

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 647 416**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.07.2013 PCT/IB2013/055434**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.01.2014 WO14006572**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.07.2013 E 13744836 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.08.2017 EP 2870157**

54 Título: **Inhibidores de PI3K delta selectivos**

30 Prioridad:

04.07.2012 IN CH26922012

04.07.2012 IN CH26932012

21.08.2012 US 201261691561 P

21.08.2012 US 201261691586 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.12.2017

73 Titular/es:

**RHIZEN PHARMACEUTICALS S.A. (100.0%)
Fritz Courvoisier 40
2300 La Chaux de Fonds, CH**

72 Inventor/es:

**VAKKALANKA, SWAROOP KUMAR VENKATA
SATYA;
MUTHUPPALANIAPPAN, MEYYAPPAN y
NAGARATHNAM, DHANAPALAN**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques
o Bemerkungen) en el folleto original publicado
por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 647 416 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de PI3K delta selectivos

- 5 La presente solicitud reivindica el beneficio de las solicitudes de patente indias N.º 2692/CHE/2012, presentada el 4 de julio de 2012 y 2693/CHE/2012, presentada el 4 de julio de 2012, y de las solicitudes provisionales de los EE.UU. N.º 61/691.561, presentada el 21 de agosto de 2012 y 61/691.586, presentada el 21 de agosto de 2012.

10 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a inhibidores selectivos de proteínas cinasas delta PI3K, a métodos para prepararlos, a composiciones farmacéuticas que los contienen y a los métodos de tratamiento y/o prevención de enfermedades o trastornos mediados por cinasas con ellos.

15 **Antecedentes de la invención**

El fosfatidilinositol (abreviado en lo sucesivo en el presente documento "PI") es uno de varios fosfolípidos presentes en las membranas celulares. En los últimos años se ha descubierto que el PI cumple una función importante en la transducción de señales intracelulares. Se ha vinculado la señalización celular a través de fosfoinosítidos 3'-fosforilados en diversos procesos celulares, por ejemplo, la transformación maligna, la señalización de factores de crecimiento, la inflamación y la inmunidad (Rameh et al. (1999) *J. Biol Chem*, 274:8347-8350). La enzima responsable de generar estos productos de señalización fosforilados, la fosfatidilinositol 3-cinasa (también denominado PI 3-cinasa o PI3K), se identificó originalmente como una actividad asociada a las oncoproteínas víricas y las tirosina cinasas receptoras del factor de crecimiento que fosforilan el fosfatidilinositol (PI) y sus derivados fosforilados en el 3'-hidroxilo del anillo de inositol (Panayotou et al. (1992) *Trends Cell Biol* 2:358-60).

Los fosfoinosítido 3-cinasas (PI3K) son una familia de enzimas que regulan diversas funciones biológicas en todos los tipos de células mediante la generación de moléculas mensajeras secundarias de fosfoinosítidos. Como la actividad de estos mensajeros secundarios de fosfoinosítidos está determinada por su estado de fosforilación, las cinasas y fosfatidas que actúan para modificar estos lípidos son fundamentales para la correcta ejecución de los eventos de señalización intracelular. Las fosfoinosítido 3-cinasas (PI3K) fosforilan los lípidos en el resto 3-hidroxilo de un anillo de inositol (Whitman et al. (1988) *Nature*, 332:664) para generar fosfolípidos fosforilados (PIP3) que actúan como mensajeros secundarios que captan cinasas con dominios de unión a lípidos (incluyendo regiones de homología de plekstrina (PH)), como Akt y cinasa-1 dependiente de fosfoinosítidos (PDK1). La unión de Akt a los PIP3 de la membrana provoca la translocación de Akt a la membrana plasmática, poniendo a Akt en contacto con PDK1, que es responsable de la activación de Akt. La fosfatasa supresora de tumores, PTEN, desfosforila el PIP3 y, por tanto, actúa como un regulador negativo de la activación de Akt. Las PI3-cinasas PDK1 y Akt son importantes en la regulación de muchos procesos celulares, incluyendo la regulación del ciclo celular, la proliferación, la supervivencia, la apoptosis y la motilidad, y son componentes importantes de los mecanismos moleculares de las enfermedades tales como el cáncer, la diabetes y la inflamación inmunitaria (Vivanco et al. (2002) *Nature Rev. Cancer* 2:489; Phillips et al. (1998) *Cancer* 83:41).

Los miembros de la familia de clase I de PI3K son dímeros de una subunidad reguladora y una subunidad catalítica. La familia de clase I consiste en cuatro isoformas determinadas por las subunidades catalíticas de 110 kDa α , β , γ y δ . Engelman JA, *Nat Rev Genet* 2006;7:606-19; Carnero A, *Curr Cancer Drug Targets* 2008;8:187-98; Vanhaesebroeck B, *Trends Biochem Sci* 2005;30:194-204. La clase I se puede subdividir en dos subclases: Ia, formada por la combinación de p110 α , β y δ y una subunidad reguladora (p85, p55 o p50) y Ib, formada por p110 y las subunidades reguladoras de p101.

50 Hay pruebas considerables que indican que las enzimas PI3K de clase Ia contribuyen con la tumorigénesis en una amplia diversidad de cánceres humanos, ya sea directa o indirectamente (Vivanco y Sawyers, *Nature Reviews Cancer*, 2002, 2, 489-501; Marone et al., *Biochimica et Biophysica Acta* 1784 (2008) 159-185). En particular, la isoforma p110 delta se ha implicado en las funciones biológicas relacionadas con las enfermedades inflamatorias mediadas por mecanismos inmunitarios, incluyendo la señalización del receptor de células B, el receptor de linfocitos T, la señalización de FcR de mastocitos y monocito/macrófago, y la función de los osteoclastos/señalización RANKL (Deane J y Fruman D A (2004) *Annu Rev. Immunol.* 2004. 22:563-98; Janas et al., *The Journal of Immunology*, 2008, 180: 739-746; Marone R et al., *Biochim. Biophys. Acta* 2007, 1784:159-185). La delección del gen PI3K delta o la introducción selectiva de un mutante catalíticamente inactivo de PI3K delta provoca una ablación casi completa de la proliferación y la señalización de las células B y también un deterioro de la señalización a través de los linfocitos T.

60 Todavía existe una necesidad insatisfecha e imperiosa de moduladores de cinasas de molécula pequeña para regular y/o modular la transducción de las cinasas, especialmente PI3K, para el tratamiento de las enfermedades y los trastornos asociados a los eventos mediados por cinasas.

La publicación internacional N.º WO 2011/055215 y la publicación de patente de los EE.UU. N.º 2011/0118257 divulgan cierta 4H-cromen-4-ona 2,3 disustituida como modulador de la cinasa PI3K, que se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad a todos los efectos.

5

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a inhibidores selectivos de proteínas cinasas PI3K delta. Estos compuestos son adecuados para su uso en una composición farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección asociada a PI3K, por ejemplo, una enfermedad proliferativa tal como el cáncer.

10

En una realización, el inhibidor de PI3K delta es (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (compuesto A1) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En una realización adicional, el compuesto A1 está libre de un compuesto de (R)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (compuesto A2).

15

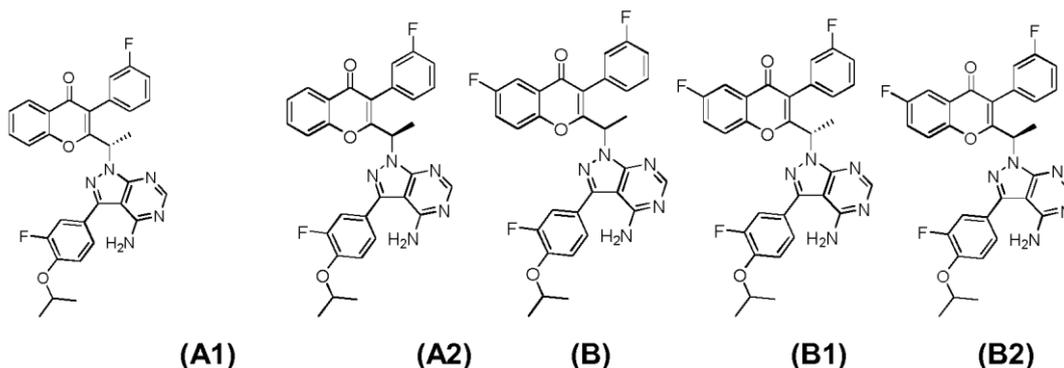
En otra realización más, el inhibidor de PI3K delta es 2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (compuesto B) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. La presente invención también incluye el compuesto B y sus sales farmacéuticamente aceptables, en forma racémica, así como su estereoisómero (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (compuesto B1), y sales farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización adicional, el compuesto B1 está libre de (R)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (compuesto B2).

20

En una realización, el inhibidor de PI3K delta es 4-metilbensulfonato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona. En otra realización, el inhibidor de PI3K delta es sulfato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona. En otra realización, el inhibidor de PI3K delta es clorhidrato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona. En otra realización, el inhibidor de PI3K delta es bencensulfonato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona. En otra realización, el inhibidor de PI3K delta es maleato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona. En otra realización, el inhibidor de PI3K delta es sulfonato de alcanfor de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona.

35

Las estructuras químicas de los compuestos A1, A2, B, B1 y B2 se muestran a continuación.



40

En una realización preferida, la presente invención se refiere al compuesto (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (compuesto A1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

45

En otra realización preferida, la presente invención se refiere al compuesto (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (compuesto B1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

50

La invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de la presente invención (tal como el compuesto A1, B, B1, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o mezclas de los mismos) junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica también

puede comprender uno o más ingredientes activos adicionales, tales como otros agentes activos (tales como agentes antineoplásicos y los agentes activos que se analizan a continuación). En una realización, la composición farmacéutica incluye una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos de la presente invención.

5 La invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende el compuesto A1 junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende el compuesto B junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 La invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende el compuesto B1 junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto A1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el compuesto A1 está presente en exceso con respecto al

15 compuesto A2.

En una realización adicional, el compuesto A1 está sustancialmente libre de compuesto A2.

20 En una realización adicional, el compuesto A1 existe en exceso con respecto al compuesto A2 y tiene un exceso enantiomérico (e.e.) de al menos aproximadamente el 60 %, el 75 %, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 99 %.

En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto B1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el compuesto B1 está presente en exceso con respecto al

25 compuesto B2.

En una realización adicional, el compuesto B1 está sustancialmente libre de compuesto B2.

30 En una realización adicional, el compuesto B1 existe en exceso con respecto al compuesto B2 y tiene un exceso enantiomérico (e.e.) de al menos aproximadamente el 60 %, el 75 %, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 99 %.

35 Otra realización es un método para preparar la sal de 4-metilbencensulfonato (PTSA), sulfato (SA), clorhidrato (HCl), bencensulfonato, maleato o sulfonato de alcanfor del compuesto B o del compuesto B1. El método puede incluir convertir el compuesto B o B1, o una sal de estos (diferente de la sal deseada), en una sal de 4-metilbencensulfonato, sulfato, clorhidrato, bencensulfonato, maleato o sulfonato de alcanfor del compuesto B o del compuesto B1.

40 Otra realización es una sal de 4-metilbencensulfonato, sulfato, clorhidrato, bencensulfonato, maleato o sulfonato de alcanfor del compuesto B o del compuesto B1 adecuada para su uso en una composición farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección asociada a PI3K, por ejemplo, una enfermedad proliferativa tal como el cáncer.

45 La invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende una sal de 4-metilbencensulfonato, sulfato, clorhidrato, bencensulfonato, maleato o sulfonato de alcanfor del compuesto B de la presente invención junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender adicionalmente uno o más ingredientes activos adicionales, tales como otros agentes activos (tales como agentes antineoplásicos y los agentes activos que se analizan a continuación). En una realización, la

50 composición farmacéutica incluye una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos de la presente invención.

La invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende una sal de 4-metilbencensulfonato, sulfato, clorhidrato, bencensulfonato, maleato o sulfonato de alcanfor del compuesto B junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

55 En una realización, la sal de PTSA del compuesto B o del compuesto B1 tiene un exceso enantiomérico (e.e.) de al menos aproximadamente el 60 %, el 75 %, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 99 %.

60 En una realización, la sal de SA del compuesto B o del compuesto B1 tiene un exceso enantiomérico (e.e.) de al menos aproximadamente el 60 %, el 75 %, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 99 %.

En una realización, la sal de HCl del compuesto B o del compuesto B1 tiene un exceso enantiomérico (e.e.) de al menos aproximadamente el 60 %, el 75 %, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 99 %.

En una realización, la sal de bencensulfonato del compuesto B o del compuesto B1 tiene un exceso enantiomérico (e.e.) de al menos aproximadamente el 60 %, el 75 %, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 99 %.

- 5 En una realización, la sal de maleato del compuesto B o del compuesto B1 tiene un exceso enantiomérico (e.e.) de al menos aproximadamente el 60 %, el 75 %, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 99 %.

10 En una realización, la sal de sulfonato de alcanfor del compuesto B o del compuesto B1 tiene un exceso enantiomérico (e.e.) de al menos aproximadamente el 60 %, el 75 %, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 99 %.

Otra realización es un método para inhibir PI3K delta en un paciente mediante la administración a un paciente de una cantidad eficaz del compuesto B o del compuesto B1 de la presente invención tal como una sal de PTSA.

- 15 Otra realización es un método para inhibir PI3K delta en un paciente mediante la administración a un paciente de una cantidad eficaz de al menos un compuesto de la presente invención.

20 Otra realización más es un método para tratar, prevenir y/o inhibir una enfermedad, trastorno o afección mediada por la proteína cinasa PI3K (tal como el cáncer u otras enfermedades o trastornos proliferativos) en un paciente mediante la administración al paciente de una cantidad eficaz de al menos un compuesto de la presente invención.

25 Otra realización más es un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección asociada a PI3K en un paciente mediante la administración al paciente de una cantidad eficaz de al menos un compuesto de la presente invención. En una realización, la cantidad del compuesto administrado es suficiente para tratar una enfermedad, trastorno o afección asociada a PI3K mediante la inhibición de PI3K delta.

30 Otra realización más de la presente invención es un método para tratar una enfermedad proliferativa mediante la administración a un paciente que necesite dicho tratamiento de una cantidad eficaz de al menos un compuesto de la presente invención. En una realización, la cantidad del compuesto administrado es suficiente para tratar la enfermedad proliferativa mediante la inhibición de PI3K delta.

35 Otra realización más de la presente invención es un método para tratar una enfermedad proliferativa mediante la administración a un paciente que necesite dicho tratamiento de una cantidad eficaz de al menos un compuesto de la presente invención, en combinación (en forma simultánea o secuencial) con al menos otro agente antineoplásico. En una realización, la cantidad del compuesto administrado es suficiente para tratar (o facilitar el tratamiento de) la enfermedad proliferativa mediante la inhibición de PI3K delta.

