

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 667 424**

51 Int. Cl.:

C07D 401/04 (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
C07D 409/04 (2006.01)
C07D 417/04 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.04.2014** **PCT/IB2014/060991**
87 Fecha y número de publicación internacional: **29.10.2015** **WO15162461**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.04.2014** **E 14726416 (2)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.01.2018** **EP 3134395**

54 Título: **Derivados de pirazina como inhibidores de fosfatidil-inositol-3-quinasa**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.05.2018

73 Titular/es:
NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH

72 Inventor/es:
BELLENIE, BENJAMIN RICHARD;
BRUCE, IAN;
CULSHAW, ANDREW JAMES;
HOLLINGWORTH, GREGORY;
NEEF, JAMES;
SPENDIFF, MATTHEW y
WATSON, SIMON JAMES

74 Agente/Representante:
CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 667 424 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de pirazina como inhibidores de fosfatidil-inositol-3-quinasa

Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere a novedosos derivados de pirazina que son inhibidores selectivos de la isoforma gamma de PI3-quinasa, a composiciones farmacéuticas y medicamentos que los contienen, y a estos compuestos para uso en el tratamiento de enfermedades y los trastornos mediados por la activación de la isoforma gamma de PI3-quinasa, en particular asma, todo como se define en las reivindicaciones.

Antecedentes

10 Las fosfatidil-inositol-3-quinasas (PI3-quinasas), una familia de enzimas que catalizan la fosforilación del 3'-OH del anillo de inositol, tienen una función central en la regulación de una amplia gama de procesos celulares, incluyendo el metabolismo, la supervivencia, la movilidad y la activación celular (Vanhaesebroeck, B. et al., *Annu. Rev. Biochem.* 2001, 70, 535). Estas quinastas de lípido se dividen en 3 clases mayores: I, II y III, de acuerdo con su estructura y la especificidad del sustrato in vitro (Wymann, M. et al.; *Biochem. Biophys. Acta*, 1998, 1436, 127). La familia de clase I más ampliamente entendida está subdividida además en las subclases IA y IB. Las PI3-quinastas clase IA consisten en una proteína reguladora/adaptadora de 85 kDa, y tres subunidades catalíticas de 110 kDa (p110 α , p110 β y p110 δ) las cuales son activadas en el sistema de quinasa de tirosina, mientras que clase IB consiste en una sola isoforma p110 γ (PI3K γ), la cual es activada por los receptores acoplados con proteína-G. Los tres miembros de las PI3-quinastas clase II (C2 α , C2 β y C2 γ), y el único miembro de las PI3-quinastas clase III (Vps34) son menos bien entendidos. En adición existen también cuatro PI4-quinastas y varias quinastas de proteína relacionadas con la PI3-quinasa (denominadas como PIKKs o clase IV), incluyendo ADN-PK, mTOR, ATM y ATR, todas las cuales tienen un dominio catalítico similar (Abraham R.T. et al.; *DNA repair* 2004, 3(8-9), 883).

25 Se ha demostrado una función clave para la isoforma gamma de PI3-quinasa en los procesos, tales como activación de leucocitos, quimiotaxis de leucocitos y desgranulación de mastocitos, generando de esta manera interés en este objetivo para el tratamiento de los trastornos autoinmunes e inflamatorios (Ghigo et al., *Bioessays*, 2010, 32, páginas 185-196; Reif et al., *J. Immunol.*, 2004, 173, páginas 2236-2240; Laffargue et al., *Immunity*, 2002, 16, páginas 441-451; Rommel et al., *Nature Rev. Immunology*, 2007, 7, página 191; Cushing et al. *J. Med. Chem.*, 2012, 55, página 8559; Bergamini et al., *Nature Chem. Biol.*, 2012, 8, página 576). De una manera específica, numerosas publicaciones sugieren la utilidad potencial de los inhibidores de la isoforma gamma de PI3-quinasa para el tratamiento de asma (por ejemplo, Thomas et al., *Immunology*, 2008, 126, página 413; Jiang et al., *J. Pharm. Exp. Ther.*, 2012, 342, página 305; Takeda, et al., *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2010, 152 (Suplemento 1), páginas 90-95). Existen también reportes relacionados con la inhibición de la isoforma gamma de PI3-quinasa por su valor terapéutico potencial en otras numerosas indicaciones, tales como cáncer (Beagle y Fruman, *Cancer Cell*, 2011, 19, página 693; Schmid et al., *Cancer Cell*, 2011, 19, página 715; Xie et al., *Biochem. Pharm.*, 2013, 85, página 1454; Subramaniam et al., *Cancer Cell*, 2012, 21, página 459), diabetes (Kobayashi et al., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2011, 108, página 5753; Azzi et al., *Diabetes*, 2012, 61, página 1509), enfermedades cardiovasculares (Fougerat et al., *Clin. Sci.*, 2009, 116, página 791; Fougerat et al., *Circulation*, 2008, 117, página 1310; Chang et al., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2007, 104, página 8077; Fougerat et al., *Br. J. Pharm.*, 2012, 166, página 1643), obesidad (Becattini et al., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2011, 108, página E854), enfermedad de Alzheimer (Passos et al., *Brain, Behaviour and Immunity*, 2010, 24, 493), y pancreatitis (Lupia et al., *Am. J. Path.*, 2004, 165, página 2003). Un informe reciente de las isoformas de PI3-quinasa como objetivos de los fármacos se da en Blajacka et al., *Current Drug Targets*, 2011, 12, páginas 1056-1081.

La Publicación Internacional Número WO2009/115517 (Novartis) describe derivados de amino-pirazina y piridina como inhibidores de PI3-quinasa.

45 La Publicación Internacional Número WO2009/013348 (Novartis) describe derivados de amino-pirimidina como inhibidores de PI3-quinasa.

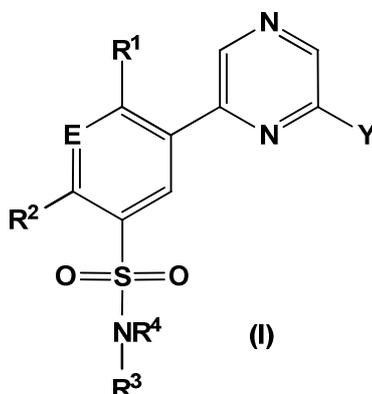
La Publicación Internacional Número WO2003/093297 (Exelixis) describe moduladores de las quinastas de proteínas y métodos de uso de estos moduladores.

Leahy et al., *J. Med. Chem.*, 2012, 55 (11), páginas 5467-5482, describen los inhibidores de la isoforma gamma de PI3-quinasa.

50 Por consiguiente, existe una necesidad de inhibidores selectivos potentes de la isoforma gamma de PI3-quinasa.

Descripción de las realizaciones

En una realización 1 de la invención, se proporciona un compuesto de la fórmula (I):



en donde:

E se selecciona a partir de N y CR^E;

- 5 R¹, R² y R^E se seleccionan independientemente a partir de H, halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono;

R³ se selecciona a partir de:

- 10 (i) alquilo de 1 a 4 átomos de carbono que está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, oxo, -NR^{3a}R^{3b} y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

- 15 (ii) alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono que está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, oxo, -NR^{3a}R^{3b} y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

- 25 (iii) -cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono u -O-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-NR^{3a}R^{3b};

- 30 (iv) -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono u -(O-alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono espiro-fusionado con un segundo cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, o heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, o heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-NR^{3a}R^{3b};

- 35 (v) -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono u -(O-alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-NR^{3a}R^{3b};

- (vi) –(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono u –(O-alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está espiro-fusionado con un segundo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y –(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-NR^{3a}R^{3b};
- 5
- 10 R^{3a} y R^{3b} se seleccionan independientemente a partir de H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;
- R⁴ se selecciona a partir de H y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; o
- 15 R³ y R⁴ junto con el átomo de nitrógeno con el que están unidos, forman un heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, cuyo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está opcionalmente, espiro-fusionado con un segundo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, y cuyo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono están insustituidos o sustituidos con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;
- 20 Y es un heteroarilo de 5 a 6 miembros, cuyo heteroarilo está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, –(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-NR^{3a}R^{3b}, –(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y –
- 25 (alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Definiciones

"Halo" o "halógeno", como se utiliza en la presente, puede ser fluoro, cloro, bromo o yodo.

- 30 "Alquilo de 1 a 4 átomos de carbono", como se utiliza en la presente, denota alquilo de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, tal como C₆ o C₃, entonces la definición se debe enmendar de conformidad con lo anterior, tal como "alquilo de 1 a 4 átomos de carbono" representará metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, butilo secundario y butilo terciario.

- 35 "Alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono", como se utiliza en la presente, se refiere a un grupo -O-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, en donde el alquilo de 1 a 4 átomos de carbono es como se define en la presente. Los ejemplos de estos grupos incluyen metoxilo, etoxilo, propoxilo, butoxilo, pentoxilo o hexoxilo, y similares. Como para alquilo, a menos que se especifique una estructura particular, los términos propoxilo, butoxilo, etc., incluyen todas las formas de cadena recta y ramificada que tienen el número apropiado de átomos de carbono, por ejemplo, propoxilo incluye propoxilo normal e isopropoxilo.

- 40 "Halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono", como se utiliza en la presente, se refiere a un grupo -O-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, en donde el alquilo de 1 a 4 átomos de carbono es como se define en la presente, y está sustituido con uno o más grupos halógeno, por ejemplo, –O-CF₃.

- 45 "Halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono", como se utiliza en la presente, denota alquilo de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 4 átomos de carbono con cuando menos un hidrógeno sustituido con un halógeno. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, tal como C₆ o C₃, entonces la definición se debe enmendar de conformidad con lo anterior, tal como "halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono" representará metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, butilo secundario y butilo terciario que tienen cuando menos un hidrógeno sustituido con halógeno, tal como en donde el halógeno es flúor: CF₃CF₂-, (CF₃)₂CH-, CH₃-CF₂-, CF₃CF₂-, CF₃, CF₂H-, CF₃CF₂CHCF₃ o CF₃CF₂CF₂CF₂-.

- 50 "Cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono", como se utiliza en la presente, se refiere a un anillo de hidrocarburo monocíclico saturado de 3 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de estos grupos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, entonces la definición se debe enmendar de conformidad con lo anterior.

El término "hidroxi" o "hidroxilo" se refiere a –OH.

"Hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono", como se utiliza en la presente, denota alquilo de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 4 átomos de carbono con cuando menos un hidrógeno sustituido con un grupo hidroxilo. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, tal como C₆ o C₃, entonces la definición se debe enmendar de conformidad con lo anterior, tal como "hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono" representará metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, butilo secundario y butilo terciario que tienen cuando menos un hidrógeno sustituido con hidroxilo.

"Anillo de heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono" se refiere a un sistema de anillo alifático de 3 a 6 miembros saturado o parcialmente insaturado que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados a partir de oxígeno y nitrógeno. Los ejemplos adecuados de estos sistemas de anillos incluyen pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tetrahidro-furanilo, tetrahidro-piranilo, pirrolinilo u oxazolinilo.

"Heteroarilo de 5 a 6 miembros" se refiere a un sistema de anillo aromático de 5 a 6 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados a partir de oxígeno, nitrógeno o azufre. Los ejemplos de los anillos de heteroarilo de 5 miembros en esta instancia incluyen furanilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, tiofenilo, o pirazolilo. Los ejemplos de los anillos de heteroarilo de 6 miembros incluyen piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo.

"Oxo" se refiere a =O.

El término "un", "uno", "el" y términos similares utilizados en el contexto de la presente invención (en especial en el contexto de acuerdo con las reivindicaciones), se deben interpretar para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otra manera en la presente o que sea claramente contradicho por el contexto.

El término "tratamiento", como se utiliza en la presente, se refiere al tratamiento tanto sintomático como profiláctico, en particular sintomático.

En la presente, se describen diferentes realizaciones de la invención. Se reconocerá que las características especificadas en cada realización se pueden combinar con otras características especificadas para proporcionar realizaciones adicionales.

En una realización 2 de la invención, se proporciona un compuesto de la fórmula (I) en donde:

E se selecciona a partir de N y CR^E;

R¹, R² y R^E se seleccionan independientemente a partir de H, halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono;

R³ se selecciona a partir de:

(i) alquilo de 1 a 4 átomos de carbono que está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, oxo, –NR^{3a}R^{3b} y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

(ii) alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono que está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, oxo, –NR^{3a}R^{3b} y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

(iii) –cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono u –O-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y –(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-NR^{3a}R^{3b};

(iv) un –(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono u –(O-alquilo de 0 a 3 átomos

5 de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono espiro-fusionado con un segundo cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, o heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, en donde el segundo cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, o heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$;

10 (v) un $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono u $-(\text{O-alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$;

15 (vi) un $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono u $-(\text{O-alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está fusionado con un segundo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, y en donde el segundo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$;

R^{3a} y R^{3b} se seleccionan independientemente a partir de H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R^4 se selecciona a partir de H y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; o

25 R^3 y R^4 junto con el átomo de nitrógeno con el que están unidos, forman un heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, cuyo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está opcionalmente, espiro-fusionado con un segundo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, y cuyo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono están insustituídos o sustituidos con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

35 Y es un heteroarilo de 5 a 6 miembros, cuyo heteroarilo está insustituído o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$, $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 En una realización 3 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 1 o 2, en donde E es CR^E , y R^E es H.

En una realización 4 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 3, en donde R^1 se selecciona a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono y H.

En una realización 5 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 4, en donde R^1 se selecciona a partir de metilo y H, en particular metilo.

45 En una realización 6 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 5, en donde R^2 se selecciona a partir de H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono y halógeno.

En una realización 7 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 6, en donde R^2 se selecciona a partir de H, flúor, cloro y metilo, en particular H y flúor, más particularmente, H.

50 En una realización 8 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 7, en donde R^3 se selecciona a partir de:

(i) alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, oxo, y $-NR^{3a}R^{3b}$;

(ii) alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, halógeno, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

5 (iii) $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})\text{-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono}$, en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halógeno;

10 (iv) $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})\text{-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono espiro-fusionado con un segundo cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono}$, mediante un solo átomo de carbono, en donde el segundo cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo y halógeno; y

15 (v) $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})\text{-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono}$, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono e hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

20 (vi) un $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})\text{-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono}$, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está espiro-fusionado con un segundo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo e hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R^{3a} y R^{3b} se seleccionan independientemente a partir de H y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

25 R^4 se selecciona a partir de H y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; o

R^3 y R^4 junto con el átomo de nitrógeno con el que están unidos, forman un heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, cuyo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono.

30 En una realización 9 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 7, en donde R^3 es alquilo de 1 a 4 átomos de carbono que está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, oxo, $-NR^{3a}R^{3b}$ y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono.

40 En una realización 10 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 9, en donde R^3 se selecciona a partir de propilo, butilo y pentilo sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, $-NR^{3a}R^{3b}$, oxo.

En una realización 11 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 9, en donde R^3 se selecciona a partir de:

3-hidroxi-propil-;

3-hidroxi-2,2-dimetil-propil-;

45 3-hidroxi-3-metil-butil-;

2-hidroxi-2-metil-propil-;

4,4,4-trifluoro-3-hidroxi-butil-;

2,2-difluoro-etil-;

3,3-dimetil-2-oxo-butilo; y

3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-metil-propil-.

5 En una realización 12 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 11, en donde R^3 se selecciona a partir de:

3-hidroxi-propil-;

3-hidroxi-2,2-dimetil-propil-;

2-hidroxi-2-metil-propil-; y

3-hidroxi-3-metil-butil-.

10 En una realización 13 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 7, en donde R^3 es alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono que está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, oxo, $-NR^{3a}R^{3b}$ y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

20 En una realización 14 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 13, en donde R^3 se selecciona a partir de propoxilo, butoxilo y pentoxilo sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados a partir de hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono y halógeno.

En una realización 15 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 14, en donde R^3 es 2-hidroxi-2-metil-propoxi-.

25 En una realización 16 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 7, en donde R^3 es $-\text{cicloalquilo}$ de 3 a 6 átomos de carbono u $-\text{O-cicloalquilo}$ de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})-NR^{3a}R^{3b}$.

30 En una realización 17 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 16, en donde R^3 se selecciona a partir de $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})\text{-ciclohexilo}$, $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})\text{-ciclobutilo}$ y $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})\text{-ciclopropilo}$, y en donde el ciclohexilo, ciclobutilo y ciclopropilo están sustituidos con 1 o 2 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono y halógeno.

35 En una realización 18 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 17, en donde R^3 se selecciona a partir de:

4-hidroxi-ciclohexil-;

3-hidroxi-ciclobutil-metil-;

1-hidroxi-ciclobutil-metil-;

1-(hidroxi-metil)-ciclopropilo; y

40 1-hidroxi-ciclopropil-metil-.

En una realización 19 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 17, en donde R^3 se selecciona a partir de:

4-hidroxi-ciclohexil- y

3-hidroxi-ciclobutil-metil-

5 En una realización 20 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 7, en donde R^3 es -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono u -(O-alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono espiro-fusionado con un segundo cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, o heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, o heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxialquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)- $NR^{3a}R^{3b}$.

10 En una realización 21 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 20, en donde R^3 se selecciona a partir de espiro-[3.3]-heptan-2-ilo, espiro-[3.4]-octan-6-ilo, espiro-[4.4]-nonan-2-ilo y espiro-[3.4]-undecan-3-ilo que está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados a partir de hidroxilo y halógeno.

En una realización 22 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 21, en donde R^3 es 6-hidroxi-espiro-[3.3]-heptan-2-ilo.

15 En una realización 23 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 7, en donde R^3 es -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono e hidroxialquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

20 o -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono u -(O-alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está espiro-fusionado con un segundo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, hidroxialquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)- $NR^{3a}R^{3b}$.

30 En una realización 24 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 23, en donde R^3 se selecciona a partir de un -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-tetrahidro-furanilo, -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-oxetanilo, -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-pirrolidinilo, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-tetrahidro-piranilo, cada uno de los cuales está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono e hidroxialquilo de 1 a 4 átomos de carbono.

En una realización 25 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 24, en donde R^3 se selecciona a partir de:

(1-etil-pirrolidin-2-il)-metilo,

- (tetrahidro-2H-piran-4-ilo,

40 - (3-hidroxi-oxetan-3-il)-metilo,

- (3-metiloxetan-3-il)-metilo,

- (4-hidroxi-tetrahidro-piran)-metilo,

- (3-hidroxi-metil-oxetan-3-il)-metilo, y

- (tetrahidrofuran-3-il)-metilo.

45 En una realización 26 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 25, en donde R^4 es H o metilo.

En una realización 27 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las

realizaciones 1 a 7, en donde R³ y R⁴ junto con el átomo de nitrógeno con el que están unidos, forman un heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, cuyo heterociclilo está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono.

5 En una realización 28 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 27, en donde R³ y R⁴ junto con el átomo de nitrógeno con el que están unidos, forman un piperazinilo, piperidinilo, o azetidínilo, los cuales están insustituidos o sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono.

10 En una realización 29 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 28, en donde R³ y R⁴ junto con el átomo de nitrógeno con el que están unidos, forman un:

- 3-(trifluoro-metil)-piperazin-1-ilo,

- 3,3-difluoro-piperidin-1-ilo, o

- 1-(hidroxi-metil)-azetidín-3-ilo.

15 En una realización 30 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 29, en donde Y se selecciona a partir de:

- tiazolilo,

- pirazolilo,

- piridilo,

- triazolilo,

20 - imidazolilo,

- oxadiazolilo,

- pirimidínilo,

- isoxazolilo,

- oxazolilo, y

25 - tienilo;

30 cada uno de los cuales está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, -NR^{3a}R^{3b}, -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono.

En una realización 31 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 30, en donde Y se selecciona a partir de:

- tiazol-5-ilo,

35 - pirazol-4-ilo,

- pirazol-5-ilo,

- pirazol-1-ilo,

- pirid-4-ilo,

- pirid-3-ilo,
- 1,2,4-triazol-1-ilo,
- 1,2,3-triazol-4-ilo,
- imidazol-1-ilo,

- 5
- 1,2,4-oxadiazol-5-ilo,
 - 1,3,4-oxadiazol-2-ilo,
 - oxazol-5-ilo,
 - isoxazol-5-ilo,
 - pirimidin-5-ilo,

- 10
- tien-3-ilo,

cada uno de los cuales está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono.

