(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 616 238**

(51) Int. CI.:

C07D 235/10	(2006.01)	***C07D 417/10***	(2006.01)
C07D 401/10	(2006.01)	***A61K 31/4164***	(2006.01)
C07D 235/24	(2006.01)	***A01N 43/52***	(2006.01)
C07D 403/04	(2006.01)	***C07D 235/08***	(2006.01)
C07D 403/10	(2006.01)	***C07D 413/04***	(2006.01)
C07D 405/04	(2006.01)	***C07D 413/10***	(2006.01)
C07D 405/10	(2006.01)		
C07D 409/10	(2006.01)		
C07D 513/04	(2006.01)		
C07D 417/04	(2006.01)		

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.09.2011 PCT/US2011/052857**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **12.04.2012 WO2012047538**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.09.2011 E 11831214 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2016 EP 2624696**

(54) Título: **Derivados de bencimidazol como inhibidores de PI3 quinasa**

(30) Prioridad:

29.08.2011 US 201161528397 P
06.10.2010 US 390314 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.06.2017

(73) Titular/es:

GLAXOSMITHKLINE LLC, CORPORATION SERVICE COMPANY (100.0%)
2711 Centerville Road, Suite 400
Wilmington DE 19808, US

(72) Inventor/es:

QU, JUNYA;
RIVERO, RALPH;
SANCHEZ, ROBERT y
TEDESCO, ROSANNA

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

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 de bencimidazol como inhibidores de PI3 quinasa

Campo de la invención

Esta invención se refiere al uso de un derivado de bencimidazol para la modulación, particularmente la inhibición de la actividad o función de la familia fosfoinositida 3' OH quinasa (en adelante PI3 quinasas), de forma adecuada, PI3Kα, PI3Kδ, PI3Kβ y/o PI3Kγ. De forma adecuada, la presente invención se refiere al uso de un bencimidazol en el tratamiento de uno o más estados de enfermedad seleccionados de: trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad del esperma, rechazo del trasplante, rechazo del injerto y lesiones pulmonares. De forma más adecuada, la presente invención se refiere a un compuesto de bencimidazol selectivo de PI3Kβ para tratar el cáncer.

Antecedentes de la invención

La ruta de la fosfoinositida 3-quinasa (PI3K) está entre las activadas más comúnmente en el cáncer humano y la importancia en la carcinogénesis está bien establecida (Samuels Y y Ericson K. Oncogenic PI3K and its role in cancer. *Current Opinion in Oncology,* 2006; 18:77-82). La iniciación de la señalización comienza con la fosforilación de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP2) para producir fosfatidilinositol-3,4,5-P3 (PIP3). PIP3 es un segundo mensajero crítico que recluta proteínas que contienen dominios de homología de pleckstrina a la membrana celular donde están activos. Las más estudiadas de estas proteínas es AKT que promueve la supervivencia, crecimiento y proliferación celular.

La familia PI3K consiste en 15 proteínas que comparten la homología de la secuencia, particularmente con sus dominios quinasa, pero tienen distintas especificidades de sustrato y modos de regulación (Vivanco I y Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-kinase-AKT pathway in human cancer. *Nature Reviews Cancer*, 2002; 2:489-501). Las PI3Ks de clase I son heterodímeros que consisten en una subunidad catalítica p110 complejada con una de varias subunidades reguladoras denominadas de forma colectiva como p85 y han sido las más extensamente estudiadas en el contexto de la tumorgénesis. Las subunidades catalíticas de PI3K de clase 1A comprenden las isoformas p110α, p110β y p110δ, que se asocian con una de las cinco subunidades reguladoras diferentes codificadas por tres genes separados. Una única isoforma catalítica PI3K de clase 1B p110γ interactúa con una de dos subunidades reguladoras asociadas (Crabbe T, Welham MJ, Ward SG, The PI3K inhibitor arsenal: choose your weapon *Trends in Biochem Sci,* 2007, 32:450-456). Las PI3Ks de clase 1 son primeramente responsables de fosforilar la molécula de señalización PIP2 crítica.

La unión entre la ruta de PI3K y el cáncer se confirmó mediante un estudio que identificó mutaciones somáticas en el gen PIK3CA que codifica la proteína p110α. Posteriormente, las mutaciones en PIK3CA se han identificado en numerosos cánceres que incluyen colorrectal, de mama, glioblastomas de ovario y de pulmón. En contraste a PIK3CA, no se han identificado mutaciones somáticas en la isoforma β. Sin embargo, en estudios de sobreexpresión, la isoforma PI3Kβ se ha implicado como necesaria para la transformación inducida por la pérdida o inactivación del supresor tumoral PTEN tanto *in vitro* como *in vivo* (Torbett NE, Luna A, Knight ZA, et al., A chemical screen in diverse breast cancer cell lines reveals genetic enhancers and suppressors of sensitivity to PI3K isotype-selective inhibition. *Biochem J* 2008; 415:97-110; Zhao JJ, Liu Z, Wang L, Shin E, Loda MF, Roberts TM, The oncogenic properties of mutant p110a and p110b phosphatidylinositol 3-kinases in human mammary epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:18443-8). Consecuente con este descubrimiento, la sobreexpresión del gen PIK3CB se ha identificado en algunas vejigas, colon, glioblastomas y leucemias y bajadas mediadas por ARNip de p110β en líneas celulares de glioblastoma que da por resultado la supresión del crecimiento tumoral *in vitro* e *in vivo* (Pu P, Kang C, Zhang Z, et al., Downregulation of PIK3CB by SiRNA suppresses malignant glioma cell growth in vitro and in vivo. *Technolo Cancer Res Treat* 2006; 5:271-280). Datos más recientes usando ARNhc demostraron que la regulación a la baja de p110β y no de p110α dio por resultado la inactivación de la ruta de PI3K y la posterior inactivación del crecimiento de células tumorales en células de cánceres deficientes en PTEN tanto *in vitro* como *in vivo* (Wee S, Wiederschain, Maira S-M, Loo A, Miller C, et al., PTEN-deficient cancers depend on PIK3CB. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105:13057-13062). De acuerdo con un papel de la señalización de PIK3CB en los tumores nulos en PTEN, se presentó que p110β era esencial para el fenotipo transformado en un modelo de cáncer de próstata nulo en PTEN (Jia S, Liu Z, Zhang S, Lui P, Zhang L, et al., Essential roles of PI(3)K-p110b in cell growth, metabolism and tumorgenesis. *Nature* 2008; 10:1038).

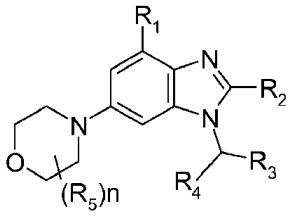
Además, se ha presentado que la fibrogénesis, que incluye esclerosis sistémica (SSc), artritis, nefropatía, cirrosis hepática y algunos cánceres, están relacionados con la deficiencia de PTEN y la correspondiente sobreexpresión de PI3K-Akt (Parapuram, S.K., et al., Loss of PTEN expression by dermal fibroblasts causes skin fibrosis. J. of Investigative Dermatology, avance de publicación en línea el 9 de junio de 2011; doi: 10.1038/jid.2011.156). Tomados juntos, estos descubrimientos indican a PI3K p110β como una diana prometedora para el cáncer y otros síndromes relacionados con la pérdida de PTEN (Hollander, M. Christine; Blumenthal, Gideon M.; Dennis, Phillip P.; PTEN loss in the continuum of common cancers, rare syndromes and mouse models. *Nature Reviews/Cancer* 2011; 11:289-301). Es por lo tanto deseable crear un potente inhibidor selectivo de PI3K-β.

El documento US20070066606A1 describe derivados de bencil-bencimidazolilo que se expone que son inhibidores de tirosina quinasas, útiles para el tratamiento de tumores.

El documento US7223757B2 describe compuestos de bencimidazol que se expone que son inhibidores de tirosina quinasas, útiles como agentes anti-cancerígenos.

Compendio de la invención

Se describen nuevos compuestos de fórmula (I):



(I)

en donde

R1 se selecciona de H, alquilo C_{1-6}, alcoxi, hidroxi, halógeno, -CN, $-NH_2$, -NHC(O)Ra, $-NHSO_2Ra$, $-CO_2H$, $-CO_2Ra$, $-CONHRb$,$CONH_2$, $-CH_2OH$, y heteroarilo en donde el heteroarilo puede estar sustituido por uno o dos grupos alquilo C_{1-3};

R2 se selecciona de H, -NHRa, alcoxi, halógeno, $-CF_3$, $-CHF_2$ y alquilo C_{1-6};

R3 se selecciona de arilo y heteroarilo, en donde dicho arilo o heteroarilo puede sustituirse por uno a tres Rc;

R4 se selecciona de H o Ra;

Cada R5 se selecciona independientemente de alquilo C_{1-6};

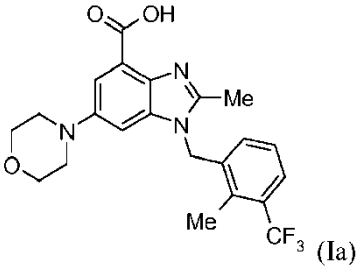
Cada Ra se selecciona independientemente de alquilo C_{1-3};

Rb se selecciona de alquilo C_{1-3} y SO_2Me;

Cada Rc se selecciona independientemente de alquilo C_{1-3}, halógeno, $-CF_3$, e hidroxi; y n es 0-2,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención se refiere al compuesto, ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico representado por la fórmula:



(Ia)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en terapia.

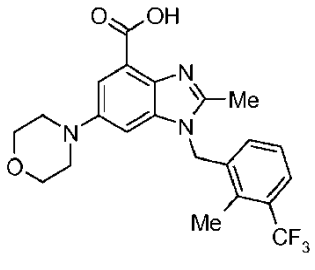
En otro aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el tratamiento de un neoplasma susceptible en un mamífero que lo necesita.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para usar en el tratamiento de un neoplasma susceptible en un mamífero que lo necesita.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el tratamiento de un neoplasma susceptible en un mamífero que lo necesita.

Descripción detallada de la invención

Se describen compuestos de Fórmula (I). La invención se refiere al compuesto, ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico representado por la fórmula



(Ia),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Definiciones

Por término "arilo" como se usa en esta memoria, a menos que se defina de otra forma, se entiende sistema anular, hidrocarbonado, aromático. El sistema anular puede ser monocíclico o policíclico condensado (por ejemplo, bicíclico, tricíclico, etc.). En varias realizaciones, el anillo arilo monocíclico es C5-C10, o C5-C7 o C5-C6, donde estos números de carbono se refieren al número de átomos de carbono que forman el sistema anular. Un sistema anular C6, es decir, un anillo fenilo es un grupo arilo adecuado. En varias realizaciones, el anillo policíclico es un grupo arilo bicíclico, donde grupos arilo bicíclicos adecuados son C8-C12 o C9-C10. Un anillo naftilo, que tiene 10 átomos de carbono, es un grupo arilo policíclico adecuado.

Por término "heteroarilo" como se usa en esta memoria, a menos que se defina de otra forma, se entiende un sistema anular aromático que contiene carbono(s) y al menos un heteroátomo. El heteroarilo puede ser monocíclico o policíclico. Un grupo heteroarilo monocíclico puede tener 1 a 4 heteroátomos en el anillo, mientras que un heteroarilo policíclico puede contener 1 a 10 heteroátomos. Un anillo heteroarilo policíclico puede contener uniones anulares condensadas, espiro o en puente, por ejemplo, heteroarilo bicíclico es un heteroarilo policíclico. Los anillos heteroarilo bicíclicos pueden contener de 8 a 12 átomos miembros. Los anillos heteroarilo monocíclicos pueden contener de 5 a 8 átomos miembros (carbonos y heteroátomos). Grupos heteroarilo ejemplares incluyen: benzofurano, benzotieno, benzotiofeno, furano, imidazol, indol, isotiazol, oxazol, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, quinolina, isoquinolina, quinazolina, quinoxalina, tiazol y tiofeno. Según una realización alternativa, los heteroarilos pueden estar sustituidos con uno a tres grupos alquilo.

Por término "alcoxi" como se usa en esta memoria se entiende –O(alquilo) que incluye $–OCH_3$, $-OCH_2CH_3$ y $–OC(CH_3)_3$ donde alquilo es como se describe en esta memoria.

Por término "heteroátomo" como se usa en esta memoria se entiende oxígeno, nitrógeno o azufre.

Por término "halógeno" como se usa en esta memoria se entiende un sustituyente seleccionado de bromo, yodo, cloro y flúor.

Por término "alquilo" y derivados del mismo y en todas las cadenas de carbono como se usan en esta memoria, incluyendo cadenas alquilo definidas por el término "$-(CH_2)_n$", "$-(CH_2)_m$" y similares, se entiende una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, saturada o insaturada, y a menos que se defina otra cosa, la cadena de carbono contendrá de 1 a 12 átomos de carbono.

Por término "co-administración" y derivados del mismo como se usan en esta memoria se entiende o bien administración simultánea o cualquier forma de administración secuencial separada de un compuesto que inhibe PI3 quinasa, como se describe en esta memoria, y un ingrediente o ingredientes activo(s) más. El término ingrediente o ingredientes activo(s) más, como se usa en esta memoria, incluye cualquier compuesto o agente terapéutico conocido o que demuestre propiedades ventajosas cuando se administra a un paciente que necesita tratamiento. De forma adecuada, si la administración no es simultánea, los compuestos se administran en proximidad cercana en el tiempo el uno del otro. Además, no importa si los compuestos se administran en la misma forma de dosificación, por ejemplo, un compuesto puede administrarse de forma tópica y otro compuesto puede administrarse de forma oral.

El término "compuesto" como se usa en esta memoria incluye todos los isómeros del compuesto. Ejemplos de dichos isómeros incluyen: enantiómeros, tautómeros, rotámeros.

Ciertos compuestos descritos en esta memoria pueden contener uno o más átomos quirales, o pueden ser capaces si no de existir como dos enantiómeros, o dos o más diastereoisómeros. Por consiguiente, los compuestos de la Fórmula (I) descrita incluyen mezclas de enantiómeros/diastereoisómeros además de enantiómeros/diastereoisómeros purificados o mezclas enriquecidas de forma enantiomérica/diastereoisomérica. También se describen los isómeros individuales de los compuestos representados por la Fórmula (I) anterior además de cualquier mezcla total o parcialmente equilibrada de los mismos. También se describen los isómeros individuales de los compuestos representados por la Fórmula (I) anterior como mezclas con isómeros de los mismos en que se invierten uno o más centros quirales. La presente invención también incluye isotopómeros de los compuestos de Fórmula (Ia). Ejemplos de dichos isotopómeros incluyen aunque no están limitados a compuestos con uno o más átomos de deuterio.

Un compuesto de Fórmula (Ia) se incluye en las composiciones farmacéuticas de la invención. Donde está presente un grupo –COOH u –OH, pueden emplearse ésteres farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, metilo, etilo, pivaloiloximetilo, y similares para –COOH, y acetato maleato y similares para –OH, y los ésteres conocidos en la técnica para modificar las características de solubilidad o hidrólisis, para usar como formulaciones de liberación sostenida o profármaco.

