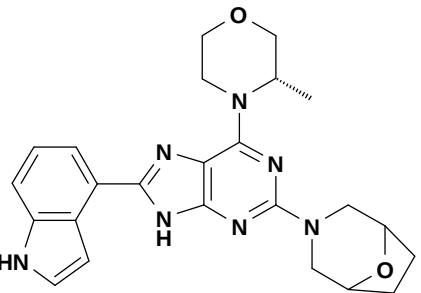
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
42	 8-(2,3-dihidro-1H-indol-4-il)-2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.88 (1H, d), 7.54 (1H, t), 7.44 (1H, d), 5.48 (1H, brs), 5.05 (1H, brs), 4.58 (1H, m), 4.20 (1H, m), 4.01 (2H, m), 3.37-3.88 (12H, m), 1.46 (3H, d), 1.33 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.30 minutos Masa (ES ⁺): 436.6

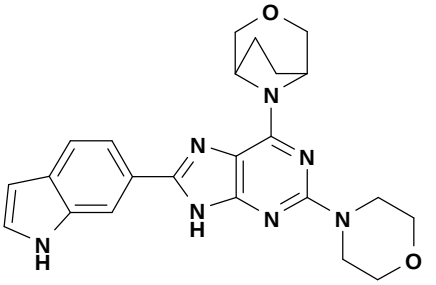
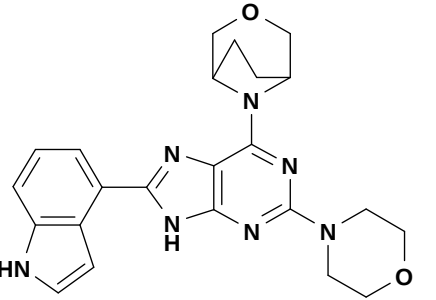
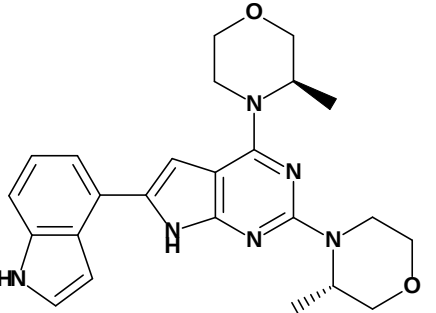
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
43	 8-(1H-Indol-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.54 (1H, m), 7.47 (1H, m), 7.36 (1H, d), 7.24 (1H, m), 7.20 (1H, m), 5.49 (1H, brs), 5.12 (1H, brs), 4.68 (1H, m), 4.27 (1H, m), 4.03 (1H, m), 3.95 (1H, m), 3.85 (2H, s), 3.76 (3H, m), 3.56 (2H, m), 3.24 (1H, m), 1.44 (3H, d), 1.27 (3H, d)	Método 7:8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.12 minutos Masa (ES⁺): 434.5
44	 8-(1H-Indol-6-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 8.03 (1H, s), 7.64 (2H, m), 7.32 (1H, s), 6.48 (1H, s), 5.38 (1H, brs), 5.08 (1H, brs), 4.67 (1H, m), 4.24 (1H, m), 3.97 (2H, m), 3.83 (2H, s), 3.73 (3H, m), 3.55 (2H, m), 3.20 (1H, m), 1.39 (3H, d), 1.26 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.18 minutos. Masa (ES⁺): 434.5

No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
45	 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 8.03 (1H, s), 7.63 (2H, m), 7.32 (1H, d), 6.48 (1H, d), 5.41 (1H, brs), 5.07 (1H, brs), 4.67 (1H, m), 4.26 (1H, m), 3.99 (2H, m), 3.83 (2H, s), 3.73 (3H, m), 3.55 (2H, m), 3.23 (1H, m), 1.40 (3H, d), 1.26 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.27 minutos Masa (ES⁺): 434.4

No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
46	 8-(1H-Indol-4-yl)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.54 (1H, d), 7.47 (1H, d), 7.35 (1H, d), 7.24 (1H, d), 7.20 (1H, m), 5.53 (1H, brs), 5.11 (1H, brs), 4.43 (2H, s), 4.25 (2H, d), 4.04 (1H, m), 3.84 (2H, m), 3.70 (1H, m), 3.48 (1H, m), 3.10 (2H, m), 1.88 (4H, m), 1.44 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.21 minutos Masa (ES⁺): 446.5
47	 8-(1H-Indol-4-yl)-2-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.53 (1H, d), 7.49 (1H, d), 7.35 (1H, d), 7.20 (2H, m), 4.69 (1H, m), 4.31 (5H, m), 3.94 (1H, m), 3.85 (4H, m), 3.75 (2H, m), 3.55 (1H, m), 3.24 (1H, m), 1.27 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.17 minutos Masa (ES⁺): 420.5
48	 8-(1H-Indol-6-yl)-2-morfolin-4-il-6-(1S,4S)-2-oxa-5-aza-biciclo-[2.2.1]-hept-5-il-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 8.04 (1H, s), 7.64 (2H, m), 7.33 (1H, d), 6.49 (1H, d), 4.75 (1H, s), 3.93 (2H, m), 3.74 (1H, m), 2.04 (2H, s)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.23 minutos Masa (ES⁺): 418.2

No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
49	 8-(1H-Indol-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 8.04 (1H, s), 7.63 (2H, m), 7.33 (1H, d), 6.48 (1H, d), 4.68 (1H, m), 4.24 (5H, m), 3.94 (1H, m), 3.83 (4H, m), 3.74 (2H, m), 3.56 (1H, m), 3.23 (1H, m), 1.26 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.22 minutos. Masa (ES ⁺): 420.5
50	 8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(1S,4S)-2-oxa-5-aza-biciclo-[2.2.1]-hept-5-il-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.54 (1H, d), 7.48 (1H, d), 7.36 (1H, d), 7.26 (1H, m), 7.20 (1H, t), 4.77 (1H, s), 3.97 (3H, m), 3.75 (10H, m), 2.07 (2H, s)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.19 minutos Masa (ES ⁺): 418.3