40 Otra realización más es un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección asociada a PI3K en un paciente que comprende administrarle al paciente una composición farmacéutica que comprende el compuesto A1, B o B1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, mezclado opcionalmente con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. En realizaciones específicas, la composición comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores del compuesto A1, B o B1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección asociada a PI3K.

45 Realizaciones específicas proporcionan un método para tratar el cáncer en un paciente que comprende administrarle al paciente una composición farmacéutica que comprende el compuesto A1, B o B1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, mezclado opcionalmente con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. En realizaciones específicas, la composición comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores del compuesto A1, B o B1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer en un paciente.

50 Los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de una diversidad de cánceres, incluyendo, pero sin limitación, los siguientes:

55

- carcinoma, incluyendo carcinoma de vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón (incluyendo cáncer de células pequeñas de pulmón), esófago, vesícula biliar, útero, ovario, testículos, laringe, cavidad oral, tracto gastrointestinal (por ejemplo, esófago, estómago, páncreas), cerebro, cuello uterino, tiroides, próstata, sangre y piel (incluyendo carcinoma de células escamosas);
- 60 • tumores hematopoyéticos de linaje linfoide, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de linfocitos T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas y linfoma de Burkett;
- tumores hematopoyéticos de linaje mielóide, incluyendo leucemias mielógenas agudas y crónicas, síndrome

mielodisplásico y leucemia promielocítica;

- tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma;
 - tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; y
- 5 • otros tumores, incluyendo melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xerodermia pigmentosa, queratoacantoma, cáncer de tiroides folicular y sarcoma de Kaposi.

Los compuestos de la presente invención como moduladores de la apoptosis son útiles en el tratamiento, prevención e inhibición del cáncer (incluyendo, pero sin limitación, los tipos mencionados anteriormente).

10 Los compuestos de la presente invención son útiles para la quimioprevención del cáncer. La quimioprevención comprende la inhibición del desarrollo del cáncer invasivo bloqueando el evento mutagénico de inicio, bloqueando el avance de las células premalignas que ya han sufrido un daño o inhibiendo la recaída del tumor. Los compuestos también son útiles para inhibir la angiogénesis tumoral y la metástasis. Una realización de la invención es un método de inhibir la angiogénesis tumoral o la metástasis en un paciente mediante la administración de una cantidad eficaz de uno o más compuestos de la presente invención.

20 Otra realización de la presente invención es un método para tratar una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario (por ejemplo, una enfermedad autoinmunitaria), una enfermedad o trastorno que comprende la inflamación (por ejemplo, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, glomerulonefritis, enfermedades neuroinflamatorias, esclerosis múltiple, uveítis y trastornos del sistema inmunitario), cáncer u otra enfermedad proliferativa, una enfermedad o trastorno hepático o una enfermedad o trastorno renal. El método incluye la administración de una cantidad eficaz de uno o más compuestos de la presente invención.

25 Los ejemplos de trastornos inmunitarios que pueden tratarse utilizando los compuestos de la presente invención incluyen, pero sin limitación, psoriasis, artritis reumatoide, vasculitis, enfermedad inflamatoria intestinal, dermatitis, osteoartritis, asma, enfermedad inflamatoria muscular, rinitis alérgica, vaginitis, cistitis intersticial, esclerodermia, osteoporosis, eccema, rechazo del injerto de trasplante alogénico o xenogénico (órgano, médula ósea, células madre y otras células y tejidos), enfermedad de injerto contra hospedador, lupus eritematoso, enfermedad inflamatoria, diabetes tipo I, fibrosis pulmonar idiopática (IPF) (o alveolitis fibrosante criptogénica (CFA) o neumonía intersticial fibrosante idiopática), fibrosis pulmonar, dermatomiositis, síndrome de Sjogren, tiroiditis (por ejemplo, tiroiditis de Hashimoto y autoinmunitaria), miastenia grave, anemia hemolítica autoinmunitaria, esclerosis múltiple, fibrosis quística, hepatitis crónica recurrente, cirrosis biliar primaria, conjuntivitis alérgica y dermatitis atópica.

30 Otra realización más es un método para tratar la leucemia en un paciente mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención son eficaces para tratar la leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma no Hodgkin (LNH), leucemia mieloide aguda (LMA), mieloma múltiple (MM), linfoma linfocítico de células pequeñas (LLCP) y linfoma no Hodgkin indolente (LNH-I).

45 En los métodos de tratamiento mencionados anteriormente, se pueden administrar uno o más agentes activos adicionales con los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención son útiles en combinación (administrados juntos o secuencialmente) con tratamientos antineoplásicos conocidos tal como la quimioterapia, radioterapia, terapia biológica, trasplante de médula ósea, trasplante de células madre o cualquier otra terapia antineoplásica o con uno o más agentes citostáticos, citotóxicos o antineoplásicos o terapia localizada sola o combinada, tal como, pero sin limitación, agentes que interactúan con el ADN, tal como fludarabina, cisplatina, clorambucilo, bendamustina o doxorubicina; agentes alquilantes, tal como ciclofosfamida; inhibidores de topoisomerasa II, tal como etopósido; inhibidores de topoisomerasa I, tal como CPT-11 o topotecán; agentes que interactúan con la tubulina, tal como paclitaxel, docetaxel o las epotilonas (por ejemplo ixabepilona), naturales o sintéticas; agentes hormonales, tal como tamoxifen; inhibidores de la timidilato sintasa, tal como 5-fluorouracilo; anti-metabolitos, tal como metotrexato; otros inhibidores de tirosina cinasas tal como Iressa y OSI-774; inhibidores de angiogénesis; inhibidores de EGF; inhibidores de VEGF; inhibidores de CDK; inhibidores de SRC; inhibidores de c-Kit; inhibidores de Her1/2 y anticuerpos monoclonales dirigidos contra receptores del factor de crecimiento tal como erbitux (EGF) y herceptina (Her2); anticuerpos monoclonales CD20 tal como rituximab, ublitumab (TGR-1101), ofatumumab (HuMax; Intracel), ocrelizumab, veltuzumab, GA101 (obinutuzumab), AME-133v (LY2469298, Applied Molecular Evolution), ocaratuzumab (Mentrik Biotech), PRO131921, tositumomab, hA20 (Immunomedics, Inc.), ibritumomab-tiuxetan, BLX-301 (Biolex Therapeutics), Reditux (Dr. Reddy's Laboratories) y PRO70769 (descrito en WO2004/056312); otros anticuerpos monoclonales que tienen tal como diana a las células B tal como belimumab, atacicept o proteínas de fusión tal como blisibimod y BR3-Fc; otros anticuerpos monoclonales tal como alemtuzumab; CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona); R-CHOP (rituximab-CHOP); hyperCV AD (ciclofosfamida hiperfraccionada, vincristina, doxorubicina, dexametasona, metotrexato, citarabina); R-hyperCV AD (rituximab-hyperCV AD); FCM (fludarabina, ciclofosfamida, mitoxantrona); R-FCM (rituximab, fludarabina,

ciclofosfamida, mitoxantrona); bortezomib y rituximab; temsirolimus y rituximab; temsirolimus y Velcade®; Iodine-131 tositumomab (Bexxar®) y CHOP-CVP (ciclofosfamida, vincristina, prednisona); R-CVP (rituximab-CVP); ICE (ifosfamida, carboplatina, etopósido); R-ICE (rituximab-ICE); FCR (fludarabina, ciclofosfamida, rituximab); FR (fludarabina, rituximab); y D.T. PACE (dexametasona, talidomida, cisplatina, adriamicina, ciclofosfamida, etopósido); y otros moduladores de proteínas cinasas.

Los compuestos de la presente invención también son útiles en combinación (administrados juntos o secuencialmente) con uno o más fármacos antiinflamatorios esteroideos, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) o derivados antiinflamatorios inmunoselectivos (Allm).

Breve descripción de las figuras

La figura 1 es un gráfico de barras del porcentaje de células apoptóticas después del tratamiento con el compuesto B1 o con el control en células de pacientes con mieloma múltiple primario según lo medido de acuerdo con el ensayo 6a.

Las figuras 2A, 2B y 2C son gráficos de barras que muestran la inducción observada de la citotoxicidad (fig. 2A) y la apoptosis (fig. 2B) en células de LLC y la inhibición correspondiente de PAkt (fig. 2C), según lo medido mediante el ensayo 8.

Descripción detallada de la invención

Se aplicarán las siguientes definiciones como se usan en el presente documento, a menos que se indique lo contrario.

Algunos de los compuestos descritos en el presente documento contienen uno o más centros asimétricos y, por tanto, pueden dar origen a enantiómeros, diastereómeros y otras formas estereoisoméricas que se pueden definir, en términos de estereoquímica absoluta, como (R)- o (S)-. Las presentes entidades químicas, las composiciones farmacéuticas y los métodos implican incluir todos los isómeros posibles, incluyendo mezclas racémicas, formas ópticamente puras y mezclas intermedias. Por ejemplo, las mezclas intermedias pueden incluir una mezcla de isómeros en una proporción de aproximadamente 10:90, 13:87, 17:83, 20:80 o 22:78. Los isómeros ópticamente activos (R)- y (S)- se pueden preparar utilizando sintones quirales o reactivos quirales, o resolver utilizando técnicas conocidas.

Adicionalmente, la presente invención también incluye compuestos que difieren únicamente en la presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente, por ejemplo, el reemplazo de hidrógeno con deuterio o tritio o el reemplazo de un carbono por carbono enriquecido ^{13}C o ^{14}C .

Los compuestos de la presente invención también pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más átomos que constituyen dichos compuestos. Por ejemplo, los compuestos se pueden radiomarcarse con isótopos radioactivos, tal como por ejemplo tritio (^3H), yodo 125 (^{125}I) o carbono 14 (^{14}C). Todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención, ya sean radioactivas o no, están comprendidas dentro del alcance de la presente invención.

Las sales farmacéuticamente aceptables que forman parte de la presente invención incluyen sales derivadas de bases inorgánicas, por ejemplo Li, Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn y Mn; sales de bases orgánicas, por ejemplo N,N'-diacetilenediamina, glucamina, trietilamina, colina, hidróxido, dicitclohexilamina, metformina, bencilamina, trialquilamina y tiamina; sales de bases quirales, por ejemplo alquilfenilamina, glicinol y fenilglicinol; sales de aminoácidos naturales, por ejemplo glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, norleucina, tirosina, cistina, cisteína, metionina, prolina, hidroxiprolina, histidina, omitina, lisina, arginina y serina; sales de amonio cuaternario de los compuestos de la invención con haluros de alquilo, sulfatos de alquilo, por ejemplo MeI y $(\text{Me})_2\text{SO}_4$; sales de aminoácidos no naturales, por ejemplo D-isómeros o aminoácidos sustituidos; sales de guanidina; y sales de guanidina sustituida en las que los sustituyentes se seleccionan entre nitro, amino, alquilo, alquenilo, alquililol, amonio o sales de amonio sustituido y sales de aluminio. Las sales pueden incluir sales de adición de ácidos, en su caso, que son sulfatos, nitratos, fosfatos, percloratos, boratos, hidroháluros, acetatos, tartratos, maleatos, citratos, fumaratos, succinatos, palmoatos, metansulfonatos, benzoatos, salicilatos, bencensulfonatos, ascorbatos, glicerofosfatos y cetoglutaratos. En una realización, la sal es de 4-metilbencensulfonato. En otra realización más, la sal es de sulfato. En otra realización más, la sal es de clorhidrato. En otra realización más, la sal es de bencensulfonato. En otra realización más, la sal es de maleato. En otra realización más, la sal es de sulfonato de alcanfor.

Cuando en el presente documento se utilizan intervalos para conocer las propiedades físicas, tales como el peso molecular o propiedades químicas, tales como las fórmulas químicas, se pretende que todas las combinaciones y subcombinaciones de los intervalos y las realizaciones específicas en el mismo estén incluidas. El término

“aproximadamente”, cuando se refiere a un número o a un intervalo numérico, significa que el número o intervalo numérico al que se refiere es una aproximación dentro de la variabilidad experimental (o dentro del error estadístico experimental) y, por tanto, el número o intervalo numérico puede variar, por ejemplo, entre el 1 % y el 15 % del número o intervalo numérico establecido.

5 La expresión “que comprende” (y los términos relacionados, tales como “comprende”, “que tiene” o “que incluye”) incluye, entre otras, las realizaciones, por ejemplo, una realización de cualquier composición de materia, composición, método o proceso, o similares, que “consisten en” o “consisten esencialmente en” las características descritas.

10 Las siguientes abreviaturas y términos tienen los significados indicados en: PI3-K = fosfoinosítido 3-cinasa; PI = fosfatidilinositol; ADN-PK = proteína cinasa dependiente de ácido desoxirribonucleico; PTEN = fosfatasa y homólogo tensin eliminados en el cromosoma diez; SIDA = síndrome de inmunodeficiencia adquirida; VIH = virus de inmunodeficiencia humana; y MeI = yoduro de metilo.

15 Las abreviaturas utilizadas en el presente documento tienen su significado convencional dentro de las áreas químicas y biológicas, a menos que se indique lo contrario.

20 La expresión “proliferación de células” se refiere a un fenómeno por el cual el número de células ha cambiado como resultado de una división. Esta expresión también comprende el crecimiento celular por el cual la morfología celular ha cambiado (por ejemplo, aumentó en tamaño) coherente con una señal proliferativa.

25 Las expresiones “coadministración”, “administrado en combinación con” y sus equivalentes gramaticales, como se utilizan en el presente documento, comprenden la administración de dos o más agentes a un animal de manera que ambos agentes y/o sus metabolitos estén presentes en el animal el mismo tiempo. La coadministración incluye la administración simultánea en composiciones separadas, la administración en momentos diferentes en composiciones separadas o la administración en una composición en la cual ambos agentes están presentes.

30 La expresión “cantidad eficaz” o “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad de un compuesto descrito en el presente documento que es suficiente para efectuar la aplicación pretendida, incluyendo, pero sin limitación, el tratamiento de la enfermedad. La cantidad terapéuticamente eficaz puede variar dependiendo de la aplicación pretendida (*in vitro* o *in vivo*) o del sujeto y la afección patológica que se está tratando, por ejemplo, el peso y la edad del sujeto, la gravedad de la afección patológica, la forma de administración y similares, que un experto en la materia puede determinar fácilmente. El término también se aplica a una dosis que inducirá una respuesta particular en las células diana, por ejemplo, la reducción de la adhesión plaquetaria y/o la migración celular. La dosis específica variará dependiendo de los compuestos particulares elegidos, el régimen de dosificación a seguir, si se administra en combinación con otros compuestos, el momento de administración, el tejido al que se administra y el sistema de administración físico en el cual se transporta.