15

En una realización 32 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 31, en donde Y se selecciona a partir de:

- tiazol-5-ilo,
- pirazol-4-ilo,

- 20
- pirazol-5-ilo,
 - pirazol-1-ilo,
 - pirid-4-ilo,
 - pirid-3-ilo,

- 1,2,4-triazol-1-ilo,

- 25
- 1,2,3-triazol-4-ilo,
 - imidazol-1-ilo,

- 1,2,4-oxadiazol-5-ilo,
- oxazol-5-ilo,
- isoxazol-5-ilo,

- 30
- pirimidin-5-ilo,
 - tien-3-ilo,

cada uno de los cuales está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de metilo, etilo, propilo, isopropilo, ciclopropilo, CF₃, CF₃CH₂-, hidroxi-etilo, metoxi-etilo y metoxilo.

En una realización 33 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 30, en

donde Y se selecciona a partir de:

- 5-morfolin-4-il-metil-tien-3-ilo,
- 3-ciclopropil-[1,2,4]-triazol-1-ilo,
- 2-ciclopropil-tiazol-5-ilo,
- 5 - 2,5-dimetil-2H-[1,2,3]-triazol-4-ilo,
- 2-metil-tiazol-5-ilo,
- 1,3-dimetil-1H-pirazol-4-ilo,
- 1,2,4-triazol-1-ilo,
- 3-isopropil-1,2,4-oxadiazol-5-ilo,
- 10 - 3-metil-[1,2,4]-oxadiazol-5-ilo,
- 1-metil-1H-pirazol-4-ilo,
- 1H-pirazol-1-ilo,
- 3-etil-1,2,4-oxadiazol-5-ilo,
- 2-metil-2H-1,2,3-triazol-4-ilo,
- 15 - (2,2,2-trifluoro-etil)-1H-pirazol-4-ilo
- 1H-pirazol-4-ilo,
- 3-metil-isoxazol-5-ilo,
- 2-metil-piridin-4-il)-pirazin-2-ilo,
- 1H-1,2,4-triazol-1-ilo,
- 20 - 3-propil-1,2,4-oxadiazol-5-ilo,
- 2-metil-oxazol-5-ilo,
- pirimidin-5-ilo,
- 3-metil-1H-1,2,4-triazol-1-ilo,
- 5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-ilo,
- 25 - 1-metil-1H-pirazol-5-ilo,
- pirid-3-ilo,
- pirid-4-ilo,
- 2-metil-pirid-4-ilo,
- 3-metil-1,2,4-oxadiazol-5-ilo,
- 30 - 2-metil-tiazol-4-ilo,
- 4-metil-1H-imidazol-1-ilo,

- 1-etil-1H-pirazol-4-ilo,
- 3,5-dimetil-1H-pirazol-1-ilo,
- 3-ciclopropil-1,2,4-oxadiazol-5-ilo,
- 3-metil-isoxazol-5-ilo,
- 5 - 1-isopropil-1H-pirazol-4-ilo,
- 1H-1,2,4-triazol-1-ilo,
- 1-propil-1H-pirazol-4-ilo,
- 4-metoxi-piridin-3-ilo,
- pirazol-3-ilo,
- 10 - 3-metil-isoxazol-5-ilo, y
- 1-(2-metoxi-etil)-1H-pirazol-4-ilo.

En una realización 34 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 29, en donde Y se selecciona a partir de:

- tiazolilo,
- 15 - oxadiazolilo,
- isoxazolilo,
- pirazolilo,
- piridilo, y
- triazolilo,
- 20 cada uno de los cuales está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono.

En una realización 35 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con la realización 34, en donde Y se selecciona a partir de:

- tiazol-5-ilo,
- isoxazol-5-ilo,
- oxadiazol-5-ilo,
- pirazol-4-ilo,
- 30 - pirazol-5-ilo,
- pirazol-1-ilo,
- pirid-4-ilo,
- pirid-3-ilo,

- 1,2,4-triazol-1-ilo,

- 1,2,3-triazol-4-ilo,

cada uno de los cuales está insustituído o sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de metilo, etilo, propilo e isopropilo.

5 En una realización 36 de la invención, se proporciona un compuesto de acuerdo con la realización 1, seleccionado a partir de:

N-(3-hidroxi-propil)-4-metil-3-[6-(2-metil-tiazol-5-il)-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida;

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(2-hidroxi-2-metil-propil)-4-metil-bencen-sulfonamida;

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-3-metil-butyl)-4-metil-bencen-sulfonamida;

10 3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-4-metil-N-(3-metil-oxetan-3-il-metil)-bencen-sulfonamida;

Trans-N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-3-(6-(2-metil-tiazol-5-il)-pirazin-2-il)-bencen-sulfonamida;

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(6-hidroxi-espiro-[3.3]-hept-2-il)-4-metil-bencen-sulfonamida;

Cis-3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-ciclobutil-metil)-4-metil-bencen-sulfonamida;

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-4-metil-bencen-sulfonamida;

15 N-(3-hidroxi-3-metil-butyl)-4-metil-3-[6-[1-(2-morfolin-4-il-etil)-1H-pirazol-4-il]-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida;

N-(3-hidroxi-3-metil-butyl)-4-metil-3-[6-[3-metil-1-(2-morfolin-4-il-etil)-1H-pirazol-4-il]-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida;

Trans-N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-3-(6-piridin-3-il-pirazin-2-il)-bencen-sulfonamida;

Trans-N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-3-[6-(5-morfolin-4-il-metil-tiofen-3-il)-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida;

Cis-3-[6-(2,5-dimetil-2H-pirazol-3-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-ciclobutil-metil)-4-metil-bencen-sulfonamida;

20 o a una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas.

En una realización 37 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 36, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para utilizarse en medicina.

25 En una realización 38 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 36, para utilizarse en el tratamiento de un trastorno o de una enfermedad mediada por la activación de la isoforma gamma de PI3-quinasa (p110-γ).

En una realización 39 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 36, para utilizarse en el tratamiento de afecciones inflamatorias, obstructivas o alérgicas.

30 En una realización 40 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 36, para utilizarse en el tratamiento de enfermedades respiratorias, alergias, artritis reumatoide, osteoartritis, trastornos reumáticos, psoriasis, colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, choque séptico, trastornos proliferativos, tales como cáncer, aterosclerosis, rechazo de aloinjerto en seguida de trasplante, diabetes, embolia, obesidad y restenosis.

35 En una realización 41 de la invención, se proporciona un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 36, para utilizarse en el tratamiento de enfermedades respiratorias, en particular asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), COAD, COLD, bronquitis crónica, disnea o enfisema, más particularmente, asma.

En una realización 42 de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende:

una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 36,

o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

En una realización 43 de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende:

una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 36, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un segundo agente activo.

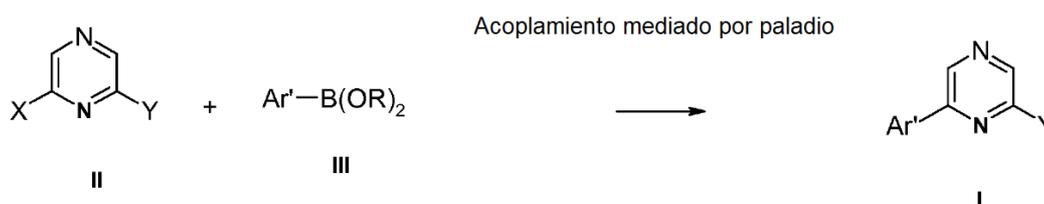
- 5 En una realización 44 de la invención, se proporciona una combinación farmacéutica de acuerdo con la realización 52, en donde el segundo agente activo se selecciona de una sustancia farmacológica antiinflamatoria, broncodilatadora o antihistamínica.

En otra realización, los compuestos individuales de acuerdo con la invención son aquéllos enlistados en la sección de ejemplos más adelante.

- 10 El término "compuestos de la presente invención" o "un compuesto de la presente invención" se refiere a un compuesto como se define en cualquiera de las realizaciones 1 a 36.

Los compuestos, como se definen en las realizaciones 1 a 36, se pueden sintetizar mediante las siguientes rutas sintéticas generales, los ejemplos específicos de los cuales se describen con mayor detalle en los ejemplos.

Esquema 1



15

en donde Ar' se refiere a



, e Y, R¹, R², R³, R⁴ y E se definen como en la realización 1, y X es un halógeno tal como I, Br o Cl.

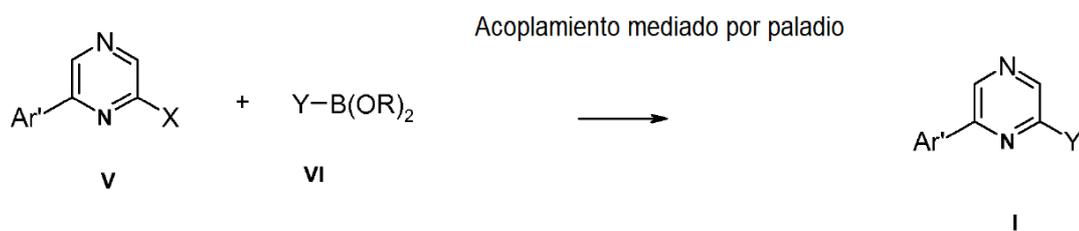
20

La reacción entre A1 y A2 se lleva a cabo utilizando un catalizador de paladio adecuado, tal como Pd(dppf)Cl₂, en un solvente adecuado, tal como DME o MeCN. La reacción típicamente incluye una base, tal como carbonato de sodio o i-Pr₂NEt, y se puede llevar a cabo a una temperatura elevada, tal como a reflujo.

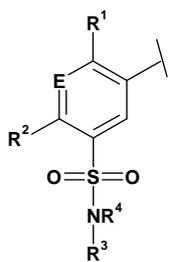
25

Como una alternativa al esquema anterior, A1 se puede hacer reaccionar con un compuesto de boro adecuado en la presencia de un catalizador con el objeto de formar el derivado de ácido borónico/ anhídrido borónico de A1, y entonces se hace reaccionar con Ar'-Br (IV), para formar un compuesto de la fórmula I en un procedimiento de dos pasos.

Esquema 2



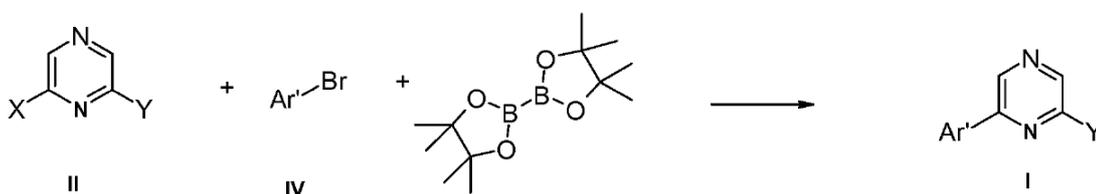
en donde Ar' se refiere a



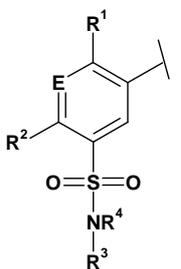
e Y, R¹, R², R³, R⁴ y E se definen como en la realización 1, y X es un halógeno tal como I, Br o Cl.

- 5 La reacción entre los compuestos V y VI se lleva a cabo utilizando un catalizador de paladio adecuado, tal como Pd(dppf)Cl₂, en un solvente adecuado, tal como DME o MeCN. La reacción típicamente incluye una base, tal como carbonato de sodio o KOAc, y se puede llevar a cabo a una temperatura elevada, tal como a reflujo.

Esquema 3

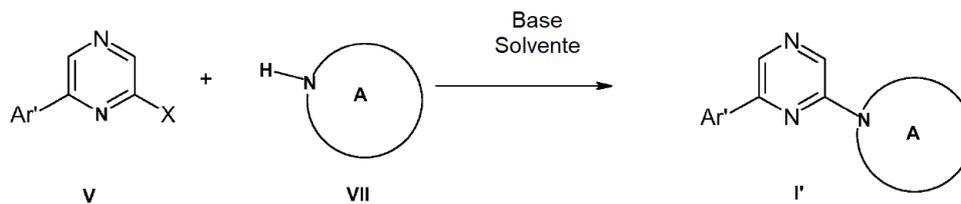


- 10 en donde Ar' se refiere a

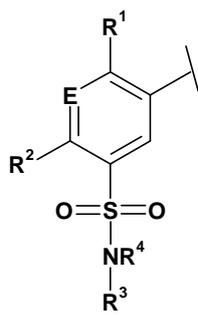


e Y, R¹, R², R³, R⁴ y E se definen como en la realización 1, y X es un halógeno tal como I, Br o Cl. Ésta es una boronilación de dos pasos en un solo recipiente, seguida por una reacción de Suzuki utilizando las condiciones típicas para ambas, por ejemplo, un catalizador de Pd.

- 15 Esquema 4



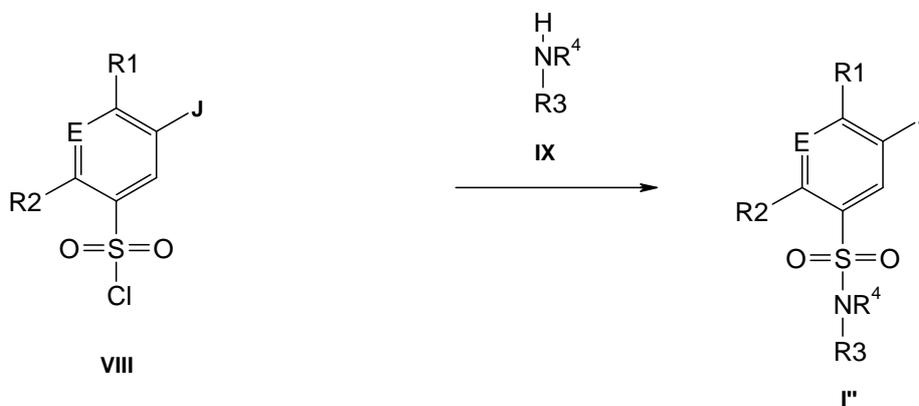
en donde Ar' se refiere a



5 y R¹, R², R³, R⁴ y E se definen como en la realización 1, X es un halógeno tal como I, Br o Cl, y A es un heteroarilo de 5 a 6 miembros, como se define en la presente.

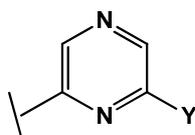
La reacción se lleva a cabo en la presencia de una base adecuada, tal como una amina, o un hidruro o carbonato de metal alcalino, por ejemplo, NaH o CsCO₃, en un solvente adecuado, tal como dimetil-acetamida (DMA), típicamente, a una temperatura elevada de hasta 150°C opcionalmente en la presencia de CuI y N,N-dimetil-glicina.

Esquema 5



10

en donde Y, R¹, R², R³, R⁴ y E se definen como en la realización 1, y J es bromo o

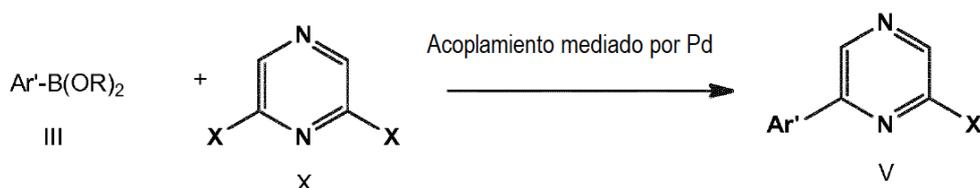


15 El compuesto de la fórmula I' se puede preparar mediante la reacción del VIII con una amina IX en la presencia de una base adecuada, tal como piridina, trietil-amina o di-isopropil-etil-amina (DIPEA), en un solvente adecuado, tal

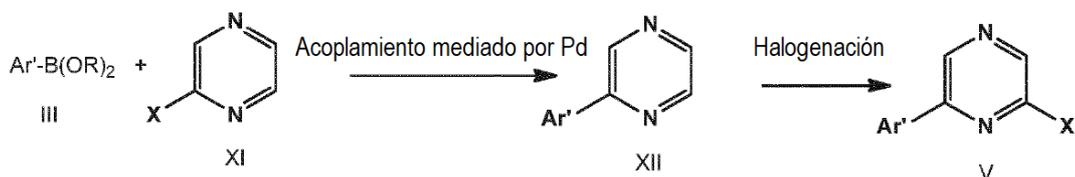
como dicloro-metano (DCM), tetrahidrofurano (THF), piridina o dimetil-acetamida, a una temperatura adecuada, tal como entre 0°C y la temperatura ambiente.

Los compuestos de la fórmula II están comercialmente disponibles, o se pueden preparar de acuerdo con los métodos conocidos. Los compuestos de la fórmula III están comercialmente disponibles, o se pueden preparar a partir de los compuestos de la fórmula IV utilizando las condiciones convencionales bien conocidas por una persona experta en la materia (véase en experimental, 'Ésteres borónicos'). Los compuestos de la fórmula V se pueden preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula III con un compuesto de la fórmula VIII bajo las condiciones de reacción de Suzuki típicas (véase el esquema 6), o se pueden preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula III con un compuesto de la fórmula IX bajo las condiciones de reacción de Suzuki típicas, seguida por una halogenación (véase el esquema 7).

Esquema 6

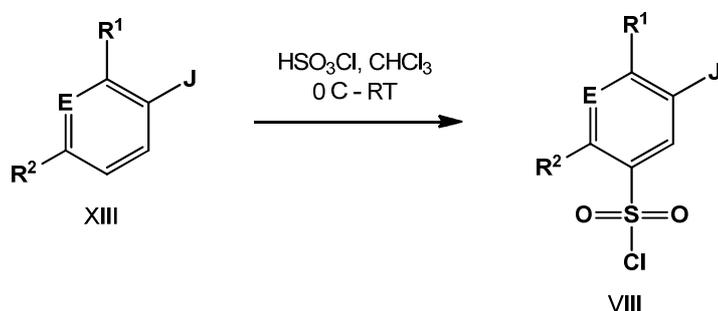


Esquema 7



Los compuestos de la fórmula VI están comercialmente disponibles, o se pueden preparar de acuerdo con los métodos conocidos. Los compuestos de la fórmula VIII están comercialmente disponibles, o se pueden preparar de acuerdo con el siguiente esquema 8.

Esquema 8



La divulgación incluye además cualquier variante de los presentes procesos, en donde se utiliza como material de partida un producto intermediario que se pueda obtener en cualquier etapa de los mismos, y se llevan a cabo los pasos restantes, o en donde los materiales de partida se forman *in situ* bajo las condiciones de reacción, o en donde los componentes de la reacción se utilizan en la forma de sus sales como el material ópticamente puro.

Los compuestos de la presente invención e intermediarios también se pueden convertir unos en otros de acuerdo con los métodos conocidos generalmente por los expertos en este campo.

Dentro del alcance de este texto, solamente un grupo fácilmente removible que no sea un constituyente del producto final deseado particular de los compuestos de la presente invención, se designa como un "grupo protector", a menos que el contexto lo indique de otra manera. La protección de los grupos funcionales mediante estos grupos protectores, los grupos protectores mismos, y sus reacciones de disociación se describen, por ejemplo, en los trabajos de referencia convencionales, tales como J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, Londres y Nueva York 1973, en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Tercera Edición, Wiley, Nueva York 1999, en "The Peptides"; Volumen 3 (Editores: E. Gross y J. Meienhofer), Academic Press, Londres y Nueva York 1981, en "Methoden der organischen Chemie" (métodos de química orgánica), Houben Weyl, 4a. Edición, Volumen 15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, en H.-D. Jakubke y H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (aminoácidos, péptidos, proteínas), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, y Basilea 1982, y en Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Química de carbohidratos: Monosacáridos y derivados), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Una característica de los grupos protectores es que se pueden remover fácilmente (es decir, sin la presentación de reacciones secundarias indeseadas), por ejemplo, mediante solvólisis, reducción, fotólisis, o de una manera alternativa, bajo condiciones fisiológicas (por ejemplo, mediante disociación enzimática).