Se apreciará por los expertos en la técnica que los compuestos de fórmula (I) pueden utilizarse como una versión de sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen sales convencionales formadas a partir de ácidos o bases inorgánicas u orgánicas farmacéuticamente aceptables (es decir, no tóxicas) además de sales de amonio cuaternarias. Las sales representativas incluyen las siguientes: acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro, edetato de calcio, camsilato, carbonato, cloruro, clavulanato, citrato, dihidrocloruro, edetato, edisilato, estolato, esilato, etanolamina, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, hidrobromuro, hidrocloruro, hidroxinaftoato, yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, mandelato, mesilato (metanosulfonato), metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, maleato de monopotasio, mucato, napsilato, nitrato, N-metilglucamina, oxalato, pamoato (embonato), palmitato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, potasio, salicilato, sodio, estearato, subacetato, succinato, tannato, tartrato, teoclato, tosilato (metilbencenosulfonato), trietyoduro, trimetilamonio y valerato. Otras sales, tales como oxálico y trifluoroacético, que no son en si mismas farmacéuticamente aceptables, pueden ser útiles en la preparación de sales útiles como intermedios en la obtención de compuestos de esta invención. En una realización, el compuesto de fórmula (I) está en la forma de la base libre. En una realización, el compuesto de fórmula (I) está en forma de la sal tris, es decir, tris(hidroximetil)aminometano. En una realización, el compuesto de fórmula (I) está en la forma de la sal de sulfato. En una realización, el compuesto de fórmula (I) está en forma de la sal de hidrocloruro. En una realización, el compuesto de fórmula (I) está en forma de la sal sódica. Ciertas versiones de sal de los compuestos pueden ser solvatos, particularmente hidratos. En una realización, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo está en forma de un mono-, di-, tri- o hemi-hidrato.

Se ha encontrado actualmente que los compuestos de Fórmula (I) son inhibidores de las fosfatoinositidas 3-quinasas (PI3Ks). Cuando la enzima fosfatoinositidas 3-quinasa (PI3K) se inhibe por un compuesto de Fórmula (I), PI3K es incapaz de ejercer sus efectos enzimáticos, biológicos y/o farmacológicos. El compuesto de la presente invención es útil por lo tanto en el tratamiento de trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad del esperma, rechazo al trasplante, rechazo al injerto y lesiones pulmonares.

Los compuestos según la Fórmula (I) son adecuados para la modulación, especialmente la inhibición de la actividad de fosfatoinositidas 3-quinasas (PI3K) y, más particularmente, inhibidores selectivos de la isoforma beta de fosfatoinositidas 3-quinasa (PI3Kβ). Por lo tanto el compuesto de la presente invención también es útil para el tratamiento de trastornos que están mediados por PI3Ks. Dicho tratamiento implica la modulación – especialmente la inhibición o la regulación a la baja – de las fosfatoinositidas 3-quinasas.

Porque el compuesto farmacéuticamente activo de la presente invención está activo como un inhibidor de PI3 quinasa, particularmente inhibiendo PI3Kβ, o bien de forma selectiva o en conjunto con uno o más de PI3Kδ, PI3Kα y/o PI3Kγ, muestra utilidad terapéutica en el tratamiento de neoplasmas susceptibles, particularmente los neoplasmas que muestran una deficiencia de PTEN.

Como se usa en esta memoria, la frase “deficiente en PTEN” o “deficiencia de PTEN” describirá tumores con deficiencias de la función supresora tumoral de PTEN (homólogo de fosfatasa y tensina). Dicha deficiencia incluye mutación en el gen PTEN, reducción o ausencia de proteínas PTEN cuando se compara con un tipo salvaje de PTEN, o mutación o ausencia de otros genes que provocan la supresión de la función PTEN.

Como se usa en esta memoria, el término “tratamiento” o “que trata” en el contexto de métodos terapéuticos, se refiere a aliviar el proceso especificado, eliminar o reducir los síntomas del proceso, ralentizar o eliminar la progresión, invasión o extensión metastática del proceso y prevenir o retrasar la reocurrencia del proceso en un sujeto aquejado anteriormente. La presente invención proporciona además el uso del compuesto de la invención

para la preparación de un medicamento para el tratamiento de varios procesos en un mamífero (por ejemplo, ser humano) que lo necesita.

"Neoplasma susceptible" como se usa en esta memoria se refiere a neoplasmas que son susceptibles de tratamiento mediante un inhibidor de quinasa y particularmente neoplasmas que son susceptibles de tratamiento por un inhibidor de PI3Kβ. Los neoplasmas que se han asociado con actividad inapropiada de la fosfatasa de PTEN y particularmente neoplasmas que muestran mutación de PTEN, o mutación de un activador corriente arriba de PI3Kβ quinasa o sobreexpresión de un activador corriente arriba de PI3Kβ quinasa, y son por lo tanto susceptibles de tratamiento con un inhibidor de PI3Kβ se conocen en la técnica, e incluyen tanto tumores y cánceres primarios como metastáticos. Según una realización, la descripción del tratamiento de un neoplasma susceptible puede usarse de forma intercambiable con descripción del tratamiento de un cáncer.

Según una realización, "neoplasmas susceptibles" incluyen, aunque no están limitados a neoplasmas deficientes en PTEN enumerados como sigue:

Cerebro (gliomas),

Glioblastomas,

Leucemias,

Síndrome de Bannayan-Zonana,

Enfermedad de Cowden,

Enfermedad de Lhermitte-Duclos,

Cáncer de mama,

Cáncer de mama inflamatorio,

Cáncer colorrectal,

Tumor de Wilm,

Sarcoma de Ewing,

Rabdomiosarcoma,

Ependimoma,

Meduloblastoma,

Cáncer de colon,

Cáncer de cabeza y cuello,

Cáncer de riñón,

Cáncer de pulmón,

Cáncer de hígado,

Melanoma,

Carcinoma de células escamosas,

Cáncer de ovario,

Cáncer de páncreas,

Cáncer de próstata,

Cáncer sarcoma,

Osteosarcoma,

Tumor de células gigantes del hueso,

Cáncer de tiroides,

Leucemia linfoblástica de células T,

Leucemia mielógena crónica,

Leucemia linfocítica crónica,

Leucemia de células pilosas,

Leucemia linfoblástica aguda,

Leucemia mielógena aguda,

Leucemia neutrófila crónica,

Leucemia linfoblástica de células T aguda,

Plasmacitoma,

Leucemia inmunoblástica de células grandes,

Leucemia de células del manto,

Mieloma múltiple,

Leucemia megacarioblástica,

Leucemia megacariocítica aguda,

Leucemia promielocítica,

Eritroleucemia,

Linfoma maligno,

Linfoma de Hodgkin,

Linfoma no de Hodgkin,

Linfoma linfoblastico de células T,

Linfoma de Burkitt,

Linfoma folicular,

Neuroblastoma,

Cáncer de vejiga,

Cáncer urotelial,

Cáncer vulvar,

Cáncer cervical,

Cáncer de endometrio,

Cáncer renal,

Mesotelioma.

Cáncer de esófago,

Cáncer de glándulas salivales,

Cáncer hepatocelular,

Cáncer gástrico,

Cáncer nasofaríngeo,

Cáncer bucal,

Cáncer de la boca,

GIST (tumor de estroma gastrointestinal),

y cáncer de testículos.

Según una realización alternativa, el término “neoplasma susceptible” incluye y está limitado al cáncer de próstata hormonorefractario, cáncer de pulmón no de células pequeñas, cáncer de endometrio, cáncer gástrico, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, que incluye cáncer de mama triple negativo, y glioma. La deficiencia de PTEN se ha correlacionado con dichos cánceres como se demuestra en un número de fuentes publicadas, por ejemplo, Am J Clin Pathol. Febrero de 2009; 131(2):257-63 (glioblastoma), J Clin Neurosci. Diciembre de 2010; 17(12):1543-7 (glioblastoma), Nat Genet. Mayo de 2009; 41(5):619-24 (cáncer de próstata), Br J Cancer. 21 de octubre de 2008; 99(8):1296-301 (cáncer de próstata), Int J Cancer. 15 de marzo de 2007; 120(6):1284-92 (cáncer de próstata), J Invest Dermatol. Enero de 2006; 126(1):154-60 (melanoma), J Clin Oncol. 10 de enero de 2006; 24(2):288-95 (melanoma), Am J Clin Pathol. Octubre de 2005; 124(4):528-36 (melanoma), Int J Oncol. Abril de 2009; 34(4):983-93 (cáncer de mama), Epigenetics. 1 de mayo de 2011; 6(5):638-49 (cáncer de mama), Gynecol Oncol. Febrero de 2009; 112(2):307-13 (cáncer de ovario), Mod Pathol. Octubre de 2010; 23(10):1316-24 (cáncer de ovario), J Pathol. Febrero de 2010; 220(3):392-400 (cáncer de ovario), Lung. Marzo-abril de 2009; 187(2):104-9 (cáncer de pulmón), Anticancer Res. Enero-febrero de 2007; 27(1B):575-81 (cáncer de pulmón), Am J Surg. Junio de 2008; 195(6):719-25 (cáncer de colon), J Clin Oncol. 10 de diciembre de 2009; 27(35):5924-30 (cáncer de colon), Gynecol Oncol. Junio de 2004; 93(3):621-7 (cáncer cervical), y J Oral Pathol Med. Agosto de 2002; 31(7):379-84 (cáncer de cabeza y cuello).

Se describe en esta memoria, un método para tratar un neoplasma susceptible en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se describe en esta memoria un método para tratar fibrosis en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La fibrosis incluye, de forma alternativa o colectiva, esclerosis sistémica (SSc), artritis, nefropatía y cirrosis hepática.

Se describe en esta memoria un método para tratar cáncer de próstata hormonorefractario en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se describe en esta memoria un método para tratar cáncer de pulmón no de células pequeñas en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se describe en esta memoria un método para tratar cáncer de endometrio en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se describe en esta memoria un método para tratar cáncer gástrico en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se describe en esta memoria un método para tratar melanoma en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se describe en esta memoria un método para tratar cáncer de cabeza y cuello en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se describe en esta memoria un método para tratar cáncer de mama triple negativo en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se describe en esta memoria un método para tratar glioma en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (Ia), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en terapia.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el tratamiento de un neoplasma susceptible en un mamífero que lo necesita.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para usar en el tratamiento de un neoplasma susceptible en un mamífero que lo necesita.

En oro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el tratamiento de un neoplasma susceptible en un mamífero que lo necesita.

Cuando un compuesto de Fórmula (I) se administra para el tratamiento de cáncer, el término “co-administrar” y derivados del mismo como se usa en esta memoria quiere decir o bien administración simultánea o cualquier forma de administración secuencial separada de un compuesto que inhibe la PI3 quinasa, como se describe en esta memoria, y un ingrediente o ingredientes activo(s) adicional(es), conocidos por ser útiles en el tratamiento de cáncer, que incluyen tratamiento de quimioterapia y radiación. El término ingrediente o ingredientes activo(s) adicional(es), como se usa en esta memoria, incluye cualquier compuesto o agente terapéutico conocido o que demuestra propiedades ventajosas cuando se administra a un paciente que necesita tratamiento para cáncer. Preferiblemente, si la administración no es simultánea, los compuestos se administran en una proximidad cercana en el tiempo el uno del otro. Además, no importa si los compuestos se administran en la misma forma de dosificación, por ejemplo, un compuesto puede administrarse tópicamente y otro compuesto puede administrarse de forma oral.

Típicamente, cualquier agente antineoplásico que tiene actividad frente a un tumor susceptible que se trata puede co-administrarse en el tratamiento de cáncer en la presente invención. Ejemplos de dichos agentes pueden encontrarse en Cancer Principles and Practice of Oncology de V.T. Devita y S. Hellman (editores), 6ª edición (15 de febrero de 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Un experto en la técnica sería capaz de discernir que combinaciones de agentes serían útiles en base a las características particulares de los fármacos y el cáncer implicados. Agentes antineoplásicos típicos útiles en la presente invención incluyen, aunque no están limitados a, agentes anti-microtúbulo tales como diterpenoides y alcaloides de vinca; complejos de coordinación del platino; agentes alquilantes tales como mostazas de nitrógeno, oxazafosforinas, alquilsulfonatos, nitrosoureas y triazenos; agentes antibióticos tales como antraciclinas, actinomicinas y bleomicinas; inhibidores de topoisomerasa II tales como epipodofilotoxinas; antimetabolitos tales como análogos de purina y pirimidina y compuestos anti-folato; inhibidores de topoisomerasa I tales como camptotecinas; hormonas y homólogos hormonales; inhibidores de la ruta de transducción de señal; inhibidores de la angiogénesis del no receptor de tirosina quinasa; agentes inmunoterapéuticos; agentes proapoptóticos; e inhibidores de la señalización del ciclo celular.

Ejemplos de un ingrediente o ingredientes activo(s) adicional(es) para usar en combinación o co-administrar con el actual compuesto que inhibe la PI3 quinasa son agentes quimioterapéuticos.

Agentes anti-microtúbulos o anti-mitóticos son agentes específicos de fase activos frente a los microtúbulos de células tumorales M o la fase de mitosis del ciclo celular. Ejemplos de agentes anti-microtúbulos incluyen, aunque no están limitados a, diterpenoides y alcaloides de vinca.

Los diterpenoides, que se derivan de fuentes naturales, son agentes anti-cancerígenos específicos de fase que operan en las fases G_2/M del ciclo celular. Se cree que los diterpenoides estabilizan la subunidad β-tubulina de los microtúbulos, enlazando con esta proteína. El desmontaje de la proteína parece entonces que se inhibe con la mitosis frenándose y siguiendo la muerte celular. Ejemplos de diterpenoides incluyen, aunque no están limitados a, paclitaxel y su análogo docetaxel.

El paclitaxel, 4,10-diacetato 2-benzoato 13-éster de 5β,20-epoxi-1,2α,4,7β,10β,13α-hexa-hidroxitax-11-en-9-ona con (2R,3S)-N-benzoil-3-fenilisoserina; es un producto diterpeno natural aislado del árbol tejo del pacífico *Taxus brevifolia* y está disponible comercialmente como una disolución inyectable TAXOL®. Es un miembro de la familia taxano de los terpenos. Se aisló por primera vez en 1971 por Wani et al. J. Am. Chem. Soc. 93:2325, 1971), que caracterizó su estructura por métodos químicos y cristalográficos de rayos X. Un mecanismo para su actividad se refiere a la capacidad de paclitaxel para unirse a la tubulina, inhibiendo así el crecimiento de células cancerígenas. Schiff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:1561-1565 (1980); Schiff et al., Nature, 277:665-667 (1979); Kumar, J. Biol. Chem. 256:10435-10441 (1981). Para una revisión de la síntesis y actividad anti-cancerígena de algunos derivados del paclitaxel véase: D.G.I. Kingston *et al.*, Studies in Organic Chemistry vol. 26, titulado “New trends in Natural Products Chemistry 1986”, Attaur-Rahman, P.W. Le Quesne, Eds. (Elsevier, Ámsterdam, 1986) págs. 219-235.