40 Como se utilizan en el presente documento, las expresiones “tratamiento” y “que trata” se refieren a un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados incluyendo, pero sin limitación, el beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico. Por beneficio terapéutico se refiere a la erradicación o mejora del trastorno subyacente que se está tratando. Un beneficio terapéutico también se logra con la erradicación o mejora de uno o más de los síntomas fisiológicos asociados al trastorno subyacente de manera que se observa una mejora en el paciente, aun cuando el paciente todavía puede sufrir el trastorno subyacente. Para lograr un beneficio profiláctico, las composiciones se pueden administrar a un paciente en riesgo de desarrollar una enfermedad particular, o a un paciente que presenta uno o más de los síntomas fisiológicos de una enfermedad, aunque no se haya realizado un diagnóstico de esta enfermedad.

50 Un “efecto terapéutico”, como se utiliza en el presente documento, abarca un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico como se ha descrito anteriormente. Un efecto profiláctico incluye retrasar o eliminar la aparición de una enfermedad o afección, retrasar o eliminar el inicio de los síntomas de una enfermedad o afección, ralentizar, detener o revertir la evolución de una enfermedad o afección o una combinación de estos.

55 El término “sujeto” o “paciente” se refiere a un animal, tal como un mamífero, por ejemplo, un ser humano. Los métodos que se describen en el presente documento pueden ser útiles en aplicaciones terapéuticas en seres humanos y en aplicaciones veterinarias. En algunas realizaciones, el paciente es un mamífero y en algunas realizaciones el paciente es un ser humano. Para propósitos veterinarios, los términos “sujeto” y “paciente” incluyen, pero sin limitación, animales de granja, por ejemplo, vacas, oveja, cerdos, caballos y cabras; mascotas, por ejemplo, perros y gatos; animales exóticos o de zoológico; animales de laboratorio, incluyendo ratones, ratas, conejos, cobayos y hámsteres y aves, por ejemplo, pollos, pavos, patos y gansos.

“Radioterapia” se refiere a exponer un paciente, utilizando métodos y composiciones conocidos por el médico, a los emisores de radiación, por ejemplo radionúclidos emisores de partículas alfa (por ejemplo, radionúclidos de actinio y

torio), emisores de radiación con baja transferencia lineal de energía (LET, por sus siglas en inglés) (es decir, emisores beta), emisores de electrones de conversión (por ejemplo estroncio-89 y samario-153-EDTMP), o radiación de alta energía, incluyendo, pero sin limitación, rayos x, rayos gamma y neutrones.

5 "Transducción de señales" es un proceso durante el cual se transmiten señales estimulantes o inhibitorias hacia y dentro de una célula para producir una respuesta intracelular. Un modulador de la vía de transducción de señal se refiere a un compuesto que modula la actividad de una o más proteínas celulares mapeadas a la misma vía de transducción de señal específica. Un modulador puede aumentar (agonista) o suprimir (antagonista) la actividad de una molécula de señalización.

10 La expresión "inhibición selectiva" o "inhibir selectivamente" como se aplica a un agente biológicamente activo se refiere a la capacidad de un agente de reducir selectivamente la actividad de señalización específica en comparación con la actividad de señalización inespecífica, mediante interacción directa o indirecta con el objetivo.

15 Como se utiliza en el presente documento, la expresión "inhibidor selectivo de PI3-cinasa δ " generalmente se refiere a un compuesto que inhibe la actividad de la isoenzima PI3-cinasa δ de manera más eficaz que otras isoenzimas de la familia PI3K (alfa, beta y gamma). Por ejemplo, el inhibidor selectivo de PI3-cinasa δ puede referirse a un compuesto que presenta una concentración inhibitoria del 50 % (CI50) con respecto a la PI3-cinasa delta tipo I que es al menos 10 veces, al menos 20 veces, al menos 50 veces, al menos 100 veces o menor que la CI50 del inhibidor con respecto al resto de las otras PI3-cinasas de tipo I (es decir, alfa, beta y gamma).

20 La inhibición de PI3-cinasa δ puede ser de beneficio terapéutico en el tratamiento de diversas afecciones, por ejemplo, afecciones caracterizadas por una respuesta inflamatoria, incluyendo, pero sin limitación, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades alérgicas y enfermedades artríticas. Es importante destacar que la inhibición de la función de PI3-cinasa δ parece no afectar las funciones biológicas, por ejemplo, viabilidad y fertilidad.

25 "Respuesta inflamatoria", como se utiliza en el presente documento, se caracteriza por enrojecimiento, calor, hinchazón y dolor (es decir, inflamación) y normalmente implica destrucción o lesión tisular. Una respuesta inflamatoria es normalmente una respuesta preventiva localizada provocada por lesión o destrucción tisular, que sirve para destruir, diluir o separar (secuestrar) el agente perjudicial y el tejido lesionado. Las respuestas inflamatorias se asocian en gran medida al influjo de leucocitos y/o quimiotaxis de leucocitos (por ejemplo, neutrófilos). Las respuestas inflamatorias pueden ser resultado de una infección con virus y organismos patógenos, medios no infecciosos tales como traumatismo o reperusión después de un infarto de miocardio o ictus, respuestas inmunitarias a antígenos extraños y enfermedades autoinmunitarias. Las respuestas inflamatorias susceptibles de tratamiento con los métodos y compuestos de acuerdo con la invención comprenden afecciones asociadas a reacciones del sistema de defensa específico, así como afecciones asociadas a reacciones del sistema de defensa no específico.

Los métodos terapéuticos de la invención incluyen métodos para el tratamiento de afecciones asociadas a la activación de células inflamatorias. "Activación de células inflamatorias" se refiere a la inducción por un estímulo (incluyendo, pero sin limitación, citocinas, antígenos o autoanticuerpos) de una respuesta celular proliferativa, la producción de mediadores solubles (incluyendo, pero sin limitación, citocinas, radicales de oxígeno, enzimas, prostanoídes o aminas vasoactivas), o la expresión en la superficie celular de nuevos o mayor cantidad de mediadores (incluyendo, pero sin limitación, antígenos mayores de histocompatibilidad o moléculas de adhesión celular) en células inflamatorias (incluyendo, pero sin limitación, monocitos, macrófagos, linfocitos T, linfocitos B, granulocitos (leucocitos polimorfonucleares que incluyen neutrófilos, basófilos y eosinófilos), mastocitos, células dendríticas, células de Langerhans y células endoteliales). Los expertos en la técnica apreciarán que la actividad de uno o una combinación de estos fenotipos en estas células puede contribuir al inicio, perpetuación o exacerbación de una afección inflamatoria.

50 "Enfermedad autoinmunitaria" como se utiliza en el presente documento se refiere a cualquier grupo de trastornos donde la lesión tisular se asocia a respuestas humorales o mediadas por células a los componentes del propio cuerpo.

55 "Rechazo a un trasplante", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una respuesta inmunitaria dirigida contra tejido injertado (incluyendo, órganos o células (por ejemplo, médula ósea), caracterizada por una pérdida de función de los tejidos injertados y circundantes, dolor, hinchazón, leucocitosis y trombocitopenia).

"Enfermedad alérgica", como se utiliza en el presente documento, se refiere a cualquier síntoma, daño a los tejidos o pérdida de la función de los tejidos resultado de la alergia.

60 "Enfermedad artrítica" como se utiliza en el presente documento se refiere a cualquier enfermedad que se caracteriza por lesiones inflamatorias de las articulaciones que se atribuyen a una variedad de etiologías.

"Dermatitis" como se utiliza en el presente documento se refiere a cualquiera de una gran familia de enfermedades de la piel que se caracterizan por la inflamación de la piel y que se atribuye a una diversidad de etiologías.

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar mediante los métodos descritos en la publicación internacional N.º WO 2011/055215 y en la solicitud PCT N.º PCT/IB2013/053544, presentada el 3 de mayo de 2013, las cuales se incorporan en el presente documento por referencia. Se puede preparar el compuesto A como se describe en el ejemplo 158 de la publicación internacional N.º WO 2011/055215.

Composiciones farmacéuticas

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de la presente invención y uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización, la composición farmacéutica incluye una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención. La composición farmacéutica puede incluir uno o más ingredientes activos adicionales como se describe en el presente documento.

Los vehículos y/o excipientes farmacéuticos se pueden seleccionar entre diluyentes, cargas, sales, disgregantes, aglutinantes, lubricantes, sustancias de deslizamiento, agentes de humectación, matrices de liberación controlada, colorantes, aromatizantes, tampones, estabilizantes, solubilizantes y combinaciones de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar solas o en combinación con uno o más agentes activos diferentes. Cuando se desea, estos compuestos y el o los otros agentes se pueden mezclar en una preparación o ambos componentes se pueden formular en preparaciones separadas para ser utilizadas en combinación de forma separada o al mismo tiempo.

Los compuestos y composiciones farmacéuticos de la presente invención se pueden administrar por cualquier vía que permita la administración de los compuestos al sitio de acción, tal como por vía oral, intranasal, tópica (por ejemplo, transdérmica), intraduodenal, parenteral (que incluye intravenosa, intraarterial, intramuscular, intravascular, intraperitoneal o por inyección o infusión), intradérmica, intramamaria, intratecal, intraocular, retrobulbar, intrapulmonar (por ejemplo, fármacos en aerosol) o subcutánea (que incluye la administración de depósito para la liberación a largo plazo por ejemplo, incrustada en la cápsula esplénica, cerebro o en la córnea), sublingual, anal, rectal, vaginal, o por implante quirúrgico (por ejemplo, incrustado en la cápsula esplénica, cerebro o la córnea).

Las composiciones se pueden administrar en forma sólida, semisólida, líquida o gaseosa, o pueden estar en forma de polvo seco, tal como en forma liofilizada. Las composiciones farmacéuticas se pueden envasar en formas convenientes para su administración, que incluyen, por ejemplo, formas de dosificación sólida tales como cápsulas, sobres, gelatinas, papeles, comprimidos, supositorios, microgránulos, píldoras, trociscos y pastillas para chupar. El tipo de envasado dependerá generalmente de la vía de administración deseada. Las formulaciones de liberación sostenida implantables también se contemplan, así como las formulaciones transdérmicas.

La cantidad del compuesto que se administrará depende del mamífero que se está tratando, la gravedad del trastorno o afección, la velocidad de administración, la disposición del compuesto y el criterio del médico. Sin embargo, una dosis eficaz está en el intervalo de entre aproximadamente 0,001 y aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por día, preferentemente entre aproximadamente 1 y aproximadamente 35 mg/kg/día, en dosis únicas o divididas. Para un ser humano de 70 kg, esto sería entre aproximadamente 0,05 y 7 g/día, preferentemente entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 2,5 g/día. Una cantidad eficaz de un compuesto de la invención se puede administrar ya sea en dosis única o dosis múltiples (por ejemplo, dos o tres veces al día).

Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en combinación con uno o más agentes antineoplásicos (por ejemplo, agentes quimioterapéuticos), anticuerpo terapéuticos y tratamiento de radiación.

Los compuestos de la invención se pueden formular o administrar junto con otros agentes que actúan para aliviar los síntomas de afecciones inflamatorias tales como encefalomiелitis, asma y las otras enfermedades descritas en el presente documento. Estos agentes incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE).

En la técnica se conocen preparaciones de diversas composiciones farmacéuticas. Véase, por ejemplo, Anderson, Philip O.; Knoben, James E.; Troutman, William G, eds., *Handbook of Clinical Drug Data*, Décima Edición, McGraw-Hill, 2002; Pratt y Taylor, eds., *Principles of Drug Action*, Tercera Edición, Churchill Livingstone, Nueva York, 1990; Katzung, ed., *Basic and Clinical Pharmacology*, Novena Edición, McGraw Hill, 2003; Goodman y Gilman, eds., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Décima Edición, McGraw Hill, 2001; *Remingtons Pharmaceutical Sciences*, 20ª Ed., Lippincott Williams & Wilkins., 2000; Martindale, *The Extra Pharmacopoeia*, Trigésima Segunda Edición (The Pharmaceutical Press, Londres, 1999), todas las cuales se incorporan por referencia en el presente documento en su totalidad.

Una cantidad eficaz de un compuesto de la invención se puede administrar ya sea en dosis única o dosis múltiples mediante cualquiera de los modos de administración aceptados de agentes que tienen funciones similares, incluyendo las vías rectal, bucal, intranasal y transdérmica, por inyección intraarterial, intravenosa, intraperitoneal, parenteral, intramuscular, subcutánea, oral, tópica o en forma de un inhalante.

En una realización, el compuesto A1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en una dosis seleccionada para producir una concentración del compuesto en la sangre de entre aproximadamente 20 y aproximadamente 5.000 ng/ml y manteniendo dicha concentración durante un periodo de entre aproximadamente 6 y aproximadamente 24 horas después de la administración. En otra realización particular, se selecciona el tamaño y la frecuencia de la dosis para lograr una concentración del compuesto en la sangre que es de entre aproximadamente 50 y aproximadamente 2.500 ng/ml y mantener esa concentración durante un periodo de entre aproximadamente 6 y aproximadamente 24 horas desde el momento de administración. En algunas realizaciones, se selecciona el tamaño y la frecuencia de la dosis para lograr una concentración del compuesto en la sangre que es de entre aproximadamente 100 y aproximadamente 1.500 ng/ml después de la administración. En algunas realizaciones, se selecciona el tamaño y la frecuencia de la dosis para lograr una concentración del compuesto en la sangre que es de entre aproximadamente 100 y aproximadamente 750 ng/ml durante un periodo de entre aproximadamente 6 y aproximadamente 24 horas desde el momento de administración. En otras realizaciones, se selecciona el tamaño y frecuencia de la dosis para lograr una $C_{m\acute{a}x}$, nivel plasmático del compuesto A1 que es al menos aproximadamente de 300 ng/ml y no supera aproximadamente 10.000 ng/ml.

En una realización, el compuesto B1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en una dosis seleccionada para producir una concentración del compuesto en la sangre de entre aproximadamente 20 y aproximadamente 5.000 ng/ml y manteniendo dicha concentración durante un periodo de entre aproximadamente 6 y aproximadamente 24 horas después de la administración. En otra realización particular, se selecciona el tamaño y la frecuencia de la dosis para lograr una concentración del compuesto en la sangre que es de entre aproximadamente 50 y aproximadamente 2.500 ng/ml y mantener esa concentración durante un periodo de entre aproximadamente 6 y aproximadamente 24 horas desde el momento de administración. En algunas realizaciones, se selecciona el tamaño y la frecuencia de la dosis para lograr una concentración del compuesto en la sangre que es de entre aproximadamente 100 y aproximadamente 1.500 ng/ml después de la administración. En algunas realizaciones, se selecciona el tamaño y la frecuencia de la dosis para lograr una concentración del compuesto en la sangre que es de entre aproximadamente 100 y aproximadamente 750 ng/ml durante un periodo de entre aproximadamente 6 y aproximadamente 24 horas desde el momento de administración. En otras realizaciones, se selecciona el tamaño y frecuencia de la dosis para lograr una $C_{m\acute{a}x}$, nivel plasmático del compuesto B1 que es al menos aproximadamente 300 ng/ml y no supera aproximadamente 10.000 ng/ml.