Las sales de los compuestos de la presente invención que tengan cuando menos un grupo formador de sal, se pueden preparar de una manera conocida por los expertos en este campo. Por ejemplo, las sales de los compuestos de la presente invención que tengan grupos ácidos se pueden formar, por ejemplo, mediante el tratamiento de los compuestos con compuestos de metales, tales como las sales de metales alcalinos de los ácidos carboxílicos orgánicos adecuados, por ejemplo, la sal sódica del ácido 2-etil-hexanoico, con los compuestos de metales alcalinos o de metales alcalinotérreos orgánicos, tales como los hidróxidos, carbonatos, o carbonatos ácidos correspondientes, tales como hidróxido, carbonato, o carbonato ácido de sodio o de potasio, con los compuestos de calcio correspondientes, o con amoníaco o una amina orgánica adecuada, utilizándose de preferencia cantidades estequiométricas o solamente un pequeño exceso del agente formador de sal. Las sales de adición de ácido de los compuestos de la presente invención, se obtienen de la manera acostumbrada, por ejemplo, mediante el tratamiento de los compuestos con un ácido o con un reactivo de intercambio de aniones adecuado. Las sales internas de los compuestos de la presente invención que contengan grupos formadores de sales ácidos y básicos, por ejemplo, un grupo carboxilo libre y un grupo amino libre, se pueden formar, por ejemplo, mediante la neutralización de las sales, tales como las sales de adición de ácido, hasta el punto isoeléctrico, por ejemplo, con bases débiles, o mediante el tratamiento con intercambiadores de iones.

Las sales se pueden convertir en los compuestos libres de acuerdo con los métodos conocidos por los expertos en este campo. Las sales de metales y de amonio se pueden convertir, por ejemplo, mediante el tratamiento con ácidos adecuados, y las sales de adición de ácido, por ejemplo, mediante el tratamiento con un agente básico adecuado.

Las mezclas de isómeros que se puedan obtener de acuerdo con la invención, se pueden separar de una manera conocida por los expertos en este campo en los isómeros individuales; los diaestereoisómeros se pueden separar, por ejemplo, mediante división entre mezclas de solventes polifásicas, recristalización, y/o separación cromatográfica, por ejemplo, sobre gel de sílice, o, por ejemplo, mediante cromatografía de líquidos a presión media sobre una columna de fase inversa, y los racematos se pueden separar, por ejemplo, mediante la formación de sales con los reactivos formadores de sales ópticamente puros y la separación de la mezcla de diaestereoisómeros que se pueda obtener de esta manera, por ejemplo, por medio de cristalización fraccionaria, o mediante cromatografía sobre materiales de columna ópticamente activos.

Los intermediarios y los productos finales se pueden procesar y/o purificar de acuerdo con los métodos convencionales, por ejemplo, empleando métodos cromatográficos, métodos de distribución, (re-) cristalización, y similares.

Lo siguiente se aplica en general a todos los procesos mencionados anteriormente en la presente y posteriormente en la presente. Todos los pasos del proceso anteriormente mencionados se pueden llevar a cabo en las condiciones de reacción que sean conocidas por los expertos en este campo, incluyendo aquéllas mencionadas de una manera específica, en ausencia, o, por costumbre, en la presencia de solventes o diluyentes, incluyendo, por ejemplo, solventes o diluyentes que sean inertes hacia los reactivos utilizados y los disuelvan, en ausencia o en la presencia de catalizadores, agentes de condensación o neutralizantes, por ejemplo, intercambiadores de iones, tales como intercambiadores de cationes, por ejemplo, en la forma de H⁺, dependiendo de la naturaleza de la reacción y/o de los reactivos, a temperatura reducida, normal, o elevada, por ejemplo, en un intervalo de temperatura de aproximadamente -100°C a aproximadamente 190°C, incluyendo, por ejemplo, de aproximadamente -80°C a aproximadamente 150°C, por ejemplo, de -80°C a -60°C, a temperatura ambiente, de -20°C a 40°C, o a la temperatura de reflujo, bajo presión atmosférica o en un recipiente cerrado, en donde sea apropiado bajo presión, y/o en una atmósfera inerte, por ejemplo, bajo una atmósfera de argón o de nitrógeno. En todas las etapas de las reacciones, las mezclas de isómeros que se formen se pueden separar en los isómeros individuales, por ejemplo, los diaestereoisómeros o enantiómeros, o en cualesquiera mezclas de isómeros deseadas, por ejemplo, racematos o mezclas de diaestereoisómeros, por ejemplo, de una manera análoga a los métodos descritos bajo "Pasos adicionales del proceso".

Los solventes a partir de los cuales se pueden seleccionar aquellos solventes que sean adecuados para cualquier reacción particular, incluyen aquéllos mencionados específicamente o, por ejemplo, agua, ésteres, tales como alcanos inferiores de alquilo inferior, por ejemplo, acetato de etilo, éteres, tales como éteres alifáticos, por ejemplo, dietil-éter, o éteres cíclicos, por ejemplo, tetrahidrofurano (THF) o dioxano, hidrocarburos aromáticos líquidos, tales como benceno o tolueno, alcoholes, tales como metanol (MeOH), etanol o 1- o 2-propanol, nitrilos, tales como acetonitrilo, hidrocarburos halogenados, tales como cloruro de metileno o cloroformo, amidas de ácido, tales como N,N-dimetil-formamida (DMF) o dimetil-acetamida, bases, tales como bases de nitrógeno heterocíclicas, por ejemplo, piridina o N-metil-pirrolidin-2-ona, anhídridos de ácido carboxílico, tales como anhídridos del ácido alcanico inferior, por ejemplo, anhídrido acético, hidrocarburos cíclicos, lineales o ramificados, tales como ciclohexano, hexano o isopentano, metil-ciclohexano, o las mezclas de estos solventes, por ejemplo, soluciones acuosas, a menos que se indique de otra manera en la descripción de los procesos. Estas mezclas de solventes también se pueden utilizar en el procesamiento, por ejemplo, mediante cromatografía o división.

Los compuestos de la presente invención, incluyendo sus sales, también se pueden obtener en la forma de hidratos, o sus cristales pueden incluir, por ejemplo, al solvente utilizado para la cristalización. Puede haber diferentes formas cristalinas presentes.

La divulgación se refiere también a las formas del proceso en donde se utiliza como material de partida un compuesto que se pueda obtener como un intermediario en cualquier etapa del proceso, y se llevan a cabo los pasos restantes del proceso, o en donde se forma un material de partida bajo las condiciones de reacción o se utiliza en la forma de un derivado, por ejemplo, en una forma protegida o en la forma de una sal, o se produce un compuesto que se pueda obtener mediante el proceso de acuerdo con la invención bajo las condiciones del proceso y se procesa adicionalmente *in situ*.

Todos los materiales de partida, bloques de construcción, reactivos, ácidos, bases, los agentes deshidratantes, solventes, y catalizadores utilizados para la síntesis de los compuestos de la presente invención, están comercialmente disponibles, o se pueden producir mediante los métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto ordinario en este campo (Houben-Weyl, 4ª Edición, 1952, Methods of Organic Synthesis, Thieme, Volumen 21).

El término "un isómero óptico" o "un estereoisómero" se refiere a cualquiera de las diversas configuraciones estereoisoméricas, las cuales pueden existir para un compuesto dado de la presente invención, e incluyen los isómeros geométricos. Se entiende que un sustituyente se puede unir en un centro quiral de un átomo de carbono. El término "quiral" se refiere a las moléculas que tienen la propiedad de no poderse superponer en su compañera de imagen de espejo, mientras que el término "aquiral" se refiere a las moléculas que se pueden superponer en su compañera de imagen de espejo. Por consiguiente, la invención incluye los enantiómeros, diaestereómeros o racematos del compuesto. "Enantiómeros" son un par de estereoisómeros que son imágenes de espejo que no se pueden superponer una en la otra. Una mezcla de 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla "racémica". El término se utiliza para designar una mezcla racémica donde sea apropiado. "Diaestereoisómeros" son estereoisómeros que tienen cuando menos dos átomos asimétricos, pero que no son imágenes de espejo uno del otro. La estereoquímica absoluta se especifica de acuerdo con el sistema R-S de Cahn-Ingold-Prelog. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica en cada átomo de carbono quiral se puede especificar con R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta se desconozca, se pueden designar como (+) o (-), dependiendo de la dirección (dextrógira o levógira), en la que gire la luz polarizada en el plano a la longitud de onda de la línea D de sodio. Algunos compuestos descritos en la presente contienen uno o más centros o ejes asimétricos, y por lo tanto, pueden dar lugar a enantiómeros, diaestereómeros, y otras formas estereoisoméricas que puedan definirse, en términos de estereoquímica absoluta, como (R) o (S).

Dependiendo de la elección de los materiales de partida, y de los procedimientos, los compuestos pueden estar presentes en la forma de uno de los posibles isómeros o como mezclas de los mismos, por ejemplo, como los isómeros ópticos puros, o como mezclas de isómeros, tales como racematos y mezclas de diaestereoisómeros, dependiendo del número de átomos de carbono asimétricos. La presente invención pretende incluir todos los posibles estereoisómeros, incluyendo las mezclas racémicas, las mezclas diaestereoméricas, y las formas ópticamente puras. Los isómeros (R), y (S) ópticamente activos se pueden preparar utilizando sintones quirales o reactivos quirales, o se pueden resolver empleando las técnicas convencionales. Si el compuesto contiene un doble enlace, el sustituyente puede estar en la configuración E o Z. Si el compuesto contiene un cicloalquilo disustituido, el sustituyente de cicloalquilo puede tener una configuración cis o trans. También se pretende incluir todas las formas tautoméricas.

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

Cualesquiera racematos resultantes de los productos finales o intermediarios se pueden resolver en los antípodas ópticos mediante los métodos conocidos, por ejemplo, mediante la separación de las sales diaestereoméricas de los

mismos, obtenidas con un ácido o una base ópticamente activa, y la liberación del compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, por consiguiente, se puede emplear una fracción básica para resolver los compuestos de la presente invención en sus antípodas ópticas, por ejemplo, mediante la cristalización fraccionaria de una sal formada con un ácido ópticamente activo, por ejemplo, ácido tartárico, ácido dibenzoil-tartárico, ácido diacetil-tartárico, ácido di-O,O'-p-toluoil-tartárico, ácido mandélico, ácido málico o ácido alcanfor-10-sulfónico. Los productos racémicos también se pueden resolver mediante cromatografía quiral, por ejemplo, cromatografía de líquidos a alta presión (HPLC), utilizando un adsorbente quiral.

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

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

Como se utilizan en la presente, los términos "sal" o "sales" se refieren a una sal de adición de ácido o de adición de base de un compuesto de la presente invención. Las "sales" incluyen en particular, las "sales farmacéuticamente aceptables". El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales que conservan la efectividad biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención, y que típicamente no son biológicamente o de otra manera indeseables. En muchos casos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales de ácido y/o de base en virtud de la presencia de los grupos amino y/o carboxilo, o grupos similares a los mismos.

Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden formar con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ejemplo, las sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, alcanfor-sulfonato, cloruro/clorhidrato, clorteofilonato, citrato, etan-disulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, lauril-sulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metil-sulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato ácido/fosfato diácido, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfosalicilato, tartrato, tosilato y trifluoro-acetato.

Los ácidos inorgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares.

Los ácidos orgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metan-sulfónico, ácido etan-sulfónico, ácido toluen-sulfónico, ácido sulfosalicílico, y similares. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables se pueden formar con bases inorgánicas y orgánicas.

Las bases inorgánicas a partir de las cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, las sales de amonio y de los metales a partir de las columnas I a XII de la tabla Periódica. En ciertas realizaciones, las sales se derivan de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, zinc, y cobre; las sales particularmente adecuadas incluyen las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.

Las bases orgánicas a partir de las cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias, y terciarias, aminas sustituidas, incluyendo las aminas sustituidas que se presentan naturalmente, aminas cíclicas, resinas básicas de intercambio de iones, y similares. Ciertas aminas orgánicas incluyen isopropil-amina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietil-amina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir de una fracción básica o ácida, mediante los métodos químicos convencionales. En términos generales, estas sales se pueden preparar mediante la reacción de las formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tal como hidróxido, carbonato, o bicarbonato de Na, Ca, Mg, o K, o similares), o mediante la reacción de las formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Estas reacciones típicamente se llevan a cabo en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos. En términos generales, es recomendable el uso de medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo, cuando sea practicable. Las listas de las sales adecuadas adicionales se pueden encontrar, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20a Edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1985); y

en "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" por Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

Cualquier fórmula dada en la presente, también pretende representar las formas no marcadas así como las formas isotópicamente marcadas de los compuestos de la presente invención. Los compuestos isotópicamente marcados tienen las estructuras ilustradas por las fórmulas dadas en la presente, excepto que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tenga una masa atómica o número de masa seleccionados. Los ejemplos de los isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención incluyen los isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I , respectivamente. La invención incluye diferentes compuestos isotópicamente marcados de la presente invención, por ejemplo, aquéllos en donde están presentes isótopos radioactivos, tales como ^3H y ^{14}C , o aquéllos en donde están presentes isótopos no radioactivos, tales como ^2H y ^{13}C . Estos compuestos isotópicamente marcados son útiles en los estudios metabólicos (con ^{14}C), en los estudios de cinética de reacción (con, por ejemplo, ^2H o ^3H), en las técnicas de detección o de formación de imágenes, tales como tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada con emisión de un solo fotón (SPECT), incluyendo los ensayos de distribución del fármaco o del sustrato en el tejido, o en el tratamiento radioactivo de los pacientes. En particular, un compuesto marcado con ^{18}F de la presente invención puede ser particularmente deseable para los estudios de PET o SPECT. Los compuestos isotópicamente marcados de la presente invención se pueden preparar en términos generales mediante las técnicas convencionales conocidas por los expertos en este campo o mediante procesos análogos a aquéllos descritos en los ejemplos y en las preparaciones acompañantes, utilizando un reactivo isotópicamente marcado apropiado en lugar del reactivo no marcado previamente empleado.

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

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

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

Los compuestos de la presente invención inhiben la isoforma gamma de PI3-quinasa selectivamente como se indica en las pruebas *in vitro* e *in vivo* proporcionadas en la presente.

Por consiguiente, los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de afecciones que sean mediadas por la activación de la isoforma gamma de PI3-quinasa, en particular afecciones inflamatorias o alérgicas.

Los compuestos de la presente invención son útiles en el tratamiento de enfermedades inflamatorias u obstructivas de las vías respiratorias, que dan como resultado, por ejemplo, la reducción del daño del tejido, de la inflamación de las vías respiratorias, de la hiper-reactividad bronquial, de la remodelación, o del progreso de la enfermedad. Las enfermedades inflamatorias u obstructivas de las vías respiratorias a las que es aplicable la presente invención incluyen asma de cualquier tipo o génesis, incluyendo tanto asma intrínseco (no alérgico) como asma extrínseco (alérgico), asma leve, asma moderado, asma severo, asma bronquítico, asma inducido por ejercicio, asma ocupacional, y asma inducido en seguida de infección bacteriana. También se debe entender que el tratamiento de

asma abarca el tratamiento de sujetos, por ejemplo, de menos de 4 o 5 años de edad, que exhiban síntomas de jadeo y sean diagnosticados o diagnosticables como "bebés jadeantes", una categoría de paciente establecida de importante preocupación médica y ahora identificada una con frecuencia como asmáticos incipientes o en fase temprana. (Para mayor conveniencia, esta condición asmática particular es referida como "síndrome de bebé jadeante").

La eficacia profiláctica en el tratamiento de asma será evidenciada por una frecuencia o severidad reducida del ataque sintomático, por ejemplo, del ataque asmático agudo o broncoconstrictor, mejora en la función pulmonar, o mejor hiper-reactividad de las vías respiratorias. Además puede ser evidenciada por un requerimiento reducido de otra terapia sintomática, es decir, terapia para, o pretendida para, restringir o abortar el ataque sintomático cuando se presente, por ejemplo, anti-inflamatoria (por ejemplo, corticosteroides) o broncodilatadora. El beneficio profiláctico en asma puede ser evidente en particular en los sujetos susceptibles al "ahogamiento matutino". El "ahogamiento matutino" es un síndrome asmático reconocido, común a un porcentaje sustancial de asmáticos, y caracterizado por ataque de asma, por ejemplo, entre las horas de aproximadamente 4 a 6 am, es decir, en un tiempo por lo regular sustancialmente distante de cualquier terapia de asma sintomática previamente administrada.

Otras enfermedades y afecciones inflamatorias u obstructivas de las vías respiratorias a las que es aplicable la presente invención incluyen lesión pulmonar aguda (ALI), síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos/aguda (ARDS), enfermedad pulmonar obstructiva crónica, de las vías respiratorias, o del pulmón (COPD, COAD o GOLD), incluyendo bronquitis crónica o disnea asociada con la misma, enfisema, así como exacerbación de hiper-reactividad de las vías respiratorias a consecuencia de otra terapia con fármacos, en particular otra terapia con fármacos inhalados. La invención también es aplicable al tratamiento de bronquitis de cualquier tipo o génesis, incluyendo, por ejemplo, bronquitis aguda, araquídica, catarral, cruposa, crónica, o fitoide. Otras enfermedades inflamatorias u obstructivas de las vías respiratorias a las que es aplicable la presente invención incluyen neumoconiosis (una enfermedad inflamatoria, comúnmente ocupacional, de los pulmones, con frecuencia acompañada por obstrucción de las vías respiratorias, ya sea crónica o aguda, y ocasionada por la inhalación repetida de polvos) de cualquier tipo o génesis, incluyendo, por ejemplo, aluminosis, antracosis, asbestosis, calicosis, ptilosis, siderosis, silicosis, tabacosis y bisinosis.

Teniendo consideración de su actividad anti-inflamatoria, en particular en relación con la inhibición de la activación de los eosinófilos, los compuestos de la presente invención son también útiles en el tratamiento de los trastornos relacionados con los eosinófilos, por ejemplo, eosinofilia, en particular trastornos relacionados con los eosinófilos de las vías respiratorias (por ejemplo, que involucren infiltración eosinofílica patológica de los tejidos pulmonares), incluyendo hipereosinofilia como afecta a las vías respiratorias y/o a los pulmones, así como, por ejemplo, trastornos relacionados con los eosinófilos de las vías respiratorias a consecuencia de, o concomitantes con, síndrome de Löffler, neumonía eosinofílica, infestación parasitaria (en particular de metazoarios) (incluyendo eosinofilia tropical), aspergilosis broncopulmonar, poliartritis nodosa (incluyendo síndrome de Churg-Strauss), granuloma eosinofílico, y trastornos relacionados con los eosinófilos que afecten a las vías respiratorias ocasionados por reacción a fármacos.

Los compuestos de la presente invención son también útiles en el tratamiento de afecciones inflamatorias o alérgicas de la piel, por ejemplo, psoriasis, dermatitis por contacto, dermatitis atópica, alopecia areata, eritema multiforme, dermatitis herpetiforme, esclerodermia, vitiligo, angeítis por hipersensibilidad, urticaria, penfigoide bulloso, lupus eritematoso, pénfigo, epidermólisis bullosa adquirida, y otras afecciones inflamatorias o alérgicas de la piel.

Los compuestos de la presente invención también se pueden utilizar para el tratamiento de otras enfermedades o afecciones, en particular, las enfermedades o afecciones que tengan un componente inflamatorio, por ejemplo, el tratamiento de enfermedades y afecciones de los ojos, tales como conjuntivitis, queratoconjuntivitis sicca, y conjuntivitis vernal, enfermedades que afecten a la nariz, incluyendo rinitis alérgica, y la enfermedad inflamatoria en donde estén implicadas reacciones autoinmunes o que tenga un componente o etiología autoinmune, incluyendo trastornos hematológicos autoinmunes (por ejemplo, anemia hemolítica, anemia aplásica, anemia de glóbulos rojos puros, y trombocitopenia idiopática), lupus eritematoso sistémico, policondritis, esclerodermia, granulomatosis de Wegener, dermatomiositis, hepatitis activa crónica, miastenia grave, síndrome de Steven-Johnson, prurito idiopático, enfermedad inflamatoria autoinmune del intestino (por ejemplo, colitis ulcerativa y la enfermedad de Crohn), oftalmopatía endocrina, enfermedad de Graves, sarcoidosis, alveolitis, neumonitis por hipersensibilidad crónica, esclerosis múltiple, cirrosis biliar primaria, uveítis (anterior y posterior), queratoconjuntivitis sicca y queratoconjuntivitis vernal, fibrosis pulmonar intersticial, artritis psoriásica y glomerulonefritis (con y sin síndrome nefrótico, por ejemplo, incluyendo síndrome nefrótico idiopático o nefropatía de cambios mínimos).