El paclitaxel se ha aprobado para uso clínico en el tratamiento de cáncer de ovario refractario en los Estados Unidos (Markman et al., Yale Journal of Biology and Medicine, 65:583, 1991; McGuire et al., Ann. Intem. Med., 111:273, 1989) y para el tratamiento del cáncer de mama (Holmes et al., J. Nat. Cancer Inst., 83:1797, 1991). Es un candidato potencial para el tratamiento de los neoplasmas en la piel (Einzig et al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20:46) y carcinomas de la cabeza y el cuello (Forastire et al., Sem. Oncol., 20:56, 1990). El compuesto también muestra potencial para el tratamiento de enfermedad renal poliquística (Woo et al., Nature, 368:750, 1994), cáncer de pulmón y malaria. El tratamiento de pacientes con paclitaxel da por resultado la supresión de la médula ósea (múltiples líneas celulares, Ignoff, R.J. et al, Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998) relacionada con la duración de la

dosificación por encima de una concentración umbral (50 nM) (Kearns, C.M. et al., Seminars in Oncology, 3(6) pág. 16-23, 1995).

El docetaxel, (2R,3S)-N-carboxi-3-fenilisoserina,N-*terc*-butiléster, 13-éster con 4-acetato 2-benzoato de 5β,20-epoxi-1,2α,4,7β,10β,13α-hexahidroxitax-11-en-9-ona, trihidrato; está disponible comercialmente como una disolución inyectable como TAXOTERE®. El docetaxel está indicado para el tratamiento de cáncer de mama. El docetaxel es un derivado semisintético de paclitaxel véase, preparado usando un precursor natural, 10-desacetil-baccatina III, extraído de la aguja del árbol del tejo europeo. La toxicidad limitante de dosis del docetaxel es neutropenia.

Los alcaloides de vinca son agentes antineoplásicos específicos de fase derivados de la planta vincapervinca. Los alcaloides de la vinca actúan en la fase M (mitosis) del ciclo celular por unión de forma específica a la tubulina. Por consiguiente, la molécula de tubulina unida es incapaz de polimerizarse en microtúbulos. Se cree que la mitosis se frena en la metafase con la muerte celular a continuación. Ejemplos de alcaloides de vinca incluyen, aunque no están limitados a vinblastina, vincristina y vinorelbina.

La vinblastina, sulfato de vincaleucoblastina, está disponible comercialmente como VELBAN® como una disolución inyectable. Aunque tiene posible indicación como una segunda línea de terapia de varios tumores sólidos, está principalmente indicada en el tratamiento de cáncer de testículos y varios linfomas que incluyen enfermedad de Hodgkin; y linfomas linfocíticos e histiocíticos. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de la dosis de la vinblastina.

La vincristina, vincaleucoblastina, 22-oxo-, sulfato, está disponible comercialmente como ONCOVIN® como una disolución inyectable. La vincristina está indicada para el tratamiento de leucemias agudas y también ha encontrado uso en regímenes de tratamiento para los linfomas malignos de Hodgkin y no de Hodgkin. La alopecia y efectos neurológicos son los efectos secundarios más comunes de la vincristina y en un menor grado se dan efectos de mielosupresión y mucositis gastrointestinal.

La vinorelbina, 3',4'-dideshidro-4'-desoxi-C'-norvincaleucoblastina [R-(R*,R*)-2,3-dihidroxibutanodioato (1:2) (sal)], disponible comercialmente como una disolución inyectable de tartrato de vinorelbina (NAVELBINE®), es un alcaloide de vinca semisintético. La vinorelbina está indicada como un único agente o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos, tal como cisplatina, en el tratamiento de varios tumores sólidos, particularmente cánceres de pulmón no de células pequeñas, de mama avanzado, y de próstata hormonorefractario. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de dosis más común de la vinorelbina.

Los complejos de coordinación de platino son agentes anti-cancerígenos no específicos de fase, que son interactivos con el ADN. Los complejos de platino entran en las células tumorales, experimentan hidratación y forman reticulados intra- e inter-hebra con el ADN provocando efectos biológicos adversos para el tumor. Ejemplos de complejos de coordinación de platino incluyen, aunque no están limitados a, cisplatina y carboplatina.

La cisplatina, cis-diaminadicloroplatino, está disponible comercialmente como PLATINOL® como una disolución inyectable. La cisplatina está indicada principalmente en el tratamiento de cáncer de testículo y de ovario metastáticos y cáncer de vejiga avanzado. Los efectos secundarios limitantes de dosis principales de la cisplatina son nefrotoxicidad, que puede controlarse por hidratación y diuresis, y ototoxicidad.

La carboplatina, platino, diamina [1,1-ciclobutano-dicarboxilato(2-)-O,O'], está disponible comercialmente como PARAPLATIN® como una disolución inyectable. La carboplatina está indicada principalmente en el tratamiento de primera y segunda línea del carcinoma de ovario avanzado. La supresión de médula ósea es la toxicidad limitante de la dosis de la carboplatina.

Los agentes alquilantes son agentes anti-cancerígenos no específicos de fase y electrófilos fuertes. Típicamente, los agentes alquilantes forman uniones covalentes, por alquilación, al ADN a través de restos nucleófilos de la molécula de ADN tales como grupos fosfato, amino, sulfhidrilo, hidroxi, carboxilo e imidazol. Dicha alquilación interrumpe la función del ácido nucleico llevando a la muerte celular. Ejemplos de agentes alquilantes incluyen, aunque no están limitados a, mostazas de nitrógeno tales como ciclofosfamida, melfalano y clorambucilo; sulfonatos de alquilo tales como busulfano; nitrosoureas tal como carmustina; y triazenos tales como dacarbazina.

La ciclofosfamida, monohidrato de 2-óxido de 2-[bis(2-cloroetil)amino]tetrahidro-2H-1,3,2-oxazafosforina, está disponible comercialmente como una disolución inyectable o comprimidos como CYTOXAN®. La ciclofosfamida está indicada como un agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos, en el tratamiento de linfomas malignos, mieloma múltiple y leucemias. La alopecia, nauseas, vómitos y leucopenia son los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de la ciclofosfamida.

El melfalano, 4-[bis(2-cloroetil)amino]-L-fenilalanina, está disponible comercialmente como una disolución inyectable o comprimidos como ALKERAN®. El melfalano está indicado para el tratamiento paliativo de mieloma múltiple y carcinoma epitelial no extirpable del ovario. La supresión de la médula ósea es el efecto secundario limitante de la dosis más común del melfalano.

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

El busulfano, dimetanosulfonato de 1,4-butanodiol, está disponible comercialmente como MYLERAN® comprimidos. El busulfano está indicado para el tratamiento paliativo de leucemia mielógena crónica. La supresión de médula ósea es el efecto secundario limitante de la dosis más común del busulfano.

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

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

Los agentes antineoplásicos antibióticos son agentes no específicos de fase, que se unen o intercalan con el ADN. Típicamente, dicha acción da por resultado complejos estables de ADN o ruptura de la hebra, que interrumpe la función normal de los ácidos nucleicos llevando a la muerte celular. Ejemplos de agentes antineoplásicos antibióticos incluyen, aunque no están limitados a, actinomicinas tales como dactinomicina, antrociclinas tales como daunorubicina y doxorubicina; y bleomicinas.

La dactinomicina, también conocida como Actinomicina D, está disponible comercialmente en forma inyectable como COSMEGEN®. La dactinomicina está indicada para el tratamiento del tumor de Wilm y rabdomiosarcoma. Náuseas, vómitos y anorexia son los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de la dactinomicina.

La daunorubicina, hidrocloruro de (8S-cis)-8-acetil-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi-α-L-lixo-hexopiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12-naftacenodiona, está disponible comercialmente como una forma inyectable liposómica como DAUNOXOME® o como un inyectable como CERUBIDINE®. La daunorubicina está indicada para la inducción de la remisión en el tratamiento de leucemia no linfocítica aguda y sarcoma de Kaposi asociado con VIH avanzado. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de la dosis más común de la daunorubicina.

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

La bleomicina, una mezcla de antibióticos glucopeptídicos citotóxicos aislados de una cepa de *Streptomyces verticillus*, está disponible comercialmente como BLENOXANE®. La bleomicina está indicada como un tratamiento paliativo, como un agente individual o en combinación con otros agentes, de carcinoma de células escamosas, linfomas y carcinomas testiculares. Las toxicidades pulmonar y cutánea son los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de la bleomicina.

Los inhibidores de topoisomerasa II incluyen, aunque no están limitados a, epipodofilotoxinas.

Las epipodofilotoxinas son agentes antineoplásicos específicos de fase derivados de la planta de la mandrágora. Las epipodofilotoxinas afectan típicamente a células en las fases S y G_2 del ciclo celular formando un complejo ternario con la topoisomerasa II y el ADN provocando roturas de la hebra de ADN. Las roturas de hebra se acumulan y sigue la muerte celular. Ejemplos de epipodofilotoxinas incluyen, aunque no están limitados a, etopósido y tenipósido.

El etopósido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-0-(R)-etiliden-β-D-glucopiranósido], está disponible comercialmente como una disolución inyectable o cápsulas como VePESID® y se conoce normalmente como VP-16. El etopósido está indicado como un agente individual o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de cánceres testicular y de pulmón no de células pequeñas. La mielosupresión es el efecto secundario más común del etopósido. La incidencia de leucopenia tiende a ser más grave que la trombocitopenia.

El tenipósido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-0-(R)-teniliden-β-D-glucopiranósido], está disponible comercialmente como una disolución inyectable como VUMON® y se conoce normalmente como VM-26. El tenipósido está indicado como un agente individual o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de leucemia aguda en niños. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de dosis más común del tenipósido. El tenipósido puede inducir tanto leucopenia como trombocitopenia.

Los agentes neoplásicos antimetabolito son agentes antineoplásicos específicos de fase que actúan en la fase S (síntesis de ADN) del ciclo celular inhibiendo la síntesis de ADN o inhibiendo la síntesis de base purina o pirimidina y limitando así la síntesis de ADN. Por consiguiente, la fase S no procede y sigue la muerte celular. Ejemplos de agentes antineoplásicos antimetabolito incluyen, aunque no están limitados a, fluorouracilo, metotrexato, citarabina, mercaptopurina, tioguanina y gemcitabina.

El 5-fluorouracilo, 5-fluoro-2,4-(1H,3H)pirimidinadiona, está disponible comercialmente como fluorouracilo. La administración de 5-fluorouracilo lleva a la inhibición de la síntesis de timidilato y se incorpora además tanto en ARN como ADN. El resultado típicamente es la muerte celular. El 5-fluorouracilo está indicado como un agente individual o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de carcinomas de la mama, colon, recto, estómago y páncreas. La mielosupresión y la mucositis son efectos secundarios limitantes de dosis de 5-fluorouracilo. Otros análogos de fluoropirimidina incluyen 5-fluorodesoxiuridina (floxuridina) y monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina.

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

La mercaptopurina, monohidrato de 1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona, está disponible comercialmente como PURINETHOL®. La mercaptopurina muestra especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN mediante un mecanismo hasta ahora no especificado. La mercaptopurina está indicada como un agente individual o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de leucemia aguda. La mielosupresión y la mucositis gastrointestinal son efectos secundarios esperados de la mercaptopurina a altas dosis. Un análogo de mercaptopurina útil es azatioprina.

La tioguanina, 2-amino-1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona, está disponible comercialmente como TABLOID®. La tioguanina muestra especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN mediante un mecanismo hasta ahora no especificado. La tioguanina está indicada como un agente individual o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de leucemia aguda. La mielosupresión, incluyendo leucopenia, trombocitopenia y anemia, es el efecto secundario limitante de la dosis más común de la administración de tioguanina. Sin embargo, los efectos secundarios gastrointestinales se dan y pueden ser limitantes de la dosis. Otros análogos de purina incluyen pentostatina, eritrohidroxinoniladenina, fosfato de fludarabina y cladribina.

La gemcitabina, monohidrocloruro de 2'-desoxi-2',2'-diflurocitidina (isómero β), está disponible comercialmente como GEMZAR®. La gemcitabina muestra especificidad de fase celular en la fase S y por bloqueo de la progresión de células a través del límite G1/S. la gemcitabina está indicada en combinación con cisplatina en el tratamiento de cáncer de pulmón no de células pequeñas localmente avanzado y solo en el tratamiento de cáncer pancreático localmente avanzado. La mielosupresión, que incluye leucopenia, trombocitopenia y anemia, es el efecto secundario limitante de la dosis más común de la administración de gemcitabina.

El metotrexato, ácido N-[4-[[(2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino]benzoil]-L-glutámico, está disponible comercialmente como metotrexato sódico. El metotrexato muestra efectos de fase celular específicamente en la fase S inhibiendo la síntesis, reparación y/o replicación de ADN a través de la inhibición de ácido dihidrofólico reductasa que se necesita para la síntesis de nucleótidos de purina y timidilato. El metotrexato está indicado como un agente individual o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de coriocarcinoma, leucemia meníngea, linfoma no de Hodgkin y carcinomas de la mama, cabeza, cuello, ovario y vejiga. La mielosupresión (leucopenia, trombocitopenia y anemia) y la mucositis son efectos secundarios esperados de la administración de metotrexato.

Las camptotecinas, que incluyen, camptotecina y derivados de camptotecina están disponibles o bajo desarrollo como inhibidores de topoisomerasa I. La actividad citotóxica de las camptotecinas se cree que está relacionada con su actividad inhibidora de topoisomerasa I. Los ejemplos de camptotecinas incluyen, aunque no están limitadas a irinotecano, topotecano y las diversas formas ópticas de 7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxi-20-camptotecina descritas debajo.

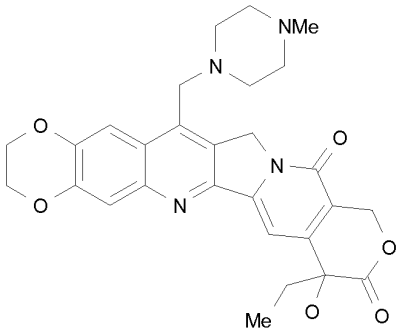
El HCl de irinotecano, hidrocloruro de (4S)-4,11-dietil-4-hidroxi-9-[(4-piperidinopiperidino)carboniloxi]-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14(4H,12H)-diona, está disponible comercialmente como la disolución inyectable CAMPTOSAR®.

El irinotecano es un derivado de camptotecina que se une, junto con su metabolito activo SN-38, al complejo topoisomerasa I-ADN. Se cree que la citotoxicidad se da como resultado de rupturas irreparables de la cadena doble provocadas por la interacción del complejo ternario topoisomerasa I:ADN:irintecano o SN-38 con enzimas de replicación. El irinotecano está indicado para el tratamiento de cáncer metastático del colon o el recto. Los efectos

secundarios limitantes de la dosis del HCl de irinotecano son mielosupresión, que incluye neutropenia, y efectos GI, que incluyen diarrea.

El HCl de topotecano, monohidrocloruro de (S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-etil-4,9-dihidroxi-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14-(4H,12H)-diona, está disponible comercialmente como la disolución inyectable HYCAMTIN®. El topotecano es un derivado de la camptotecina que se une al complejo topoisomerasa I-ADN y evita la recombinación de rupturas sencillas de la cadena provocadas por la topoisomerasa I en respuesta a la deformación por torsión de la molécula de ADN. El topotecano está indicado para tratamiento de segunda línea del carcinoma metastático del cáncer de ovario y de pulmón de células pequeñas. El efecto secundario limitante de la dosis del HCl de topotecano es mielosupresión, neutropenia principalmente.