Método de tratamiento

La invención también proporciona métodos de uso de los compuestos y las composiciones farmacéuticas de la presente invención para tratar afecciones patológicas, incluyendo, pero sin limitación, enfermedades asociadas al mal funcionamiento de uno o más tipos de PI3 cinasa. Una descripción detallada de las afecciones y trastornos mediados por la actividad de PI3 cinasa se presenta en WO 2001/81346, US 2005/043239, WO 2010/123931, WO 2010/111432 y WO 2010/057048, todos los cuales se incorporan en el presente documento por referencia en sus totalidad a todos los efectos.

Los métodos de tratamiento proporcionados en el presente documento comprenden administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención. En una realización, la presente invención proporciona un método para tratar un trastorno de inflamación, incluyendo enfermedades autoinmunitarias en un mamífero. El método comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención.

Los trastornos, enfermedades o afecciones tratables con un compuesto proporcionado en el presente documento, incluyen, pero sin limitación,

- enfermedades inflamatorias o alérgicas, incluyendo anafilaxis sistémica y trastornos por hipersensibilidad, dermatitis atópica, urticaria, alergias a fármacos, alergias a picaduras de insectos, alergias a alimentos (incluyendo la enfermedad celíaca y similares), anafilaxis, enfermedad del suero, reacciones a fármacos, alergias al veneno de insectos, neumonitis por hipersensibilidad, angioedema, eritema multiforme, síndrome de Stevens-Johnson, queratoconjuntivitis atópica, queratoconjuntivitis venérea, conjuntivitis papilar gigante y mastocitosis;
- enfermedades inflamatorias intestinales, incluyendo enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, ileítis, enteritis y enterocolitis necrosante;
- vasculitis y síndrome de Behcet;
- psoriasis y dermatosis inflamatorias, incluyendo dermatitis, eccema, dermatitis de contacto alérgica,

patologías cutáneas víricas que incluyen las derivadas de la infección por papiloma humano, VIH o RLV, bacteriana, fúngica y otras patologías cutáneas parasitarias y lupus eritematoso cutáneo;

▪ asma y enfermedades respiratorias alérgicas, incluyendo asma alérgica, asma inducida por el ejercicio, rinitis alérgica, otitis media, enfermedades pulmonares por hipersensibilidad, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y otros problemas respiratorios;

▪ enfermedades autoinmunitarias y afecciones inflamatorias, incluyendo, pero sin limitación, lupus eritematoso, lupus eritematoso sistémico (LES), esclerosis múltiple, poliartritis, cirrosis biliar primaria, psoriasis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis gotosa, espondilitis, artritis reactiva, glomerulonefritis crónica o aguda, nefritis lúpica, síndrome de Reiter, arteritis de Takayasu, arteritis temporal (también conocida como “arteritis de células gigantes”), inflamación pulmonar autoinmunitaria, tiroiditis autoinmunitaria, enfermedad ocular inflamatoria autoinmunitaria, vitíligo y vulvodinia. Otros trastornos incluyen trastornos de resorción ósea y trombosis;

▪ cánceres de mama, piel, próstata, cuello uterino, útero, ovario, testículos, vejiga, pulmón, hígado, laringe, cavidad oral, colon y tracto gastrointestinal (por ejemplo, esófago, estómago, páncreas), cerebro, tiroides, sangre y sistema linfático; y

▪ afecciones pulmonares o respiratorias que incluyen, pero sin limitación, asma, bronquitis crónica, rinitis alérgica, síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA), síndrome respiratorio agudo grave (SRAG), enfermedades inflamatorias pulmonares crónicas (por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica), silicosis, sarcoidosis pulmonar, pleuresía, alveolitis, vasculitis, neumonía, bronquiectasias, enfisema hereditario y toxicidad pulmonar por oxígeno.

En determinadas realizaciones, el cáncer o cánceres tratables con los métodos proporcionados en el presente documento incluyen, pero sin limitación,

▪ leucemias, incluyendo, pero sin limitación, leucemia aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemias mielocíticas agudas, por ejemplo mieloblastos, promielocito, leucemias mielomonocítica, monocítica, leucemias eritroleucemia y síndrome mielodisplásico o un síntoma de estos (por ejemplo anemia, trombocitopenia, neutropenia, bicitopenia o pancitopenia), anemia refractaria (AR), AR con sideroblastos en anillo (ARSA), AR con exceso de blastos (AREB), AREB en transformación (AREB-T), preleucemia y leucemia mielomonocítica crónica (LMMC);

▪ leucemias crónicas, incluyendo, pero sin limitación, leucemia mielocítica (granulocítica) crónica, leucemia linfocítica crónica y leucemia de células pilosas;

▪ policitemia vera;

▪ linfomas, incluyendo, pero sin limitación, enfermedad de Hodgkin y enfermedad no Hodgkin;

▪ mielomas múltiples, incluyendo, pero sin limitación, mieloma múltiple quiescente, mieloma no secretor, mieloma osteosclerótico, leucemia de células plasmáticas, plasmocitoma solitario y plasmocitoma extramedular;

▪ macroglobulinemia de Waldenstrom;

▪ gammapatía monoclonal de significado incierto;

▪ gammapatía monoclonal benigna;

▪ enfermedad de cadena pesada;

▪ sarcomas óseos y del tejido conectivo, incluyendo, pero sin limitación, sarcoma óseo, osteosarcoma, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, tumor maligno de células gigantes, fibrosarcoma de hueso, cordoma, sarcoma periosteal, sarcomas de tejido blando, angiosarcoma (hemangiosarcoma), fibrosarcoma, sarcoma de Kaposi, leiomiomas, liposarcoma, linfangiosarcoma, cánceres metastásicos, neurilemmoma, rhabdomyosarcoma y sarcoma sinovial;

▪ tumores cerebrales, incluyendo, pero sin limitación, glioma, astrocitoma, glioma del tronco encefálico, ependimoma, oligodendroglioma, tumor nonglial, neurinoma acústico, craneofaringioma, meduloblastoma, meningioma, pineocitoma, pineoblastoma y linfoma de cerebro primario;

▪ cáncer de mama, incluyendo, pero sin limitación, adenocarcinoma, carcinoma lobular (de células pequeñas), carcinoma intraductal, cáncer de mama medular, cáncer de mama mucinoso, cáncer de mama tubular, cáncer papilar de mama, cánceres primarios, enfermedad de Paget y cáncer de mama inflamatorio;

▪ cáncer adrenal, incluyendo, pero sin limitación, feocromocitoma y carcinoma adrenocortical;

▪ cáncer de tiroides, incluyendo, pero sin limitación, cáncer de tiroides papilar o folicular, cáncer medular de tiroides y cáncer de tiroides anaplásico;

▪ cáncer de páncreas, incluyendo, pero sin limitación, insulinoma, gastrinoma, glucagonoma, vipoma, tumor secretor de somatostatina y tumor de células de los islotes o carcinoide;

▪ cáncer de hipófisis, incluyendo, pero sin limitación, enfermedad de Cushing, tumor secretor de prolactina, acromegalia y diabetes insípida;

▪ cáncer de ojo, incluyendo, pero sin limitación, melanoma ocular, por ejemplo, melanoma de iris, melanoma de coroides y melanoma del cuerpo ciliar y retinoblastoma;

▪ cáncer vaginal, incluyendo, pero sin limitación, carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma y melanoma;

▪ cáncer vulvar, incluyendo, pero sin limitación, carcinoma de células escamosas, melanoma, adenocarcinoma,

carcinoma de células basales, sarcoma y enfermedad de Paget;

- cánceres cervicales, incluyendo, pero sin limitación, carcinoma de células escamosas y adenocarcinoma;
- cáncer de útero, incluyendo, pero sin limitación, carcinoma de endometrio y sarcoma uterino;
- cáncer de ovario, incluyendo, pero sin limitación, carcinoma epitelial de ovario, tumor borderline, tumor de células germinales y tumor estromal;
- cáncer esofágico, incluyendo, pero sin limitación, cáncer de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma adenoide quístico, carcinoma mucoepidermoide, carcinoma adenoescamoso, sarcoma, melanoma, plasmocitoma, carcinoma verrugoso y carcinoma de células de avena (células pequeñas);
- cáncer de estómago, incluyendo, pero sin limitación, adenocarcinoma, fungoide (polipoide), ulcerosas, diseminación superficial, propagación difusa, linfoma maligno, liposarcoma, fibrosarcoma y carcinosarcoma;
- cáncer de colon;
- cáncer rectal;
- cáncer de hígado, incluyendo, pero sin limitación, carcinoma hepatocelular y hepatoblastoma;
- cáncer de vesícula biliar, incluyendo, pero sin limitación, adenocarcinoma;
- colangiocarcinomas, incluyendo, pero sin limitación, papilar, nodular y difuso;
- cáncer de pulmón, incluyendo, pero sin limitación, cáncer de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de células escamosas (carcinoma epidermoide), adenocarcinoma, carcinoma de células grandes y cáncer de células pequeñas de pulmón;
- cáncer testicular, incluyendo, pero sin limitación, tumor germinal, seminoma, anaplásico, clásico (típico), espermatozoario, no seminoma, carcinoma embrionario, carcinoma teratoma y coriocarcinoma (tumor del saco vitelino);
- cáncer de próstata, incluyendo, pero sin limitación, adenocarcinoma, leiomiomasarcoma y rhabdomiomasarcoma;
- cáncer de pene;
- cáncer oral, incluyendo, pero sin limitación, carcinoma de células escamosas;
- cáncer basal;
- cáncer de glándula salival, incluyendo, pero sin limitación, adenocarcinoma, carcinoma mucoepidermoide y carcinoma quístico adenoide;
- cáncer de faringe, incluyendo, pero sin limitación, cáncer de células escamosas y verrugoso;
- cáncer de piel, incluyendo, pero sin limitación, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas y melanoma, melanoma de extensión superficial, melanoma nodular, melanoma lentigo maligno y melanoma acral lentiginoso;
- cáncer de riñón, incluyendo, pero sin limitación, cáncer celular renal, adenocarcinoma, hipernefoma, fibrosarcoma y cáncer de células transicionales (pelvis renal y/o uréter);
- tumor de Wilms;
- cáncer de vejiga, incluyendo, pero sin limitación, carcinoma de células de transición, cáncer de células escamosas, adenocarcinoma y carcinosarcoma; y otro cáncer, incluyendo, pero sin limitación, mixosarcoma, sarcoma osteogénico, endoteliosarcoma, linfangioleiomiomatosis-endoteliosarcoma, mesotelioma, sinovioma, hemangioblastoma, carcinoma epitelial, cistadenocarcinoma, carcinoma broncogénico, carcinoma de glándula sudorípara, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinoma papilar y adenocarcinomas papilares.

Véase Fishman et al., 1985, *Medicine*, 2ª Ed., J.B. Lippincott Co., Filadelfia y Murphy et al., 1997, *Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery*, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc., Estados Unidos de América.

Se apreciará que los métodos del tratamiento de la invención son útiles en los campos de la medicina humana y la medicina veterinaria. Por tanto, el individuo que se tratará puede ser un mamífero, preferentemente ser humano u otros animales. Para propósitos veterinarios, los individuos incluyen, pero sin limitación, animales de granja, por ejemplo vacas, oveja, cerdos, caballos y cabras; mascotas, por ejemplo, perros y gatos; animales exóticos o de zoológico; animales de laboratorio, incluyendo ratones, ratas, conejos, cobayos y hámsteres y aves, por ejemplo, pollos, pavos, patos y gansos.

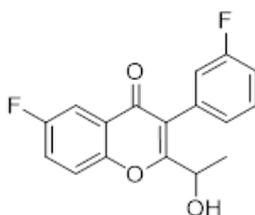
La invención también se refiere a un método para tratar un trastorno hiperproliferativo en un sujeto que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, dicho método se refiere al tratamiento del cáncer, por ejemplo leucemia mieloide aguda, de timo, de cerebro, de pulmón, de células escamosas, de piel, de ojos, de retinoblastoma, de melanoma intraocular, de cavidad oral y orofaríngeo, de vejiga, gástrico, de estómago, de páncreas, de vejiga, de mama, cervical, de cabeza, de cuello, de riñón, de hígado, de ovario, de próstata, colorrectal, esofágico, testicular, ginecológico, de tiroides, SNC, SNP, relacionado con el SIDA (por ejemplo linfoma y sarcoma de Kaposi) o inducido por virus. En algunas realizaciones, dicho método se refiere al tratamiento de un trastorno hiperproliferativo no canceroso, por ejemplo, hiperplasia benigna de la piel (por ejemplo, psoriasis), reestenosis o próstata (por ejemplo, hipertrofia prostática benigna (HPB)).

Ejemplos

Los ejemplos y las preparaciones proporcionadas a continuación ilustran y ejemplifican adicionalmente los métodos de preparación de los compuestos de la invención. Se entenderá que el alcance de la presente invención no se limita de forma alguna al alcance de los siguientes ejemplos y preparaciones. En los siguientes ejemplos, las moléculas con un solo centro quiral, salvo que se exprese de otra manera, existen en forma de una mezcla racémica. Se pueden obtener enantiómeros únicos a través de los métodos conocidos por los expertos en la materia.

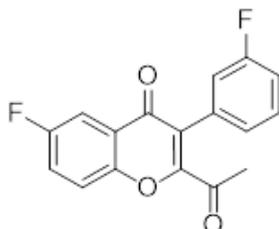
A menos que se indique lo contrario, el tratamiento final se refiere a la distribución de la mezcla de reacción entre las fases acuosa y orgánica indicadas entre paréntesis, la separación y el secado sobre Na_2SO_4 de la fase orgánica y la evaporación del disolvente para proporcionar un residuo. A menos que se indique lo contrario, la purificación implica la cromatografía en columna utilizando gel de sílice como la fase estacionaria y una mezcla de éter de petróleo (hervor a 60-80 °C) y acetato de etilo o diclorometano y metanol de polaridad adecuada como las fases móviles. TA se refiere a la temperatura ambiente (25-28 °C).

Intermedio 1



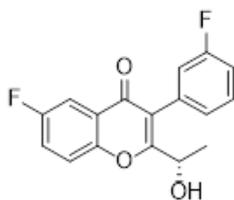
Intermedio 1: 6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-2-(1-hidroxietil)-4H-cromen-4-ona: A una solución de 2-(1-bromoetil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (15,0 g, 40,84 mmol) en DMSO (150 ml), se le añadió n-butanol (7,5 ml) y se calentó a 120 °C durante 3 h. Se enfrió la mezcla de reacción a TA, se inactivó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (7,90 g, 64 %). RMN-¹H (δ ppm, CDCl_3 , 400 MHz): 7,85 (dd, $J = 8,1, 3$ Hz, 1H), 7,54 (dd, $J = 9,2, 4,2$ Hz, 1H), 7,47-7,37 (m, 2H), 7,15-6,98 (m, 3H), 4,74 (quintete, $J = 6,8$ Hz, 1H), 2,23 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 1,54 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).