No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
51	 8-(1H-Indol-6-yl)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-yl)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-yl)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.93 (1H, s), 7.53 (2H, m), 7.23 (1H, d), 6.39 (1H, d), 5.31 (1H, brs), 4.95 (1H, brs), 4.32 (2H, s), 4.14 (2H, d), 3.91 (1H, m), 3.73 (2H, s), 3.58 (1H, m), 3.37 (1H, m), 3.00 (2H, d), 1.70 (4H, m), 1.29 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.37min Masa (ES⁺): 446.4
52	 8-(1H-Indol-4-yl)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-yl)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-3-yl)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.54 (1H, d), 7.47 (1H, d), 7.35 (1H, d), 7.24 (1H, d), 7.20 (1H, t), 5.52 (1H, brs), 5.09 (1H, brs), 4.43 (2H, s), 4.27 (2H, d), 4.03 (1H, m), 3.85 (2H, s), 3.70 (1H, m), 3.48 (1H, m), 3.09 (2H, d), 1.88 (4H, m), 1.45 (3H, d)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.22 minutos Masa (ES⁺): 446.5

No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
53	 8-(1H-Indol-6-yl)-2-morfolin-4-il-6-(3-oxa-8-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-8-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 8.04 (1H, s), 7.63 (2H, m), 7.33 (1H, d), 6.49 (1H, d), 5.30 (2H, brs), 3.88 (2H, d), 3.74 (8H, m), 3.67 (2H, d), 2.12 (4H, m)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.32 minutos Masa (ES ⁺): 432.4
54	 8-(1H-Indol-4-yl)-2-morfolin-4-il-6-(3-oxa-8-aza-biciclo-[3.2.1]-oct-8-il)-9H-purina	¹ H RMN (CD ₃ OD): 7.55 (1H, d), 7.48 (1H, d), 7.36 (1H, d), 7.20 (2H, m), 5.37 (2H, brs), 3.92 (2H, d), 3.70 (2H, d), 2.15 (4H, m)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.18 minutos Masa (ES ⁺): 432.5
55	 6-(1H-Indol-4-yl)-4-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-7H-pirrol-2,3-d]-pirimidina	¹ H RMN (DMSO-d ₆): 11.66 (1H, brs), 11.26 (1H, br), 7.44 (1H, t), 7.35 (2H, m), 7.12 (1H, t), 6.84 (1H, d), 4.74 (1H, brs), 4.55 (1H, brs), 4.41 (1H, t), 4.14 (1H, t), 3.99 (1H, d), 3.92 (1H, d), 3.75 (3H, m), 3.51 (4H, m), 3.16 (1H, m), 1.32 (3H, t), 1.20 (3H, m)	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.17 minutos Masa (ES ⁺): 433.5

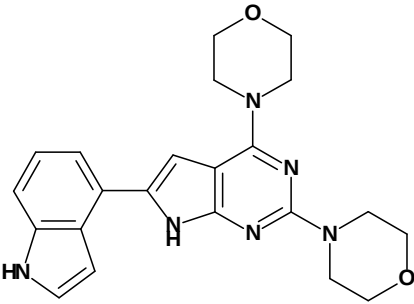
No. Ej.	Estructura y Nombre	¹ H RMN	LC/MS
56	 6-(1H-Indol-4-il)-2,4-di-morfolin-4-il-7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidina	¹ H RMN (DMSO-d ₆): 11.52 (1H, brs), 11.26 (1H, brs), 7.42 (1H, brs), 7.34 (2H, m), 7.1 (1H, t), 6.85 (2H, brs), 3.85 (4H, m), 3.75 (4H, m) 3.66 (8H, m),	Método 7: C8-Rango Amplio-Neutro Tiempo de retención: 1.03 minutos Masa (ES ⁺): 405.5

Tabla 4

Ejemplo Número	Prueba 1: PI3Kα IC ₅₀ (nM)	Prueba 2: mTOR IC ₅₀ (nM)	Prueba 3: TSC1/- IC ₅₀ (nM)	Prueba 4: Autofagia EC ₅₀
39	2530	160	146	2317
40	6470	350	841	>8000
41	3350	30	457	2901
42	4910	40	99	4627
43	1010	40	39	160
44	5950	140	388	395
45	7080	650	989	>400

Ejemplo Número	Prueba 1: PI3K α IC ₅₀ (nM)	Prueba 2: mTOR IC ₅₀ (nM)	Prueba 3: TSC1-/- IC ₅₀ (nM)	Prueba 4: Autofagia EC ₅₀
46	580	30	100	171
47	60	60	111	461
48	4300	1010	1463	6410
49	4430	370	678	>500
50	4220	1200	920	8673
51	5940	220	228	284
52	420	50	88	386
53	>9100	190	528	782
54	5790	150	309	1253
55	1440	2670	71	1000
56	2010	2390	174	3651

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Radetich, Branko Yu, Bing Zhu, Yanyi