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



A

Conocido por el nombre químico "7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxi-20(R,S)-camptotecina (mezcla racémica) o "7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxi-20(R)-camptotecina (enantiómero R) o "7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxi-20(S)-camptotecina (enantiómero S). Dicho compuesto además de compuestos relacionados se describen, incluyendo métodos de fabricación, en las Patentes de EE.UU. núms. 6.063.923; 5.342.947; 5.559.235, 5.491.237 y la Solicitud de patente de EE.UU. en tramitación núm. 08/977.217 presentada el 24 de noviembre de 1997.

Las hormonas y análogos hormonales son compuestos útiles para tratar cánceres en que hay una relación entre la(s) hormona(s) y el crecimiento y/o falta de crecimiento del cáncer. Ejemplos de hormonas y análogos hormonales útiles en el tratamiento del cáncer incluyen, aunque no están limitados a, adrenocorticosteroides tales como prednisona y prednisolona que son útiles en el tratamiento de linfoma maligno y leucemia aguda en niños; aminoglutetimida y otros inhibidores de aromatasa tales como anastrozol, letrazol, vorazol y exemestano útiles en el tratamiento de carcinoma adrenocortical y carcinoma de mama dependiente de hormonas que contiene receptores de estrógenos; progestrinas tales como acetato de megestrol útil en el tratamiento de cáncer de mama dependiente de hormonas y carcinoma de endometrio; estrógenos, andrógenos, y anti-andrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, acetato de ciproterona y 5α-reductasas tales como finasterida y dutasterida, útiles en el tratamiento de carcinoma de próstata e hipertrofia de próstata benigna; anti-estrógenos tales como tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno, yodoxifeno, además de moduladores del receptor de estrógenos selectivos (SERMS) tales como los descritos en las Patentes de EE.UU. núms. 5.681.835, 5.877.219 y 6.207.716, útiles en el tratamiento de carcinoma de mama dependiente de hormonas y otros cánceres susceptibles; y hormona de liberación de gonadotropina (GnRH) y análogos de la misma que estimulan la liberación de la hormona leutinizante (LH) y/u hormona estimulante del folículo (FSH) para el tratamiento del carcinoma de próstata, por ejemplo, agonistas y antagonistas de LHRH tales como acetato de goserelina y luprolida.

Los inhibidores de la ruta de transducción de señal son esos inhibidores, que bloquean o inhiben el proceso químico que provoca un cambio intracelular. Como se usa en esta memoria este cambio es la proliferación o diferenciación celular. Los inhibidores de la transducción de señal útiles en la presente invención incluyen inhibidores de receptores tirosina quinasas, no receptores tirosina quinasas, bloqueantes del dominio SH2/SH3, serina/treonina quinasas, fosfatidilinositol-3-quinasas, señalización de mioinositol, y oncogenes Ras.

Varias proteína tirosina quinasas catalizan la fosforilación de residuos tirosilo específicos en varias proteínas implicadas en la regulación del crecimiento celular. Dichas proteína tirosina quinasas pueden clasificarse ampliamente como receptores o no receptores quinasas.

Los receptores tirosina quinasas son proteínas transmembrana que tienen un dominio de unión al ligando extracelular, un dominio transmembrana y un dominio tirosina quinasa. Las receptores tirosina quinasas están implicadas en la regulación del crecimiento celular y se denominan generalmente receptores de factor de crecimiento. La activación inapropiada o incontrolada de muchas de estas quinasas, es decir, actividad aberrante del receptor del factor de crecimiento quinasa, por ejemplo por sobre-expresión o mutación, se ha mostrado que da por resultado crecimiento celular incontrolado. Por consiguiente, la actividad aberrante de dichas quinasas se ha unido al

crecimiento de tejido maligno. En consecuencia, los inhibidores de dichas quinasas podrían proporcionar métodos de tratamiento para el cáncer. Los receptores del factor de crecimiento incluyen, por ejemplo, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFr), erbB2, erbB4, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFr), tirosina quinasa con dominios de homología del factor de crecimiento tipo inmunoglobulina y epidérmico (TIE-2), receptor del factor de crecimiento de insulina I (IGFI), factor estimulante de la colonia de macrófagos (cfms), BTK, ckit, cmet, receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), receptores de Trk (TrkA, TrkB y TrkC), receptores de efrina (eph), y el protooncogén RET. Varios inhibidores de receptores de crecimiento están en desarrollo e incluyen antagonistas de ligando, anticuerpos, inhibidores de tirosina quinasa y oligonucleótidos anti-sentido. Los receptores del factor de crecimiento y agentes que inhiben la función del receptor del factor de crecimiento se describen, por ejemplo, en Kath, John C., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(6):803-818; Shawver et al DDT Vol. 2, núm. 2 febrero de 1997; y Lofts, F. J. et al, "Growth factor receptors as targets", New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy, ed. Workman, Paul y Kerr, David, CRC press 1994, Londres.

Las tirosina quinasas, que no son quinasas del receptor del factor de crecimiento se denominan no receptor tirosina quinasas. Las no receptor tirosina quinasas útiles en la presente invención, que son dianas o dianas potenciales de fármacos anti-cancerígenos, incluyen cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (quinasa de adhesión focal), tirosina quinasa de Bruton, y Bcr-Abl. Dichas no receptor quinasas y agentes que inhiben la función no receptor tirosina quinasa se describen en Sinh, S. y Corey, S.J., (1999) Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research 8 (5):465-50; y Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997) Annual review of Immunology. 15:371-404.

Los bloqueantes del dominio SH2/SH3 son agentes que interrumpen la unión del dominio SH2 o SH3 en una variedad de enzimas o proteínas adaptadoras que incluyen, subunidad PI3-K p85, quinasas de la familia Src, moléculas adaptadoras (Shc, Crk, Nck, Grb2) y Ras-GAP. Los dominios SH2/SH3 como dianas para fármacos anti-cancerígenos se tratan en Smithgall, T.E. (1995), Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 34(3) 125-32.

Los inhibidores de Serina/Treonina quinasas que incluyen bloqueantes de la cascada MAP quinasa que incluyen bloqueantes de Raf quinasas (rafk), quinasas reguladas por señal mitógena o extracelular (MEKs) y quinasas reguladas por señal extracelular (ERKs); y bloqueantes de miembros de la familia proteína quinasa C que incluyen bloqueantes de PKCs (alfa, beta, gamma, épsilon, mu, lambda, iota, zeta). La familia IkB quinasa (IKKa, IKKb), quinasas de la familia PKB, miembros de la familia AKT quinasa, y quinasas del beta receptor de TGF. Dichas serina/treonina quinasas e inhibidores de las mismas se describen en Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), Journal of Biochemistry. 126 (5) 799-803; Brodt, P, Samani, A., y Navab, R. (2000), Biochemical Pharmacology, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-García, F. (1996) Cancer Surveys. 27:41-64; Philip, P.A., y Harris, A.L. (1995), Cancer Treatment and Research. 78:3-27, Lackey, K. et al Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, (10), 2000, 223-226; Patente de EE.UU. núm. 6.268.391; y Martínez-Iacaci, L., et al, Int. J. Cancer (2000), 88(1), 44-52.

Los inhibidores de los miembros de la familia fosfatidilinositol-3 quinasa que incluyen bloqueantes de PI3-quinasa, ATM, ADN-PK y Ku son también útiles en la presente invención. Dichas quinasas se tratan en Abraham, R.T. (1996), Current Opinion in Immunology. 8 (3) 412-8; Canman, C.E., Lim, D.S. (1998), Oncogene 17 (25) 3301-3308; Jackson, S.P. (1997), International Journal of Biochemistry and Cell Biology. 29 (7):935-8; y Zhong, H. et al, Cancer res, (2000) 60(6), 1541-1545.

Son también útiles en la presente invención los inhibidores de señalización de Mioinositol tales como bloqueantes de fosfolipasa C y análogos de mioinositol. Dichos inhibidores de señal se describen en Powis, G., y Kozikowski A., (1994) New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy ed., Paul Workman y David Kerr, CRC press 1994, Londres.

Otro grupo de inhibidores de la ruta de transducción de señal son los inhibidores del oncogén Ras. Dichos inhibidores incluyen inhibidores de farnesiltransferasa, geranil-geranil transferasa, y CAAX proteasas además de oligonucleótidos antisentido, ribozimas e inmunoterapia. Dichos inhibidores se ha mostrado que bloquean la activación ras en células que contienen ras mutante tipo salvaje, actuando así como agentes anti-proliferación. La inhibición del oncogén ras se trata en Scharovsky, O.G., Rozados, V.R., Gervasoni, S.I. Matar, P. (2000), Journal of Biomedical Science. 7(4) 292-8; Ashby, M.N. (1998), Current Opinion in Lipidology. 9(2) 99-102; y BioChem. Biophys. Acta, (19899) 1423(3):19-30.

Como se menciona anteriormente, los antagonistas de anticuerpo a la unión del ligando de receptor quinasa pueden servir también como inhibidores de transducción de señal. Este grupo de inhibidores de ruta de transducción de señal incluye el uso de anticuerpos humanizados al dominio de unión del ligando extracelular de las receptor tirosina quinasas. Por ejemplo, anticuerpo específico de EGFR Imclone C225 (véase Green, M.C. et al, Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev., (2000), 26(4), 269-286); anticuerpo erbB2 Herceptin® (véase Tyrosine Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases, Breast cancer Res., 2000, 2(3), 176-183); y anticuerpo específico 2CB VEGFR2 (véase Brekken, R.A. et al, Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice, Cancer Res. (2000) 60, 5117-5124).

Los inhibidores de angiogénesis de no receptor quinasa también pueden encontrar uso en la presente invención. Los inhibidores de angiogénesis relacionados con VEGFR y TIE2 se tratan anteriormente respecto a los inhibidores de

transducción de señal (ambos receptores son receptor tirosina quinasas). Por consiguiente, los inhibidores de no receptor tirosina quinasa pueden usarse en combinación con el inhibidor de la presente invención. Por ejemplo, los anticuerpos anti-VEGF, que no reconocen VEGFR (la receptor tirosina quinasa), pero se unen al ligando; inhibidores de molécula pequeña de integrina ($alfa_v$ $beta_3$) que inhibirán la angiogénesis; endostatina y angiostatina (no RTK) pueden también probarse útiles en combinación con los inhibidores de la familia descrita. (Véase Bruns CJ et al (2000), Cancer Res., 60: 2926-2935; Schreiber AB, Winkler ME y Derynck R. (1986), Science, 232: 1250-1253; Yen L et al. (2000), Oncogene 19: 3460-3469).

Los agentes usados en regímenes inmunoterapéuticos pueden también ser útiles en combinación con los compuestos de fórmula (I). Hay un número de estrategias inmunológicas para generar una respuesta inmune frente a erbB2 o EGFR. Estas estrategias están generalmente en el ámbito de las vacunaciones tumorales. La eficacia de las aproximaciones inmunológicas puede mejorarse mucho a través de la inhibición combinada de las rutas de señalización erbB2/EGFR usando un inhibidor de molécula pequeña. La discusión de la aproximación inmunológica/vacuna de tumor frente a erbB2/EGFR se encuentra en Reilly RT et al. (2000), Cancer Res. 60: 3569-3576; y Chen Y. Hu D, Eling DJ, Robbins J y Kipps TJ. (1998), Cancer Res. 58: 1965-1971.

Los agentes usados en regímenes proapoptóticos (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido bcl-2) pueden usarse también en la combinación de la presente invención. Los miembros de la familia de proteínas Bcl-2 bloquean la apoptosis. La sobrerregulación de bcl-2 se ha relacionado por lo tanto con la quimioresistencia. Los estudios han mostrado que el factor de crecimiento epidérmico (EGF) estimula los miembros anti-apoptóticos de la familia bcl-2 (es decir, mcl-1). Por lo tanto, las estrategias diseñadas para infra-regular la expresión de bcl-2 en tumores han demostrado beneficio clínico y están ahora en ensayos en fase II/III, concretamente el oligonucleótido antisentido bcl-2 G3139 de Genta. Dichas estrategias pro-apoptóticas que usan la estrategia de oligonucleótido antisentido para bcl-2 se tratan en Water JS et al. (2000), J. Clin. Oncol. 18:1812-1823; y Kitada S et al. (1994), Antisense Res. Dev. 4:71-79.

Los inhibidores de señalización del ciclo celular inhiben moléculas implicadas en el control del ciclo celular. Una familia de proteína quinasas denominada quinasas dependientes de ciclina (CDKs) y su interacción con una familia de proteínas denominadas ciclinas controla la progresión a través del ciclo celular eucariótico. La activación e inactivación coordinada de diferentes complejos de ciclina/CDK es necesaria para la progresión normal a través del ciclo celular. Varios inhibidores de la señalización del ciclo celular están en desarrollo. Por ejemplo, los ejemplos de quinasas dependientes de ciclina, que incluyen CDK2, CDK4 y CDK6 e inhibidores para los mismos se describen en, por ejemplo, Rosania et al, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(2):215-230.

En una realización, el método de tratamiento del cáncer de la invención reivindicada incluye la co-administración de un compuesto de fórmula (Ia) y/o una sal, hidrato, solvato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente antineoplásico, tal como uno seleccionado del grupo que consiste en agentes anti-microtúbulos, complejos de coordinación de platino, agentes alquilantes, agentes antibióticos, inhibidores de topoisomerasa II, antimetabolitos, inhibidores de topoisomerasa I, hormonas y análogos hormonales, inhibidores de la ruta de transducción de señal, inhibidores de angiogénesis de no receptor tirosina quinasa, agentes inmunoterapéuticos, agentes pro-apoptóticos e inhibidores de señalización del ciclo celular.

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

Los preparados farmacéuticos están hechos siguiendo técnicas convencionales de una química farmacéutica que implica mezclar, granular y comprimir, cuando sea necesario, para formas de comprimido, o mezclar, rellenar y disolver los ingredientes, como sea apropiado, para dar los productos orales o parenterales deseados.

Las dosis del compuesto farmacéuticamente activo actualmente inventado en una unidad de dosificación farmacéutica como se describe anteriormente será una cantidad no tóxica, eficaz, preferiblemente seleccionada del intervalo de 0,001-100 mg/kg de compuesto activo, preferiblemente 0,001-50 mg/kg. Cuando se trata un paciente humano que necesita un inhibidor PI3K, la dosis seleccionada se administra preferiblemente de 1-6 veces al día, oralmente o parenteralmente. Las formas preferidas de administración parenteral incluyen de forma tópica, rectal, transdérmica, por inyección y de forma continua por infusión. Las unidades de dosificación oral para la administración humana contienen preferiblemente de 0,05 a 3500 mg de compuesto activo. Según una realización, la dosificación oral para la administración humana contiene 100 a 1000 mg por día. Se prefiere la administración oral, que usa dosificaciones menores. La administración parenteral, a altas dosificaciones, sin embargo, también puede usarse cuando es seguro y conveniente para el paciente.