Intermedio 2



Intermedio 2: 2-acetil-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona: Se añadió DMSO (5,60 ml, 79,14 mmol) a diclorometano (40 ml) enfriado a -78 °C, seguido de cloruro de oxalilo (3,40 ml, 39,57 mmol). Después de 10 min, se añadió por goteo el intermedio 1 (6,00 g, 19,78 mmol) en diclorometano (54 ml) y se agitó durante 20 min. Se añadió trietilamina (12 ml) y se agitó durante 1 h. Se inactivó la mezcla de reacción con agua y se extrajo con diclorometano. Se secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (4,2 g, 71 %) que se utilizó así en la siguiente etapa.

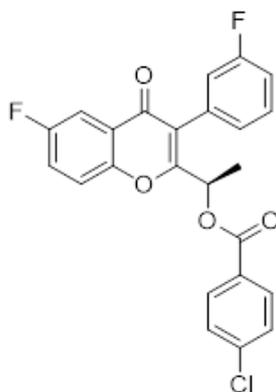
Intermedio 3



5 Intermedio 3: (S)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-2-(1-hidroxietil)-4H-cromen-4-ona: Al intermedio 2 (2,00 g, 6,66 mmol), se le añadió R-Alpine borano (0,5 M en THF, 20 ml) y se calentó a 60 °C durante 20 h. Se inactivó la mezcla de reacción con solución acuosa de HCl 2 N y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (1,51 g, 75 %). Exceso enantiomérico: 94,2 %, enriquecido en el isómero de elución rápida (tiempo de retención: 8,78 min) como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H.

10

Intermedio 4



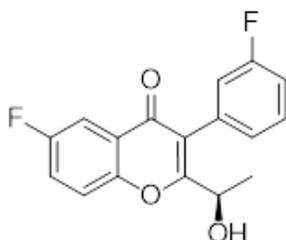
15 Intermedio 4: 4-clorobenzoato de (R)-1-(6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4-oxo-4H-cromen-2-yl)etilo: A una solución del intermedio 3 (1,45 g, 4,78 mmol) en THF (15 ml), se le añadió ácido 4-clorobenzoico (0,748 g, 4,78 mmol) y trifetilfosfina (1,88 g, 7,17 mmol) y se calentó a 45 °C seguido de diisopropilazodicarboxilato (1,4 ml, 7,17 mmol). Después de 1 h, se concentró la mezcla de reacción y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (1,81 g, 86 %), que se utilizó sin purificación en la siguiente etapa.

20

Intermedio 5

Método A

25



30 Intermedio 5: (R)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-2-(1-hidroxietil)-4H-cromen-4-ona: Al intermedio 4 (1,75 g, 3,96 mmol) en metanol (17 ml) enfriado a 10 °C, se le añadió carbonato de potasio (0,273 g, 1,98 mmol) y se agitó durante 30 min. Se concentró la mezcla de reacción, se acidificó con solución de HCl 2 N, se extrajo con acetato de etilo, se secó en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna

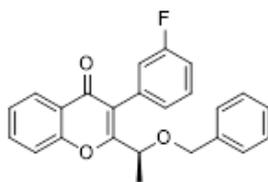
con acetato de etilo:éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (1,05 g, 87 %). Exceso enantiomérico: 93,6 %, enriquecido en el isómero de elución tardía (tiempo de retención: 11,12 min) como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H.

5 Método B:

Etapa 1: (R)-2-(1-(benciloxi)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona: A 1-(5-fluoro-2-hidroxifenil)-2-(3-fluorofenil)etanona (11,00 g, 44,31 mmol) en diclorometano, se le añadió HATU (33,7 g, 88,63 mmol) y ácido R-(+)-2-benciloxipropiónico (9,58 g, 53,17 mmol) y se agitó durante 10 min. Se añadió trietilamina (66,7 ml, 0,47 mol) por goteo y se agitó a TA durante 24 h. Se inactivó la mezcla de reacción con agua, se extrajo con diclorometano, se secó en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna con acetato de etilo:éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (10,5 g, 60 %). RMN-¹H (δ ppm, CDCl₃, 400 MHz): 7,85 (dd, *J* = 8,1, 3 Hz, 1H), 7,58 (dd, *J* = 9,1, 4,1 Hz, 1H), 7,47-7,39 (m, 1H), 7,39-7,34 (m, 1H), 7,28-7,20 (m, 3H), 7,20-7,14 (m, 2H), 7,16-7,07 (m, 1H), 6,99-6,89 (m, 2H), 4,50-4,31 (m, 3H), 1,56 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H).

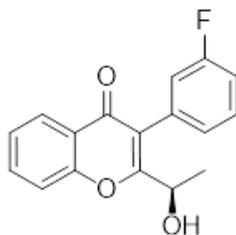
Etapa 2: A (R)-2-(1-(benciloxi)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (10,5 g, 26,69 mmol) en diclorometano (110 ml) enfriada a 0 °C, se le añadió cloruro de aluminio (5,35 g, 40,03 mmol) en porciones y se agitó a TA durante 6 h. Se inactivó la mezcla de reacción con solución de HCl 2 N, se extrajo con diclorometano, se secó en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna con acetato de etilo:éter de petróleo para proporcionar el intermedio deseado en forma de un sólido de color amarillo (6,1 g, 76 %). Exceso enantiomérico: 97,7 %, enriquecido en el isómero de elución tardía (tiempo de retención: 11,12 min) como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H.

25 Intermedio 6



Intermedio 6: (R)-2-(1-(benciloxi)etil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona: A 2-(3-fluorofenil)-1-(2-hidroxifenil)etanona (10,0 g, 43,43 mmol) en diclorometano (75 ml), se le añadió HATU (33,0 g, 86,86 mmol) y ácido R-(+)-2-benciloxipropiónico (9,39 g, 52,12 mmol) y se agitó durante 10 min. Se añadió trietilamina (65,4 ml, 0,469 mol) por goteo y se agitó a TA durante 24 h. Se inactivó la mezcla de reacción con agua, se extrajo con diclorometano, se secó en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna con acetato de etilo:éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (9,0 g, 55 %). RMN-¹H (δ ppm, CDCl₃, 400 MHz): 8,23 (dd, *J* = 7,9, 1,2 Hz, 1H), 7,74-7,70 (m, 1H), 7,58 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,43 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,37 (c, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,29-7,15 (m, 5H), 7,09 (dt, *J* = 8,6, 1,7 Hz, 1H), 7,00-6,90 (m, 2H), 4,51-4,35 (m, 3H), 1,57 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H).

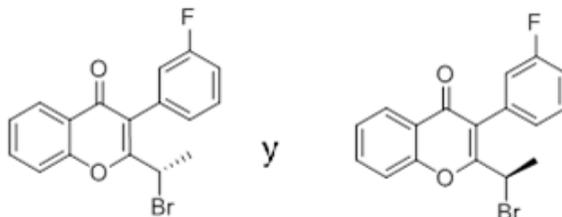
40 Intermedio 7



Intermedio 7: (R)-3-(3-fluorofenil)-2-(1-hidroxietil)-4H-cromen-4-ona: Al intermedio 6 (5,0 g, 13,35 mmol) en diclorometano (50 ml) enfriado a -78 °C, se le añadió por goteo tribromuro de boro (1 M en diclorometano, 36,5 ml, 0,145 mmol) y se agitó durante 1 h. Se inactivó la mezcla de reacción con solución de HCl 2 N, se extrajo con diclorometano, se secó en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con acetato de etilo:éter de petróleo para proporcionar el intermedio II en forma de un sólido de color blanquecino (3,05 g, 80 %). RMN-¹H (δ ppm, CDCl₃, 400 MHz): 8,24 (dd, *J* = 7,9, 1,5 Hz, 1H),

7,73 (m, 1H), 7,54 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,44 (m, 2H), 7,13-7,01 (m, 3H), 4,71 (c, $J = 6,6$ Hz, 1H), 1,56 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H). Masa: 284,9 (M^+). Pureza: 99,73 %. $[\alpha]_D^{25} -0,605$ ($c = 1$, CHCl_3). Exceso enantiomérico: 95,2 %, enriquecido en el isómero de elución tardía (tiempo de retención: 10,19 min) como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H.

5

Intermedios 7a y 7b

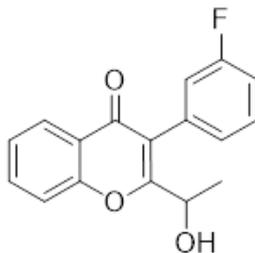
10 Intermedios 7a y 7b: (S)-2-(1-bromoetil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona y (R)-2-(1-bromoetil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona: Se separaron los dos isómeros enantioméricamente puros mediante condiciones de CFS preparativa de 2-(1-bromoetil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (10 g) utilizando $\text{CO}_2:\text{MeOH}$ y se analizaron en una columna XBridge C18 (50 x 4,6 mm; 3,5 μm) utilizando agua (10 mM de bicarbonato de amonio): acetonitrilo (gradiente: 5 %-95 % acetonitrilo en 1,2 min) como la fase móvil a un caudal de 2,0 ml/min.

15

Intermedio 7a: sólido de color blanquecino (3,80 g). e.e. 100 %. Tr: 1,79 min. Masa: 348,9 ($M^+ + 1$).
Intermedio 7b: sólido de color blanquecino (3,8 g). e.e. 100 %. Tr: 1,79 min. Masa: 348,9 ($M^+ + 1$).

Intermedio 8

20

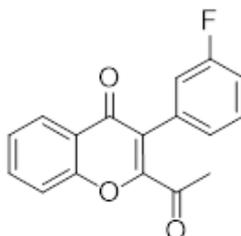


25

Intermedio 8: 3-(3-fluorofenil)-2-(1-hidroxietil)-4H-cromen-4-ona: A una solución de 2-(1-bromoetil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (30 g, 86,51 mmol) en DMSO (300 ml), se le añadió n-butanol (15 ml) y se calentó a 120 °C durante 3 h. Se enfrió la mezcla de reacción a TA, se inactivó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (16 g, 64 %) que se utilizó así en la siguiente etapa.

Intermedio 9

30

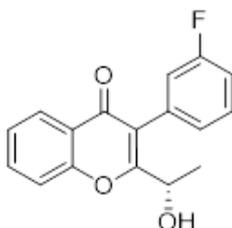


35

Intermedio 9: 2-acetil-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona: Se añadió DMSO (16,0 ml, 227 mmol) a diclorometano (200 ml) enfriado a -78 °C, seguido de cloruro de oxalilo (9,80 ml, 113,5 mmol). Después de 10 min, se añadió por goteo el intermedio 8 (16,2 g, 56,79 mmol) en diclorometano (54 ml) y se agitó durante 20 min. Se añadió trietilamina (32 ml) y se agitó durante 1 h. Se inactivó la mezcla de reacción con agua y se extrajo con diclorometano. Se secó la

fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna con acetato de etilo:éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (8,2 g, 51 %). RMN-¹H (δ ppm, CDCl₃, 400 MHz): 8,26 (dd, *J* = 8,0,1,5 Hz, 1H), 7,79 (m, 1H), 7,58 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,50 (dt, *J* = 8,0,0,8 Hz, 1H), 7,41 (m, 1H), 7,15 (m, 1H), 7,01 (m, 2H), 2,37 (s, 3H).

5

Intermedio 10

- 10 Intermedio 10: (S)-3-(3-fluorofenil)-2-(1-hidroxietyl)-4H-cromen-4-ona: Al intermedio 8 (1,00 g, 3,53 mmol) en THF (2 ml), se le añadió R-Alpine borano (0,5 M en THF, 10 ml) y se calentó a 60 °C durante 20 h. Se inactivó la mezcla de reacción con solución acuosa de HCl 2 N y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color
- 15 blanquecino (0,400 g, 40 %). Exceso enantiomérico: 94,8 %, enriquecido en el isómero de elución rápida (tiempo de retención: 8,71 min) como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H.

Intermedio 11

- 20 Intermedio 11: 4-bromo-2-fluoro-1-isopropoxibenceno: A una solución de 4-bromo-2-fluorofenol (10 g, 52,35 mmol) en THF (100 ml), se le añadió alcohol isopropílico (4,8 ml, 62,62 mmol) y trifetilfosfina (20,6 g, 78,52 mmol) y se calentó a 45 °C y después se le añadió diisopropilazodicarboxilato (15,4 ml, 78,52 mmol). Se sometió a reflujo la mezcla durante 1 h, se concentró y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un líquido incoloro (13,1 g, 99 %), que se
- 25 utilizó sin purificación en la siguiente etapa.

Intermedio 12

- 30 Intermedio 12: 2-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano: Se añadió acetato de potasio (10,52 g, 107,2 mmol) y bis(pinacolato)diboro (15 g, 58,96 mmol) a una solución del intermedio 11 (10,52 g, 107,2 mmol) en dioxano (125 ml) y se desgasificó la solución durante 30 min. Se añadió [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloro paladio(II).CH₂Cl₂ (4,4 g, 5,36 mmol) en una atmósfera de nitrógeno y se calentó a 80 °C. Después de 12 h, se filtró la mezcla de reacción a través de celite y se concentró. Se purificó el producto en
- 35 bruto mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (13,9 g, 99 %) que se utilizó sin purificación en la siguiente etapa.

Intermedio 13

- 40 Intermedio 13: 3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina: A una solución de 3-yodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (11,0 g, 42,14 mmol) en DMF (110 ml), etanol (55 ml) y agua (55 ml), se le añadió intermedio 12 (23,4 g, 84,28 mmol) y carbonato de sodio (13,3 g, 126,42 mmol) y se desgasificó durante 30 min. Se le añadió tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (2,4 g, 2,10 mmol) en una atmósfera de nitrógeno y se calentó a 80 °C. Después de 12 h, se filtró la mezcla de reacción a través de celite, se concentró y se extrajo con acetato de etilo. Se
- 45 secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se trituró el producto en bruto con éter dietílico, se filtró y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color marrón claro (3,2 g, 26 % de rendimiento) que se utilizó tal cual para la siguiente etapa.

Ejemplo A

- 50 **2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona**

Se preparó el compuesto del título como se describe en el ejemplo 158 de la publicación internacional N.º WO 2011/055215.

55

Ejemplo A1**(S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona**

5 A una solución del intermedio 13 (3,35 g, 11,60 mmol) en THF (2,0 ml), se le añadió el intermedio 7 (3,00 g, 10,55 mmol) y trifenilfosfina (5,57 g, 15,82 mmol) y se agitó a TA durante 5 min. Se añadió diisopropilazodicarboxilato (3,2 ml, 15,82 mmol) y se calentó a 45 °C. Después de 2 h, se inactivó la mezcla de reacción con agua y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (2,79 g, 48 %). PF: 200-203 °C. Masa: 554,3 (M⁺+1). Exceso enantiomérico: 94,0 % como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H, enriquecido en el isómero de elución rápida (tiempo de retención: 12,63 min).