Otras enfermedades o afecciones que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención incluyen trombosis, hipertensión, isquemia cardíaca y pancreatitis, (Nature review, Noviembre 2006, Volumen 5), el tratamiento de anemia, incluyendo anemia hemolítica, anemia aplásica y anemia de glóbulos rojos puros (Publicación Internacional Número WO 2006/040318), choque séptico, artritis reumatoide, osteoartritis, enfermedades proliferativas, tales como cáncer, aterosclerosis, rechazo de aloinjerto en seguida de trasplante, embolia, obesidad, restenosis, diabetes, por ejemplo, diabetes mellitus tipo I (diabetes juvenil), y diabetes mellitus

tipo II, enfermedades diarreicas, isquemia/lesiones por reperfusión, retinopatía, tal como retinopatía diabética o retinopatía inducida por oxígeno hiperbárico, y condiciones caracterizadas por presión intraocular elevada o secreción de humor acuoso ocular, tales como glaucoma.

5 Los agentes de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento o en la prevención de insuficiencia cardíaca, tal como insuficiencia cardíaca congestiva (aguda, y crónica), disfunción de ventrículo izquierdo incluyendo contractilidad cardíaca deteriorada, cardiomiopatía hipertrófica, miopatía cardíaca diabética y otros tipos de disfunción y remodelación cardíaca perjudicial.

10 Otras enfermedades o afecciones que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención incluyen choque séptico, artritis reumatoide, osteoartritis, enfermedades proliferativas, tales como cáncer, aterosclerosis, rechazo de aloinjerto en seguida de trasplante, embolia, obesidad, restenosis, diabetes, por ejemplo, diabetes mellitus tipo I (diabetes juvenil), y diabetes mellitus tipo II, enfermedades diarreicas, isquemia/lesiones por reperfusión, retinopatía, tal como retinopatía diabética o retinopatía inducida por oxígeno hiperbárico, y condiciones caracterizadas por presión intraocular elevada o secreción de humor acuoso ocular, tales como glaucoma.

15 Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles en el tratamiento de los trastornos viscerales, enfermedad inflamatoria del intestino, trastorno inflamatorio del intestino, cistitis, por ejemplo, cistitis intersticial e incontinencia urinaria, incluyendo hiper-reflexia del detrusor de la vejiga e hiper-sensibilidad de la vejiga.

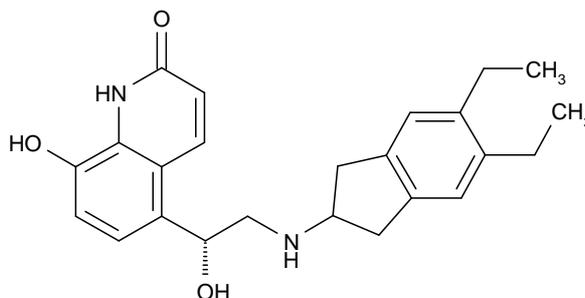
20 La efectividad de un agente de la invención, en la inhibición de las afecciones inflamatorias, por ejemplo, en las enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias, se puede demostrar en un modelo animal, por ejemplo, un modelo de ratón o de rata, de la inflamación de las vías respiratorias u otras afecciones inflamatorias, por ejemplo, como es descrito por Szarka et al., *J. Immunol. Methods* (1997) 202:49-57; Renzi et al., *Am. Rev. Respir. Dis.* (1993) 148:932-939; Tsuyuki et al., *J. Clin. Invest.* (1995) 96:2924-2931; y Cernadas et al. (1999) *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 20:1-8.

25 Los compuestos de la presente invención también son útiles como co-agentes terapéuticos para utilizarse en combinación con otras sustancias de fármaco, tales como sustancias de fármaco anti-inflamatorias, broncodilatadoras o antihistamínicas, en particular en el tratamiento de enfermedades obstructivas o inflamatorias de las vías respiratorias, tales como aquéllas mencionadas anteriormente en la presente, por ejemplo, como potenciadores de la actividad terapéutica de tales fármacos, o como un medio para reducir la dosificación requerida o los efectos secundarios potenciales de estos fármacos. Un agente de la invención se puede mezclar con la otra sustancia de fármaco en una composición farmacéutica, o se puede administrar por separado, antes, de una manera simultánea con, o después de la otra sustancia de fármaco. De conformidad con lo anterior, la invención incluye una combinación de un agente de la invención, como se describe anteriormente en la presente, con una sustancia de fármaco anti-inflamatoria, broncodilatadora o antihistamínica, estando este agente de la invención y la sustancia de fármaco mencionada en la misma o diferente composición farmacéutica.

35 Las combinaciones de los inhibidores de PI3-quinasa con fármacos anti-inflamatorios útiles son aquéllas con antagonistas de los receptores de quimiocina, por ejemplo, CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7, CCR-8, CCR-9 y CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, en particular, los antagonistas de CCR-5, tales como los antagonistas Schering-Plough SC-351125, SCH-55700 y SCH-D; los antagonistas Takeda, tales como cloruro de N-[[4-[[[6,7-dihidro-2-(4-metil-fenil)-5H-benzo-ciclohepten-8-il]-carbonil]-amino]-fenil]-metil]-tetrahydro-N,N-dimetil-2H-piran-4-aminio (TAK-770); y los antagonistas de CCR-5 descritos en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número USP6,166,037 (en particular en las reivindicaciones 18 y 19), en la Publicación Internacional Número WO 00/66558 (en particular en la reivindicación 8), en la Publicación Internacional Número WO 00/66559 (en particular en la reivindicación 9), y en las Publicaciones Internacionales Números WO 04/018425 y WO 04/026873.

45 Los fármacos anti-inflamatorios adecuados incluyen esteroides, en particular, glucocorticosteroides, tales como budesonida, dipropionato de beclometasona, propionato de fluticasona, ciclesonida, o furoato de mometasona, o los esteroides descritos en las Publicaciones Internacionales Números WO 02/88167, WO 02/12266, WO 02/100879, WO 02/00679 (en especial aquéllos de los ejemplos 3, 11, 14, 17, 19, 26, 34, 37, 39, 51, 60, 67, 72, 73, 90, 99 y 101), WO 03/35668, WO 03/48181, WO 03/62259, WO 03/64445, WO 03/72592, WO 04/39827 y WO 04/66920; agonistas del receptor de glucocorticoide no esteroideos, tales como aquéllos descritos en la Patente Número DE 10261874, y en las Publicaciones Internacionales Números WO 00/00531, WO 02/10143, WO 03/82280, WO 03/82787, WO 03/86294, WO 03/104195, WO 03/101932, WO 04/05229, WO 04/18429, WO 04/19935 y WO 04/26248; antagonistas de LTD4, tales como montelukast y zafirlukast; inhibidores de PDE4, tales como cilomilast (Ariflo® GlaxoSmithKline), Roflumilast (Byk Gulden), V-11294A (Napp), BAY19-8004 (Bayer), SCH-351591 (Schering-Plough), Arofilina (Almirall Prodesfarma), PD189659/ PD168787 (Parke-Davis), AWD-12-281 (Asta Medica), CDC-801 (Celgene), SeICID^{MR} CC-10004 (Celgene), VM554/UM565 (Vernalis), T-440 (Tanabe), KW-4490 (Kyowa Hakko Kogyo), y los que se dan a conocer en las Publicaciones Internacionales Números WO 92/19594, WO 93/19749, WO 93/19750, WO 93/19751, WO 98/18796, WO 99/16766, WO 01/13953, WO 03/104204, WO 03/104205, WO 03/39544, WO 04/000814, WO 04/000839, WO 04/005258, WO 04/018450, WO 04/018451, WO

04/018457, WO 04/018465, WO 04/018431, WO 04/018449, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/019944, WO 04/019945, WO 04/045607 y WO 04/037805; antagonistas del receptor de adenosina A2B, tales como aquéllos descritos en la Publicación Internacional Número WO 02/42298; y agonistas del adreno-receptor beta-2, tales como albuterol (salbutamol), metaproterenol, terbutalina, salmeterol, fenoterol, procaterol, y en especial, formoterol, carmoterol y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y los compuestos (en forma libre o de sal o de solvato) de la fórmula (I) de la Publicación Internacional Número WO 0075114, cuyo documento se incorpora a la presente como referencia, de preferencia, los compuestos de los ejemplos del mismo, en especial un compuesto de la fórmula:



10 que corresponde a indacaterol, y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, así como los compuestos (en forma libre o de sal o de solvato) de la fórmula (I) de la Publicación Internacional Número WO 04/16601, y también los compuestos de la Patente Europea Número EP 1440966, de la Patente Japonesa Número JP 05025045, y de las Publicaciones Internacionales Números WO 93/18007 y WO 99/64035, de la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número USP 2002/0055651, y de las Publicaciones Internacionales Números WO 01/42193, WO 01/83462, WO 02/66422, WO 02/70490, WO 02/76933, WO 03/24439, WO 03/42160, WO 03/42164, WO 03/72539, WO 03/91204, WO 03/99764, WO 04/16578, WO 04/22547, WO 04/32921, WO 04/33412, WO 04/37768, WO 04/37773, WO 04/37807, WO 04/39762, WO 04/39766, WO 04/45618, WO 04/46083, WO 04/80964, WO 04/108765 y WO 04/108676.

20 Los fármacos broncodilatadores adecuados incluyen a los agentes anticolinérgicos o antimuscarínicos, en particular, bromuro de ipratropio, bromuro de oxitropio, sales de tiotropio y CHF 4226 (Chiesi), y glicopirrolato, pero también aquéllos descritos en las Patentes Números EP 424021, USP 3,714,357, USP 5,171,744 y en las Publicaciones Internacionales Números WO 01/04118, WO 02/00652, WO 02/51841, WO 02/53564, WO 03/00840, WO 03/33495, WO 03/53966, WO 03/87094, WO 04/018422 y WO 04/05285.

25 Los fármacos anti-inflamatorios y broncodilatadores dobles adecuados incluyen los agonistas del adreno-receptor beta-2 / antagonistas muscarínicos dobles, tales como aquéllos que se dan a conocer en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número USP 2004/0167167, y en las Publicaciones Internacionales Números WO 04/74246 y WO 04/74812.

30 Las sustancias de fármaco anti-histamínicas adecuadas incluyen clorhidrato de cetirizina, acetaminofeno, fumarato de clemastina, prometazina, loratidina, desloratidina, difenhidramina y clorhidrato de fexofenadina, activastina, astemizol, azelastina, ebastina, epinastina, mizolastina y tefenadina, así como aquéllas que se dan a conocer en la Patente Japonesa Número JP 2004107299, y en las Publicaciones Internacionales Números WO 03/099807 y WO 04/026841. Los inhibidores de PI3-quinasa, por ejemplo, estos compuestos de la invención se pueden combinar con un bloqueador de los receptores de angiotensina, por ejemplo, valsartan (un bloqueador de los receptores de angiotensina), y se puede lograr un mayor efecto terapéutico que con la administración de valsartan solo. El régimen de combinación también reduce de una manera sorprendente el índice de progreso del daño del órgano final cardíaco, renal y cerebral. La combinación produce mejores efectos anti-hipertensivos (ya sea hipertensión maligna, esencial, reno-vascular, diabética, sistólica aislada, u otro tipo de hipertensión secundaria), y disminución de la presión del pulso. La combinación también es efectiva en el tratamiento de arritmias supraventriculares y ventriculares, fibrilación auricular, flúter auricular, o remodelación vascular perjudicial. Además, se puede demostrar que la combinación es benéfica en el tratamiento, y la prevención de infarto de miocardio y sus secuelas, Y es útil en el tratamiento de aterosclerosis, angina (ya sea estable o inestable), insuficiencia renal (diabética y no diabética), enfermedad vascular periférica, disfunción cognitiva y embolia. Adicionalmente, la mejora en la función endotelial con la terapia de combinación proporciona beneficios en las enfermedades en donde esté alterada la función endotelial normal, tales como insuficiencia cardíaca, angina de pecho y diabetes. Adicionalmente, la combinación se puede utilizar para el tratamiento o la prevención de hipertensión pulmonar primaria y secundaria, condiciones de insuficiencia renal, tales como nefropatía diabética, glomerulonefritis, esclerodermia, esclerosis glomerular, proteinuria de enfermedad renal primaria, y también hipertensión vascular renal, retinopatía diabética, el manejo de otros trastornos vasculares, tales como migraña, enfermedad vascular periférica, enfermedad de Raynaud, hiperplasia luminal, disfunción cognitiva (tal como enfermedad de Alzheimer), glaucoma, y embolia.

Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles en el tratamiento de las enfermedades o los trastornos mediados por las interacciones de los linfocitos, por ejemplo, en trasplante, tales como rechazo agudo o crónico de alo- o xeno-injertos de células, tejidos u órganos, o función demorada del injerto, enfermedad del injerto contra el huésped, enfermedades autoinmunes, por ejemplo, la artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia grave, diabetes tipo I o II y los trastornos asociados con la misma, vasculitis, anemia perniciosa, síndrome de Sjogren, uveítis, oftalmopatía de Graves, alopecia areata y otras enfermedades inflamatorias opcionalmente con reacciones aberrantes subyacentes, por ejemplo, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa, asma intrínseco, lesión inflamatoria del pulmón, lesión inflamatoria del hígado, lesión inflamatoria glomerular, aterosclerosis, osteoartritis y otras dermatitis eczematosas, dermatitis seborreica, manifestaciones cutáneas de trastornos inmunológicamente mediados, enfermedad inflamatoria de los ojos, miocarditis o hepatitis, isquemia intestinal, choque traumático, cáncer, por ejemplo, cáncer de mama, linfomas de células-T o leucemias de células-T, enfermedades infecciosas, por ejemplo, choque tóxico (por ejemplo, inducido por súper-antígeno), choque séptico, síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos o infecciones virales, por ejemplo, SIDA, hepatitis viral, la infección bacteriana crónica, o demencia senil. Los ejemplos de los trasplantes de células, tejidos, u órganos sólidos incluyen, por ejemplo, islotes pancreáticos, las células madre, médula ósea, tejido córneo, tejido neuronal, corazón, pulmón, corazón-pulmón combinados, riñón, hígado, intestino, páncreas, tráquea o esófago.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en conjunto con, por ejemplo, como un adyuvante para, otros fármacos, por ejemplo, agentes inmunosupresores o inmunomoduladores u otros agentes anti-inflamatorios, por ejemplo, para el tratamiento o la prevención de rechazo agudo o crónico de alo- o xeno-injerto, o de trastornos inflamatorios o autoinmunes. Por ejemplo, los compuestos de la fórmula I se pueden utilizar en combinación con un inhibidor de calcineurina, por ejemplo, ciclosporina A o FK 506; un inhibidor de mTOR, por ejemplo, rapamicina, 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina, CCI779, ABT578, AP23573, biolimus-7 o biolimus-9; una ascomicina con propiedades inmunosupresoras, por ejemplo, ABT-281 o ASM981; corticosteroides; ciclofosfamida; azatiopreno; metotrexato; leflunomida; mizoribina; ácido micofenólico o su sal; micofenolato-mofetil; 15-desoxiespergualina o un homólogo, análogo o derivado inmunosupresor de la misma; un inhibidor de la quinasa C de proteína (PKC), por ejemplo, como se da a conocer en las Publicaciones Internacionales Números WO 02/38561 o WO 03/82859, por ejemplo, el compuesto del ejemplo 56 o 70; un inhibidor de quinasa JAK3, por ejemplo, N-bencil-3,4-dihidroxi-benciliden-ciano-acetamida / α -ciano-(3,4-dihidroxi)-N-bencil-cinamamida (Tirfostina AG 490), prodigiosina 25-C (PNU156804), [4-(4'-hidroxi-fenil)-amino-6,7-dimetoxi-quinazolina] (WHI-P131), [4-(3'-bromo-4'-hidroxi-fenil)-amino-6,7-dimetoxi-quinazolina] (WHI-P154), [4-(3',5'-dibromo-4'-hidroxi-fenil)-amino-6,7-dimetoxi-quinazolina] WHI-P97, KRX-211, 3-((3R,4R)-4-metil-3-[metil-(7H-pirrolo-[2,3-d]-pirimidin-4-il)-amino]-piperidin-1-il)-3-oxo-propionitrilo, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, el mono-citrato (también denominado como CP-690,550), o un compuesto como se da a conocer en las Publicaciones Internacionales Números WO 04/052359 o WO 05/066156; un agonista o modulador del receptor S1P, por ejemplo, FTY720 opcionalmente fosforilado o un análogo del mismo, por ejemplo, 2-amino-2-[4-(3-benciloxi-tiofenil)-2-cloro-fenil]-etil-1,3-propanodiol opcionalmente fosforilado, o ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluoro-metil-benciloxi-imino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidín-3-carboxílico o sus sales farmacéuticamente aceptables; anticuerpos monoclonales inmunosupresores, por ejemplo, los anticuerpos monoclonales para los receptores de leucocitos, por ejemplo, MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD28, CD40, CD45, CD52, CD58, CD80, CD86 o sus ligandos; otros compuestos inmunomoduladores, por ejemplo, una molécula de enlace recombinante que tenga cuando menos una porción del dominio extracelular de CTLA4 o un mutante de la misma, por ejemplo, cuando menos una porción extracelular de CTLA4 o un mutante de la misma unida a una secuencia de proteína que no es CTLA4, por ejemplo, CTLA4lg (por ejemplo, designada como ATCC 68629) o un mutante de la misma, por ejemplo, LEA29Y; inhibidores de moléculas de adhesión, por ejemplo, antagonistas de LFA-1, antagonistas de ICAM-1 o -3, antagonistas de VCAM-4 o antagonistas de VLA-4.

Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos viscerales, enfermedad inflamatoria del intestino, trastorno inflamatorio del intestino, cistitis, por ejemplo, cistitis intersticial e incontinencia urinaria, incluyendo hiper-reflexia del detrusor de la vejiga e hiper-sensibilidad de la vejiga.

Los compuestos de la presente invención también se pueden utilizar en el tratamiento de anemia, de acuerdo con la Publicación Internacional Número WO2006/040318.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar por cualquier vía apropiada, por ejemplo, oralmente, por ejemplo, en la forma de una tableta o cápsula; parenteralmente, por ejemplo, intravenosamente; mediante inhalación, por ejemplo, en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria u obstructiva de las vías respiratorias; intranasalmente, por ejemplo, en el tratamiento de rinitis alérgica; tópicamente a la piel, por ejemplo, en el tratamiento de dermatitis atópica; o rectalmente, por ejemplo, en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino.

Por consiguiente, en un aspecto adicional, se proporciona un compuesto de la presente invención, para utilizarse en terapia. En una realización adicional, la terapia se selecciona a partir de una enfermedad o de un trastorno, el cual es mediado por la activación de la isoforma gamma de PI3-quinasa. En una realización adicional, la terapia se

selecciona a partir de una enfermedad que se pueda tratar mediante la inhibición de la isoforma gamma de PI3-quinasa. En otra realización, la terapia se selecciona a partir de una enfermedad que se pueda tratar mediante la inhibición de la isoforma gamma de PI3-quinasa selectivamente sobre la isoforma delta de PI3-quinasa.