5 <120> DERIVADOS HETEROCÍCLICOS NOVEDOSOS

<130> PAT054521-WO-PCT

<140> PCT/IB2012/050428

<141> 2012-01-30

<150> 61/437956

10 <151> 2011-01-31

<150> 61/552905

<151> 2011-10-28

<160> 5

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

15 <210> 1

<211> 42

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <223> Cebador PCR

<400> 1

gctagcatgc gagaatatga tagattatat gaagaatata cc 42

<210> 2

<211> 45

- <212> ADN
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- <223> Cebador PCR
- 5 <400> 2
- gcctccacca cctccgcctg gtttaatgct gttcatcgt ttgtc 45
- <210> 3
- <211> 42
- <212> ADN
- 10 <213> Secuencia Artificial
- <220>
- <223> Cebador PCR
- <400> 3
- tactagtccg cctccaccac ctccgcctcc accacctccg cc 42
- 15 <210> 4
- <211> 1180
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- 20 <223> Proteína de fusión de subunidades P85 alfa y P110 alfa de PI3 cinasa humana expresada del vector pBlueBac 4.5
- <400> 4

Met	Arg	Glu	Tyr	Asp	Arg	Leu	Tyr	Glu	Glu	Tyr	Thr	Arg	Thr	Ser	Gln
1				5					10					15	
Glu	Ile	Gln	Met	Lys	Arg	Thr	Ala	Ile	Glu	Ala	Phe	Asn	Glu	Thr	Ile
		20						25					30		
Lys	Ile	Phe	Glu	Glu	Gln	Cys	Gln	Thr	Gln	Glu	Arg	Tyr	Ser	Lys	Glu
		35					40					45			
Tyr	Ile	Glu	Lys	Phe	Lys	Arg	Glu	Gly	Asn	Glu	Lys	Glu	Ile	Gln	Arg
	50					55					60				
Ile	Met	His	Asn	Tyr	Asp	Lys	Leu	Lys	Ser	Arg	Ile	Ser	Glu	Ile	Ile
65					70					75					80
Asp	Ser	Arg	Arg	Arg	Leu	Glu	Glu	Asp	Leu	Lys	Lys	Gln	Ala	Ala	Glu
				85					90					95	
Tyr	Arg	Glu	Ile	Asp	Lys	Arg	Met	Asn	Ser	Ile	Lys	Pro	Gly	Gly	Gly
		100						105					110		
Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Glu	Cys	Leu	Leu	Pro
		115					120					125			
Asn	Gly	Met	Ile	Val	Thr	Leu	Glu	Cys	Leu	Arg	Glu	Ala	Thr	Leu	Ile
	130					135					140				
Thr	Ile	Lys	His	Glu	Leu	Phe	Lys	Glu	Ala	Arg	Lys	Tyr	Pro	Leu	His
145					150					155					160
Gln	Leu	Leu	Gln	Asp	Glu	Ser	Ser	Tyr	Ile	Phe	Val	Ser	Val	Thr	Gln
			165						170					175	
Glu	Ala	Glu	Arg	Glu	Glu	Phe	Phe	Asp	Glu	Thr	Arg	Arg	Leu	Cys	Asp
			180					185					190		
Leu	Arg	Leu	Phe	Gln	Pro	Phe	Leu	Lys	Val	Ile	Glu	Pro	Val	Gly	Asn
		195				200						205			
Arg	Glu	Glu	Lys	Ile	Leu	Asn	Arg	Glu	Ile	Gly	Phe	Ala	Ile	Gly	Met
	210					215					220				
Pro	Val	Cys	Glu	Phe	Asp	Met	Val	Lys	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Asp	Phe
225					230					235					240
Arg	Arg	Asn	Ile	Leu	Asn	Val	Cys	Lys	Glu	Ala	Val	Asp	Leu	Arg	Asp
			245						250					255	
Leu	Asn	Ser	Pro	His	Ser	Arg	Ala	Met	Tyr	Val	Tyr	Pro	Pro	Asn	Val
		260						265					270		
Glu	Ser	Ser	Pro	Glu	Leu	Pro	Lys	His	Ile	Tyr	Asn	Lys	Leu	Asp	Lys
		275					280					285			
Gly	Gln	Ile	Ile	Val	Val	Ile	Trp	Val	Ile	Val	Ser	Pro	Asn	Asn	Asp
	290					295					300				
Lys	Gln	Lys	Tyr	Thr	Leu	Lys	Ile	Asn	His	Asp	Cys	Val	Pro	Glu	Gln
305					310					315					320
Val	Ile	Ala	Glu	Ala	Ile	Arg	Lys	Lys	Thr	Arg	Ser	Met	Leu	Leu	Ser
			325						330					335	
Ser	Glu	Gln	Leu	Lys	Leu	Cys	Val	Leu	Glu	Tyr	Gln	Gly	Lys	Tyr	Ile
			340					345					350		
Leu	Lys	Val	Cys	Gly	Cys	Asp	Glu	Tyr	Phe	Leu	Glu	Lys	Tyr	Pro	Leu
		355					360					365			
Ser	Gln	Tyr	Lys	Tyr	Ile	Arg	Ser	Cys	Ile	Met	Leu	Gly	Arg	Met	Pro
	370					375					380				
Asn	Leu	Met	Leu	Met	Ala	Lys	Glu	Ser	Leu	Tyr	Ser	Gln	Leu	Pro	Met
385					390					395					400
Asp	Cys	Phe	Thr	Met	Pro	Ser	Tyr	Ser	Arg	Arg	Ile	Ser	Thr	Ala	Thr
			405						410					415	
Pro	Tyr	Met	Asn	Gly	Glu	Thr	Ser	Thr	Lys	Ser	Leu	Trp	Val	Ile	Asn
			420					425					430		
Ser	Ala	Leu	Arg	Ile	Lys	Ile	Leu	Cys	Ala	Thr	Tyr	Val	Asn	Val	Asn
		435					440					445			

```

Ile Arg Asp Ile Asp Lys Ile Tyr Val Arg Thr Gly Ile Tyr His Gly
450 455 460
Gly Glu Pro Leu Cys Asp Asn Val Asn Thr Gln Arg Val Pro Cys Ser
465 470 475 480
Asn Pro Arg Trp Asn Glu Trp Leu Asn Tyr Asp Ile Tyr Ile Pro Asp
485 490 495
Leu Pro Arg Ala Ala Arg Leu Cys Leu Ser Ile Cys Ser Val Lys Gly
500 505 510
Arg Lys Gly Ala Lys Glu Glu His Cys Pro Leu Ala Trp Gly Asn Ile
515 520 525
Asn Leu Phe Asp Tyr Thr Asp Thr Leu Val Ser Gly Lys Met Ala Leu
530 535 540
Asn Leu Trp Pro Val Pro His Gly Leu Glu Asp Leu Leu Asn Pro Ile
545 550 555 560
Gly Val Thr Gly Ser Asn Pro Asn Lys Glu Thr Pro Cys Leu Glu Leu
565 570 575
Glu Phe Asp Trp Phe Ser Ser Val Val Lys Phe Pro Asp Met Ser Val
580 585 590
Ile Glu Glu His Ala Asn Trp Ser Val Ser Arg Glu Ala Gly Phe Ser
595 600 605
Tyr Ser His Ala Gly Leu Ser Asn Arg Leu Ala Arg Asp Asn Glu Leu
610 615 620
Arg Glu Asn Asp Lys Glu Gln Leu Lys Ala Ile Ser Thr Arg Asp Pro
625 630 635 640
Leu Ser Glu Ile Thr Glu Gln Glu Lys Asp Phe Leu Trp Ser His Arg
645 650 655
His Tyr Cys Val Thr Ile Pro Glu Ile Leu Pro Lys Leu Leu Leu Ser
660 665 670
Val Lys Trp Asn Ser Arg Asp Glu Val Ala Gln Met Tyr Cys Leu Val
675 680 685
Lys Asp Trp Pro Pro Ile Lys Pro Glu Gln Ala Met Glu Leu Leu Asp
690 695 700
Cys Asn Tyr Pro Asp Pro Met Val Arg Gly Phe Ala Val Arg Cys Leu
705 710 715 720
Glu Lys Tyr Leu Thr Asp Asp Lys Leu Ser Gln Tyr Leu Ile Gln Leu
725 730 735
Val Gln Val Leu Lys Tyr Glu Gln Tyr Leu Asp Asn Leu Leu Val Arg
740 745 750
Phe Leu Leu Lys Lys Ala Leu Thr Asn Gln Arg Ile Gly His Phe Phe
755 760 765
Phe Trp His Leu Lys Ser Glu Met His Asn Lys Thr Val Ser Gln Arg
770 775 780
Phe Gly Leu Leu Leu Glu Ser Tyr Cys Arg Ala Cys Gly Met Tyr Leu
785 790 795 800
Lys His Leu Asn Arg Gln Val Glu Ala Met Glu Lys Leu Ile Asn Leu
805 810 815
Thr Asp Ile Leu Lys Gln Glu Lys Lys Asp Glu Thr Gln Lys Val Gln
820 825 830
Met Lys Phe Leu Val Glu Gln Met Arg Arg Pro Asp Phe Met Asp Ala
835 840 845
Leu Gln Gly Phe Leu Ser Pro Leu Asn Pro Ala His Gln Leu Gly Asn
850 855 860
Leu Arg Leu Glu Glu Cys Arg Ile Met Ser Ser Ala Lys Arg Pro Leu
865 870 875 880
Trp Leu Asn Trp Glu Asn Pro Asp Ile Met Ser Glu Leu Leu Phe Gln
885 890 895
Asn Asn Glu Ile Ile Phe Lys Asn Gly Asp Asp Leu Arg Gln Asp Met
900 905 910
Leu Thr Leu Gln Ile Ile Arg Ile Met Glu Asn Ile Trp Gln Asn Gln
915 920 925
Gly Leu Asp Leu Arg Met Leu Pro Tyr Gly Cys Leu Ser Ile Gly Asp
930 935 940
Cys Val Gly Leu Ile Glu Val Val Arg Asn Ser His Thr Ile Met Gln