15 Ejemplo A2**Método 1****(R)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona**

20 Al intermedio 13 (0,039 g, 0,143 mmol), se le añadió hidróxido de cesio (0,013 g, 0,074 mmol) en etanol y se sometió a reflujo durante 30 min. Se concentró el disolvente y se disolvió el residuo en DMF (0,5 ml). Se añadió el intermedio 7a (0,050 g, 0,143 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se diluyó la mezcla de reacción con agua y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con metanol: diclorometano para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (0,025 g, 231 %). PF: 205-207 °C. Masa: 554,3 (M⁺+1). Exceso enantiomérico: 74,0 % como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H, enriquecido en el isómero de elución tardía (tiempo de retención: 14,77 min).

30 Método 2**(R)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona**

35 A una solución del intermedio 13 (0,143 g, 0,527 mmol) en THF (7,5 ml), se le añadió el intermedio 10 (0,150 g, 0,527 mmol) y trifenilfosfina (0,200 g, 0,791 mmol) y se agitó a TA durante 5 min. Se añadió diisopropilazodicarboxilato (0,15 ml, 0,791 mmol) y se calentó a 45 °C. Después de 3 h, se inactivó la mezcla de reacción con agua y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (0,035 g, 12 %). PF: 204-206 °C. Masa: 554,3 (M⁺+1). Exceso enantiomérico: 98,8 % como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H, enriquecido en el isómero de elución tardía (tiempo de retención: 14,77 min).

45 Ejemplo B**2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona**

50 A una solución del intermedio 13 (0,080 g, 0,293 mmol) en DMF (2 ml), se le añadió carbonato de potasio (0,081 g, 0,587 mmol) y se agitó a TA durante 10 min. A esta mezcla, se le añadió el intermedio 2-(1-bromoetil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (0,215 g, 0,587 mmol) y se agitó durante 12 h. Se diluyó la mezcla de reacción con agua y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con metanol: diclorometano para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo pálido (0,045 g, 270 %). PF: 175-177 °C. RMN-¹H (δ ppm, DMSO-D₆, 400 MHz): δ 8,20 (s, 1H), 7,85 (dd, J = 8:1, 3,0 Hz, 1H), 7,48-7,33 (m, 5H), 7,14 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 7,02 (m, 2H), 6,90 (m, 1H), 6,10 (c, J = 7,1 Hz, 1H), 5,42 (s, 2H), 4,64 (quintete, J = 6,0 Hz, 1H), 1,99 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 1,42 (d, J = 6,1 Hz, 6H).

60 Ejemplo B1**(S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona**

A una solución del intermedio 13 (0,134 g, 0,494 mmol) en THF (2,0 ml), se le añadió el intermedio 5 (0,150 g, 0,494 mmol) y trifenilfosfina (0,194 g, 0,741 mmol) y se agitó a TA durante 5 min. Se añadió diisopropilazodicarboxilato (0,15 ml, 0,749 mmol) y se calentó a 45 °C. Después de 2 h, se inactivó la mezcla de reacción con agua y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (0,049 g, 20 %). PF: 139-142 °C. Masa: 571,7 (M⁺). RMN-¹H (δ ppm, CDCl₃, 400 MHz): 8,24 (s, 1H), 7,85 (dd, J = 8,2,3,1 Hz, 1H), 7,50-7,29 (m, 5H), 7,14 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 7,02 (m, 2H), 6,92 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,11 (c, J = 7,1 Hz, 1H), 5,40 (s, 2H), 4,66 (quintete, J = 6,1 Hz, 1H), 2,00 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 1,42 (d, J = 6,1 Hz, 6H). Exceso enantiomérico: 89,8 % como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H, enriquecido en el isómero de elución rápida (tiempo de retención: 10,64 min).

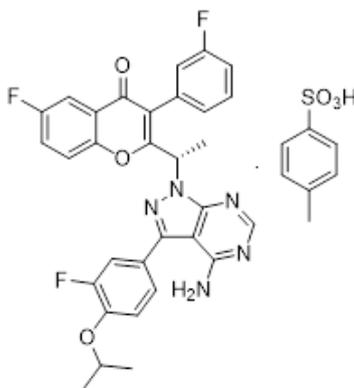
Ejemplo B2

(R)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona

A una solución del intermedio 13 (0,284 g, 0,989 mmol) en THF (5,0 ml), se le añadió el intermedio 3 (0,250 g, 0,824 mmol) y tris(4-metoxi)fenilfosfina (0,435 g, 1,23 mmol) y se agitó a TA durante 5 min. Se le añadió diisopropilazodicarboxilato (0,25 ml, 1,23 mmol) y se agitó a temperatura ambiente. Después de 12 h, se inactivó la mezcla de reacción con agua y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna con acetato de etilo: éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (0,105 g, 22 %). PF: 145-148 °C. Masa: 571,7 (M⁺). RMN-¹H (δ ppm, CDCl₃, 400 MHz): 8,23 (s, 1H), 7,85 (dd, J = 8,1,3,0 Hz, 1H), 7,50-7,29 (m, 5H), 7,14 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 7,02 (m, 2H), 6,92 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,10 (c, J = 7,1 Hz, 1H), 5,42 (s, 2H), 4,64 (quintete, J = 6,1 Hz, 1H), 1,99 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,42 (d, J = 6,0 Hz, 6H). Exceso enantiomérico: 95,4 % como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H, enriquecida en el isómero que eluyó último (tiempo de retención= 14,83 min.).

Sal de 4-metilbencensulfonato del compuesto B1

4-metilbencensulfonato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona

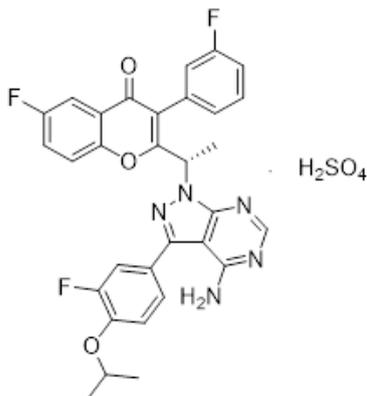


4-metilbencensulfonato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona: A (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (22,7 g, 39,69 mmol) en isopropanol (600 ml), se le añadió ácido p-toluenosulfónico (8,30 g, 43,66 mmol) y se sometió a reflujo durante 1 h. Se concentró la mezcla de reacción, se codestiló con éter de petróleo y se secó. Se añadió el agua residual (300 ml) y se agitó durante 30 min. Se filtró el sólido, se lavó con éter de petróleo y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (28,2 g, 95 %). PF: 138-141 °C. RMN-¹H (δ ppm, CDCl₃, 400 MHz): 8,11 (s, 1H), 7,85 (dd, J = 8,0,3,0 Hz, 1H), 7,80 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,51 (dd, J = 9,3,4,3 Hz, 1H), 7,45 (dd, J = 7,5,3,1 Hz, 1H), 7,42-7,31 (m, 3H), 7,29 (m, 2H), 7,22 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,16 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 7,08 (dt, J = 8,5,2,5 Hz, 1H), 6,97 (s a, 1H), 6,88 (s a, 1H), 6,11 (c, J = 7,2 Hz, 1H), 4,67 (quintete, J = 6,0 Hz, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,03 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 1,43 (d, J = 6,0 Hz, 6H). Masa: 572,4 (M⁺ + 1-PTSA). Exceso enantiomérico: 93,4 % como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H, enriquecido en el isómero de elución rápida (tiempo de retención: 12,35 min).

Sal de sulfato del compuesto B1

Sulfato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona

5



Sulfato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona: se enfrió (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona (15,0 g, 26,24 mmol) en isopropanol (600 ml) a 0 °C. A este compuesto se le añadió ácido sulfúrico (2,83 g, 28,86 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se filtró la masa de reacción, se lavó con éter de petróleo y se secó al vacío. Al sólido, se le añadió agua (150 ml) y se agitó durante 30 min. Se filtró el sólido, se lavó con éter de petróleo y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (13,5 g, 76 %). PF: 125-127 °C. RMN-¹H (δ ppm, CDCl₃, 400 MHz): 8,11 (s, 1H), 7,85 (dd, J = 8,0, 3,0 Hz, 1H), 7,51 (dd, J = 9,2, 4,2 Hz, 1H), 7,45-7,31 (m, 3H), 7,29 (m, 1H), 7,15 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 7,08 (dt, J = 8,5, 2,4 Hz, 1H), 6,96 (s a, 1H), 6,88 (s a, 1H), 6,09 (c, J = 7,1 Hz, 1H), 4,676 (quintete, J = 6,1 Hz, 1H), 2,01 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 1,42 (d, J = 6,1 Hz, 6H). Masa: 572,2 (M⁺ + 1-H₂SO₄). Exceso enantiomérico: 89,6 % como se determinó por HPLC en una columna chiralpak AD-H, enriquecido en el isómero de elución rápida (tiempo de retención: 12,08 min).

20

Se prepararon otras sales de adición de ácidos del compuesto B1 según se proporciona en la tabla 1.

Tabla 1

Ácido	Método de preparación	Punto de fusión (°C)
Ácido clorhídrico	Se disolvió el compuesto B1 (1 eq.) en THF, se añadió HCl/Et ₂ O en exceso, se evaporó completamente la solución transparente obtenida. Se lavó el residuo obtenido con agua.	130-132
Ácido p-toluenosulfónico	Se disolvió el compuesto B1 (1 eq.) en alcohol isopropílico (IPA), se sometió a reflujo durante 30 min, se le añadió ácido (1,1 eq.) en IPA, se evaporó completamente la solución transparente obtenida. Se lavó el residuo obtenido con agua.	138-141°C.
Ácido bencenosulfónico	Se disolvió el compuesto B1 (1 eq.) en IPA, se sometió a reflujo durante 30 min, se le añadió ácido (1,1 eq.) en IPA, no se obtuvo una solución transparente, se evaporó completamente el residuo y se lavó con agua.	170-172
Ácido maleico	Se disolvió el compuesto B1 (1 eq.) en IPA, se sometió a reflujo durante 30 min, se le añadió ácido (1,1 eq.) en IPA, no se obtuvo una solución transparente, se evaporó completamente el residuo y se lavó con agua.	107-109
Ácido canforsulfónico	Se disolvió el compuesto B1 (1 eq.) en IPA, se sometió a reflujo durante 30 min, se le añadió ácido (1,1 eq.) en IPA, no se obtuvo una solución transparente, se evaporó completamente el residuo y se lavó con agua.	120-121

Ácido	Método de preparación	Punto de fusión (°C)
Ácido sulfúrico	Se disolvió el compuesto B1 (1 eq.) en IPA, se sometió a reflujo durante 30 min, se le añadió ácido (1,1 eq.) en IPA, se evaporó completamente la solución transparente obtenida. Se lavó el residuo obtenido con agua.	125-127

ESTABILIDAD METABÓLICA

5 Se realizaron estudios de estabilidad metabólica utilizando ratón, rata y microsomas hepáticos humanos. A continuación se proporciona el protocolo para los estudios con ratón, rata y microsomas hepáticos humanos (todos de BD Gentest, EE.UU.). En resumen, se preincubaron 0,4 mg de proteína con NADPH 2 mM (cofactor) en tampón fosfato (pH~7,4) durante 15 minutos a 37 °C y después se le añadió el artículo de ensayo 1 µM y se incubó adicionalmente durante 60 minutos por triplicado. La mezcla de reacción se terminó con metanol que contenía un estándar interno y se centrifugó adicionalmente para analizar el artículo de ensayo restante en el sobrenadante por CL-EM/EM. Se calculó el porcentaje de compuesto base restante en comparación con muestras similares terminadas en 0 minutos. A continuación se proporcionan los resultados en las tablas.

15 Los siguientes datos muestran sorprendentemente que el compuesto A1 de la presente invención tiene estabilidad metabólica significativamente mayor en microsomas hepáticos humanos con respecto a su enantiómero A2 y compuesto racémico A. Por ejemplo, el compuesto del ejemplo A1 tiene una estabilidad metabólica al menos 5 veces mayor en los microsomas hepáticos humanos que el del ejemplo A2. Debido a su mayor estabilidad metabólica, los compuestos reivindicados de la invención tienen un perfil farmacocinético superior.

Datos comparativos para el compuesto A y sus isómeros individuales A1 y A2			
Ejemplo	Estabilidad metabólica en microsomas hepáticos		
	Ratón	Rata	Ser humano
A	32,6	43,1	38,4
A1	46,1	35,8	54,5
A2	34,7	44,2	11,4

20 De forma similar, los datos a continuación muestran sorprendentemente que el compuesto B1 de la presente invención tiene estabilidad metabólica significativamente mayor en microsomas hepáticos humanos sobre su enantiómero B2 y compuesto racémico B. Por ejemplo, el compuesto del ejemplo B1 tiene una estabilidad metabólica al menos 3 veces mayor en los microsomas hepáticos humanos que el del ejemplo B2. Debido a su mayor estabilidad metabólica, los compuestos reivindicados en la actualidad tienen un perfil farmacocinético superior.

25

Datos comparativos para el compuesto B y sus isómeros individuales B1 y B2			
Ejemplo	Estabilidad metabólica en microsomas hepáticos		
	Ratón	Rata	Ser humano
B	54,9	51,4	46,9
B1	36,6	23,1	74,9
B2	54,1	48,6	27,5

FARMACOCINÉTICA

30 Se evaluaron la biodisponibilidad oral del compuesto B1 (base libre) y su sal de PTSA en ratas. A continuación se proporciona el protocolo para los estudios farmacocinéticos en rata.

35 Todos los animales se sometieron a ayuno durante la noche (12 horas) antes de la dosificación y continuaron hasta 4,0 horas después de la administración del artículo de ensayo. Se prepararon las formulaciones del artículo de ensayo en Tween 80 al 1 % y medio al 99 % (metilcelulosa al 0,5 %, 4000 cP, pH 2,2). Se recogieron las muestras de sangre (150 µl de cada animal) del seno orbital y se colocaron en un micro tubo de centrifuga que contenía EDTA disódico como anticoagulante. Las muestras de sangre se centrifugaron inmediatamente con una velocidad de 1000 g durante 10 min a 4 °C y las muestras de plasma separadas se congelaron a menos de -80 °C y se almacenaron hasta el análisis. Las concentraciones del artículo de ensayo en toda la formulación se analizaron por HPLC. Las concentraciones de plasma del artículo de ensayo en todas las muestras se analizaron por CL-EM/EM.

40 Se calcularon los parámetros farmacocinéticos, a saber, $C_{\text{máx}}$, ABC_{0-t} , $T_{\text{máx}}$ y $t_{1/2}$ utilizando el software WinNonlin. La sal de PTSA del compuesto del ejemplo B1 presentó una $C_{\text{máx}}$ que es aproximadamente el doble y un área bajo la curva (ABC) que es aproximadamente tres veces la de la base libre del compuesto B1.