5 El término "una cantidad terapéuticamente efectiva" de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, la reducción o inhibición de la actividad de una enzima o de una proteína, o que mitigará los síntomas, aliviará las condiciones, hará más lento o retardará el progreso de la enfermedad, o prevendrá una enfermedad, etc. En una realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, es efectiva para: (1) aliviar, inhibir, prevenir y/o mitigar cuando menos parcialmente una afección, o un trastorno, o una enfermedad (i) mediada por la activación de PI3-quinasa, en particular, la isoforma gamma, o (ii) asociada con la actividad de la isoforma gamma de PI3-quinasa, o (iii) caracterizada por una actividad (normal o anormal) de la isoforma gamma de PI3-quinasa; o (2) reducir o inhibir la actividad de la isoforma gamma de PI3-quinasa. En otra realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a una célula, o a un tejido, o a un material biológico no celular, o a un medio, es efectiva para reducir o inhibir cuando menos parcialmente la actividad de la isoforma gamma de PI3-quinasa.

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

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

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

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

35 Todos los métodos descritos en la presente se pueden llevar a cabo en cualquier orden adecuado, a menos que sea indicado de otra manera en la presente, o que sea claramente contradicho de otra manera por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o del lenguaje del ejemplo (por ejemplo, "tal como")-proporcionados en la presente, pretende meramente iluminar mejor la invención, y no presenta una limitación sobre el alcance de la invención reivindicada de otra manera.

40 Los compuestos de la presente invención pueden ser útiles como productos farmacéuticos y, por consiguiente, usualmente se formulan en la forma de una composición farmacéutica.

Por consiguiente, en otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la presente invención, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

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

50 La composición farmacéutica se puede formular para vías de administración particulares, tales como administración oral, administración parenteral, y administración rectal, etc. Adicionalmente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden hacer en una forma sólida (incluyendo, sin limitación, cápsulas, tabletas, píldoras,

gránulos, polvos o supositorios), o en una forma líquida (incluyendo, sin limitación, soluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas se pueden someter a las operaciones farmacéuticas convencionales, tales como esterilización, y/o pueden contener los diluyentes inertes, los agentes de lubricación, o agentes reguladores del pH convencionales, así como adyuvantes, tales como conservadores, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, y reguladores del pH, etc.

Típicamente, las composiciones farmacéuticas son tabletas o cápsulas de gelatina que comprenden al ingrediente activo junto con:

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

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

c) aglutinantes, por ejemplo, silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metil-celulosa, carboxi-metil-celulosa de sodio y/o polivinil-pirrolidona; si se desea,

d) desintegrantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico, o su sal sódica, o mezclas efervescentes; y / o

e) absorbentes, colorantes, saborizantes y edulcorantes.

Las tabletas se pueden recubrir con película o se pueden recubrir entéricamente de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica. Las composiciones adecuadas para su administración oral incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de la invención, en la forma de tabletas, grageas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones pretendidas para uso oral se preparan de acuerdo con cualquier método conocido en la materia para la elaboración de composiciones farmacéuticas, y estas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados a partir del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes saborizantes, los agentes colorantes, y agentes conservadores, para proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y sabrosas. Las tabletas pueden contener el ingrediente activo en una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la elaboración de tabletas. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegrantes, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido algínico; agentes de enlace, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las tabletas no se recubren, o bien se recubren mediante las técnicas conocidas para retardar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y así proporcionar una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo de tiempo, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral se pueden presentar como cápsulas de gelatina duras en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en donde el ingrediente activo se mezcla con agua o con un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Ciertas composiciones inyectables son soluciones o suspensiones isotónicas acuosas, y los supositorios se preparan convenientemente a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Estas composiciones se pueden esterilizar y/o pueden contener adyuvantes, tales como agentes conservadores, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o reguladores del pH. En adición, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Estas composiciones se preparan de acuerdo con los métodos convencionales de mezcla, granulación, o recubrimiento, respectivamente, y contienen de aproximadamente el 0.1 al 75 %, o contienen de aproximadamente el 1 al 50 % del ingrediente activo.

Las composiciones adecuadas para aplicación transdérmica incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de la invención con un vehículo adecuado. Los vehículos adecuados para suministro transdérmico incluyen solventes farmacéuticamente aceptables absorbibles para ayudar al paso a través de la piel del huésped. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en la forma de un parche que comprende un miembro de respaldo, un depósito que contiene al compuesto opcionalmente con vehículos, opcionalmente una barrera de control de velocidad para suministrar el compuesto de la piel del huésped a una velocidad controlada y previamente determinada durante un período de tiempo prolongado, y elementos para asegurar el dispositivo a la piel.

Las composiciones adecuadas para aplicación tópica, por ejemplo, a la piel y a los ojos, incluyen soluciones acuosas, suspensiones, ungüentos, cremas, geles, o formulaciones en rociables, por ejemplo, para el suministro mediante aerosol o similar. Estos sistemas de suministro tópico serán particularmente apropiados para la aplicación dérmica, por ejemplo, para el tratamiento de cáncer de piel, por ejemplo, para su uso profiláctico en cremas solares, lociones, aspersiones y similares. Por consiguiente, éstas son particularmente adecuadas para utilizarse en formulaciones tópicas, incluyendo cosméticas bien conocidas en este campo. Pueden contener solubilizantes,

estabilizantes, agentes mejoradores de la tonicidad, reguladores y conservadores.

Como se utiliza en la presente, una aplicación tópica también puede pertenecer a una inhalación o a una aplicación intranasal. De una manera conveniente se pueden suministrar en la forma de un polvo seco (ya sea solo, como una mezcla, por ejemplo, una mezcla seca con lactosa, o bien como una partícula componente mezclada, por ejemplo, con fosfolípidos) a partir de un inhalador de polvo seco, o como una presentación de aspersión en aerosol a partir de un recipiente presurizado, bomba, aspersor, atomizador o nebulizador, con o sin el uso de un propelente adecuado.

Cuando la forma inhalable del ingrediente activo, es una composición en aerosol, el dispositivo para inhalación puede ser un frasco de aerosol provisto con una válvula adaptada para suministrar una dosis medida, tal como de 10 a 100 microlitros, por ejemplo, de 25 a 50 microlitros, de la composición, es decir, un dispositivo conocido como un inhalador de dosis medida. Los frascos de aerosol adecuados y los procedimientos para contener dentro de ellos composiciones en aerosol bajo presión son bien conocidos por los expertos en este campo de la terapia de inhalación. Por ejemplo, una composición en aerosol se puede administrar a partir de una lata recubierta, por ejemplo, como se describe en la Patente Europea Número EP-A-0642992. Cuando la forma inhalable del ingrediente activo, es una dispersión acuosa, orgánica, o acuosa/orgánica nebulizable, el dispositivo para inhalación puede ser un nebulizador conocido, por ejemplo, un nebulizador neumático convencional tal como un nebulizador de chorro de aire, o un nebulizador ultrasónico, el cual puede contener por ejemplo de 1 a 50 mililitros, por lo regular de 1 a 10 mililitros, de la dispersión; o un nebulizador manual, algunas veces referido como como un inhalador de niebla suave o aspersión suave, por ejemplo, un dispositivo electrónicamente controlado, tal como un AERx (Aradigm, US) o Aerodose (Aerogen), o un dispositivo mecánico, tal como un nebulizador RESPIMAT (Boehringer Ingelheim), el cual permite tener volúmenes nebulizados mucho más pequeños, por ejemplo, de 10 a 100 microlitros, que los nebulizadores convencionales. Cuando la forma inhalable del ingrediente activo es la forma de partículas finamente divididas, el dispositivo para inhalación puede ser, por ejemplo, un dispositivo para inhalación de polvo seco adaptado para suministrar el polvo seco a partir de una cápsula o burbuja que contenga un polvo seco que comprenda una unidad de dosificación de (a) y/o (b) o un dispositivo para inhalación de polvo seco en múltiples dosis (MDPI) adaptado para suministrar, por ejemplo, de 3 a 25 miligramos del polvo seco que comprenda una unidad de dosificación de (a) y/o (b) por accionamiento. La composición en polvo seco de preferencia contiene un diluyente o vehículo, tal como lactosa, y un compuesto que ayude a proteger contra el deterioro del desempeño del producto debido a la humedad, por ejemplo, estearato de magnesio. Los dispositivos para inhalación de polvo seco adecuados incluyen los dispositivos que se dan a conocer en las Patentes Números US 3991761 (que incluye el dispositivo AEROLIZER^{MR}), Publicación Internacional Número WO 05/113042, Publicación Internacional Número WO 97/20589 (que incluye el dispositivo CERTIHALER^{MR}), Publicación Internacional Número WO 97/30743 (que incluye el dispositivo TWISTHALER^{MR}), y Publicación Internacional Número WO 05/37353 (que incluye el dispositivo GYROHALER^{MR}).

Por consiguiente, la invención también incluye (A) un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una forma inhalable; (B) un medicamento inhalable que comprende un compuesto de la presente invención en una forma inhalable junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable en una forma inhalable; (C) un producto farmacéutico que comprende un compuesto de la presente invención en una forma inhalable en asociación con un dispositivo para inhalación; y (D) un dispositivo para inhalación que contiene un compuesto de la presente invención en una forma inhalable.

Las dosificaciones de los compuestos de la presente invención empleadas en la práctica de la presente invención, desde luego, variarán dependiendo, por ejemplo, de la condición particular que se vaya a tratar, del efecto deseado, y del modo de administración. En general, las dosificaciones diarias adecuadas para la administración mediante inhalación son del orden de 0.0001 a 30 miligramos/kilogramo, típicamente de 0.01 a 10 miligramos por paciente, mientras que para su administración oral, las dosis diarias adecuadas son del orden de 0.01 a 100 miligramos/kilogramo.

La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras, las cuales comprenden los compuestos de la presente invención como ingredientes activos, debido a que el agua puede facilitar la degradación de ciertos compuestos.

Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras de la invención se pueden preparar utilizando ingredientes anhidros o que contengan una baja humedad, y condiciones de baja humedad. Una composición farmacéutica anhidra se puede preparar y almacenar de tal manera que se mantenga su naturaleza anhidra. De conformidad con lo anterior, las composiciones anhidras de preferencia se empaacan utilizando materiales que se sepa que impiden la exposición al agua, de tal modo que se puedan incluir en kits de formulación adecuados. Los ejemplos del empaque adecuado incluyen, pero no se limitan a, láminas herméticamente selladas, plásticos, recipientes de dosis unitaria (por ejemplo, frascos), paquetes de burbujas, y paquetes de tiras.

La invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más agentes que reducen la velocidad a la cual se descompondrá el compuesto de la presente invención, como un ingrediente activo. Estos agentes, que son referidos en la presente como "estabilizantes", incluyen, pero no se

limitan a, antioxidantes, tales como ácido ascórbico, reguladores del pH, o reguladores de sales, etc.

El compuesto de la presente invención se puede administrar ya sea de una manera simultánea con, o antes, o después, de uno o más agentes terapéuticos adicionales. El compuesto de la presente invención se puede administrar por separado, por la misma o diferente vía de administración, o juntos en la misma composición farmacéutica que los otros agentes.

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la presente invención, y cuando menos otro agente terapéutico, por ejemplo, para su uso simultáneo, separado o en secuencia, en terapia. En una realización la terapia es el tratamiento de una enfermedad o de un trastorno mediado por la activación de PI3-quinasa, en particular de la isoforma gamma. Los productos proporcionados como una combinación farmacéutica incluyen una composición que comprende el compuesto de la presente invención y los otros agentes terapéuticos juntos en la misma composición farmacéutica, o el compuesto de la presente invención y los otros agentes terapéuticos en una forma separada, por ejemplo, en la forma de un kit.

En una realización la invención proporciona una combinación farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la presente invención y otros agentes terapéuticos. Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender un excipiente farmacéuticamente aceptable, como se describe anteriormente.

En una realización se proporciona un kit, el cual comprende dos o más composiciones farmacéuticas separadas, cuando menos una de las cuales contiene un compuesto de la presente invención. En una realización el kit comprende medios para conservar por separado estas composiciones, tales como un recipiente, un frasco dividido, o un paquete de lámina dividido. Un ejemplo de este kit es un paquete de burbuja, como se utiliza típicamente para el empaque de tabletas, cápsulas, y similares.

El kit se puede utilizar para administrar formas de dosificación diferentes, por ejemplo, oral y parenteral, para administrar las composiciones separadas en diferentes intervalos de dosificación, o para titular las composiciones separadas una contra la otra. Para ayudar al cumplimiento, el kit de la invención típicamente comprende instrucciones para su administración.

La composición o una combinación farmacéutica de la presente invención puede estar en una dosificación unitaria de aproximadamente 1 a 1,000 miligramos de ingrediente(s) activo(s) para un sujeto de aproximadamente 50 a 70 kilogramos, o de aproximadamente 1 a 500 miligramos, o de aproximadamente 1 a 250 miligramos, o de aproximadamente 1 a 150 miligramos, o de aproximadamente 0.5 a 100 miligramos, o de aproximadamente 1 a 50 miligramos de ingredientes activos. La dosificación terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención, de la composición farmacéutica, o de las combinaciones de los mismos, depende de la especie del sujeto, del peso corporal, de la edad y condición individual, del trastorno o de la enfermedad que se esté tratando, o de la gravedad de la misma. Un médico, clínico, o veterinario de una experiencia ordinaria puede determinar fácilmente la cantidad efectiva de cada uno de los ingredientes activos necesarios para prevenir, tratar o inhibir el progreso del trastorno o de la enfermedad.

Las propiedades de dosificación anteriormente citadas se pueden demostrar en pruebas *in vitro* e *in vivo* utilizando convenientemente mamíferos, por ejemplo, ratones, ratas, perros, monos u órganos aislados, tejidos y preparaciones de los mismos. Los compuestos de la presente invención se pueden aplicar *in vitro* en la forma de soluciones, por ejemplo, soluciones acuosas, e *in vivo* ya sea enteralmente, parenteralmente, intravenosamente, por ejemplo, como una suspensión o en solución acuosa. La dosificación *in vitro* puede estar en el intervalo de concentraciones de entre aproximadamente 10^{-3} molar y 10^{-9} molar. Una cantidad terapéuticamente efectiva *in vivo*, dependiendo de la vía de administración, puede estar en el intervalo de entre aproximadamente 0.1 y 500 miligramos/kilogramo, o de entre aproximadamente 1 y 100 miligramos/kilogramo.

Los antagonistas de PI3-quinasa, tales como los compuestos de la presente invención, también son útiles como co-agentes terapéuticos para utilizarse en combinación con un segundo agente activo, tal como, por ejemplo, un nitrato orgánico y donadores de NO, tales como nitroprusida de sodio, nitroglicerina, mononitrato de isosorbida, dinitrato de isosorbida, molsidomina o SIN-1, y NO por inhalación; los compuestos que inhiben la degradación de monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) y/o monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), tales como los inhibidores de fosfodiesterasas (PDE) 1, 2, 3, 4 y/o 5, en especial los inhibidores de PDE 5, tales como sildenafil, vardenafil y tadalafil; los estimulantes de ciclasa de guanilato independientes de NO, pero dependientes de hem, tales como en particular, los compuestos descritos en las Publicaciones Internacionales Números WO 00/06568, WO 00/06569, WO 02/42301 y WO 03/095451; los activadores de ciclasa de guanilato independientes de NO y hem, tales como en particular, los compuestos descritos en las Publicaciones Internacionales Números WO 01/19355, WO 01/19776, WO 01/19778, WO 01/19780, WO 02/070462 y WO 02/070510; los compuestos que inhiben la elastasa neutrofílica humana, tales como sivelestat o DX-890 (Reltran); los compuestos que inhiben la cascada de transducción de señales, tales como los inhibidores de quinasa de tirosina y/o quinasa de serina/treonina, en particular imatinib, gefitinib, erlotinib, sorafenib y sunitinib; los compuestos que tienen influencia sobre el metabolismo energético del corazón, por ejemplo, y de preferencia, etomoxir, dicloro-acetato, ranolazina o trimetazidina; los agentes anti-

trombóticos, por ejemplo, y de preferencia, a partir del grupo que comprende los inhibidores de la acumulación de plaquetas, los anti-coagulantes o las sustancias profibrinolíticas; las sustancias activas para reducir la presión arterial, por ejemplo, y de preferencia, a partir del grupo que comprende antagonistas de calcio, antagonistas de angiotensina II, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), antagonistas de endotelina, inhibidores de renina, los inhibidores de la sintasa de aldosterona, bloqueadores del receptor alfa, bloqueadores del receptor beta, antagonistas de los receptores mineralocorticoides, los inhibidores de quinasa Rho y diuréticos; y/o las sustancias activas que modifican el metabolismo de lípidos, por ejemplo, y de preferencia, a partir del grupo que comprende agonistas del receptor tiroideo, los inhibidores de la síntesis de colesterol, por ejemplo, y de preferencia, los inhibidores HMG-CoA-reductasa o inhibidores de la síntesis de escualeno, los inhibidores de ACAT, los inhibidores de la proteína de transferencia de colesterol-éster, los inhibidores de MTP, agonistas de PPAR-alfa, PPAR-gamma y/o PPAR-delta, los inhibidores de la absorción de colesterol, los inhibidores de lipasa, adsorbentes poliméricos del ácido biliar, los inhibidores de la reabsorción del ácido biliar y antagonistas de lipoproteína(a) en particular en el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar (PAH) o de enfermedades y trastornos, tales como aquéllos mencionados anteriormente en la presente, por ejemplo, como potenciadores de la actividad terapéutica de tales fármacos, o como un medio para reducir la dosificación requerida o los efectos secundarios potenciales de estos fármacos.

En una realización particular, se proporciona una combinación farmacéutica, la cual comprende los compuestos de la presente invención, y un segundo agente, en donde el segundo agente es un inhibidor de PDE 5 o un inhibidor de la endopeptidasa neutra.

Los compuestos de la presente invención se pueden mezclar con un segundo agente en una composición farmacéutica, o se pueden administrar por separado, antes, de una manera simultánea con, o después de, la otra sustancia de fármaco.

En particular, la invención incluye, en un aspecto adicional, una combinación de un compuesto inhibidor de PI3-quinasa de la presente invención con agentes osmóticos (solución salina hipertónica, dextrano, manitol, xilitol), bloqueadores de ENaC, una sustancia de fármaco anti-inflamatoria, broncodilatadora, anti-histamínica, anti-tusiva, antibiótica y/o de ADNsa, en donde el antagonista de TPH1, y la sustancia de fármaco adicional pueden estar en la misma o diferente composición farmacéutica.

Los antibióticos adecuados incluyen antibióticos de macrólidos, por ejemplo, tobramicina (TOBI^{MR}).

Las sustancias de fármaco de ADNsa adecuadas incluyen dornasa-alfa (Pulmozyme^{MR}), una solución altamente purificada de desoxirribonucleasa humana recombinante I (rhADNsa), la cual disocia selectivamente, el ADN. La dornasa-alfa se utiliza para tratar la fibrosis quística.

De conformidad con lo anterior, la invención incluye, como un aspecto adicional, una combinación de los compuestos inhibidores de PI3-quinasa de la presente invención con segundos agentes que son agonistas de los receptores de IP, en particular, los compuestos que se dan a conocer en la Publicación Internacional Número WO2012/007539.

De conformidad con lo anterior, la invención incluye, como un aspecto adicional, una combinación de los compuestos inhibidores de PI3-quinasa de la presente invención con segundos agentes que son inhibidores de múltiples quinasas, tales como mesilato de imatinib, Gleevec. El imatinib funciona como un inhibidor específico de un número de enzimas de quinasa de tirosina. Ocupa el sitio activo de TK, conduciendo a una disminución en la actividad. Las enzimas de TK en el cuerpo incluyen al receptor de insulina. El imatinib es específico para el dominio TK en el proto-oncogén Abelson, en c-Kit y PDGF-R (receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas).

En una realización particular, se proporciona una combinación farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la presente invención, y un segundo agente activo seleccionado a partir de los inhibidores de fosfodiesterasa V, los inhibidores de la endopeptidasa neutra 1, los inhibidores de ALK-5, los inhibidores de quinasa Rho, los inhibidores de TPH1, los inhibidores de múltiples quinasas, antagonistas de endotelina, diuréticos, bloqueadores de los receptores de aldosterona, y los bloqueadores de los receptores de endotelina.