```

945					950					955					960
Ile	Gln	Cys	Lys	Gly	Gly	Leu	Lys	Gly	Ala	Leu	Gln	Phe	Asn	Ser	His
				965					970					975	
Thr	Leu	His	Gln	Trp	Leu	Lys	Asp	Lys	Asn	Lys	Gly	Glu	Ile	Tyr	Asp
			980					985					990		
Ala	Ala	Ile	Asp	Leu	Phe	Thr	Arg	Ser	Cys	Ala	Gly	Tyr	Cys	Val	Ala
		995					1000					1005			
Thr	Phe	Ile	Leu	Gly	Ile	Gly	Asp	Arg	His	Asn	Ser	Asn	Ile	Met	Val
	1010					1015					1020				
Lys	Asp	Asp	Gly	Gln	Leu	Phe	His	Ile	Asp	Phe	Gly	His	Phe	Leu	Asp
1025					1030					1035				1040	
His	Lys	Lys	Lys	Lys	Phe	Gly	Tyr	Lys	Arg	Glu	Arg	Val	Pro	Phe	Val
				1045				1050						1055	
Leu	Thr	Gln	Asp	Phe	Leu	Ile	Val	Ile	Ser	Lys	Gly	Ala	Gln	Glu	Cys
			1060					1065					1070		
Thr	Lys	Thr	Arg	Glu	Phe	Glu	Arg	Phe	Gln	Glu	Met	Cys	Tyr	Lys	Ala
		1075					1080					1085			
Tyr	Leu	Ala	Ile	Arg	Gln	His	Ala	Asn	Leu	Phe	Ile	Asn	Leu	Phe	Ser
	1090				1095					1100					
Met	Met	Leu	Gly	Ser	Gly	Met	Pro	Glu	Leu	Gln	Ser	Phe	Asp	Asp	Ile
1105					1110					1115				1120	
Ala	Tyr	Ile	Arg	Lys	Thr	Leu	Ala	Leu	Asp	Lys	Thr	Glu	Gln	Glu	Ala
			1125					1130						1135	
Leu	Glu	Tyr	Phe	Met	Lys	Gln	Met	Asn	Asp	Ala	His	His	Gly	Gly	Trp
			1140				1145						1150		
Thr	Thr	Lys	Met	Asp	Trp	Ile	Phe	His	Thr	Ile	Lys	Gln	His	Ala	Leu
		1155				1160						1165			
Asn	Glu	Leu	Gly	Gly	Ala	His	His	His	His	His	His				
	1170					1175					1180				