De forma similar, se evaluaron la biodisponibilidad oral del compuesto B1 (base libre) y su sal de PTSA en perros. La sal de PTSA del compuesto presentó una $C_{m\acute{a}x}$ que es más del doble que la de la base libre del compuesto B1 y un área bajo la curva (ABC) que es aproximadamente cuatro veces la de la base libre del compuesto B1.

5

ENSAYO BIOLÓGICO

Ensayo 1: determinación fluorescente de la actividad de la enzima PI3K

10 El ensayo de fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo (HTRF) permite la detección de 3,4,5-trifosfato (PIP3) formado como resultado de la fosforilación de fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2) por las isoformas de PI3K, por ejemplo α , β , γ o δ .

15 Se determinó la actividad de la isoforma de PI3K para α , β , γ o δ utilizando un kit de ensayo de HTRF™ para PI3K humana (Millipore, Billerica, MA) con modificaciones. Todas las incubaciones se realizaron a temperatura ambiente. En resumen, se añadió 0,5 μ l de inhibidor 40X (en DMSO al 100 %) o DMSO al 100 % a cada pocillo de una placa de 384 pocillos de color negro (Greiner Bio-One, Monroe, NC) que contenía 14,5 μ l de 1X tampón de reacción/PIP2 (MgCl₂ 10 mM, DTT 5 mM, PIP2 1,38 μ M), se mezcló con o sin enzima y se incubó durante 10 min. Después de la incubación inicial, se añadieron 5 μ l/pocillo de ATP 400 μ M y se incubó durante otros 30 minutos. La reacción se terminó añadiendo 5 μ l/pocillo de solución de detención (Millipore, Billerica, MA). Se añadieron cinco microlitros de mezcla de detección (Millipore, Billerica, MA) a cada pocillo y se incubó durante 6-18 h en la oscuridad. Se midió la proporción de HTRF en un lector de microplacas (BMG Labtech., Alemania) con una longitud de onda de excitación de 337 nm y longitudes de onda de emisión de 665 y 620 nm con un tiempo de integración de 400 μ s.

25 Los resultados se muestran a continuación.

Datos comparativos para el compuesto A y sus isómeros individuales A1 y A2

Ejemplo	CI ₅₀ Pi3K delta (nM)	% de inhibición con 1 μ M		
		Pi3K α	Pi3K β	Pi3K γ
A	37,32	2,63	9,95	55,85
A1	13,83	8,91	47,87	80,60
A2	>10 μ M	0,95	38,74	66,3

Perfil de selectividad del compuesto A1

Ensayo	CI ₅₀ (nM)	Cantidad de selectividad		
		PI3K δ	PI3K α	PI3K β
Enzima	13,83	>1000	>54	>9

30

Datos comparativos para el compuesto B y sus isómeros individuales B1 y B2

Ejemplo	Pi3K δ CI ₅₀ (nM)	% de inhibición con 1 μ M		
		Pi3K α	Pi3K β	Pi3K γ
B	24,89	37,90	18	18,3
B1	22,33	19,13	44,88	47,21
B2	1447	25,29	52,01	68,10

Perfil de selectividad del compuesto B1				
Ensayo	CI ₅₀ (nM)	Cantidad de selectividad		
		PI3K δ	PI3K α	PI3K β
Enzima	22,23	>10000	>50	>48

Ensayo 2: ensayo de proliferación celular *in vitro* en estirpes celulares de leucemia

5 Se realizaron ensayos de inhibición del crecimiento utilizando medio FBS al 10 % complementado. Las células se sembraron a una concentración de 5000 – 20.000 células/pocillo en una placa de 96 pocillos. Se añadió compuesto de ensayo a un intervalo de concentración de entre 0,01 y 10000 nM después de 24 horas. Se evaluó el crecimiento utilizando el ensayo de reducción de colorante de bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio (MTT) 0 h (antes de la adición del compuesto de ensayo) y 48 h después del añadido del compuesto de ensayo. Se leyó la absorbancia en un Fluostar Optima (BMG Labtech, Alemania) a una longitud de onda de 450 nm. Se analizaron los datos utilizando GraphPad Prism y se calculó en consecuencia el porcentaje de inhibición debido al compuesto de ensayo en comparación con el control.

15 Resultados: aunque se observó una leve reducción dependiente de la dosis en la viabilidad celular, los compuestos no presentaron ninguna citotoxicidad evidente durante el período de incubación de 72 h.

Ensayo 3: inhibición de la fosforilación de AKT en estirpes celulares de leucemia:

20 Inhibición de la fosforilación de AKT en estirpes celulares de leucemia: se incubaron linfocitos THP-1, HL-60, MOLT-4, RPMI-8226 o DLBCL con concentraciones deseadas de compuesto durante 48 horas. Se lisaron las células y se determinó el pAKT mediante análisis de transferencia Western. Se cuantificaron las bandas utilizando ImageJ y se normalizaron a actina.

25 Resultados: cuando se evaluaron el compuesto A1 y el compuesto B1 a 1 μ M, presentaron 50 a 90 % de inhibición.

Ensayo 4: inhibición de la señalización de PI3K δ en basófilos de sangre completa humana

30 La señalización de PI3K δ en basófilos manifestada a través de una alteración de la expresión de CD63 inducida por anti-Fc ϵ R1 es un marcador farmacodinámico útil determinado utilizando el kit Flow2CAST® (Buhlmann Laboratories, Suiza). En resumen, comprende las siguientes etapas:

- Mezclar la muestra de sangre anticoagulada mediante la inversión del tubo de venopunción varias veces
- Preparar tubos de polipropileno o poliestireno de 3,5 ml nuevos y sin pirógenos adecuados para realizar mediciones de citometría de flujo
- 35 • Añadir 49 μ l de sangre completa del paciente a cada tubo.
- Añadir 1 μ l de 10 % de DMSO (antecedente) o compuesto (10 % de DMSO) a los tubos asignados y mezclar suavemente. Incubar a temperatura ambiente durante 15 min
- Pipetear 50 μ l del tampón de estimulación (base) o Ab anti- Fc ϵ R1 a cada tubo
- Añadir 100 μ l de tampón de estimulación a cada tubo
- 40 • Mezclar suavemente. Añadir 20 μ l de reactivo de tinción (mezcla 1:1 de FITC-CD63 y PE-CCR3) a cada tubo
- Mezclar suavemente, cubrir los tubos e incubar durante 15 minutos a 37 °C en un baño de agua. (utilizando una incubadora el tiempo de incubación durará aproximadamente 10 minutos más debido a la transferencia de calor menos eficiente)
- Añadir 2 ml de reactivo de lisado precalentado (18-28 °C) a cada tubo, mezclar suavemente
- 45 • Incubar durante 5 a 10 minutos a 18-28 °C
- Centrifugar los tubos durante 5 minutos a 500 x g
- Decantar el sobrenadante utilizando papel secante
- Suspende nuevamente el sedimento de células con 300-800 μ l de tampón de lavado
- Agitar suavemente en un vórtex y obtener los datos del citómetro de flujo el mismo día.
- 50 • El porcentaje de células positivas para CD63 dentro de la población de basófilos regulada se determinará en grupos de tratamiento diferentes y se normalizará al control de vehículo.

Resultados: el compuesto A1 y el compuesto B1 inhibieron la expresión de CD63 mediada por anti-Fc ϵ R1 en los

basófilos de sangre completa humana con una EC50 de ≤ 100 nM respectivamente.

Ensayo 4a: especificidad del compuesto basada en células hacia la inhibición de las isoformas δ , α , β o γ de PI3K

5 Se determinó la especificidad del compuesto hacia PI3K δ en un ensayo de proliferación de células B inducido por IgM. Se sembraron células B aisladas de sangre de sujetos sanos en una placa de cultivo de tejido de 96 pocillos y se incubaron con concentraciones deseadas de compuesto durante 30 min. Se estimularon las células con 5 μ g/ml de IgM anti-humana de cabra purificada. Se evaluó el crecimiento utilizando el ensayo de reducción de colorante de bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Para la selectividad contra las isoformas α , β o γ de PI3K, se sembraron macrófagos RAW o NIH-3T3 en una placa de cultivo de tejido de 6 pocillos y se incubaron durante la noche. Se reemplazó el medio completo por medio sin suero al día siguiente y se añadió el compuesto a las concentraciones deseadas. Después de 15 minutos, se añadió PDGF 20 ng/ml, LPA 5 μ M o c5a 50 ng/ml y se incubó durante 10 minutos adicionales. Se lisaron las células y se determinó la fosforilación de AKT mediante análisis de transferencia Western. Se determinó la intensidad de las bandas utilizando ImageJ 1,42 q (NIH, EE.UU.) y se normalizó a actina (control de carga).

Perfil de selectividad del compuesto A1				
Ensayo	CE ₅₀ (nM)	Cantidad de selectividad		
	PI3K δ	PI3K α	PI3K β	PI3K γ
Basado en células	< 50 nM	>1000	>30	>8
Perfil de selectividad del compuesto B1				
Ensayo	CE ₅₀ (nM)	Cantidad de selectividad		
	PI3K δ	PI3K α	PI3K β	PI3K γ
Basado en células	< 30 nM	>10000	>34	>17

T

Ensayo 5: inhibición de la apoptosis en estirpes celulares de leucemia

20 Se determinó la apoptosis en células de leucemia utilizando un kit de caspasa 3 *in situ* (Millipore, EE.UU.) como se describe a continuación:

- Sembrar las células de leucemia a una densidad de 1×10^6 células/pocillo en una placa de 6 pocillos
- Añadir el compuesto de ensayo/DMSO a las concentraciones deseadas
- Incubar la placa durante 24 h a 37 °C en una incubadora con CO₂ al 5 %
- Recoger las células en un tubo de centrifuga de 2ml
- Añadir 1,6 μ l de reactivo FLICA 5X recién preparado y mezclar las células dando golpecitos suaves a los tubos
- Incubar los tubos durante 1 hora a 37 °C con CO₂ al 5 %
- Añadir 2 ml de amortiguador de lavado 1X a cada tubo y mezclar
- Centrifugar las células a <400 x g durante 5 minutos a temperatura ambiente.
- Retirar cuidadosamente el sobrenadante y desechar, y agitar en vórtex suavemente el sedimento celular para interrumpir cualquier acumulación de células.
- Resuspender el sedimento celular en 300ul de amortiguador de lavado 1X
- Colocar 100 μ l de cada suspensión celular en cada uno de los dos pocillos de una placa negra de microtitulación. Evitar la creación de burbujas.
- Leer la absorbancia de cada micropocillo usando una longitud de onda de excitación de 490 nm y una longitud de onda de emisión de 520 nm
- Se calculará el porcentaje de aumento de la actividad de caspasa-3 manifestado por un aumento en la fluorescencia en comparación con el blanco de control.

Resultados: actividad de caspasa-3 inducida dependiente de la dosis del compuesto A1 y del compuesto B1 en las

estirpes celulares evaluadas.

Ensayo 6: detección de actividad antineoplásica en células humanas de leucemia primarias

- 5 6-I: Análisis de citometría de flujo de inducción apoptótica en células de leucemia de médula ósea de paciente de LMA después de tratamiento con el compuesto utilizando anexina V y tinción con 7-AAD: se extrajeron células mononucleares a través del método de Ficoll y se sembraron en placas. Se trataron las células con diferentes compuestos durante 48 h antes de ser analizadas por citometría de flujo. Después de lavarlas con PBS, se tiñeron 1×10^5 células con anexina V-APC y 7-AAD. La tinción positiva con anexina V mide las células apoptóticas totales, incluyendo las células apoptóticas tempranas y tardías. Para las células positivas con anexina V, la señal negativa de 7-AAD refleja las células apoptóticas tempranas.
- 10 6-II: Análisis de pAKT de muestra de médula ósea de paciente de LMA utilizando un kit ELISA pAKT: se extrajeron células mononucleares a través del método de Ficoll y se sembraron en placas. Se trataron las células con diferentes compuestos durante 48 h antes de ser analizadas por kit ELISA pAKT siguiendo el protocolo del producto. En resumen, se transfirieron 1×10^6 células a un pocillo de kit ELISA y se lisaron con 10 μ l de mezcla de lisis celular 5x (Kit ELISA fosfo-AKT 1/2/3 (Ser473) InstantOne™, eBioscience, 85-86042). Se incubaron las células con 50 μ l de un combinado de anticuerpos durante 1 h a temperatura ambiente en un agitador de microplacas (~300 rpm). Después de la incubación con reactivo de detección, se midió el resultado utilizando un espectrofotómetro de microplacas SpectraMAX Plus a 450 nm.
- 15 6-III: Análisis de proliferación celular de muestra de médula ósea de paciente de LMA utilizando un ensayo MTS: se extrajeron células mononucleares a través del método de Ficoll y se sembraron en placas. Se trataron las células con diferentes compuestos durante 48 h y 72 h antes de ser analizadas por ensayo MTS siguiendo las instrucciones del producto. En resumen, se añadieron 20 μ l de la solución de MTS a cada pocillo que contenía 100 μ l de suspensión celular, seguido de incubación durante 4 horas a 37 °C, con 95 % de humedad y presencia de CO₂ al 5 %. Se leyó la absorbancia de 490 nm (A490) utilizando un espectrofotómetro de microplacas SpectraMAX Plus.
- 20 25

Resultados: el tratamiento con el compuesto A1 y el compuesto B1 provocó una reducción dependiente de la dosis de la proliferación y la fosforilación de AKT, con un aumento concomitante de la cantidad de células apoptóticas.

30

Compuesto	Resultados
A1	>50 % de inhibición de pAKT con 0,3 μ M; aumento de ~ 1,5 veces en la apoptosis con 3 μ M y reducción dependiente de la dosis de la viabilidad celular.
B1	>50 % de inhibición de pAKT con 0,3 μ M; aumento de ~ 1,5 veces en la apoptosis con 3 μ M y reducción dependiente de la dosis de la viabilidad celular.

Ensayo 6a: detección de actividad antineoplásica en células humanas de mieloma múltiple

35 Las muestras se tomaron de dos pacientes con enfermedad restringida IgG Kappa etapa II e IgG Lambda etapa III recién diagnosticada. Esta detección se realizó mediante la inducción de la utilizando dosis y tiempos determinados del ensayo de MTT. Se recogieron $1-5 \times 10^5$ células por centrifugación. Se suspendieron nuevamente las células en 500 μ l de tampón de unión 1X. Se añadieron 5 μ l de anexina V-FITC y 5 μ l de yoduro de propidio. Se incubaron las células a temperatura ambiente durante 5 minutos en la oscuridad.

40 Cuantificación por citometría de flujo: se analizó la unión a anexina V-FITC por citometría de flujo (Ex = 488 nm; Em = 530 nm) utilizando un detector de señales FITC (generalmente FL1) y tinción de PI utilizando un detector de señales de emisión de ficoeritrina (generalmente FL2). Los resultados se muestran a continuación y en la figura 1.