En otra realización, se proporciona una combinación farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la presente invención, y un segundo agente activo seleccionado a partir de los inhibidores de fosfodiesterasa V, los inhibidores de la endopeptidasa neutra 1, los inhibidores de ALK-5, los inhibidores de quinasa Rho, los inhibidores de TPH1, e inhibidores de múltiples quinasas.

Se ha encontrado que los compuestos de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 13, en donde tanto R³ como R⁴ son H, son metabolitos de los compuestos de la presente invención.

Sección Experimental

Los compuestos de la presente invención se ilustran mediante los siguientes compuestos de ejemplo.

A partir de lo anterior, se apreciará que, aunque se han descrito las realizaciones específicas de la invención en la presente, para propósitos de ilustración, se pueden hacer diferentes modificaciones sin desviarse del espíritu y alcance de la invención. De conformidad con lo anterior, la invención no está limitada excepto por las reivindicaciones adjuntas.

Condiciones generales:

Los espectros de masas se ejecutaron en sistemas de LCMS utilizando ionización por electroaspersión. Éstos fueron ya sea combinaciones de Agilent 1,100 HPLC con un espectrómetro de masas Micromass Platform, o bien Waters Acquity UPLC con un espectrómetro de masas SQD. $[M+H]^+$ se refiere a los pesos moleculares mono-isotópicos.

10 Los espectros de RMN se ejecutaron en los espectrómetros de RMN Bruker AVANCE 400 MHz o 500 MHz utilizando ICON-RMN. Los espectros se midieron a 298K y fueron referenciados utilizando el pico de solvente.

15 Como lo entiende una persona experta en la materia, cuando se ejecuta una ^1H RMN en sulfóxido de dimetilo (DMSO) deuterado para los compuestos de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 36 con $\text{R}^1 = \text{metilo}$, la señal de dichos protones de metilo con frecuencia es oscurecida debido al pico del solvente de sulfóxido de dimetilo (DMSO) en δ de alrededor de 2.5 ppm.

20 Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la invención y no se deben interpretar como limitaciones sobre la misma. Las temperaturas se dan en grados Celsius. Si no se menciona de otra manera, todas las evaporaciones se llevan a cabo bajo presión reducida, de preferencia entre aproximadamente 15 mm Hg y 30 milímetros Hg (= de 20 a 133 mbar). La estructura de los productos finales, intermediarios y materiales de partida, se confirma mediante los métodos analíticos convencionales, por ejemplo, microanálisis y características espectroscópicas, por ejemplo, MS, IR, RMN. Las abreviaturas empleadas son aquéllas convencionales en este campo. Si no se definen, los términos tienen sus significados generalmente aceptados.

Abreviaturas:

	AcOH	ácido acético
25	aq.	acuoso
	br	amplia
	BuOH	butanol
	conc.	concentrado
	d	doblete
30	DCM	dicloro-metano
	DCC	N,N'-diciclohexil-carbodi-imida
	DCE	1,2-dicloro-etano
	DEAD	azodicarboxilato de dietilo
	DIPEA	di-isopropil-etil-amina
35	DMA	dimetil-acetamida
	DME	1,2-dimetoxi-etano
	DMF	N,N-dimetil-formamida
	DMSO	sulfóxido de dimetilo
	Et ₂ O	dietil-éter

	EtOAc	acetato de etilo
	EtOH	etanol
	h	hora(s)
	HATU	hexafluoro-fosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N,N-tetrametil-uronio
5	HOBt.H ₂ O	hidrato de 1-hidroxi-benzotriazol
	HPLC	cromatografía de alto rendimiento de líquidos
	KOAc	acetato de potasio
	KOtBu	terbutóxido de potasio
	LCMS	cromatografía de líquidos y espectrometría de masas
10	MeOH	metanol
	MeCN	acetonitrilo
	MS	espectrometría de masas
	m	multiplete
	min	minutos
15	ml	mililitros
	m/z	proporción de la masa a la carga
	NBS	N-bromo-succinimida
	RMN	resonancia magnética nuclear
	Aducto de PdCl ₂ (dpp).CH ₂ Cl ₂	aducto de [1,1-bis-(difenil-fosfino)-ferroceno]-dicloro-paladio(II) / dicloro-metano
20	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂	dicloruro de bis-(trifenil-fosfina)-paladio(II)
	ppm	partes por millón
	PS	soportado por polímero
	Rt	tiempo de retención
	RT	temperatura ambiente
25	s	singlete
	sat.	saturado
	SCX-2	intercambio de cationes fuertes (por ejemplo, columnas SCX-2 de Isolute® de Biotage)
	t	triplete
	TBME	terbutil-metil-éter
30	TEA	tri-etil-amina
	TFA	ácido trifluoro-acético

THF tetrahidrofurano

TLC cromatografía de capa delgada

5 Haciendo referencia a los siguientes ejemplos, los compuestos de las realizaciones preferidas se sintetizaron empleando los métodos descritos en la presente, u otros métodos que son conocidos en la materia. Los diferentes materiales de partida, intermediarios, y los compuestos de las realizaciones preferidas se pueden aislar y purificar, donde sea apropiado, utilizando técnicas convencionales, tales como precipitación, filtración, cristalización, evaporación, destilación, y cromatografía. A menos que se informe de otra manera, todos los materiales de partida se obtienen con los proveedores comerciales, y se utilizan sin mayor purificación. Las sales se pueden preparar a partir de los compuestos mediante los procedimientos de formación de sales conocidos.

10 Se debe entender que los compuestos orgánicos de acuerdo con las realizaciones preferidas pueden exhibir el fenómeno de tautomerismo. Debido a que las estructuras químicas dentro de esta memoria descriptiva solamente pueden representar una de las posibles formas tautoméricas, se debe entender que las realizaciones preferidas abarcan cualquier forma tautomérica de la estructura dibujada.

15 Cuando se empleó calentamiento con microondas, éste se llevó a cabo utilizando un reactor de microondas Biotage Initiator Sixty en frascos de reacción dedicados, a la temperatura mostrada, y durante el tiempo indicado.

Si no se indica de otra manera, las condiciones de LCMS analítica son como sigue:

Método A

Columna: Cynergi, 2.5 micras, Max-RP100A (20 x 4.0 milímetros).

Fase móvil: A: agua + ácido fórmico al 0.1 % de B: acetonitrilo.

20 Gradiente: de 0.0 a 0.5 minutos con el 20 % de B, de 2.5 a 4.5 minutos con el 95 % de B, 5.0 minutos con el 20 % de B.

Método 2minLC_v003

Columna: Waters BEH, C18, 50 x 2.1 milímetros, 1.7 micras.

Temperatura de columna: 50°C.

25 Eluyentes: A: H₂O, B: acetonitrilo, ambos conteniendo ácido trifluoroacético (TFA) al 0.1 %.

Velocidad de flujo: 0.8 mililitros/minuto.

Gradiente: 0.20 minutos con el 5 % de B; del 5 % al 95 % de B en 1.30 minutos, 0.25 minutos con el 95 % de B.

30 Método 2minBajopH

Columna: Waters Acquity CSH, 1.7 micras, 2.1 x 50 milímetros.

Temperatura de columna: 50°C

Fase móvil: A: agua + ácido fórmico al 0.1 %. B: acetonitrilo + ácido fórmico al 0.1 %.

35 Velocidad de flujo: 1.0 mililitros/minuto.

Gradiente: 0.0 minutos con el 5 % de B, de 0.2 a 1.3 minutos con el 5 al 98 % de B, de 1.3 a 1.55 minutos con el 98 % de B, de 1.55 a 1.6 minutos con el 98 al 5 % de B.

Método 2minBajopHv01

ES 2 667 424 T3

Columna: Waters Acquity CSH, 1.7 micras, 2.1 x 50 milímetros.
Temperatura: 50°C
Fase móvil: A: agua + ácido fórmico al 0.1 %. B: acetonitrilo + ácido fórmico al 0.1 %.

5 Velocidad de flujo: 1.0 mililitros/minuto.

Gradiente: 0.0 minutos con el 5 % de B, de 0.2 a 1.55 minutos con el 5 al 98 % de B, de 1.55 a 1.75 minutos con el 98 % de B, de 1.75 a 1.8 minutos con el 98 al 5 % de B.

Método 2minBajopHv02

10 Columna: Acquity CSH C18, 50 x 2.1 milímetros.
Temperatura: 50°C

Eluyentes: A: agua B: acetonitrilo, ambos + ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 %.

Velocidad de flujo: 1.0 mililitros/minuto.

15 Gradiente: 0.0 minutos con el 5 % de B, de 0.2 a 1.55 minutos con el 5 al 98 % de B, de 1.55 a 1.75 minutos con el 98 % de B, de 1.75 a 1.8 minutos con el 98 al 5 % de B.

Método 10minBajopH

Columna: Waters Acquity CSH, 1.7 micras, 2.1 x 100 milímetros.

20 Temperatura: 50°C

Fase móvil: A: agua + ácido fórmico al 0.1 %. B: acetonitrilo + ácido fórmico al 0.1 %.

Velocidad de flujo: 0.7 mililitros/minuto

25 Gradiente: 0.0 minutos con el 2 % de B, de 0.5 a 8.0 minutos con el 2 al 98 % de B, de 8.0 a 9.0 minutos con el 98 % de B, de 9.0 a 9.1 minutos con el 98 al 2 % de B.

Método10minAltopH

Columna: Waters Acquity CSH, 1.7 µm, 2.1 x 100 mm.

Temperatura: 50°C

30 Fase móvil: A: agua +amoníaco al 0.1 % B: acetonitrilo + amoníaco al 0.1 %.

Velocidad de flujo: 0.7 mililitros/minuto

35 Gradiente: 0.0 minutos con el 2 % de B, de 0.5 a 8.0 minutos con el 2 al 98 % de B, de 8.0 a 9.0 minutos con el 98 % de B, de 9.0 a 9.1 minutos con el 98 al 2 % de B.

Si no se indica de otra manera, las condiciones de HPLC de preparación analítica en fase inversa son como sigue:

Método Gradiente del 10 al 35 % bajo pH

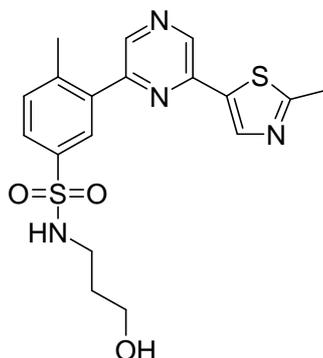
Columna: Waters Sunfire C18, 150 x 30 mm, 5 µm.

Fase móvil: A = ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 % en agua, B = ácido trifluoro-acético (TFA) al 0.1 % en MeCN.

5 Gradiente: de 0.0 a 0.5 minutos con el 10 % de B, 30 mililitros/minuto, de 0.5 a 1.0 minutos con el 10 % de B, de 30 a 50 mililitros/minuto, de 1.0 a 7.25 minutos con el 10 al 35 % de B, de 7.25 a 7.3 minutos con el 35 al 98 % de B, de 7.3 a 8.3 minutos con el 98 % de B, de 8.3 a 8.5 minutos con el 98 al 100 % de B, 50 mililitros/minuto.

Ejemplo 1:

10 N-(3-hidroxi-propil)-4-metil-3-[6-(2-metil-tiazol-5-il)-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida.



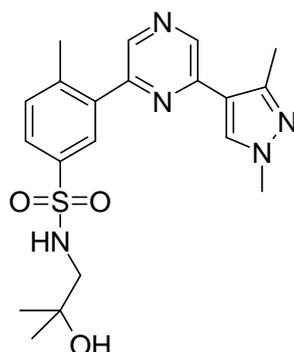
15 A un frasco para microondas de 2 a 5 mililitros se le agregaron 2-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-tiazol (116 mili-gramos, 0.517 milimoles), 2-bromo-6-cloro-pirazina (100 miligramos, 0.517 milimoles), Na₂CO₃ (0.775 mililitros, 1.551 milimoles, 2M), y PdCl₂(dppf). Se agregó un aducto de CH₂Cl₂ (21 miligramos, 0.026 milimoles) en DME (3 mililitros), para dar una suspensión color naranja. La reacción se calentó en un aparato de microondas Biotage Initiator a 120°C durante 60 minutos. A la reacción se le agregaron N-(3-hidroxi-propil)-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida (Intermediario B1) (184 miligramos, 0.517 milimoles), y aducto de PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂ (21 miligramos, 0.026 milimoles). La reacción se calentó en un horno de microondas a 120°C durante 60 minutos. La reacción se extrajo en acetato de etilo, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró, y el solvente se removió bajo presión reducida. El producto crudo se cargó sobre sílice, y se purificó mediante cromatografía en columna por evaporación instantánea utilizando una Teledyne ISCO Combiflash Rf, elución con terbutil-metil-éter (TBME):MeOH (del 0 al 20 %) durante 15 minutos en un cartucho de sílice de 12 gramos. Las fracciones requeridas se combinaron y el solvente se removió bajo presión reducida, para proporcionar un aceite color café, el cual se secó bajo presión reducida a 40°C durante 2 horas. El producto se aisló como un sólido color café.

LCMS: Rt 0.86 minutos; MS m/z 405.2 [M+H]⁺; Método BajopH_v002.

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ (ppm) 9.30 (1H, s), 8.78 (1H, s), 8.57 (1H, s), 7.91 (1H, d), 7.82-7.79 (1H, dd), 7.63-7.61 (1H, d), 7.57-7.54 (1H, m), 4.42-4.40 (1H, m), 3.40-3.35 (2H, m), 2.85-2.80 (2H, m), 2.72 (3H, s), 2.49 (3H, s), 1.57-1.51 (2H, m).

30 Ejemplo 2:

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(2-hidroxi-2-metil-propil)-4-metil-bencen-sulfonamida



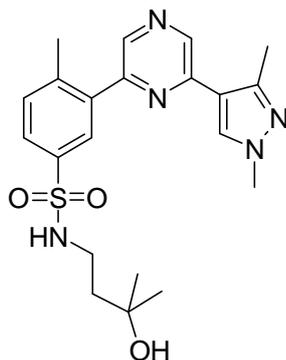
A un frasco para microondas de 0.5 a 2 mililitros se le agregaron N-(2-hidroxi-2-metil-propil)-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida (Intermediario B2) (150 miligramos, 0.406 milimoles), 2-cloro-6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazina (Intermediario C1) (85 miligramos, 0.406 milimoles), PdCl₂(dppf), aducto de CH₂Cl₂ (16.59 miligramos, 0.020 milimoles), Na₂CO₃ acuoso 2M (0.609 mililitros, 1.219 milimoles) en DME (1.3 mililitros). La reacción se calentó a 120°C durante 45 minutos en un reactor de microondas Biotage Initiator (tiempo de sostenimiento fijo activado, agitación previa de 30 segundos, alta absorción). La reacción se combinó con agua (10 mililitros), y se extrajo en EtOAc (10 mililitros). Los extractos orgánicos luego se lavaron con salmuera (15 mililitros) antes de secarse sobre sulfato de magnesio, y se concentraron al vacío. La reacción se purificó mediante cromatografía en columna por evaporación instantánea utilizando una Teledyne ISCO Combiflash Rf, elución con Hexano/EtOAc (del 0 al 100 %) durante 15 minutos en un cartucho de sílice de 12 gramos. Las fracciones requeridas se combinaron y se concentraron al vacío antes de secarse en un horno al vacío a 40°C durante 3 horas, para dar el producto.

LCMS: Rt 0.94 minutos; MS m/z 416.4 [M+H]⁺; Método 2minBajopHv01.

¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO) d (ppm) 8.90 (1H, s), 8.63 (1H, s), 8.41 (1H, s), 7.94 (1H, d), 7.79 (1H, dd), 7.59 (1H, d), 7.51 (1H, br), 4.42 (1H, br), 3.84 (3H, s), 2.63 (2H, br), 2.49 (3H, s), 2.46 (3H, s), 1.05 (6H, s).

Ejemplo 3:

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-bencen-sulfonamida;



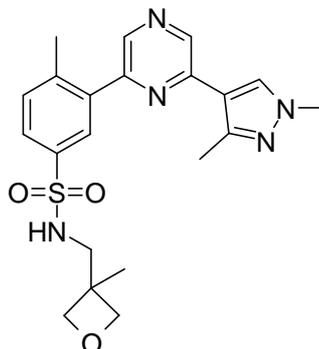
El compuesto del título se preparó a partir de N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida (Intermediario B3), y 2-cloro-6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazina (Intermediario C1), bajo condiciones análogas a aquéllas del ejemplo 2.

LCMS: Rt 0.96 minutos; MS m/z 430.4 [M+H]⁺; Método 2minBajopHv01.

¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO) d 8.91 (1H, s), 8.63 (1H, s), 8.41 (1H, s), 7.92 (1H, d), 7.80 (1H, dd), 7.62 (1H, d), 7.47 (1H, t), 4.28 (1H, s), 3.84 (3H, s), 2.85 (2H, m), 2.47 (3H, s), 1.51 (2H, m), 1.02 (6H, s) un grupo metilo está oscurecido bajo el pico de solvente de sulfóxido de dimetilo (DMSO).

Ejemplo 4:

Trans-3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-4-metil-N-(3-metil-oxetan-3-il-metil)-bencen-sulfonamida



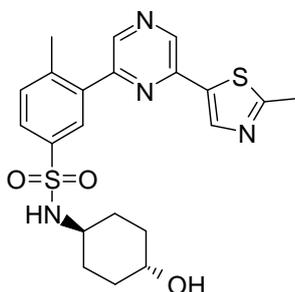
5 El compuesto del título se preparó a partir de la 4-metil-N-(3-metil-oxetan-3-il-metil)-3-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida (Intermediario B4), y 2-cloro-6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazina (Intermediario C1), bajo condiciones análogas a aquéllas del ejemplo 2.

LCMS: Rt = 0.96 minutos; MS m/z 428.2 [M+H]⁺; Método 2minBajopHv01.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ 8.79 (1H, s), 8.55 (1H, s), 8.04 (1H, s), 7.95 (1H, s), 7.88 (1H, dd), 7.53 (1H, d), 4.73 (1H, br t), 4.39 (4H, m), 3.95 (3H, s), 3.21 (2H, d), 2.61 (3H, s), 2.55 (3H, s), 1.29 (3H, s).

Ejemplo 5:

10 Trans-N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-3-(6-(2-metil-tiazol-5-il)-pirazin-2-il)-bencen-sulfonamida



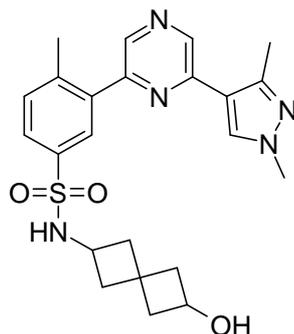
15 A una solución de trans-3-(6-cloro-pirazin-2-il)-N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-bencen-sulfonamida (Intermediario D2) (150 mili-gramos, 0.393 milimoles), se le agregaron 2-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-tiazol (97 miligramos, 0.432 milimoles), cloruro de bis-(trifenil-fosfina)-paladio(II) (13.79 mili-gramos, 0.020 milimoles), y Na₂CO₃ (acuoso, 2.0M) (589 microlitros, 1.178 milimoles). La reacción se calentó en microondas a 150°C durante 30 minutos. La reacción se agregó a Na₂CO₃ acuoso saturado (50 mililitros), y el producto se extrajo en EtOAc (50 mililitros, 2 veces). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía Combiflash ISCO, eluyendo con un gradiente modificado del 0 al 10 % de (DCM-NH₃ 2M en MeOH) sobre una columna de sílice de 12 gramos, cargando con dicloro-metano (DCM). El aceite transparente resultante se sonicó en terbutil-metil-éter (TBME) (5 mililitros), y se raspó con una espátula hasta que se formó un precipitado blanco fino, y entonces la mezcla se dejó reposar. El sólido resultante se recolectó mediante filtración, se lavó con una pequeña cantidad de terbutil-metil-éter (TBME), y se secó.

LCMS: Rt = 0.89 minutos; MS m/z 445.3 [M+H]⁺; Método 2minBajopH.