Las dosificaciones óptimas a administrar pueden determinarse fácilmente por los expertos en la técnica, y variarán con el inhibidor PI3 quinasa particular en uso, la fortaleza del preparado, el modo de administración, y el avance del proceso de enfermedad. Factores adicionales que dependen del paciente particular que se trata darán por resultado una necesidad de ajustar dosificaciones, que incluyen edad del paciente, peso, dieta y tiempo de administración. Las dosificaciones ejemplares incluyen formulaciones orales equivalentes a 10 mg, 25 mg y 100 mg del compuesto de fórmula (I), a administrarse solas, de forma múltiple o en combinación. Otra dosificación ejemplar incluye formulaciones orales de la sal de tris(hidroximetil)aminometano del ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]-metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico equivalente a 10 mg, 25 mg o 100 mg de la base libre de ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico.

El método de esta invención de inducción de actividad inhibidora de PI3 quinasa en mamíferos, incluyendo seres humanos, comprende administrar a un sujeto que necesita dicha actividad una cantidad efectiva que modula/inhibe la PI3 quinasa de un compuesto farmacéuticamente activo de la presente invención.

Esta invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (Ia) en la fabricación de un medicamento para usar en terapia.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (Ia) en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad del esperma, rechazo del trasplante, rechazo del injerto y lesiones pulmonares.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para usar como un inhibidor de PI3 que comprende un compuesto de Fórmula (Ia) y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad del esperma, rechazo del trasplante, rechazo del injerto y lesiones pulmonares, que comprende un compuesto de Fórmula (Ia) y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

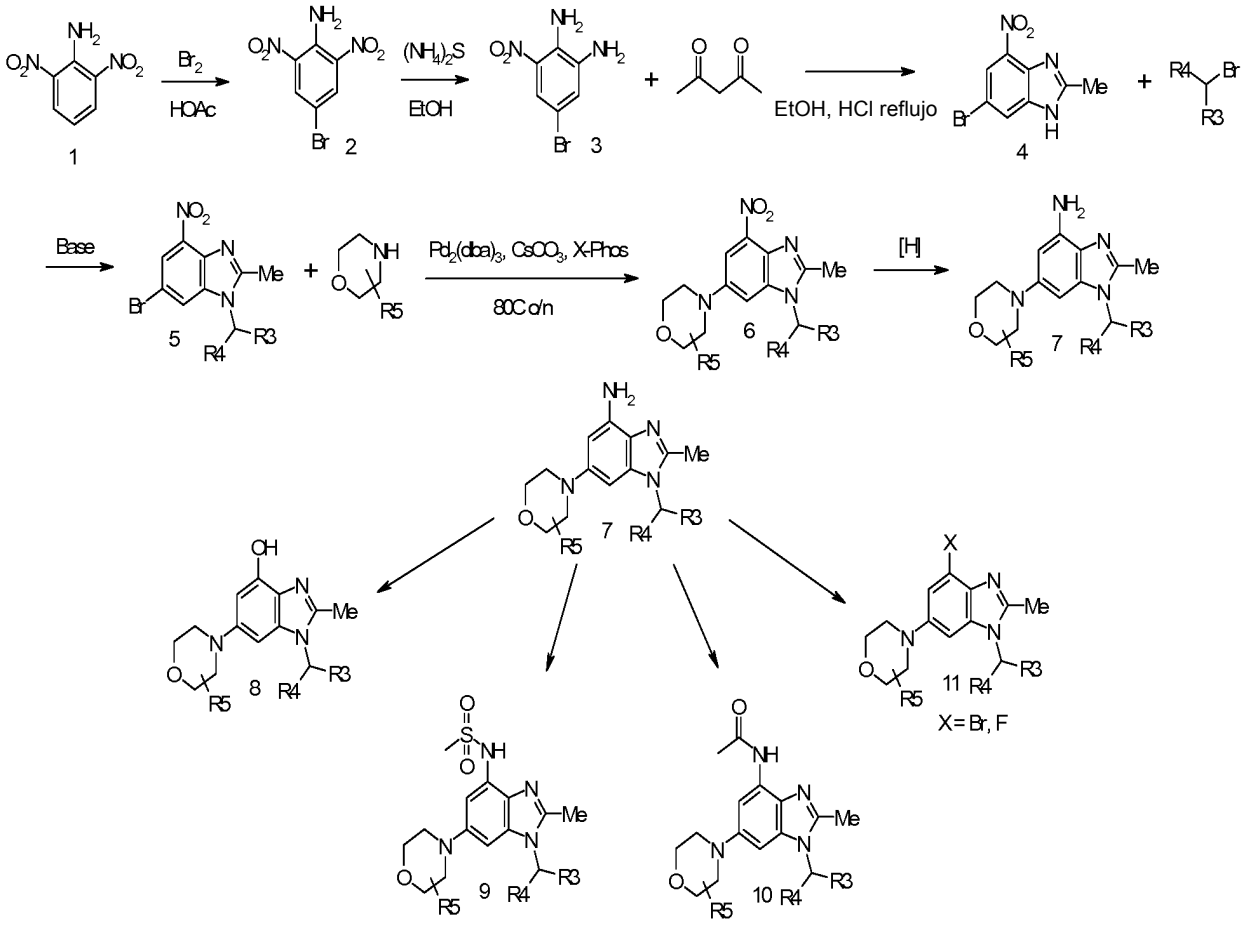
Además, los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención pueden co-administrarse con más ingredientes activos, que incluyen compuestos conocidos por tener utilidad cuando se usan en combinación con un inhibidor de PI3 quinasa.

Sin elaboración adicional, se cree que un experto en la técnica puede, usando la descripción anterior, utilizar la presente invención en toda su extensión. Los siguientes ejemplo, por lo tanto, se van a construir como meramente ilustrativos y no una limitación del alcance de la presente invención de ninguna forma.

Procedimientos experimentales

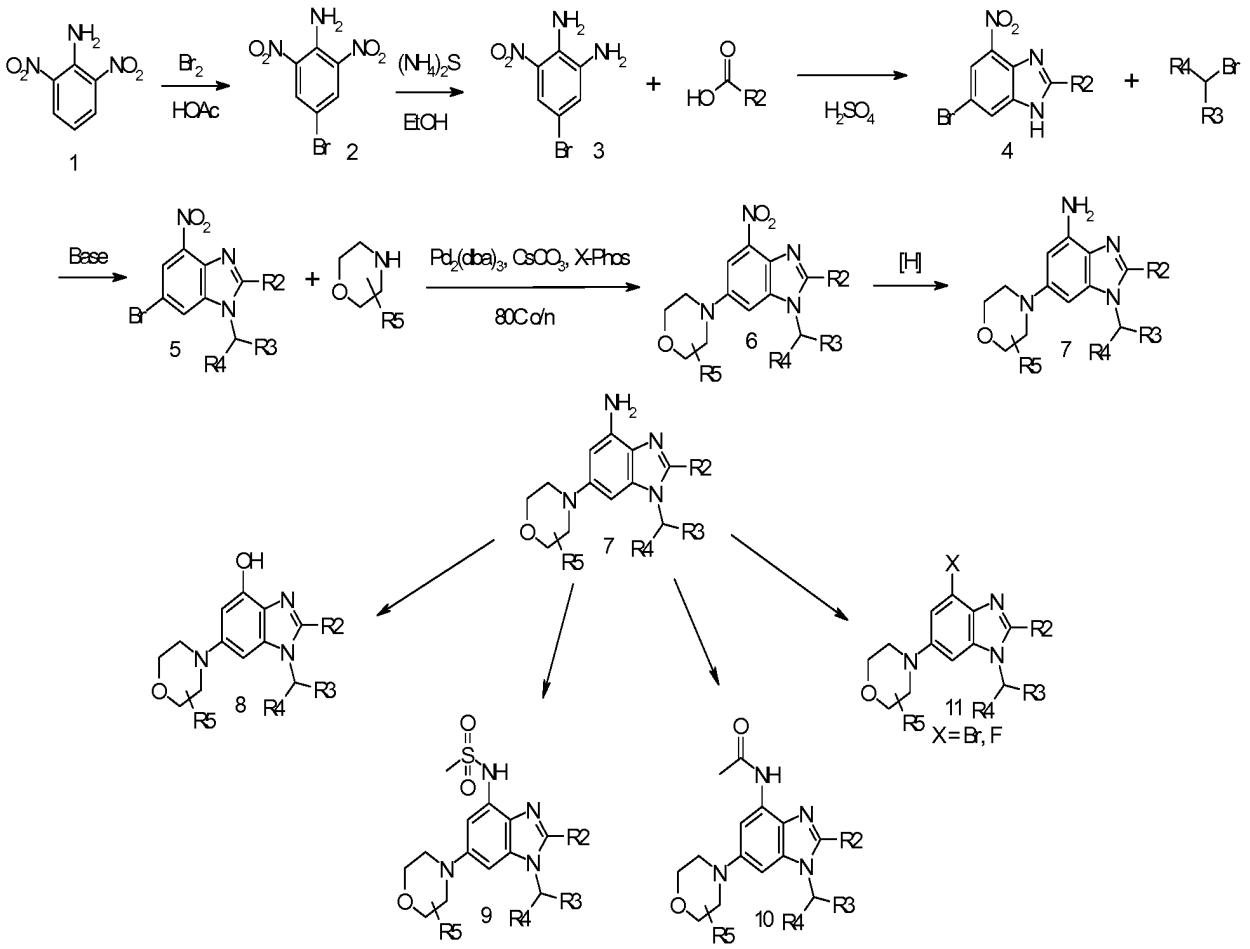
Los compuestos de Fórmula (I) pueden prepararse usando los esquemas generales I-VII, como se describe a continuación.

Esquema I (R2 = Me)



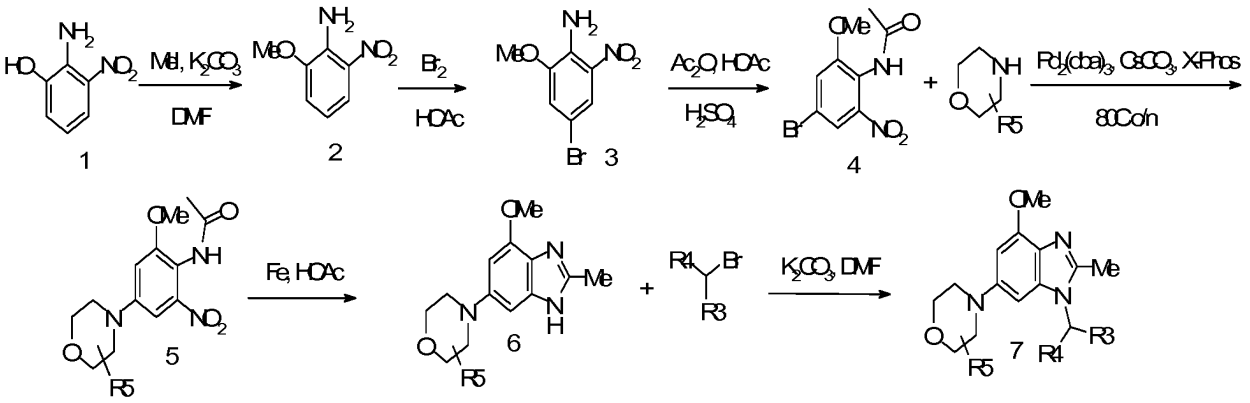
Puede bromarse 2,6-dinitroanilina 1 con bromo en ácido acético para proporcionar 4-bromo-2,6-dinitroanilina 2 que puede reducirse al di-aminonitrobenceno 3 con $(NH_4^+)_2S$. La reacción posterior de 3 con 2,4-pentanodiona en presencia de ácido fuerte a temperaturas de reflujo, en un disolvente alcohólico, proporciona nitrobencimidazol 4. La alquilación para proporcionar bencimidazol sustituido 5 puede conseguirse con un haluro de alquilo adecuadamente sustituido con una base, tal como K_2CO_3, en un disolvente aprótico polar, tal como DMF. El desplazamiento catalizado por paladio del bromo aromático con morfolina puede proporcionar entonces nitrobencimidazol sustituido 6 que puede entonces reducirse al aminobencimidazol 7. El aminobencimidazol 7 puede entonces convertirse en el análogo hidroxilo 8, sulfonamida 9, amida 10 y análogo halo 11, usando manipulaciones orgánicas estándar.

Esquema II



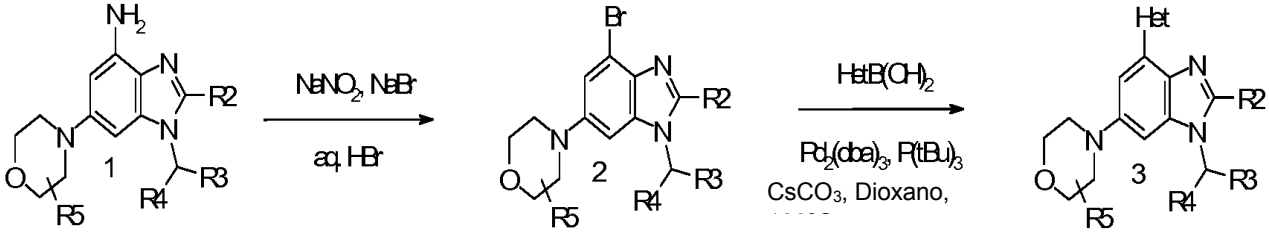
Puede bromarse 2,6-dinitroanilina 1 con bromo en ácido acético para proporcionar 4-bromo-2,6-dinitroanilina 2 que puede reducirse al di-aminonitrobenceno 3 con $(NH_4^+)_2S$. La posterior reacción de 3 con un ácido carboxílico en presencia de ácido fuerte a temperaturas elevadas proporciona nitrobencimidazol 4. La alquilación para proporcionar bencimidazol sustituido 5 puede conseguirse con un haluro de alquilo adecuadamente sustituido con una base, tal como K_2CO_3, en un disolvente aprótico polar, tal como DMF. El desplazamiento catalizado con paladio del bromo aromático con morfolina puede proporcionar entonces nitrobencimidazol sustituido 6 que pueden reducirse entonces al aminobencimidazol 7. El aminobencimidazol 7 puede entonces convertirse en análogo hidroxilo 8, sulfonamida 9, amida 10 y análogo halo 11, usando manipulaciones orgánicas estándar.