<210> 5

<211> 615

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Proteína de fusión utilizada para el ensayo de autofagia

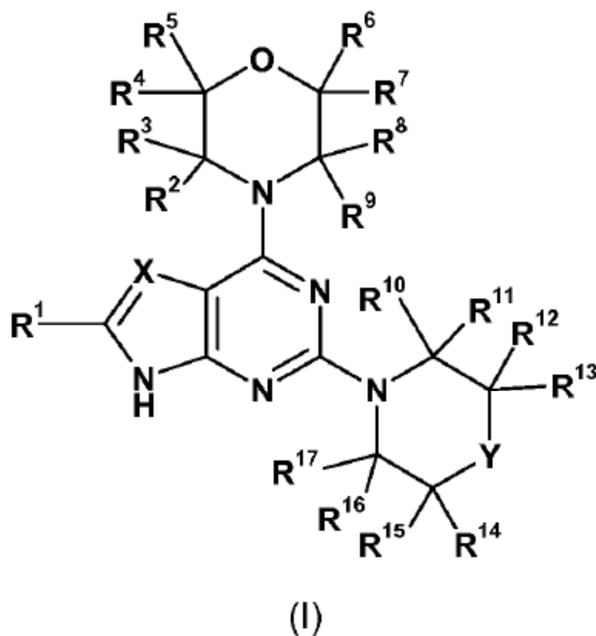
<400> 5

Met	Val	Ser	Lys	Gly	Glu	Glu	Asp	Asn	Met	Ala	Ile	Ile	Lys	Glu	Phe
1				5					10					15	
Met	Arg	Phe	Lys	Val	His	Met	Glu	Gly	Ser	Val	Asn	Gly	His	Glu	Phe
			20					25					30		
Glu	Ile	Glu	Gly	Glu	Gly	Glu	Gly	Arg	Pro	Tyr	Glu	Gly	Thr	Gln	Thr
		35					40					45			
Ala	Lys	Leu	Lys	Val	Thr	Lys	Gly	Gly	Pro	Leu	Pro	Phe	Ala	Trp	Asp
	50					55					60				
Ile	Leu	Ser	Pro	Gln	Phe	Met	Tyr	Gly	Ser	Lys	Ala	Tyr	Val	Lys	His
65				70						75				80	
Pro	Ala	Asp	Ile	Pro	Asp	Tyr	Leu	Lys	Leu	Ser	Phe	Pro	Glu	Gly	Phe
			85					90					95		
Lys	Trp	Glu	Arg	Val	Met	Asn	Phe	Glu	Asp	Gly	Gly	Val	Val	Thr	Val
			100					105					110		
Thr	Gln	Asp	Ser	Ser	Leu	Gln	Asp	Gly	Glu	Phe	Ile	Tyr	Lys	Val	Lys
		115					120					125			
Leu	Arg	Gly	Thr	Asn	Phe	Pro	Ser	Asp	Gly	Pro	Val	Met	Gln	Lys	Lys
	130					135					140				
Thr	Met	Gly	Trp	Glu	Ala	Ser	Ser	Glu	Arg	Met	Tyr	Pro	Glu	Asp	Gly
145				150						155				160	
Ala	Leu	Lys	Gly	Glu	Ile	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Leu	Lys	Asp	Gly	Gly