25 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.29 (1H, s), 8.77 (1H, s), 7.56 (1H, s), 7.95 (1H, s), 7.83 (1H, d), 7.66 (1H, br s), 7.60 (1H, d), 4.55 (1H, d), 3.36-3.26 (1H, m), 3.01-2.90 (1H, m), 2.72 (3H, s), 2.49 (3H, s), 1.77-1.60 (4H, m), 1.27-1.03 (4H, m).

Ejemplo 6:

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(6-hidroxi-espiro-[3.3]-hept-2-il)-4-metil-bencen-sulfonamida



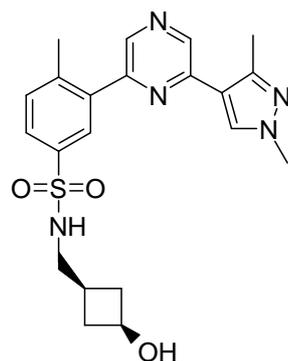
Una mezcla en agitación de 3-bromo-N-(6-hidroxi-espiro-[3.3]-heptan-2-il)-4-metil-bencen-sulfonamida (Intermediario A6) (200 miligramos, 0.555 milimoles), KOAc (82 miligramos, 0.833 milimoles), aducto de PdCl₂(dppf).CH₂Cl₂ (22.67 miligramos, 0.028 milimoles), y bis-(pinacolato)-diboro (155 miligramos, 0.611 milimoles) en DME (2776 microlitros), bajo N₂, se calentó a 90°C durante 18 horas. Se agregaron 2-cloro-6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazina (Intermediario C1) (116 miligramos, 0.555 milimoles), Na₂CO₃ acuoso 2M (833 microlitros, 1.665 milimoles), y aducto de PdCl₂(dppf)• CH₂Cl₂ (22.67 miligramos, 0.028 milimoles), y la reacción se calentó en un reactor de microondas durante 45 minutos a 120°C. La reacción se agregó a agua (80 mililitros), y el producto se extrajo en EtOAc (70 mililitros, 2 veces). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y trimetilo-tiol soportado por polímero para eliminar el Pd. Esta mezcla se puso en remolino ocasionalmente durante 1 hora. Los sólidos se removieron mediante filtración, se lavaron con EtOAc, y se concentraron al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía Combiflash ISCO, eluyendo con un gradiente del 0 al 10 % de (NH₃ 2M en MeOH) en dicloro-metano (DCM) sobre una columna de sílice de 12 gramos, cargando con dicloro-metano (DCM), para dar el producto como un sólido.

LCMS: Rt = 0.93 minutos; MS m/z 455.5 [M+H]⁺; Método 2minBajopHv01.

¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO) δ 8.91 (1H, s), 8.62 (1H, s), 8.42 (1H, s), 7.88 (2H, m), 7.77 (1H, d), 7.58 (1H, d), 4.83 (1H, d), 3.84 (4H, m), 3.52 (1H, m), 2.47 (3H, s), 2.21 (1H, m), 2.02 (2H, m), 1.90 (1H, m), 1.71 (4H, m) un grupo metilo oscurecido bajo el pico de solvente de sulfóxido de dimetilo (DMSO).

Ejemplo 7:

Cis-3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-ciclobutil-metil)-4-metil-bencen-sulfonamida



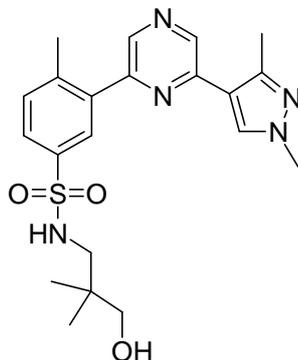
El compuesto del título se preparó a partir de cis-3-bromo-N-(3-hidroxi-ciclobutil-metil)-4-metil-bencen-sulfonamida (intermediario A7), y 2-cloro-6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazina (Intermediario C1), bajo condiciones análogas a aquéllas del ejemplo 6.

LCMS: Rt 1.01 minutos m/z 430.3 [M+H]⁺; Método 2minBajopHv01.

¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO) δ 8.91 (1H, s), 8.63 (1H, s), 8.42 (1H, s), 7.91 (1H, d), 7.78 (1H, dd), 7.59 (2H, m), 4.90 (1H, d), 3.84 (3H, s), (3.84 (1H, m (se supone que está bajo el pico de 3H)), 2.76 (2H, t), 2.47 (3H, s), 2.17 (2H, m), 1.75 (1H, m), 1.41 (2H, m), un grupo metilo está oscurecido bajo el pico de solvente de sulfóxido de dimetilo (DMSO).

Ejemplo 8:

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-4-metil-bencen-sulfonamida



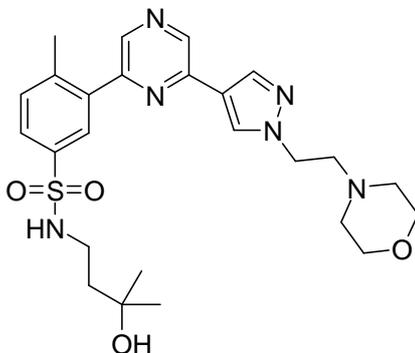
5 El compuesto del título se preparó a partir de 3-bromo-N-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-4-metil-bencen-sulfonamida (intermediario A8), y 2-cloro-6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazina (Intermediario C1), bajo condiciones análogas a aquéllas del ejemplo 6.

LCMS: Rt 0.99 minutos MS m/z 430.4 [M+H]⁺; Método 2minBajopHv01.

¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO), δ 8.91 (1H, s), 8.63 (1H, s), 8.42 (1H, s), 7.93 (1H, d), 7.80 (1H, dd), 7.60 (1H, d), 7.41 (1H, t), 4.45 (1H, t), 3.84 (3H, s), 3.10 (2H, d), 2.59 (2H, d), 2.47 (3H, s), 0.77 (6H, s).

Ejemplo 9:

10 N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-3-[6-[1-(2-morfolin-4-il-etil)-1H-pirazol-4-il]-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida



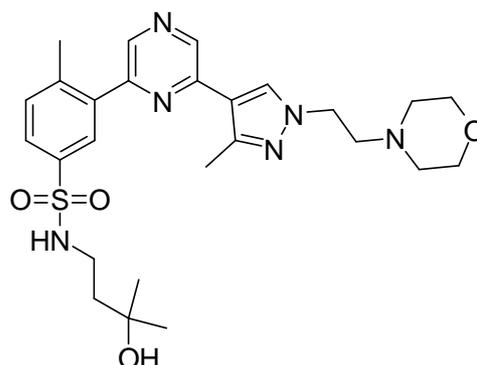
El compuesto del título se preparó a partir de 3-(6-cloro-pirazin-2-il)-N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-bencen-sulfonamida (Intermediario D1), y 4-{2-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]-dioxaborolan-2-il)-pirazol-1-il]-etil}-morfolina bajo condiciones análogas a aquéllas del ejemplo 5.

15 LCMS: Rt = 0.63 minutos; MS m/z 515.4 [M+H]⁺; Método 2minLC_v003.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8.79 (1H, s), 8.55 (1H, s), 8.18 (1H, br s), 8.10 (1H, s), 8.05 (1H, d), 7.38 (1H, dd), 7.50 (1H, d), 5.62 (1H, br t), 4.35 (2H, br s), 3.71 (4H, br s), 3.19 (2H, m), 2.89 (2H, br s), 2.55 (3H, s), 2.53 (4H, br s), 1.65 (2H, m), 1.19 (6H, s), OH se intercambia.

Ejemplo 10:

20 N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-3-[6-[3-metil-1-(2-morfolin-4-il-etil)-1H-pirazol-4-il]-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida



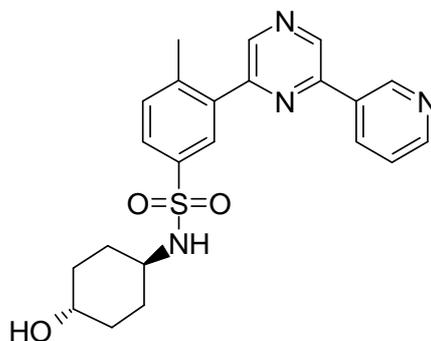
5 A una solución de 4-(2-(4-(6-bromo-pirazin-2-il)-5-metil-1H-pirazol-1-il)-etil)-morfolina (Intermediario C2) (50 miligramos, 0.142 milimoles) en tolueno/EtOH (2:1; 1.5 mililitros), se le agregaron N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida (Intermediario B3) (54.4 miligramos, 0.142 milimoles), seguida por Pd(PPh₃)₂Cl₂ (5 miligramos, 7.10 micromoles), y una solución acuosa de carbonato de sodio 2M (0.213 mililitros, 0.426 milimoles). La reacción se calentó en el reactor de microondas a 100°C durante 30 minutos. La reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua, y la capa orgánica se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (12 gramos), utilizando ISCO Combiflash eluyendo con un gradiente de dicloro-metano (DCM)/metanol (MeOH) (del 0 al 10 %), para dar el producto.

LCMS: Rt = 0.70 minutos; MS m/z 529.3 [M+H]⁺; Método 2minBajopHv01.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.91 (1H, s), 8.62 (1H, s), 8.47 (1H, s), 7.93 (1H, d), 7.79 (1H, dd), 7.62 (1H, d), 7.46 (1H, br s), 4.28 (1H, br s), 4.21 (2H, t), 3.56 (4H, t), 2.85 (2H, br t), 2.73 (2H, t), 2.50 (3H, s parcialmente oscurecido por DMSO), 2.48 (3H, s), 2.42 (4H, t), 1.50 (2H, t), 1.01 (6H, s).

15 Ejemplo 11:

Trans-N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-3-(6-piridin-3-il-pirazin-2-il)-bencen-sulfonamida



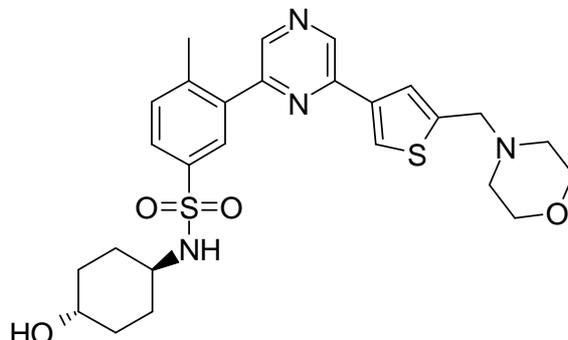
20 A suspensión roja de trans-N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida (Intermediario B5) (204 miligramos, 0.517 milimoles), 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-piridina (106 miligramos, 0.517 milimoles), NaHCO₃ acuoso 2M (1.3 mililitros, 2.58 milimoles), y aducto de PdCl₂(dppf).CH₂Cl₂ (21.11 miligramos, 0.026 milimoles) en 1,2-dimetoxi-etano (2.53 mililitros), bajo N₂, se calentó en un reactor de microondas a 120°C durante 0.75 horas. Se agregaron 3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-piridina (106 miligramos, 0.517 milimoles), y aducto de PdCl₂(dppf).CH₂Cl₂ (21.11 miligramos, 0.026 milimoles) a la suspensión negra antes de calentar a 120°C durante 0.75 horas. Se agregó agua (50 mililitros), seguida por extracción dos veces con EtOAc (50 mililitros, 2 veces), lavado con salmuera (20 mililitros), y secado sobre MgSO₄. La fase orgánica resultante se concentró bajo presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía Combiflash ISCO, eluyendo con un gradiente modificado del 0 al 10 % de (DCM-NH₃ en MeOH) sobre una columna de sílice de 12 gramos, cargando con dicloro-metano (DCM), para dar el compuesto del título.

LCMS: Rt = 0.76 minutos; MS m/z 425.5 [M+H]⁺; Método2minLC_v003.

30 ¹H (400 MHz, d₆-DMSO) d 9.40 (2H, m), 8.95 (1H, s), 8.74 (1H, dd), 8.57 (1H, m), 8.03 (1H, d), 7.85 (1H, dd), 7.67 (1H, d), 7.62 (2H, m), 4.48 (1H, d), 3.30 (1H, m), 2.96 (1H, m), 2.55 (3H, s), 1.69 (4H, m), 1.14 (4H, m).

Ejemplo 12:

Trans-N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-3-[6-(5-morfolin-4-il-metil-tiofen-3-il)-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida



5 A una solución de trans-3-(6-cloro-pirazin-2-il)-N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-bencen-sulfonamida (Intermediario D2) (80 miligramos, 0.209 milimoles) en DME (1047 microlitros), se le agregaron 4-((4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-tiofen-2-il)-metil)-morfolina (97 miligramos, 0.314 milimoles), cloruro de bis-(trifenil-fosfina)-paladio(II) (7.35 miligramos, 10.47 micromoles), y Na₂CO₃ (acuoso, 2.0M) (66.6 miligramos, 0.628 milimoles). La reacción se calentó en un reactor de microondas a 120°C durante 30 minutos. La reacción se agregó a agua (50 mililitros), y el producto se extrajo en EtOAc (60 mililitros). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre
10 MgSO₄ y trimetilo-tiol soportado por polímero para eliminar el Pd. Esta mezcla se puso en remolino ocasionalmente durante 1 hora. Los sólidos se removieron mediante filtración, se lavaron con EtOAc, y se concentraron bajo presión reducida.

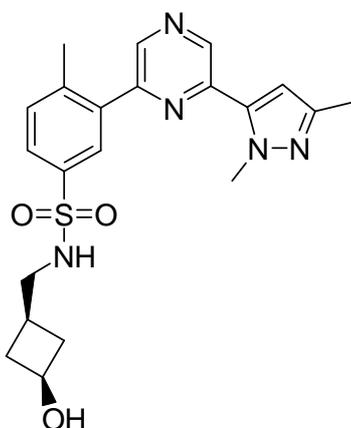
El producto crudo se purificó mediante cromatografía Combiflash ISCO, eluyendo con un gradiente modificado del 0 al 10 % de (DCM-NH₃ 2M en MeOH) sobre una columna de sílice de 12 gramos, cargando con dicloro-metano (DCM), para dar un sólido blanco.
15

LCMS: Rt = 0.64 minutos; MS m/z 529.3 [M+H]⁺; Método2minBajopH.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.91 (1H, s), 8.75 (1H, s), 8.32 (1H, s), 7.98 (1H, s), 7.84 (1H, d), 7.69 (1H, s), 7.60 (1H, d), 4.52 (1H, s), 3.72 (2H, br s), 2.59 (4H, br s), 3.41 (1H, br s), 2.98 (1H, br s), 2.42 (4H, br s), 1.84-1.55 (4H, m), 1.30-1.10 (4H, m).

20 Ejemplo 13:

Cis-3-[6-(2,5-dimetil-2H-pirazol-3-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-ciclobutil-metil)-4-metil-bencen-sulfonamida



25 A un frasco para microondas de 0.5 a 2 mililitros se le agregaron cis-3-bromo-N-(3-hidroxi-ciclobutil-metil)-4-metil-bencen-sulfonamida (Intermediario A7) 150 miligramos, 0.449 milimoles), 4,4,4',4',5,5,5'-octametil-2,2'-bi-(1,3,2-dioxaborolano) (125 mili-gramos, 0.494 milimoles), acetato de potasio (66.1 miligramos, 0.673 milimoles), y PdCl₂(dppf). Se agregó un aducto de CH₂Cl₂ (18.33 miligramos, 0.022 milimoles) en DME (1.3 mililitros), y la reacción se calentó a 120°C durante 1 hora en el reactor de microondas Biotage Initiator (tiempo de sostenimiento

5 fijo activado, agitación previa de 30 segundos). A la mezcla de reacción se le agregaron entonces 2-cloro-6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-5-il)-pirazina (Intermediario C3) (94 miligramos, 0.449 milimoles), aducto de PdCl₂(dppf).CH₂Cl₂ (18.33 miligramos, 0.022 milimoles), y Na₂CO₃ acuoso 2M (0.673 mililitros, 1.346 milimoles). La reacción se calentó a 120°C durante 1 hora en el reactor de microondas Biotage Initiator (tiempo de sostenimiento fijo activado, agitación previa de 30 segundos). La reacción se agregó a agua (10 mililitros), y se extrajo en EtOAc (10 mililitros). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera (10 mililitros) antes de secarse sobre MgSO₄, y se concentraron al vacío.

10 La reacción se purificó mediante cromatografía en columna por evaporación instantánea utilizando la ISCO Combiflash Rf, elución con Hexano/EtOAc (del 0 al 100 %) durante 15 minutos en un cartucho de sílice de 12 gramos, para dar el compuesto del título.

LCMS: Rt 0.95 minutos; MS m/z 429.3 [M+H]⁺; Método 2minBajopHv01.

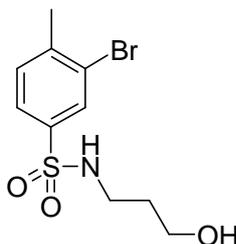
¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO), δ 9.10 (1H, s), 8.84 (1H, s), 7.94 (1H, d), 7.81 (1H, dd), 7.61 (2H, m), 6.86 (1H, s), 4.90 (1H, d), 4.09 (3H, s), 3.84 (1H, m), 2.76 (2H, t), 2.23 (3H, s), 2.17 (2H, m), 1.74 (1H, m), 1.40 (2H, m), un grupo metilo está oscurecido bajo el pico de solvente de sulfóxido de dimetilo (DMSO).

15 Preparación de los intermediarios:

Bromuros (A)

Intermediario A1

3-bromo-N-(3-hidroxi-propil)-4-metil-bencen-sulfonamida



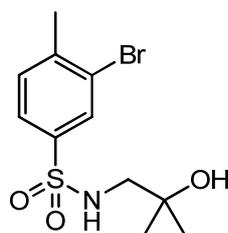
20 A una solución en agitación de cloruro de 3-bromo-4-metil-bencen-1-sulfonilo (2 gramos, 7.42 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (37 mililitros), bajo N₂, se le agregaron 3-amino-1-propanol (0.568 mililitros, 7.42 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.56 mililitros, 8.9 milimoles), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. El solvente se removió bajo presión reducida, y el material crudo se agregó a HCl 0.1M (100 mililitros). La mezcla se extrajo con EtOAc (150 mililitros), y el extracto orgánico se lavó con Na₂CO₃ saturado (60 mililitros), salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró bajo presión reducida, para proporcionar el compuesto del título.

25 mililitros), salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró bajo presión reducida, para proporcionar el compuesto del título.

LCMS: Rt = 0.89 minutos; MS m/z 310.1 [M+H]⁺; Método 2minLC_v003.

Intermediario A2

3-bromo-N-(2-hidroxi-2-metil-propil)-4-metil-bencen-sulfonamida



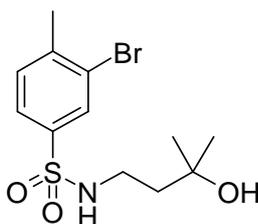
30

5 A una solución en agitación de cloruro de 3-bromo-4-metil-bencen-1-sulfonilo (3.02 gramos, 11.22 milimoles) en piridina (56 mililitros), bajo N₂, se le agregó 1-amino-2-metil-propan-2-ol (1.0 gramo, 11.22 milimoles), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. El solvente se removió bajo presión reducida, y el material crudo resultante se agregó a HCl 0.1M (100 mililitros). La mezcla se extrajo con EtOAc (150 mililitros), y el extracto orgánico se lavó con Na₂CO₃ saturado (100 mililitros), salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró bajo presión reducida, para proporcionar el compuesto del título.

LCMS: Rt = 1.01 minutos; MS m/z 324.1 [M+H]⁺; Método 2minLC_v003.

Intermediario A3

3-bromo-N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-bencen-sulfonamida



10

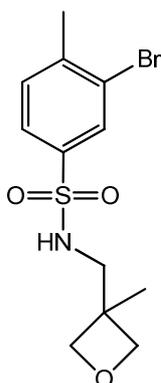
Se preparó a partir de cloruro de 3-bromo-4-metil-bencen-1-sulfonilo y 4-amino-2-metil-butan-2-ol de una manera análoga al Intermediario A2.

LCMS: Rt = 1.04 minutos; MS m/z no se ioniza [M+H]⁺; Método 2minLC_v003.

15 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.93 (1H, s), 7.70 (1H, d), 7.58 (1H, d), 7.52 (1H, br), 4.28 (1H, br), 2.80 (2H, m), 2.43 (3H, s), 1.49 (2H, m), 1.15 (6H, s).