Esquema III (R1 = OMe; R2 = Me)



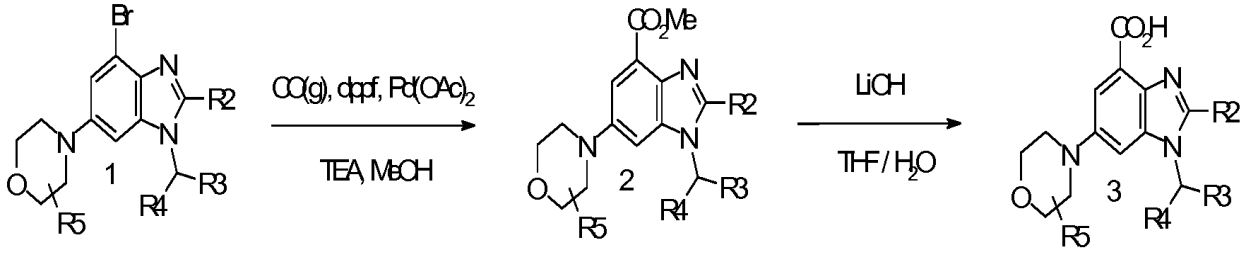
El 2-amino-3-nitrofenol 1 puede metilarse con MeI y K_2CO_3 en DMF para proporcionar metoxinitroanilina 2. La bromación, con bromo en ácido acético, seguido por acetilación con anhídrido acético en ácido acético y ácido sulfúrico, puede proporcionar intermedio 4. El desplazamiento catalizado con paladio del bromo aromático con morfolina puede proporcionar entonces intermedio 5. La nitro reducción inducida por hierro seguida por cierre de anillo puede proporcionar entonces bencimidazol 6 que puede alquilarse con un bromuro de alquilo adecuadamente sustituido usando una base, tal como K_2CO_3, en un disolvente aprótico polar tal como DMF, para proporcionar los productos finales 7.

Esquema IV



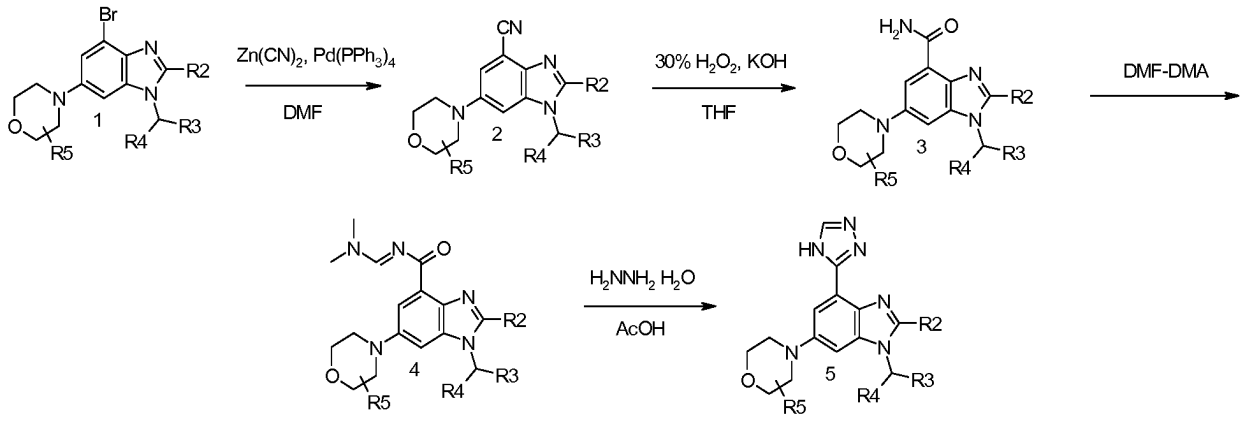
El aminobencimidazol 1 puede convertirse a bromobencimidazol 2 usando nitrito sódico con NaBr en HBr acuoso. El acoplamiento catalizado con paladio con un ácido arilborónico en presencia de una fosfina adecuada con una base inorgánica en un disolvente no prótico polar puede entonces proporcionar bencimidazoles sustituidos 3 finales. Het incluye 2-, 3-furanilos, y 1,3-tiozoles.

Esquema V



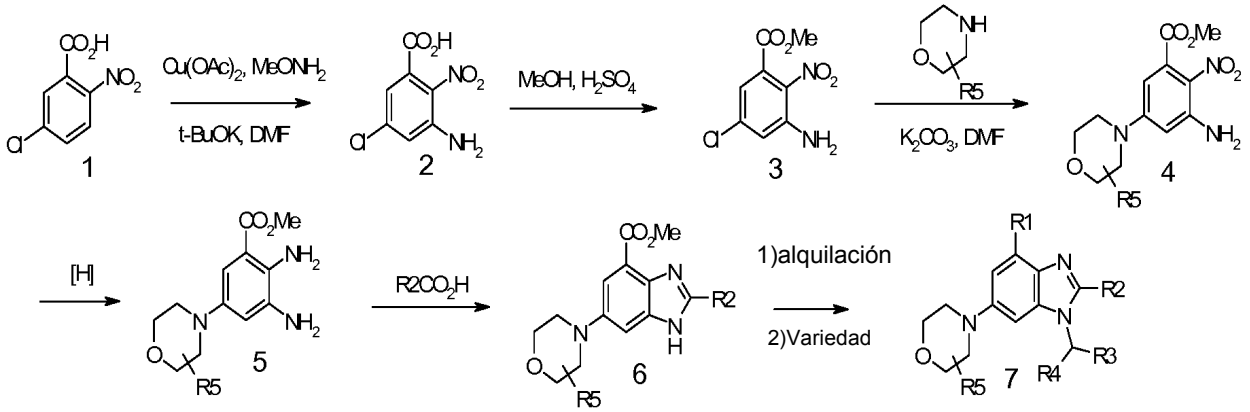
La carbonilación catalizada con paladio de bromo-bencimidazol 1 puede conseguirse burbujeando gas de monóxido de carbono en metanol con trietilamina para proporcionar metiléster 2. La hidrólisis del éster puede conseguirse entonces con hidróxido de litio en THF/agua para proporcionar ácido bencimidazol 3 de producto final.

Esquema VI



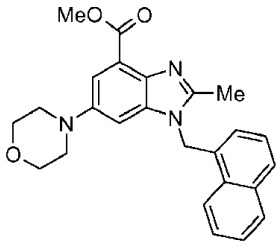
La cianurización catalizada por paladio de bromo-bencimidazol 1 puede conseguirse con cianuro de zinc en DMF para proporcionar nitrilo de bencimidazol 2. El nitrilo puede convertirse a la carboxamida primaria con KOH y peróxido en THF para proporcionar amida 3. El tratamiento de la carboxamida 3 con DMF-DMA puede proporcionar intermedio 4 que puede entonces ciclarse a análogos de triazol 5 con hidracina en ácido acético.

Esquema VII



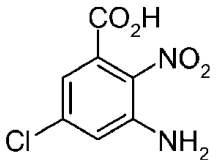
La aminación de ácido 5-cloro-2-nitrobenzoico con O-metilhidroxilamina y t-butóxido en presencia de acetato de cobre puede proporcionar ácido 3-amino-5-cloro-2-nitrobenzoico 2. La esterificación puede conseguirse con metanol y ácido sulfúrico para proporcionar metiléster 3 que puede reaccionar con morfolina en DMF con K_2CO_3 para proporcionar análogo de fenilmorfolina 4. La nitro-reducción puede conseguirse usando una variedad de reducciones metálicas para proporcionar diamina 5. La condensación de 5 con una variedad de ácidos carboxílicos puede proporcionar metiléster de bencimidazol 6 que puede además convertirse a los productos finales 7 (R1 = CO_2Me, CO_2H, $CONH_2$, CN, triazol, tetrazol) después de alquilación con un haluro de alquilo, seguido por manipulaciones orgánicas estándar como se describe anteriormente.

Ejemplo de referencia A



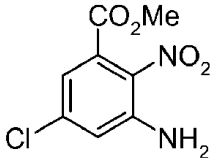
Preparación de 2-metil-6-(4-morfolinil)-1-(1-naftalenilmetil)-1H-bencimidazol-4-carboxilato de metilo

a) Ácido 3-amino-5-cloro-2-nitrobenzoico



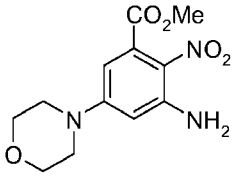
Bajo nitrógeno, a una disolución de t-BuOK (156,8 g) y $Cu(OAc)_2$ (3,6 g) en DMF (1,2 L) se añadió una disolución de ácido 5-cloro-2-nitrobenzoico (40,0 g) y $MeONH_2$.HCl (33,2 g) en DMF (300 mL) a 0ºC. Después de 3 h la reacción se apagó por adición de H_2O (2,5 L) y se aciduló con disolución de HCl al 10% a pH = 1. La mezcla se extrajo con EA (2 L x 2) y las fases orgánicas combinadas se lavaron entonces con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar el producto en bruto como un sólido amarillo (43,2 g, rendimiento 100%). ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 6,88 (s, 1H, J = 2,4 Hz), 6,91 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 8,08 (br s, 2H); LC-MS: m/e = 217 $[M+1]^+$.

b) 3-Amino-5-cloro-2-nitrobenzoato de metilo



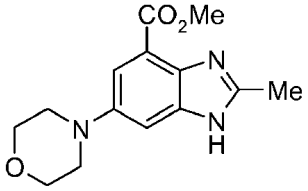
Una mezcla de ácido 3-amino-5-cloro-2-nitrobenzoico (43,2 g) y HATU (hexafluorofosfato metanaminio de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)--1,1,3,3-tetrametiluronio, disponible comercialmente) (76 g) en MeOH (81 mL), Et_3N (83 mL) y THF (300 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Cuando la TLC no mostró material de partida, el disolvente se eliminó al vacío y el residuo se diluyó después con EtOAc (2 L). Se lavó después con salmuera (1 L x 3) y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó entonces por cromatografía en gel de sílice eluido con EtOAc: éter de petróleo = 1:8 para proporcionar el producto deseado como un sólido amarillo (29,5 g, rendimiento 64%). ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 3,90 (s, 3H, s), 5,85 (br s, 2H), 6,80 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 6,90 (d, 1H, J = 2,4 Hz); LC-MS: m/e = 231 $[M+1]^+$.

c) 3-Amino-5-(4-morfolinil)-2-nitrobenzoato de metilo



Una mezcla de cargas combinadas de 3-amino-5-cloro-2-nitrobenzoato de metilo (39 g), morfolina (29,5 g) y K_2CO_3 (47 g) se agitó en DMF (200 ml) a 110ºC durante 5 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en agua (1 L). Se extrajo con EtOAc (500 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar el producto deseado como un sólido amarillo (22 g, rendimiento 46%). ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 3,31 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 3,82 (t, 4H, J = 4,8 Hz, 3,89 (s, 3H), 6,03 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 6,34 (d, 1H, J = 2,4 Hz); LC-MS: m/e = 282 $[M+1]^+$.

d) 2-Metil-5-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-7-carboxilato de metilo



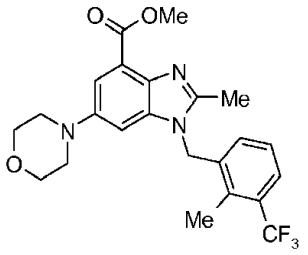
A una disolución de 3-amino-5-(4-morfolinil)-2-nitrobenzoato de metilo (22 g) agitando a reflujo en HOAc (400 mL) se añadió polvo de hierro en partes (13 g). Después de la adición, la mezcla se agito a reflujo durante 5 h. Se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se eliminó al vacío. El residuo se neutralizó con disolución acuosa de Na_2CO_3 (1 L). Se extrajo con EtOAc (500 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se concentraron entonces al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice eluido con MeOH: DCM = 1:30 para proporcionar el producto deseado como un sólido (16,6 g, rendimiento 77%). ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 2,67 (s, 3H), 3,17 (t, 4H, J =

4,8 Hz), 3,90 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 3,98 (s, 3H), 7,44 (d, 1H, J = 1,8 Hz), 7,54 (d, 1H, J = 1,8 Hz); LC-MS: m/e = 276 $[M+1]^+$.

e) 2-Metil-6-(4-morfolinil)-1-(1-naftalenilmetil)-1H-bencimidazol-4-carboxilato de metilo

Una mezcla de 2-metil-5-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-7-carboxilato de metilo (4,125 g), 1-(bromometil)naftaleno (5 g) y K_2CO_3 (6,2 g) se agitó a 80ºC durante 3 h. Cuando la TLC mostró que no quedaba ningún material de partida, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y después se vertió en agua (500 mL). Se extrajo con EtOAc (500 mL x 3) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL x 3) y después se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice eluido con MeOH:DCM = 1:100 para proporcionar el producto deseado como un sólido amarillo (4,6 g, 74%). ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 2,42 (s, 3H), 3,04 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 3,68 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 3,90 (s, 3H), 6,02 (s, 1H), 6,28 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 7,29 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 7,32 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 7,39 (d, 1H, J = 2,4), 7,60-7,71 (m, 2H), 7,84 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 8,01 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 8,24 (d, 1H, J = 7,5 Hz); LC-MS: m/e = 416 $[M+1]^+$.

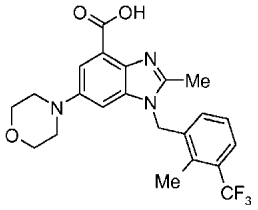
Ejemplo de referencia B



Preparación de 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxilato de metilo

Una disolución de 2-metil-5-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-7-carboxilato de metilo preparado como se describe en el Ejemplo de Referencia A etapa d (500 mg, 1,8 mmoles), 1-(bromometil)-2-metil-3-(trifluorometil)benceno (483 mg, 1,9 mmoles) y K_2CO_3 (497 mg, 3,6 mmoles) en DMF (50 mL) se agitó a 80ºC durante 3 h. La mezcla de reacción se enfrió a ta y se vertió en agua (50 mL), se extrajo con EtOAc (30 mL x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo resultante se purificó por cromatografía en gel de sílice eluido con DCM:MeOH = 50:1 para dar el producto en bruto (230 mg, rendimiento 29%), como un sólido blanco. ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 2,39 (s, 3H), 2,54 (s, 3H), 3,08 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 3,72 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 3,89 (s, 3H), 5,57 (s, 2H), 6,27 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 7,22 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 7,27 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 7,38 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 7,60 (d, 1H, J = 7,5 Hz); LC-MS: m/e = 448 $[M+1]^+$.

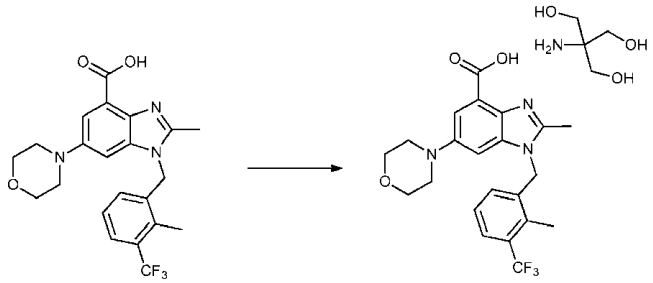
Ejemplo 1



Preparación de ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico

Una disolución acuosa de LiOH 2N (1,2 mL) se añadió a una disolución de 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxilato de metilo, preparado como se describe en el Ejemplo de Referencia B (180 mg, 0,4 mmoles) en THF (10 mL) y se agitó a 50ºC durante 1 h. Cuando la TLC mostró que no quedaba material de partida, la mezcla se enfrió a ta y el THF se eliminó a presión reducida. El pH de la mezcla se aciduló a pH 3. La suspensión se filtró y el filtrado se recogió, y se lavó con agua (10 mL) para dar el producto como un sólido blanco (152 mg, rendimiento 88%). ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 2,46 (s, 3H), 2,54 (s, 3H), 3,10 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 3,73 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 5,63 (s, 2H), 6,37 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 7,26 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 7,35 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 7,44 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 7,62 (d, 1H, J = 7,8 Hz); LC-MS: m/e = 434 $[M+1]^+$.