				165					170					175	
His	Tyr	Asp	Ala	Glu	Val	Lys	Thr	Thr	Tyr	Lys	Ala	Lys	Lys	Pro	Val
			180					185					190		
Gln	Leu	Pro	Gly	Ala	Tyr	Asn	Val	Asn	Ile	Lys	Leu	Asp	Ile	Thr	Ser
		195					200					205			
His	Asn	Glu	Asp	Tyr	Thr	Ile	Val	Glu	Gln	Tyr	Glu	Arg	Ala	Glu	Gly
	210					215					220				
Arg	His	Ser	Thr	Gly	Gly	Met	Asp	Glu	Leu	Tyr	Lys	Pro	Val	Ala	Thr
225				230						235					240
Met	Val	Ser	Lys	Gly	Glu	Glu	Leu	Phe	Thr	Gly	Val	Val	Pro	Ile	Leu
			245						250					255	
Val	Glu	Leu	Asp	Gly	Asp	Val	Asn	Gly	His	Lys	Phe	Ser	Val	Ser	Gly
			260					265					270		
Glu	Gly	Glu	Gly	Asp	Ala	Thr	Tyr	Gly	Lys	Leu	Thr	Leu	Lys	Phe	Ile
		275					280					285			
Cys	Thr	Thr	Gly	Lys	Leu	Pro	Val	Pro	Trp	Pro	Thr	Leu	Val	Thr	Thr
	290					295					300				
Leu	Thr	Tyr	Gly	Val	Gln	Cys	Phe	Ser	Arg	Tyr	Pro	Asp	His	Met	Lys
305				310						315					320
Gln	His	Asp	Phe	Phe	Lys	Ser	Ala	Met	Pro	Glu	Gly	Tyr	Val	Gln	Glu
			325						330					335	
Arg	Thr	Ile	Phe	Phe	Lys	Asp	Asp	Gly	Asn	Tyr	Lys	Thr	Arg	Ala	Glu
			340					345					350		
Val	Lys	Phe	Glu	Gly	Asp	Thr	Leu	Val	Asn	Arg	Ile	Glu	Leu	Lys	Gly
		355					360					365			
Ile	Asp	Phe	Lys	Glu	Asp	Gly	Asn	Ile	Leu	Gly	His	Lys	Leu	Glu	Tyr
	370					375					380				
Asn	Tyr	Asn	Ser	His	Asn	Val	Tyr	Ile	Met	Ala	Asp	Lys	Gln	Lys	Asn
385				390						395					400
Gly	Ile	Lys	Val	Asn	Phe	Lys	Ile	Arg	His	Asn	Ile	Glu	Asp	Gly	Ser
			405						410					415	
Val	Gln	Leu	Ala	Asp	His	Tyr	Gln	Gln	Asn	Thr	Pro	Ile	Gly	Asp	Gly
			420					425					430		
Pro	Val	Leu	Leu	Pro	Asp	Asn	His	Tyr	Leu	Ser	Thr	Gln	Ser	Ala	Leu
		435				440						445			
Ser	Lys	Asp	Pro	Asn	Glu	Lys	Arg	Asp	His	Met	Val	Leu	Leu	Glu	Phe
	450					455					460				
Val	Thr	Ala	Ala	Gly	Ile	Thr	Leu	Gly	Met	Asp	Glu	Leu	Tyr	Lys	Ser
465				470					475						480
Gly	Leu	Arg	Ser	Arg	Ala	Gln	Ala	Ser	Asn	Ser	Ala	Val	Asp	Met	Pro
			485						490					495	
Ser	Asp	Arg	Pro	Phe	Lys	Gln	Arg	Arg	Ser	Phe	Ala	Asp	Arg	Cys	Lys
			500					505					510		
Glu	Val	Gln	Gln	Ile	Arg	Asp	Gln	His	Pro	Ser	Lys	Ile	Pro	Val	Ile
		515				</									

REIVINDICACIONES

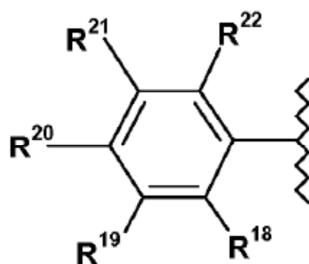
1. Un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

5 X representa N o CH;

R¹ representa



en donde:

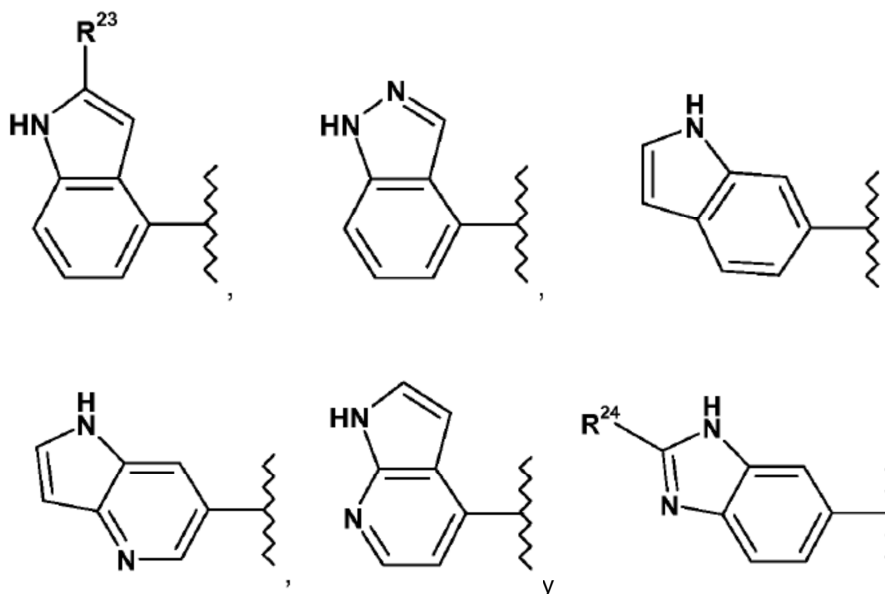
10 R¹⁸ y R²² representan independientemente hidrógeno, halógeno, hidroxilo, o hidroxilo-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-;

R¹⁹ y R²¹ representan independientemente hidrógeno, amino, hidroxilo, carboxi, alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono, amino-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-C(=O)-NH-, alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-S(=O)_m-NH- o hidroxilo-alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-;

m representa 0, 1 o 2;

15 R²⁰ representa hidrógeno, halógeno o alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono; o

R¹ se selecciona a partir del grupo que consiste en:



en donde:

R^{23} representa hidrógeno o metilo;

5 R^{24} representa hidrógeno, oxo o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} y R^{17} representan independientemente hidrógeno o metilo;

o R^2 y R^8 forman juntos un puente de etileno;

o R^2 y R^6 forman juntos un puente de metileno;

10 o R^{12} y R^{14} forman juntos un puente de etileno; y

Y representa O, CHR^{25} o $CR^{26}R^{27}$,

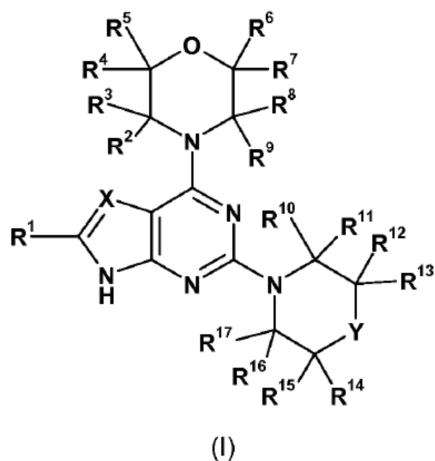
en donde:

R^{25} representa hidroxi o alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono; y

R^{26} y R^{27} representan independientemente hidrógeno o halógeno;

15 con la condición de que el compuesto de la fórmula (I) es diferente de 2,6-di-morfolin-4-il-8-fenil-9H-purina.