B1	>75 % de inhibición de pAKT con 3,0 μ M; aumento de ~ 1,5 veces en la apoptosis con 3 μ M y reducción dependiente de la dosis de la viabilidad celular.
----	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

45 **Ensayo 7: detección de actividad antineoplásica en estirpes celulares de leucemia diversas**

La proliferación de células de leucemia inmortalizadas representativa de diversas indicaciones se determinó mediante un ensayo de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio). Se incubaron las células con el compuesto B1 durante períodos diferentes (72-96 h) según su tiempo de duplicación.

Estirpe celular	Enfermedad	Tipo de células	Órgano
TOLEDO	Linfoma de células grandes difuso/linfoma de células B no Hodgkin	Linfocito B	Sangre periférica
U266B1	Mieloma, plasmocitoma (CD40-)	Linfocito B	Sangre periférica
MOLT-4	LLA	Linfoblasto T	Sangre periférica
Jurkat	Leucemia de linfocitos T aguda	Linfocito T	Sangre periférica
THP-1	Leucemia monocítica aguda	Monocito	Sangre periférica
MM-1R	Mieloma lambda de inmunoglobulina A	Linfoblasto B	Sangre periférica
DLBCL	Linfoma de células grandes	Linfoblasto B	Fluido de ascitis
MM-1S	Mieloma lambda de inmunoglobulina A	Linfoblasto B	Sangre periférica
U937	Linfoma histiocítico	Monocito	Derrame pleural
Raji	Linfoma de Burkitt	Linfoblasto B	Maxilar
CCRF-CEM	LLA	Linfoblasto T	Sangre periférica
HL-60	LMA	Promieloblasto	Sangre periférica

5 Resultados: En general, se logró una inhibición del crecimiento del 50 % para la mayor parte de las estirpes celulares B, T y monocíticas con una concentración de entre 0,5-7,5 μM del compuesto B1. Los datos demostraron la capacidad del compuesto B1 para inhibir la proliferación de las células de leucemia aunque con diferentes potencias según el tipo de célula.

Ensayo 8: detección de actividad antineoplásica en células humanas de LLC

- 10 Se incubaron células de LLC primarias con diluciones seriadas del compuesto de ensayo (compuesto B1) durante 48 horas y se evaluaron en cuanto a la apoptosis mediante caspasa-3 activada y tinción con 7AAD medida por citometría de flujo. Después de 72 horas de incubación, se evaluaron las células de LLC en cuanto a la citotoxicidad utilizando el reactivo MTS colorimétrico. Se midió el Akt fosforilado (S473) mediante citometría de flujo después de 15 la fosforilación de Akt utilizando la intensidad de fluorescencia media (MFI). De las siete muestras de pacientes de LLC utilizadas para los experimentos, cinco tenían IGHV mutado, cinco tenían eliminación de 13q o una citogenética normal determinada por hibridación fluorescente *in situ*, tres fueron negativas para ZAP-70 y siete fueron negativas para CD38. La expresión de IgM osciló entre el 13 % y el 90 %, mientras que la expresión de IgD fue elevada de 20 forma uniforme. El compuesto de ensayo indujo significativamente la apoptosis (caspasa-3+/7AAD+) y la citotoxicidad de una forma dependiente de la dosis con concentraciones de entre 0,1 y 25,6 μM . La incubación con inmunoglobulina anti-superficie indujo significativamente la fosforilación de Akt en comparación con el medio solo, mientras que el añadido del compuesto de ensayo anuló significativamente este efecto y devolvió la fosforilación de Akt al valor de referencia.
- 25 Resultados: el compuesto de ensayo induce la citotoxicidad y la apoptosis en las células de LLC mediante la inhibición de pAKT. Los resultados también se muestran en las figuras 2A, 2B y 2C.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado entre 2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.
- 5 2. Un compuesto seleccionado entre (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.
- 10 3. El compuesto de la reivindicación 2, en el que el compuesto está libre de (R)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona y sales farmacéuticas aceptables del mismo.
- 15 4. El compuesto de la reivindicación 2 en el que el compuesto es 4-metilbencensulfonato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona.
- 20 5. El compuesto de la reivindicación 2, en el que el compuesto se selecciona entre
 Sulfato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona;
 Clorhidrato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona;
 Bencensulfonato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona;
 Maleato de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona; y
 Sulfonato de alcanfor de (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-6-fluoro-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona.
- 25 6. Un compuesto seleccionado entre
 30 (S)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona,
 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.
- 35 7. El compuesto de la reivindicación 6, en el que el compuesto está libre de (R)-2-(1-(4-amino-3-(3-fluoro-4-isopropoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-3-(3-fluorofenil)-4H-cromen-4-ona y sales farmacéuticas aceptables del mismo.
- 40 8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones de 1-7 y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 45 9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para su uso en un método para inhibir una actividad catalítica de una PI3 cinasa δ presente en una célula, en la que la inhibición tiene lugar en un sujeto que padece una enfermedad o trastorno que es cáncer, un trastorno óseo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad inmunitaria, una enfermedad del sistema nervioso, una enfermedad metabólica, una enfermedad respiratoria, trombosis o una enfermedad cardíaca.
- 50 10. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado a PI3K en un sujeto que lo necesite, en el que la enfermedad, trastorno o afección asociada a PI3K es una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, una enfermedad o trastorno que implica inflamación, cáncer u otra enfermedad proliferativa, una enfermedad o trastorno hepático o una enfermedad o trastorno renal.
- 55 11. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la enfermedad, trastorno o afección asociada a PI3K se selecciona entre inflamación, glomerulonefritis, uveítis, enfermedades o trastornos hepáticos, enfermedades o trastornos renales, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, vasculitis, dermatitis, osteoartritis, enfermedad inflamatoria muscular, rinitis alérgica, vaginitis, cistitis intersticial, esclerodermia, osteoporosis, eccema, rechazo del injerto de trasplante alogénico o xenogénico,
 60 enfermedad de injerto contra hospedador, lupus eritematoso, fibrosis pulmonar, dermatomiositis, tiroiditis, miastenia grave, anemia hemolítica autoinmunitaria, fibrosis quística, hepatitis crónica recurrente, cirrosis biliar primaria, conjuntivitis alérgica, hepatitis, dermatitis atópica, asma, síndrome de Sjogren, rechazo al trasplante de órganos, esclerosis múltiple, Guillain-Barre, uveítis autoinmunitaria, anemia hemolítica autoinmunitaria, anemia perniciosa,

trombocitopenia autoinmunitaria, arteritis temporal, síndrome antifosfolípidos, vasculitis, por ejemplo granulomatosis de Wegener, enfermedad de Behcet, psoriasis, dermatitis herpetiforme, pénfigo vulgar, vitiligo, enfermedad de Crohn, colitis, colitis ulcerosa, cirrosis biliar primaria, hepatitis autoinmunitaria, diabetes mellitus tipo 1 o inmunitaria mediada, enfermedad de Grave. Tiroiditis de Hashimoto, ooforitis y orquitis autoinmunitaria, trastorno autoinmunitaria de las glándulas suprarrenales, lupus eritematoso sistémico, polimiositis, dermatomiositis, espondilitis anquilosante, rechazo a un trasplante, rechazo del injerto de piel, artritis, enfermedad ósea asociada al aumento de la resorción ósea; ileítis, síndrome de Barrett, síndrome de dificultad respiratoria adulto, enfermedad pulmonar obstructiva crónica; distrofia corneal, tracoma, oncocercosis, oftalmítis simpática, endoftalmítis; gingivitis, periodontitis; tuberculosis; lepra; complicaciones urémicas, nefrosis; esclerodermatitis, psoriasis, enfermedades desmielinizantes crónicas del sistema nervioso, neurodegeneración asociada a SIDA, mal de Alzheimer, meningitis infecciosa, encefalomielitis, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, encefalitis viral o autoinmunitaria; trastornos autoinmunitarios, vasculitis por complejos inmunitarios, lupus sistémico y eritematoso; lupus eritematoso sistémico (LES); cardiomiopatía, enfermedad isquémica del corazón, hipercolesterolemia, aterosclerosis, preeclampsia; insuficiencia hepática crónica, traumatismo del cerebro y la médula espinal, cáncer, tumores hematopoyéticos de linaje linfoide, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de linfocitos T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas y linfoma de Burkett; tumores hematopoyéticos de linaje mieloide, leucemias mielógenas agudas, leucemias mielógenas crónicas, síndrome mielodisplásico, leucemia promielocítica; carcinoma de vejiga, carcinoma de mama, carcinoma de colon, carcinoma de riñón, carcinoma de hígado, carcinoma de pulmón, cáncer de células pequeñas de pulmón, cáncer esofágico, cáncer de la vesícula biliar, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de estómago, cáncer cervical, cáncer de tiroides, cáncer de próstata, cáncer de piel, carcinoma de células escamosas; tumores de origen mesenquimal, fibrosarcoma, rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, astrocitoma, neuroblastoma, glioma, schwannoma; melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xerodermia pigmentosa, queratoacantoma, cáncer de tiroides folicular, sarcoma de Kaposi, bronquitis crónica, leucemia linfocítica crónica, mielomas múltiples que incluyen mieloma múltiple quiescente, mieloma no secretor, mieloma osteosclerótico, leucemia de células plasmáticas, plasmocitoma solitario y plasmocitoma extramedular, linfoma linfocítico de células pequeñas (LLCP), linfoma no Hodgkin indolente (LNH-I), leucemia linfocítica aguda (LLA), linfoma de células del manto (LCM), linfoma folicular, macroglobulinemia de Waldenström (MW), linfoma de linfocitos T, linfoma de células B y linfoma difuso de células B grandes (LDCBG).

12. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la enfermedad, trastorno o afección asociada a PI3K se selecciona entre leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma no Hodgkin (LNH), leucemia mieloide aguda (LMA), mieloma múltiple (MM), linfoma linfocítico de células pequeñas (LLCP), linfoma no Hodgkin indolente (LNH-I), leucemia linfocítica aguda (LLA), linfoma de células del manto (LCM), linfoma folicular, macroglobulinemia de Waldenström (MW), linfoma de linfocitos T, linfoma de células B y linfoma difuso de células B grandes (LDCBG).

13. El compuesto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9-12, que comprende adicionalmente al menos otro agente antineoplásico, agente antiinflamatorio, agente inmunosupresor, esteroide, agente antiinflamatorios no esteroideo, antihistamínico, analgésico o una mezcla de los mismos.

40

Figura 1

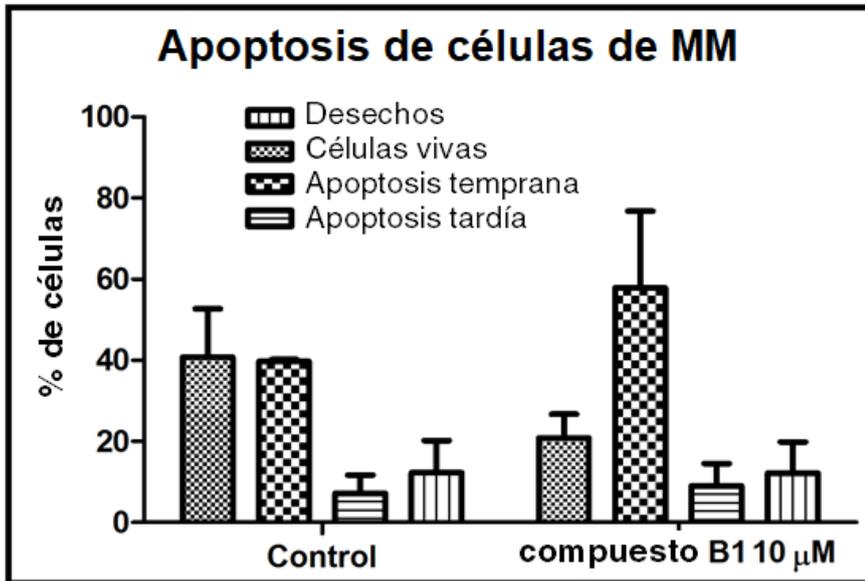


Figura 2A

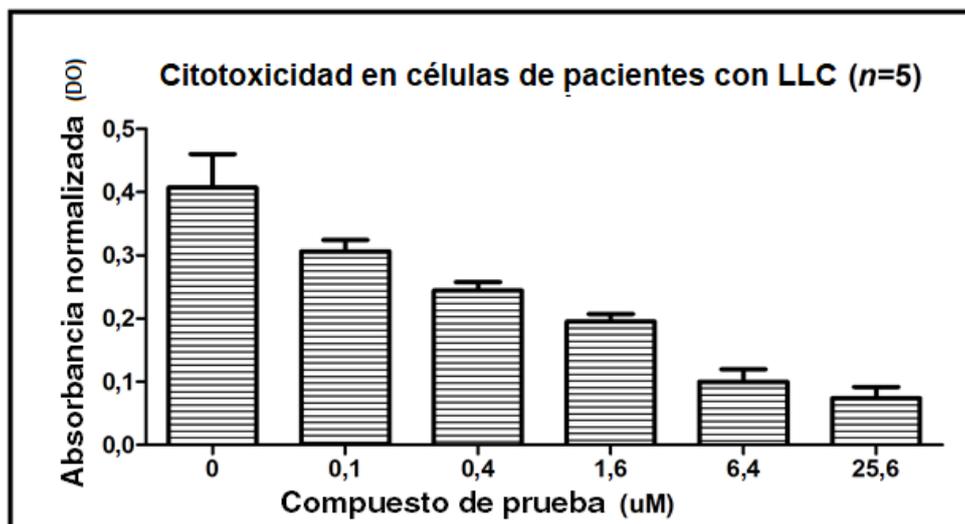


Figura 2B

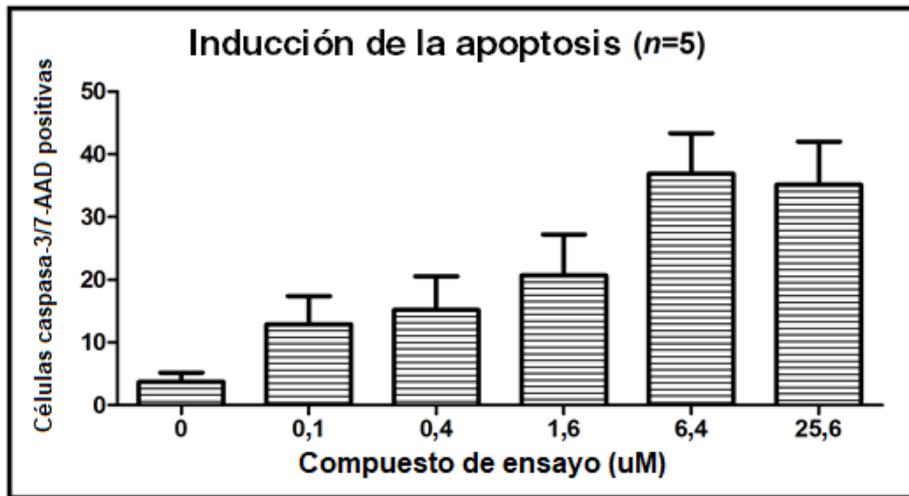


Figura 2C