Ejemplo 2



Preparación de sal de 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol de ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico

Preparación de semilla de cristal – Carga 1: Al ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico (52,9 mg, 0,122 mmoles), se añadió metanol (2,0 mL). A la lechada, se añadió trometamina (2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol) (disolución 3,0 M en agua, 1,0 equivalente). La lechada se calentó a 60ºC y se mantuvo en agitación a 60ºC durante 3 horas. La lechada se enfrió después lentamente (0,1ºC/min) a 20ºC. Una vez que la temperatura de la lechada alcanzó 20ºC, la lechada se mantuvo en agitación a 20ºC durante 8 horas. Los sólidos cristalinos se aislaron por filtración al vacío. El rendimiento de la sal deseada fue 57,2 mg (85% de rendimiento).

Preparación de semilla de cristal – Carga 2: Al ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-mrofolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico (353,0 mg), se añadió metanol (14,0 mL). La lechada se calentó a 60ºC y se añadió trometamina (disolución 3,0 M en agua, 1,0 equivalente) en cuatro alícuotas durante 15 minutos seguido de la adición de semillas cristalinas de sal de trometamina cristalina de la carga 1. La lechada se agitó a 60ºC durante 3 horas, se enfrió (1ºC/min) a 20ºC, y se agitó a 20ºC durante 8 horas. Los sólidos se aislaron por filtración al vacío, se secaron a 60ºC al vacío durante 5 horas. El rendimiento de la sal de trometamina fue 401,5 mg (~88,9% de rendimiento).

Carga 3: Se suspendió ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico (40,0 g, 92 mmoles) en metanol (1,6 L) en un matraz de fondo redondo de 3L. La lechada resultante se calentó a 60ºC mezclando en un baño de agua de evaporador rotatorio buchii y se añadió tris(hidroximetil)aminometano (disolución 3 M en agua) (0,031 L, 92 mmoles) en cuatro alícuotas durante 15 minutos seguido de la adición de cristales semilla como los producidos por el método análogo al Ejemplo 86, Carga 2, anterior (108 mg). Esta lechada se agitó (matraz rotado en rotavapor buchii) a 60ºC durante 3 horas, después se enfrió (~1ºC/min) a 20ºC (temperatura ambiente), después finalmente se agitó magnéticamente a 20ºC (temperatura ambiente) durante 8 horas. El sólido blanco resultante se aisló por filtración al vacío, se secó al vacío a 60ºC durante 8 horas para proporcionar ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico – 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol (1:1) (47,76 g, 86 mmoles, 93% de rendimiento) como un sólido blanco. Tanto RMN de protones y LCMS son coherentes con la estructura propuesta. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 7,61 (d, J = 7,83 Hz, 1H), 7,37 (d, J = 2,27 Hz, 1H), 7,17-7,33 (m, 2H), 6,33 (d, J = 7,83 Hz, 1H), 5,59 (s, 2H), 3,66-3,80 (m, 4H), 2,98-3,15 (m, 4H), 2,50-2,58 (m, 10H), 2,43 (s, 3H); LCMS m/z MH+ = 434,3.

Ensayos biológicos

El compuesto de la presente invención se ensayó según los siguientes ensayos y se encontró que es un inhibidor de PI3 quinasas, particularmente PI3Kβ. Las actividades (CI_{50}) de los compuestos ejemplificados estuvieron por debajo de 10 nM. El valor CI_{50} puede convertirse y presentarse como valor pCI_{50}.

Ensayos de perfilado *in vitro* de HTRF para la inhibición de PI3K

Los ensayos de perfilado de PI3 quinasa se desarrollaron para medir la inhibición dependiente de compuesto de las isoformas alfa, beta, delta y gamma de PI3K en un ensayo catalítico *in vitro*. Este ensayo se desarrolló y se optimizó a partir de un kit producido por Upstate (catálogo Millipore núm. 33-017). Brevemente, este procedimiento utiliza un complejo HTRF (transferencia de energía de Fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo) pre-formado entre cuatro compañeros de unión: 1) PIP3 biotinilado, 2) dominio de homología de pleckstrina (PH) marcado con GST, 3) anticuerpo monoclonal anti-GST marcado con europio, y 4) estreptavidina-aloficocianina (APC). El PIP3 nativo producido por la actividad PI3 quinasa desplaza al PIP3-biotina del dominio PH, dando por resultado la disociación del complejo HTRF y una disminución en la señal de fluorescencia. El formato de este ensayo es el mismo para las 4 isoformas de PI3K; las diferencias estriban en la concentración de enzima usada para alcanzar la señal más fuerte. Los ensayos alfa y delta se realizan con enzima 400 pM; el ensayo beta está con enzima 200 pM y el ensayo gamma se realiza con enzima 1 nM. Además, los ensayos alfa, beta y delta se realizan con NaCl 150 mM mientras el ensayo gamma se realiza en ausencia de NaCl. La concentración de ATP es 100 uM en los ensayos alfa, beta y delta y ATP 15 uM en el ensayo gamma. Todas las reacciones se realizan a PIP2 10 uM.

Los compuestos se diluyen en serie (3 veces en DMSO al 100%) a través de una placa madre de polipropileno de 384 pocillos desde la columna 1 a la columna 12 y la columna 13 a la columna 24, para dar 11 concentraciones para cada compuesto de ensayo. Las columnas 6 y 18 contienen solo DMSO. Una vez que se han hecho las valoraciones, se transfirieron 0,05 µL a una placa de ensayo de bajo volumen de 384 pocillos (Greiner 784076). Esta placa de ensayo contenía tres controles farmacológicos (inhibidores de PI3K conocidos) y 3 controles de ensayo: (1) enzima sin inhibidor; (2) tampón menos enzima, y (3) tampón menos enzima más PIP3 nativo. El DMSO se fijó en todos los pocillos de las columnas 6 y 18. PIP3 se añadió a 40 µM en el tampón de reacción 1X (1 µL de PIP3 200 µM) en filas alternas de la columna 18 (pocillos 18 B, D, F, H, J, L, N, P). Las reacciones de control no de enzima se realizaron en los pocillos 18 A, C, E, G, I, K, M, O (0,1 µL de DMSO al 100%).

El ensayo de perfilado de PI3 quinasa se optimizó usando el kit de HTRF proporcionado por Upstate (Millipore). El kit de ensayo contenía siete reactivos: 1) tampón de reacción 4X; 2) PIP2 nativo (sustrato); 3) Parada A (EDTA); 4) Parada B (biotina-PIP3); 5) Mezcla de detección A (estreptavidina-APC); 6) Mezcla de detección B (Anti-GST marcado con Eu más dominio PH marcado con GST); 7) Mezcla de detección C (KF). Además, los siguientes productos se obtuvieron o compraron: PI3 quinasa (preparado por GSK BR&AD), ditiotreitol (Sigma, D-5545), adenosin-5'-trifosfato (ATP, cat. Teknova núm. A0220), PIP3 nativo (sal de 1,2-dioctanoil-sn-glicero-3-[fosfoinositil-3,4,5-trifosfato]tetraamonio (Avanti polar lipids 850186P), DMSO (Sigma, 472301).

El tampón de reacción de PI3 quinasa se preparó diluyendo las existencias 1:4 con agua desionizada. Se añadió DTT recién preparado a una concentración final de 5 mM en el día de uso. La adición de enzima y el pre-incubado del compuesto se iniciaron mediante la adición de 2,5 µL de PI3K (a dos veces su concentración final) en el tampón de reacción 1X a todos los pocillos usando un Multidrop Combi. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos. Las reacciones se iniciaron por adición de 2,5 µL de disolución de sustrato 2X (PIP2 y ATP en tampón de reacción 1X) usando un Multidrop Combi. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante una hora. Las reacciones se apagaron mediante la adición de 2,5 µL de disolución de parada (parada A y parada B pre-mezcladas en una relación de 5:1, respectivamente) a todos los pocillos usando el Multidrop Combi. Las reacciones apagadas se procesaron entonces para detectar la formación de producto añadiendo 2,5 µL de disolución de detección a todos los pocillos usando el Multidrop Combi (mezcla de detección C, mezcla de detección A y mezcla de detección B combinados juntos en una relación 18:1:1, es decir: para un volumen total de 6000 µL, mezclar 5400 µL de mezcla de detección C, 300 µL de mezcla de detección A y 300 µL de mezcla de detección B. Nota: esta disolución se prepararía 2 horas antes del uso). Después de una hora de incubación en la oscuridad, la señal de HTRF se midió en el equipo lector de placas Envision para excitación de 330 nm y detección de emisión dual a 620 nm (Eu) y 665 nm (APC).

La pérdida de la señal de HTRF es debido al desplazamiento de PIP3 biotinilado desde el dominio PH mediante la conversión dependiente de PI3K de PIP2 a PIP3. Esta pérdida de señal es no lineal con respecto tanto al aumento del producto como del tiempo. Esta detección no lineal afectará a la exactitud de los cálculos CI_{50}; por lo tanto, hay una necesidad de un factor de corrección para obtener valores CI_{50} más exactos. Esta corrección se deriva de los estándares de ensayo en los pocillos de la columna 6 y 18 de la placa de ensayo.

Todos los datos se calcularon usando la relación de fluorescencia de aceptor (APC) a dador (Europio) en cada pocillo de la placa de ensayo. El porcentaje de inhibición para cada concentración de compuesto se calculó como sigue: % de inhibición = 100* (relación de fluorescencia – CtrlB)/(CtrlA – CtrlB) donde CtrlA = reacción de (-) PI3quinasa y CrtlB = PI3quinasa + DMSO.

Un CI_{50} se calculó entonces ajustando los datos de % de inhibición a la ecuación: % de inhibición = min + (máx – min)/(1 + ([inhibidor]/CI_{50})^n) donde min es el % de inhibición sin inhibidor (típicamente 0%), máx es la señal en el control (-) enzima, y n es la pendiente (típicamente 1). Finalmente, el CI_{50} se convirtió a pCI_{50} (pCI_{50} = -log(CI_{50})), y el valor pCI_{50} se corrigió usando los controles de placa y la ecuación posterior: pCI_{50} (corregido) = pCI_{50} (observado) + log10((CtrlA-CtrlB)/(CtrlB-CtrlC)), donde CtrlA y CtrlB son como se definen anteriormente y CrtlC = PI(3,4,5)P3 10 µM, 100% de desplazamiento de PI(3,4,5)P3 biotinilado.

El compuesto enumerado en la Tabla 1 se ensayó generalmente según los ensayos descritos en esta memoria. La Tabla 1 enumera los valores pCI_{50} para o bien una marcha experimental o un promedio de dos o más marchas experimentales con los ejemplos mostrados.

Tabla 1

Ejemplo núm.	PM	pCI50 de PI3KB medio
1	433,43	8,2

Ensayos celulares – Ensayo de inhibición de crecimiento celular en las líneas de células tumorales de tipo salvaje de PTEN o deficiente en PTEN

Veintidós líneas celulares tumorales de tipo salvaje de Homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN) o deficientes en PTEN se cultivaron generalmente según las instrucciones suministradas por el suministrador de cultivo celular American Type Culture Collection, Manassas, VA, con suero bovino fetal al 10% en CO_2 al 5% y 37ºC. Las células se sembraron en un matraz o bien T-75 o T-175 3-4 días antes de poner en la placa el ensayo de 96 pocillos de manera que los matraces fueron concurrentes aproximadamente al 70-80% del tiempo de la cosecha. Las células se cosecharon usando tripsina-EDTA al 0,25% (Invitrogen núm. 25200056). La tinción de exclusión de azul de tripano se usó para determinar el número de células.

Las células viables se pusieron en la placa en placas de 96 pocillos de fondo plano, claro (BD núm. 353075) bajo condiciones independientes del anclaje a 2.000-10.000 células por pocillo dependiendo de la línea celular. Para generar condiciones de crecimiento independientes del anclaje, se hizo una disolución de existencias de agar al 5% en agua y se puso en autoclave par fundir y esterilizar. A partir de la disolución de agar al 5%, se hizo una disolución de agar/medio al 0,6% + suero bovino fetal (FBS) al 10% para generar una capa de agar en el fondo en las placas para evitar la unión celular. Se añadieron setenta y cinco microlitros por pocillo de la disolución agar-medio al 0,6% a las placas. Después de la solidificación, se hizo una disolución celular de 266.870 a 1.334.022 células (dependiendo de la línea celular) en 10 ml de agar/medio al 0,3% + FBS al 10% y 75 µl de la suspensión de célula/medio/agar se añadió a las placas. Después de solidificar la capa celular, se añadieron 50 µl de medio + FBS al 10% a la parte superior de las células. Una disolución de Brij 35 al 0,3% (Sigma B4184) en medio + FBS al 10% se añadió a la columna 12 como un control de sustracción de fondo. Las células se incubaron toda la noche a CO_2 al 5% y 37ºC. Al día siguiente una placa de células se procesó en el momento de la adición de compuesto para cuantificar el número de células de partida (T = 0 o T0).

Para generar las placas de valoración de compuesto, se diluyeron 15 µl de una disolución 2 mM o 20 µl de una disolución 20 mM del compuesto del ejemplo 1 en una placa de 96 pocillos de polipropileno de fondo claro (BD núm. 351190) usando una valoración de 3 veces 10 puntos, o una valoración de 2 veces 20 puntos, respectivamente. Se añadieron trescientos microlitros de medio a las diluciones del compuesto. Se añadieron diez microlitros por pocillo de las diluciones en serie a las células y las placas se incubaron durante 6 días en CO_2 al 5% y 37ºC. La concentración final de DMSO en todos los pocillos fue 0,15% y la mayor concentración final del compuesto del ejemplo 1 fue 3,7 µM o 30,7 µM.

Después de 6 días de incubación, se añadieron 20 µl de azul alamar (Invitrogen núm. DAL1100) a las células, se incubaron en CO_2 al 5% y 37ºC durante 6 horas y las placas se leyeron en un Spectramax (Gemini EM) a 530 nm (excitación) y 590 nm (emisión) con el auto límite desactivado. Para el análisis de las curvas de respuesta a la dosis de inhibición de crecimiento celular, los datos se representan como el porcentaje de las muestras de control tratadas con DMSO (muestras de DMSO ajustadas al 100%). La respuesta celular se determinó para el compuesto del ejemplo 1 y los compuestos de control ajustando la respuesta a la concentración con un ajuste de curva de 4 parámetros usando software XLfit y determinando la concentración que inhibe el 50% de la ventana Ymax-Ymin (CE_{50}). La CE_{50} es el punto medio del efecto ventana del compuesto activo (entre la meseta Ymax y la meseta Ymin del compuesto) y representa la concentración del compuesto del ejemplo 1 donde el 50% de su efecto máximo se observa. Los valores de los pocillos que contenían Brij 35 al 0,3% (bajo condiciones independientes de anclaje) se sustrajeron de todas las muestras para la corrección de fondo.

Los resultados mostrados en la Tabla 2 demuestran que múltiples líneas celulares con pérdida del PTEN supresor del tumor eran sensibles, mientras que relativamente pocas líneas celulares tumorales de PTEN tipo salvaje eran sensibles.