2. Un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

X representa N o CH;

R¹ representa:



5

en donde:

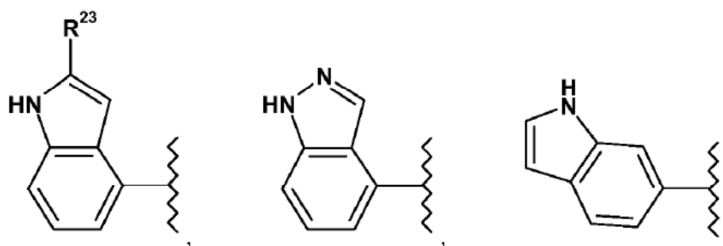
R¹⁸ y R²² representan independientemente hidrógeno, halógeno, hidroxilo, o hidroxilo-alkilo de 1 a 3 átomos de carbono-;

10 R¹⁹ y R²¹ representan independientemente hidrógeno, amino, hidroxilo, carboxilo, alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono, amino-alkilo de 1 a 3 átomos de carbono-, alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-C(=O)-NH-, alquilo de 1 a 3 átomos de carbono-S(=O)_m-NH- o hidroxilo-alkilo de 1 a 3 átomos de carbono-;

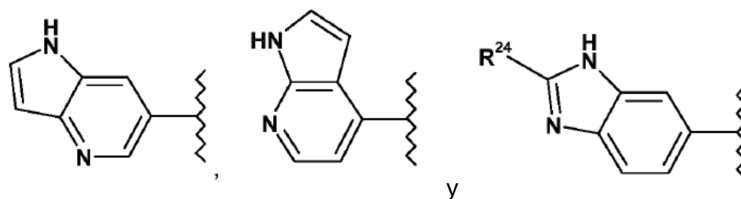
m representa 0, 1 o 2;

R²⁰ representa hidrógeno, halógeno o alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono; o

R¹ se selecciona a partir del grupo que consiste en:



15



en donde:

R^{23} representa hidrógeno o metilo;

R^{24} representa hidrógeno, oxo o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

- 5 R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} y R^{17} representan independientemente hidrógeno o metilo; o R^5 y R^6 forman juntos un puente de etileno; y

Y representa O, CHR^{25} o $CR^{26}R^{27}$

en donde:

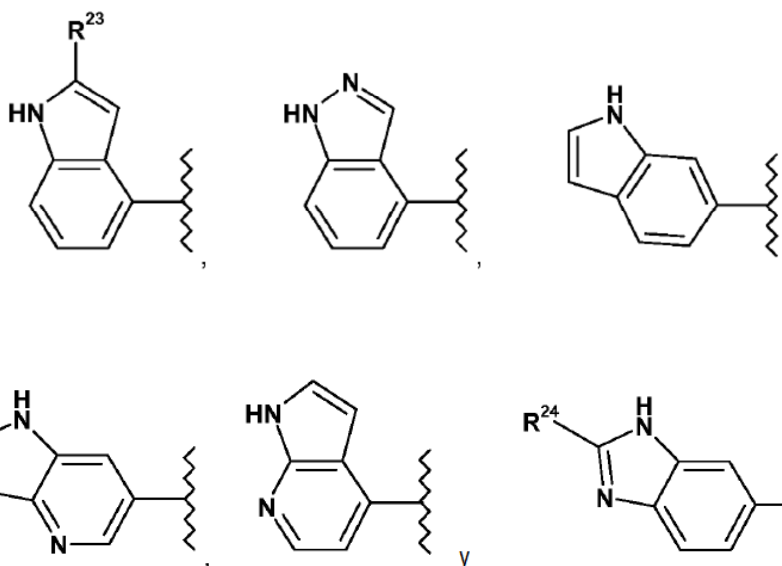
R^{25} representa hidroxi o alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono; y

- 10 R^{26} y R^{27} representan independientemente hidrógeno o halógeno;

con la condición de que el compuesto de la fórmula (I) es diferente de 2,6-di-morfolin-4-il-8-fenil-9H-purina.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o con la reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X representa N.

- 15 4. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^1 se selecciona a partir del grupo que consiste en



en donde

R^{23} representa hidrógeno o metilo; y

- 20 R^{24} representa hidrógeno, oxo o alquilo de 1 a 2 átomos de carbono

5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable

del mismo, en donde Y representa O:

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o con la reivindicación 2, el cual se selecciona a partir de:

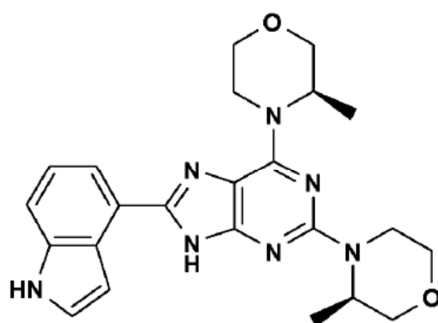
3-[2-((2S,6R)-2,6-Dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenol

3-(2,4-dimorfolino-7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-6-il)fenol

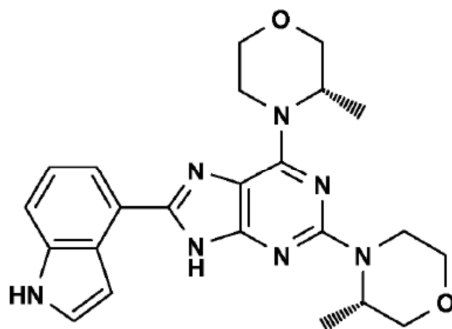
- 5 2,6-Bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-8-(1H-pirrol[2,3-b]piridin-4-il)-9H-purina;
{2-Fluoro-5-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
2-(4,4-Difluoro-piperidin-1-il)-8-(1H-indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
5-[2,6-Bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-1,3-dihidro-benzoimidazol-2-ona;
{5-[2,6-Bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-2-metoxi-fenil}-metanol;
- 10 8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(8-oxa-3-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-9H-purina;
Ácido 2-Metoxi-5-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-benzoico ;
{4-Cloro-3-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
3-(2,6-Di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-Bencilamina;
1-{3-[6-((S)-3-Metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-etanol;
- 15 2,6-Di-morfolin-4-il-8-(1H-pirrol[3,2-b]piridin-6-il)-9H-purina;
8-(1H-Indol-6-il)-2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
1-[8-(1H-Indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-2-il]-piperidin-4-ol;
{3-[2,6-Bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-5-metoxi-fenil}-metanol;
- 20 8-(1H-Indol-4-il)-2-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
{3-[2,6-Bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purin-8-il]-4-fluoro-fenil}-metanol;
8-(1H-Indol-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
8-(1H-Indol-6-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
- 25 8-(1H-Indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
8-(1H-Indol-6-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
8-(1H-Indol-4-il)-2-(4-metoxi-piperidin-1-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina;
8-(1H-Indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
8-(1H-Indazol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
- 30 8-(1H-Indol-6-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
3-(2,6-Di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenilamina;
N-[3-(2,6-Di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-acetamida;
8-(2-Metil-1H-indol-4-il)-2,6-di-morfolin-4-il-9H-purina;
3-[2-((2S,6R)-2,6-Dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenilamina;
- 35 N-[3-(2,6-Di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanosulfonamida;
{2-[2-((2S,6R)-2,6-Dimetil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purin-8-il]-fenil}-metanol;
[2-(2,6-Di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol;

- 3-(2,6-Di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol
[3-(2,6-Di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenil]-metanol;
2-(2,6-Di-morfolin-4-il-9H-purin-8-il)-fenol
6-(3,3-Dimetil-morfolin-4-il)-8-(1 H-indol-6-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
5 6-(3,3-Dimetil-morfolin-4-il)-8-(1 H-indol-4-il)-2-morfolin-4-il-9H-purina;
8-(1H-Indol-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
8-(1H-Indol-6-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
8-(1H-Indol-6-il)-2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina;
8-(1H-Indol-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-9H-purina;
10 8-(1H-Indol-4-il)-2-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina;
8-(1H-Indol-6-il)-2-morfolin-4-il-6-(1S,4S)-2-oxa-5-aza-biciclo[2.2.1]hept-5-il-9H-purina;
8-(1H-Indol-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-morfolin-4-il-9H-purina;
8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(1S,4S)-2-oxa-5-aza-biciclo[2.2.1]hept-5-il-9H-purina;
8-(1H-Indol-6-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-9H-purina;
15 8-(1H-Indol-4-il)-6-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-9H-purina;
8-(1H-Indol-6-il)-2-morfolin-4-il-6-(3-oxa-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-8-il)-9H-purina;
8-(1H-Indol-4-il)-2-morfolin-4-il-6-(3-oxa-8-aza-biciclo[3.2.1]oct-8-il)-9H-purina;
6-(1 H-Indol-4-il)-4-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-7H-pirrollo[2,3-d]pirimidina;
6-(1H-Indol-4-il)-2,4-di-morfolin- 4-il-7H-pirrollo[2,3-d]pirimidina;
20 y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

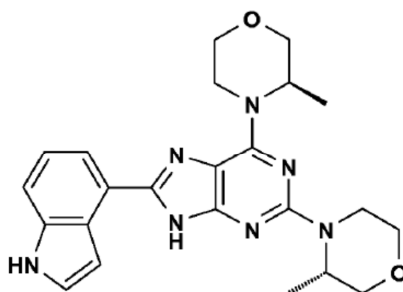
7. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 que es 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la fórmula



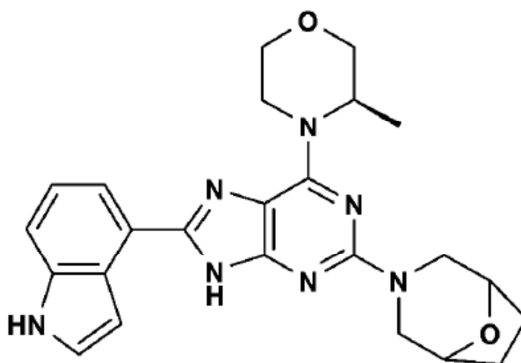
8. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 que es 8-(1H-Indol-4-il)-2,6-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la fórmula
- 25



9. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 que es 8-(1H-Indol-4-il)-2-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-9H-purina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la fórmula



5 10. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 que es 8-(1H-Indol-4-il)-6-((R)-3-metil-morfolin-4-il)-2-(8-oxa-3-aza-biciclo[3.2.1]oct-3-il)-9H-purina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la fórmula



11. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para utilizarse como un medicamento.

10 12. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para utilizarse en el tratamiento o en la prevención de cáncer o de un trastorno neurodegenerativo.

13. Una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable

15 14. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento o la prevención de cáncer o de un trastorno neurodegenerativo.

15. Una combinación que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una segunda sustancia de fármaco, para su administración simultánea o en secuencia.

20