Tabla 2

Ensayo de crecimiento tumoral de agar blando independiente del anclaje						
Línea celular	Origen	Tipo	Estado del número de mutación/copia de PTEN	Análisis western de PTEN	Compuesto	
					CE_{50} (nM)± Des. Est.	Ymin ± Des. Est.
BT549	Mama	carcinoma	p.V275fs*1	Sin proteína	7 ± 2	52 ± 7
WM-115	Piel	melanoma	p.165fs*	Sin proteína	8 ± 3	54 ± 14
C32	Piel	melanoma	p.55fs*	Sin proteína	8 ± 2	20 ± 14
SW1783	SNC	glioblastoma	p.R233*	Sin proteína	10 ± 3	69 ± 4
UM-UC-3	Vejiga	De transición	Pérdida	Sin proteína	10 ± 8	83 ± 29
SW1088	SNC	glioblastoma	Pérdida	Sin proteína	12 ± 6	36 ± 8
H4	SNC	glioblastoma	Pérdida	Sin proteína	12 ± 8	55 ± 18
CHL-1	Piel	melanoma	Tipo salvaje	Proteína	14 ± 6	82 ± 2
UACC-62	Piel	melanoma	p.P248fs*5	Sin proteína	23 ± 27	76 ± 18
HCC19377	Mama	carcinoma	Pérdida	Sin proteína	24 ± 8	67 ± 8
PC-3	Próstata	carcinoma	Pérdida	Sin proteína	27 ± 12	82 ± 13
HCC70	Mama	carcinoma	p.F90fs*9	Sin proteína	53 ± 21	27 ± 8
MDA-MB-468	Mama	carcinoma	p.?, L70Fs*7	Sin proteína	89 ± 55	44 ± 6

HCC1395	Mama	carcinoma	p.N212fs*3	Sin proteína	114	±	53	26	±	9
U-87MG	SNC	glioblastoma	p.?	Sin proteína	2975	±	2771	34	±	18
BT474	Mama	carcinoma	Tipo salvaje	Proteína	3360	±	868	75	±	3
U251	SNC	glioblastoma	p.E242fs*15	Sin proteína	18996	±	8625	80	±	17
HCC1954	Mama	carcinoma	Tipo salvaje	Proteína	>30722			>80		
Colo205	Colon	carcinoma	Tipo salvaje	ND	>30722			>80		
HCT-116	colon	carcinoma	Tipo salvaje	ND	>30722			>80		
SKOV-3	Ovario	adenocarcinoma	Tipo salvaje	ND	>30722			>80		
LOXIMVI	Piel	melanoma	Tipo salvaje	Proteína	>30722			>90		

p.? indica una mutación del sitio de unión

Experimentos in vivo

Inhibición tumoral dependiente de la dosis

La actividad del compuesto del ejemplo 1 se evaluó *in vivo* frente al modelo de ratón de xenoinjerto PC-3 (línea celular de carcinoma de próstata que codifica una proteína PTEN deficiente). Los ratones que portan el tumor PC-3 se generaron inyectando 2,5 x 10^6 células de PC-3 suspendidas 1:1 en Matrigel de forma subcutánea en el flanco de ratones desnudos hembra (Charles River-Wilmington; cepa Crl: CD-1-Fonxn1). Un conjunto de ratones, cada uno de aproximadamente 19 semanas de edad, se implantó con las células para las dosis de 100, 30 y 10 mg/kg y otro conjunto de ratones, cada uno aproximadamente de 11 semanas de edad, se implantó con las células para las dosis de 10, 3 y 1 mg/kg.

Los ratones que portan xenoinjertos PC-3 se aleatorizaron en grupos de dosificación de n=8 en base al volumen tumoral 29 (100, 30 y 10 mg/kg) o 28 (1, 3, 10 mg/kg) días después de que se implantaran las células tumorales. El tratamiento de los ratones comenzó al día siguiente y continuó durante 21 días. Los ratones recibieron alimentación forzada oral una vez al día con compuesto o vehículo a 10 mL/kg.

El crecimiento tumoral se midió dos veces a la semana en dos dimensiones con calibres de nonio; la dimensión más larga se definió como la longitud (l), y la anchura (a) se midió perpendicular a la longitud. Los volúmenes tumorales (V) se calcularon usando la siguiente ecuación: $V = (1/2)la^2$. Las medias de los volúmenes tumorales se usaron para comparar los grupos de tratamiento. La enfermedad estable para este estudio se define como un volumen tumoral que durante el curso del tratamiento con compuesto no aumenta o disminuye sustancialmente sino que permanece similar al volumen antes del tratamiento con fármaco en comparación con el tratado con vehículo en que el volumen tumoral continúa aumentando durante el curso del estudio. El retraso del crecimiento tumoral se define como volumen tumoral que se reduce durante el curso del tratamiento con compuesto respecto al volumen tumoral tratado con vehículo.

Los resultados demuestran que el tratamiento de ratones desnudos hembra que portan xenoinjertos de próstata PC-3 con 10, 30 y 100 mg/kg del compuesto del ejemplo 1 durante 21 días dio por resultado una enfermedad estable con las dosis 1 y 3 mg/kg dando por resultado en retraso de crecimiento tumoral respecto al vehículo durante el periodo de dosificación.

B) Efectos farmacodinámicos

La actividad del compuesto del ejemplo 1 se evaluó *in vivo* frente al modelo de ratón de xenoinjerto PC-3 (línea celular de carcinoma de próstata que codifica una proteína PTEN deficiente). Se inyectaron ratones desnudos hembra (Charles River Laboratories, Wilmington, DE; cepa CD-1-Foxn1, ~6 semanas de edad) de forma subcutánea con 2 millones de células PC-3 (carcinoma de próstata humano) mezcladas 1:1 con Matrigel en el flanco. Los tumores se dejaron crecer durante aproximadamente 5 semanas.

Los ratones que portaban xenoinjertos PC-3 se administraron con 3 mg/kg del compuesto del ejemplo 1 o 10 mg/kg de compuesto del ejemplo 1 y se sacrificaron usando dióxido de carbono después de 1, 2, 4, 6, 8, 10 y 24 horas (n=3 ratones/tratamiento/punto temporal); unos 3 ratones adicionales que portaban xenoinjertos PC-3 se administraron con vehículo y se sacrificaron después de 2 horas. El tumor se extirpó. La mitad de cada tumor se procesó inmediatamente por Medicon (catálogo BD núm. 340592) en 1 mL de tampón de lisis Meso-Scale Discovery (MSD) con inhibidores de proteasa (cóctel de proteasa completa Roche, cat. núm. 04 693 116001) e inhibidores de fosfatasa (Sigma, cat. núm. P2850 y P-5726) durante 30-60 segundos y se transfirió a tubos Eppendorf de 1,5 mL. Los tubos permanecieron en hielo húmedo hasta que se centrifugaron durante 10 minutos a 4ºC a máxima velocidad en una centrífuga refrigerada de mesa.

Los lisatos tumorales se diluyeron en serie en placas de polipropileno de 96 pocillos en hielo húmedo. Los lisatos (150 µL) se cargaron en la fila 1; las filas 2-12 se cargaron con 75 µL de tampón de lisis Meso Scale Discovery (MSD) completo (suministrado en kit MSD; núm. K15100D-3). Las muestras se diluyeron en serie dos veces a través de la placa por transferencia secuencial de 75 µL a través del pocillo 11; la fila 12 contenía solo tampón de lisis. Las placas de ensayo MSD Multi-Spot (kit de lisato celular completo: Fosfo(ser473), Ensayo AKT total, núm. de catálogo

K15100D-3) se bloquearon con 150 µL de Bloqueante A al 3% toda la noche a 4ºC con agitación antes de lavarse 4X con 200 µL de tampón de lavado MSD Tris. Cincuenta microlitros de los lisatos diluidos en serie se pipetearon en las placas MSD bloqueadas, se cubrieron y se incubaron toda la noche a 4ºC con agitación. Las placas se lavaron con tampón Tris como antes. Se añadió anticuerpo de detección (25 µL/pocillo) a una concentración final de 10 nM en 1 mL de Bloqueante A y 2 mL de tampón de lavado Tris y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Las placas se lavaron como se describe anteriormente, antes de la adición de 150 µL de tampón de lectura MSD y se leyó inmediatamente en un lector de placas 6000 MSD. Todo el trabajo se realizó de acuerdo con los protocolos del Comité del cuidado y uso animal institucional (IACUC) PA0079 y PA0271.

Los controles no lisato en la columna 12 se promediaron y se usaron como fondo para restar de todos los pocillos. P/T AKT se calculó como se muestra: (señal fosfo AKT(Ser473))/[(señal fosfo AKT(Ser473)) + (señal AKT total)]. Los valores de tres puntos en cada fila de muestras diluidas identificados como que están en el intervalo lineal de detección se promediaron para representar cada valor P/T AKT de la muestra tumoral. Se determinaron los promedios y desviaciones estándar del valor P/T AKT para cada grupo de 3 ratones. El porcentaje de inhibición se calculó para cada grupo como sigue: 100-[(valor P/T AKT de la muestra)/(valor P/T AKT del vehículo)]*100.

El compuesto del ejemplo 1 mostró inhibición dependiente de la dosis del marcador farmacodinámico pAKT (pAKT/tAKT).

Referencias adicionales:

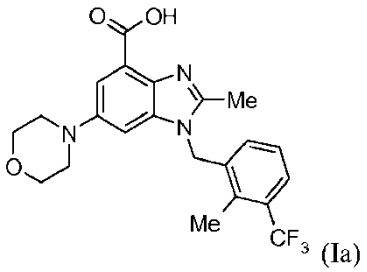
Los compuestos de la presente invención pueden ensayarse también para determinar su actividad inhibidora en PI3Kα, PI3Kδ, PI3Kβ y PI3Kγ según la publicación de patente internacional núm. WO2009/039140.

Los compuestos farmacéuticamente activos en el alcance de esta invención son útiles como inhibidores de PI3 quinasa en mamíferos, particularmente seres humanos, que lo necesitan.

Se describe un método para tratar enfermedades asociadas con la inhibición de PI3 quinasa, particularmente: trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad del esperma, rechazo al trasplante, rechazo al injerto y lesiones pulmonares y otros procesos que necesitan la modulación/inhibición de PI3 quinasa, que comprende administrar un compuesto efectivo de Fórmula (I) o una sal, hidrato, solvato o pro-fármaco farmacéuticamente aceptable del mismo. Los compuestos de Fórmula (I) también proporcionan un método para tratar los estados de enfermedad indicados anteriormente por su capacidad para actuar como inhibidores de PI3. El fármaco puede administrarse a un paciente que lo necesita por cualquier ruta de administración convencional, incluyendo, aunque no limitado a, intravenosa, intramuscular, oral, subcutánea, intradérmica y parenteral.

REIVINDICACIONES

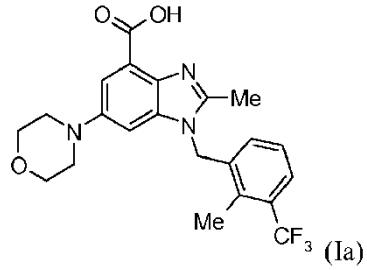
1. Un compuesto de Fórmula (Ia)



(Ia)

que es ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)1H-bencimidazol-4-carboxílico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1 de Fórmula (Ia)



(Ia)

que es ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico.

3. Una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (Ia) según la reivindicación 1.

4. Una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (Ia) según la reivindicación 3, en donde la sal es la sal Tris 1:1.

5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

6. Una composición farmacéutica según la reivindicación 5 para usar en el tratamiento de un neoplasma susceptible en un mamífero que lo necesita.

7. Un compuesto de Fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para usar en terapia.

8. Una combinación de (a) ácido 2-metil-1-{[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]metil}-6-(4-morfolinil)-1H-bencimidazol-4-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y (b) al menos un agente antineoplásico; para usar en el tratamiento del cáncer.

9. Un compuesto de Fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, o una composición farmacéutica según la reivindicación 5, o una combinación según la reivindicación 8, para usar en el tratamiento de un neoplasma susceptible deficiente en PTEN seleccionado de cerebro (gliomas), glioblastomas, leucemias, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, cáncer de mama, cáncer de mama inflamatorio, cáncer colorrectal, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, Rhabdomiosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, cáncer de colon, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, cáncer de pulmón, cáncer hepático, melanoma, carcinoma de células escamosas, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, sarcoma, cáncer, osteosarcoma, tumor de células gigantes del hueso, cáncer de tiroides, leucemia linfoblástica de células T, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células pilosas, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrófila crónica, leucemia linfoblástica de células T aguda, plasmacitoma, leucemia inmunoblástica de células grandes, leucemia de células del manto, mieloma múltiple, leucemia megacarioblástica, leucemia megacariocítica aguda, leucemia promielocítica, eritroleucemia, linfoma maligno, linfoma de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin, linfoma linfoblástico de células T, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer vulvar, cáncer cervical, cáncer de endometrio, cáncer renal, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de glándulas salivales, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer nasofaríngeo, cáncer bucal, cáncer de la boca, GIST (tumor del estroma gastrointestinal) y cáncer de testículos.

10. Un compuesto de Fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar, o una composición farmacéutica para usar, o una combinación para usar, según la reivindicación 9 en donde dicho neoplasma deficiente de PTEN se selecciona de cáncer de próstata, cáncer de pulmón no de células pequeñas, cáncer de endometrio, cáncer gástrico, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, incluyendo el cáncer de mama triple negativo, y glioma.

11. Un compuesto de Fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar, o una composición farmacéutica para usar, o una combinación para usar, según la reivindicación 10 en donde dicho cáncer de próstata es cáncer de próstata hormonorefractario.

12. El uso de un compuesto de Fórmula (Ia), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de un neoplasma susceptible deficiente en PTEN que se selecciona de cerebro (gliomas), glioblastomas, leucemias, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, cáncer de mama, cáncer de mama inflamatorio, cáncer colorrectal, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, Rhabdomiosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, cáncer de colon, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma, carcinoma de células escamosas, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, sarcoma, cáncer, osteosarcoma, tumor de células gigantes del hueso, cáncer de tiroides, leucemia linfoblástica de células T, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células pilosas, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrófila crónica, leucemia linfoblástica de células T aguda, plasmacitoma, leucemia inmunoblástica de células grandes, leucemia de células del manto, mieloma múltiple, leucemia megacarioblástica, leucemia megacariocítica aguda, leucemia promielocítica, eritroleucemia, linfoma maligno, linfoma de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin, linfoma linfoblástico de células T, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer vulvar, cáncer cervical, cáncer de endometrio, cáncer renal, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de glándula salivar, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer nasofaríngeo, cáncer bucal, cáncer de la boca, GIST (tumor del estroma gastrointestinal) y cáncer de testículos.

13. El uso según la reivindicación 12, en donde dicho neoplasma susceptible deficiente en PTEN se selecciona de cáncer de próstata, cáncer de pulmón no de células pequeñas, cáncer de endometrio, cáncer gástrico, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, incluyendo cáncer de mama triple negativo, y glioma.

14. El uso según la reivindicación 13, en donde dicho cáncer de próstata es cáncer de próstata hormonorefractario.