Intermediario A4

3-bromo-4-metil-N-(3-metil-oxetan-3-il-metil)-bencen-sulfonamida



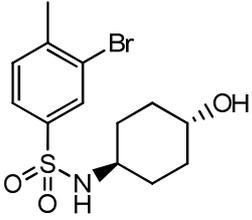
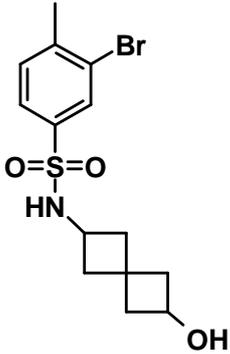
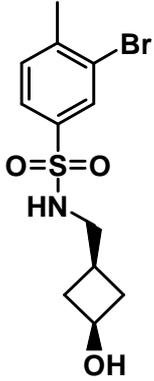
20 A una solución de (3-metiloxetan-3-il)-metanamina (2.026 gramos, 20.03 milimoles) en N,N-dimetil-acetamida (50 mililitros), se le agregó etil-di-isopropil-amina (4.37 mililitros, 25.04 milimoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de agregar cloruro de 3-bromo-4-metil-bencen-1-sulfonilo (4.5 gramos, 16.70 milimoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El solvente se removió al vacío y el residuo se disolvió en EtOAc, y se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, seguido por HCl 0.1M, y luego con salmuera. El extracto orgánico se secó sobre MgSO₄ y el solvente se removió para dar el producto como un polvo amarillo pálido

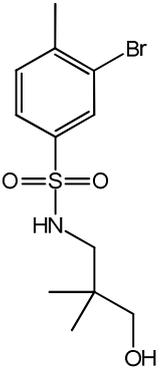
25 (5.19 gramos, 93 %).

LCMS: Rt = 1.10 minutos; MS m/z 336.1 [M+H]⁺; Método 2minBajopHv01.

Los compuestos de los siguientes intermediarios enlistados se prepararon de una manera análoga al Intermediario A1 a partir de los compuestos de partida apropiados:

Tabla 1

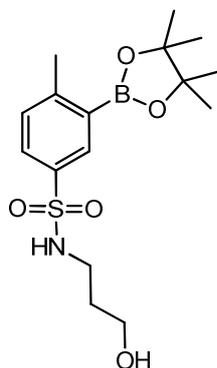
Int.	Estructura	Nombre	[M+H] ⁺ /RMN
A5		Trans-3-bromo-N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-bencen-sulfonamida	LCMS: Rt 1.01 minutos; MS m/z 348.1 [M+H] ⁺ ; Método 2minLC_v003.
A6		3-bromo-N-(6-hidroxi-espiro-[3.3]-hept-2-il)-4-metil-bencen-sulfonamida	LCMS: Rt = 1.01 minutos; MS m/z 360.3 [M+H] ⁺ ; Método 2minBajopHv01.
A7		Cis-3-bromo-N-(3-hidroxi-ciclobutil-metil)-4-metil-bencen-sulfonamida	LCMS: Rt = 0.91 minutos; MS m/z 336.1 [M+H] ⁺ ; Método 2minLC_v003.

Int.	Estructura	Nombre	[M+H] ⁺ /RMN
A8		3-bromo-N-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-4-metil-bencen-sulfonamida	LCMS: Rt = 0.98 minutos; MS m/z 336.1 [M+H] ⁺ ; Método 2minLC_v003.

Ésteres borónicos (B)

Intermediario B1

N-(3-hidroxi-propil)-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida



5

Una mezcla que comprendía 3-bromo-N-(3-hidroxi-propil)-4-metil-bencen-sulfonamida (Intermediario A1) (2.25 gramos, 7.30 milimoles), KOAc (1.075 gramos, 10.95 milimoles), aducto de PdCl₂(dppf).CH₂Cl₂ (0.298 gramos, 0.365 milimoles), y bis-(pinacolato)-diboro (2.039 gramos, 8.03 milimoles) en DME (36.5 mililitros), bajo N₂ se agitó a 90°C durante 5 horas. La mezcla resultante se agregó a agua (100 mililitros), y se extrajo con EtOAc (100 mililitros, 2 veces). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron bajo presión reducida. La purificación mediante cromatografía sobre sílice, eluyendo con un gradiente del 0 al 100 % de EtOAc en isohexano, proporcionó el compuesto del título;

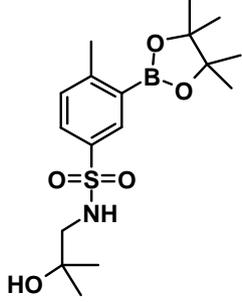
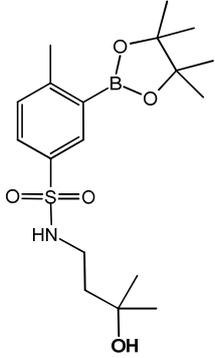
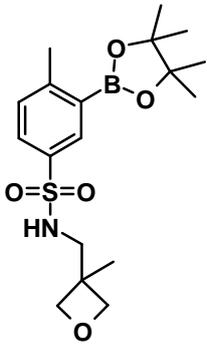
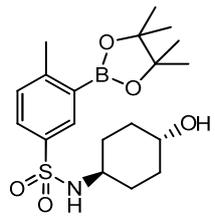
10

LCMS: Rt = 1.03 minutos; MS m/z 356.5 [M+H]⁺; 2minLC_v003.

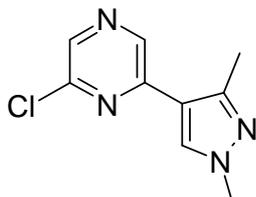
Los compuestos de los siguientes intermediarios enlistados se prepararon de una manera análoga al Intermediario B1 a partir de los compuestos de partida apropiados:

15

Tabla 2

Int.	Estructura	Nombre	[M+H] ⁺ /RMN
B2		N-(2-hidroxi-2-metil-propil)-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida	LCMS Rt 1.20 minutos. MS m/z 370.3 [M+H] ⁺ , Método: 2minBajopHv01.
B3		N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida	LCMS: Rt 1.10 minutos; MS m/z 384.5 [M+H] ⁺ ; Método 2minLC_v003.
B4		4-metil-N-(3-metil-oxetan-3-il-metil)-3-(4,4,5,5)-tetrametil-[1,3,2]-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida	LCMS: Rt = 1.22 minutos; MS m/z 382.6 [M+H] ⁺ ; Método 2minLC_v003.
B5		Trans-N-((1r,4r)-4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida	LCMS: Rt 1.14 minutos. MS m/z 396.3 [M+H] ⁺ ; Método 2minLC_v003.

2-cloro-6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazina



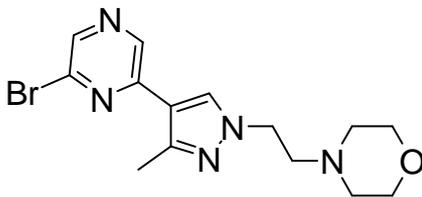
5 Se agregó carbonato de sodio (33 mililitros de una solución 2M, 67 milimoles) a una mezcla de 2-bromo-6-cloro-pirazina (4.8 gramos, 25 milimoles), 1,3-dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (5.0 gramos, 22.3 milimoles), y PdCl₂(PPh₃)₂ (0.79 gramos, 67 milimoles) en DME (80 mililitros). La mezcla se desgasificó varias veces bajo nitrógeno, y entonces se calentó con agitación a 70°C durante 3 horas. El solvente se removió al vacío, y el residuo se diluyó con salmuera y se extrajo varias veces con EtOAc. El extracto orgánico combinado se separó, se secó (MgSO₄), y el solvente se concentró al vacío, después de lo cual, el producto se precipitó (2.21 gramos, 46 %). El sólido se recolectó mediante filtración, y se lavó con dietil-éter - hexano.

10 LC-MS: Rt = 0.90 minutos; MS m/z 209.4 [M+H]⁺; Método 2minBajopH_v01.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8.64 (1H, s), 8.43 (1H, s), 7.92 (1H, s), 3.92 (3H, s), 2.57 (3H, s).

Intermediario C2

4-{2-[4-(6-bromo-pirazin-2-il)-3-metil-pirazol-1-il]-etil}-morfolina



15 Paso 1: 4-(2-(3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)-etil)-morfolina

A una solución de 3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (300 miligramos, 1.442 milimoles) en MeCN (10 mililitros), se le agregó carbonato de cesio (1.4 gramos, 4.33 milimoles), seguido por 4-(2-cloro-etil)-morfolina (402 miligramos, 2.163 milimoles), y la reacción se calentó a reflujo durante 5 horas, seguido por agitación a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se filtró bajo presión reducida para remover el carbonato de cesio. El filtrado se concentró bajo presión reducida. La mezcla del producto se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (24 gramos), utilizando ISCO Combiflash (GPE-15) eluyendo con un gradiente de dicloro-metano (DCM)/metanol (MeOH) (del 0 al 15 %), para dar el compuesto del título y su regioisómero.

20 LCMS: Rt = 0.70 minutos; MS m/z 323.6 [M+H]⁺; Método2minBajopHv01.

25 Paso 2: 4-{2-[4-(6-bromo-pirazin-2-il)-3-metil-pirazol-1-il]-etil}-morfolina

A una solución de 4-(2-(3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)-etil)-morfolina y el regioisómero (paso 1) (302 miligramos, 0.799 milimoles) en tolueno/EtOH (2:1; 9 mililitros), se le agregaron 2,6-dibromo-pirazina (190 miligramos, 0.799 milimoles), seguida por Pd(PPh₃)₂Cl₂ (28.0 miligramos, 0.040 milimoles), seguido por carbonato de sodio acuoso 2M (1.2 mililitros, 2.396 milimoles). La reacción se calentó en el reactor de microondas a 80°C durante 1 hora. La capa orgánica de la reacción se aisló y se concentró bajo presión reducida hasta obtener un aceite amarillo. El producto se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (24 gramos), utilizando ISCO Combiflash (GPE-15), eluyendo con un gradiente de dicloro-metano (DCM)/MeOH (del 0 al 10 %), para dar dos productos como un aceite amarillo, los cuales se separaron mediante HPLC de preparación en fase inversa (método: gradiente 10-35 % bajo pH), para dar el compuesto del título. Éste fue el segundo compuesto eluido. La estereoquímica se identificó mediante NOE; el primer compuesto mostró una interacción a través del espacio entre el metilo y el metileno, mientras que el compuesto requerido no lo hizo.

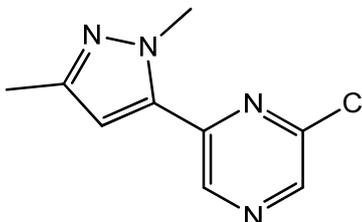
35 LCMS: Rt = 0.61 minutos; MS m/z 354.1 [M+H]⁺; Método2minBajopH.

ES 2 667 424 T3

¹H RMN (400 MHz, d6-DMSO) δ 8.88 (1H, s), 8.58 (1H, s), 8.45 (1H, s), 4.20 (2H, t), 3.54 (4H, m), 3.32 (3H, s), 2.72 (2H, t), 2.45 (4H, m).

Intermediario C3

2-cloro-6-(2,5-dimetil-2H-pirazol-3-il)-pirazina



5

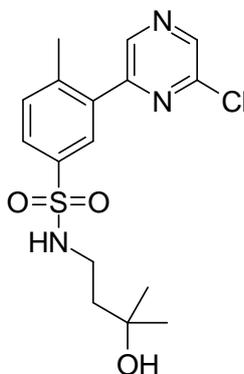
El compuesto del título se preparó a partir de 2-bromo-6-cloro-pirazina (4.8 gramos, 25 milimoles), y 1,3-dimetil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol bajo condiciones análogas a aquéllas del Intermediario C1.

LCMS: 0.90 minutos: MS m/z 211.3 [M+H]⁺; Método 2minBajopH.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d6), δ 9.05 (1H, s), 8.73 (1H, s), 6.84 (1H, s), 4.05 (3H, s), 2.20 (3H, s).

10 Intermediario D1

3-(6-cloro-pirazin-2-il)-N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-bencen-sulfonamida



15 Una solución agitada de N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida (Intermediario B3) (1.98 gramos, 5.17 milimoles), y 2-bromo-6-cloro-pirazina (1.0 gramo, 5.17 milimoles) en DME (10 mililitros), y Na₂CO₃ 2M (7.8 mililitros, 15.5 milimoles), se desgasificó varias veces bajo nitrógeno antes de la adición del aducto de PdCl₂(dppf).CH₂Cl₂. (0.211 gramos, 0.26 milimoles). La mezcla se desgasificó nuevamente, y entonces se calentó a 80°C. Después de 3 horas, el solvente se removió, y el residuo se dividió entre EtOAc y agua. El extracto orgánico se removió, se secó sobre MgSO₄ y el solvente se removió para dar un residuo color café. La cromatografía sobre sílice, eluyendo con EtOAc, dio el producto como una goma incolora (1.401 gramos, 73 %).

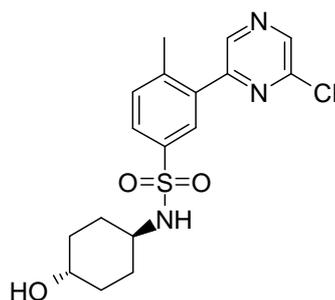
20

LCMS: Rt = 0.95 minutos; MS m/z 370.4 [2M+H]⁺; Método 2minLC_v003.olp.

¹H RMN (400 MHz, d6-DMSO) δ 8.96 (1H, s), 8.86 (1H, s), 7.90 (1H, s), 7.82 (1H, s), 7.63 (1H, d), 7.99 (1H, br t), 4.28 (1H, s), 2.83 (2H, m), 2.45 (3H, s), 1.50 (2H, m), 1.00 (6H, s).

Intermediario D2

25 Trans-3-(6-cloro-pirazin-2-il)-N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-bencen-sulfonamida



El compuesto del título se preparó a partir de N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-bencen-sulfonamida (Intermediario B5), y 2-bromo-6-cloro-pirazina de una manera análoga al Intermediario D1.

5 LCMS: Rt = 1.13 minutos; MS m/z 396.3 [M+H]⁺; Método 2minLC_v003.olp.

Uso farmacéutico y ensayo

Los compuestos de la presente invención y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden ser útiles como productos farmacéuticos. En particular, los compuestos son inhibidores selectivos de la isoforma gamma de PI3-quinasa adecuados, y se pueden probar en los siguientes ensayos.

10 Ensayo de quinasa luminiscente KinaseGlo (Kglo) para PI3-quinasa-alfa (A) PI3-quinasa-beta (B) Vps34 (C), PI4-quinasa-beta (D)

15 El reactivo de detección de ATP basada en la luminiscencia KinaseGlo se obtuvo en Promega, (Cat. No. V6714, Lote No. 236161) a través de Catalys, Wallisellen, Suiza. El L-alfa-fosfatidil-inositol (PI, hígado, bovino) se obtuvo en Avanti Polar Lipid (Cat. No. 840042C, Lote # LPI-274), el 4,5-bisfosfato de fosfatidil-inositol (PIP(4,5)2) también se obtuvo en Avanti Polar Lipid (Cat. No. 840046X). La L-α-fosfatidil-serina (PS) se obtuvo en Avanti Polar Lipid (Cat. No. 840032C), el n-octil-glucósido en Avanti Polar Lipid (Cat. No. 10634425001). La luminiscencia es una lectura bien establecida para determinar las concentraciones de ATP y, por consiguiente, se puede utilizar para seguir la actividad de muchas quinasas independientemente de su sustrato. El ensayo de quinasa luminiscente KinaseGlo (Promega, Madison/WI, EUA) es un método de HTS homogéneo para medir la actividad de quinasa mediante la
20 cuantificación de la cantidad de ATP restante en solución en seguida de una reacción de quinasa.

25 50 nanolitros de las diluciones de los compuestos se dosificaron en placas negras de estireno no enlazante (NBS) de bajo volumen de 384 pozos (Costar Cat. No. NBS#3676). El L-α-fosfatidil-inositol (PI), proporcionado como una solución de 10 miligramos/mililitro en metanol (MeOH), se transfirió a un tubo de vidrio, y se secó bajo un haz de nitrógeno. Entonces se volvió a suspender en octil-glucósido (1-0-n-octil-beta-D-glucopiranosida) al 3 % poniendo en
30 vórtex, y se almacenó a 4°C. Se agregaron 5 microlitros de una mezcla de L-α-fosfatidil-inositol (PI)/octil-glucósido con los subtipos de PI3-quinasa-alfa y PI3-quinasa-beta, o Vps34 o PI4-quinasa-beta. Las reacciones de quinasa se iniciaron mediante la adición de 5 microlitros de una mezcla de ATP que contenía, en un volumen final 10 microlitros, tris-HCl 10 mM, pH de 7.5, MgCl₂ 3mM, NaCl 50 mM, CHAPS al 0.05 %, DTT 1mM y ATP 1 μM, a temperatura ambiente. Las reacciones se detuvieron con 10 microlitros de KinaseGlo, y las placas se leyeron 10 minutos
35 después en un lector Synergy2, utilizando un tiempo de integración de 0.1 segundos por pozo. Se agregó 2.5 μM de NVP-BGT226 (1-(3-(trifluoro-metil)-4-(piperazin-1-il)-fenil)-8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1H-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2(3H)-ona) a las placas de ensayo para generar la inhibición del 100 % de la reacción de quinasa, y la inhibición del 0 % fue dada por el vehículo de solvente (sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 90 % en agua). Se utilizó la (1-(3-(trifluoro-metil)-4-(piperazin-1-il)-fenil)-8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1H-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2(3H)-ona), como un
compuesto de referencia, y se incluyó en todas las placas de ensayo en la forma de 16 puntos de dilución por
duplicado.

40 Los valores IC₅₀ del porcentaje de inhibición de cada compuesto en 8 concentraciones (usualmente 10, 3.0, 1.0, 0.3, 0.1, 0.030, 0.010 y 0.003 μM) n = 2, se derivaron mediante el ajuste de una curva sigmoidea de respuesta a la dosis a una gráfica de la lectura del ensayo sobre la concentración del inhibidor como se describe. Todos los ajustes se llevaron a cabo con el programa XFit4 (ID Business Solutions, Guildford, Reino Unido (UK)).

Ensayo TR-FRET Adapta para PI3-quinasa-gamma (E), PI3-quinasa-delta (F)

El kit de ensayo de quinasa universal TR-FRET Adapta^{MR} se adquirió en Invitrogen Corporation (Carlsbad/CA, EUA) (Cat. No. PV5099). El kit contiene los siguientes reactivos: Anticuerpo Adapta Eu-anti-ADP (anticuerpo anti-ADP marcado con europio en solución salina regulada con HEPES, Cat. No. PV5097), rastreador de ADP marcado con

Alexa Fluor® 647 (rastreador de ADP marcado con Alexa Fluor® 647 en solución salina regulada con HEPES, Cat. No. PV5098), regulador de dilución de TR-FRET, pH de 7.5 (Cat. No. PV3574).

5 El fosfatidil-inositol (PI) de sustrato PIK3CD se obtuvo en Invitrogen (vesículas consistentes en fosfatidil-inositol (PI) 2 mM en HEPES 50mM, pH de 7.5; Cat. No. PV5371). El 4,5-bisfosfato de fosfatidil-inositol (PIP(4,5)2) de sustrato PIK3CG se obtuvo en Invitrogen (PIP2:PS vesículas unilamelares grandes consistentes en PIP2 1mM: PS 19mM en HEPES 50mM, pH de 7.5, MgCl₂ 3mM, EGTA 1mM; Cat. No. PV5100).

La transferencia de energía de resonancia con fluorescencia resuelta en el tiempo (TR-FRET) es una tecnología basada en la transferencia de energía entre dos colorantes adyacentes, a partir de un electrón excitado en un colorante (el donador) hasta un electrón de un colorante adyacente (el aceptor) a través de resonancia, y entonces se libera como un fotón. Esta transferencia de energía se detecta mediante un aumento en la emisión de fluorescencia del aceptor, y una disminución en la emisión de fluorescencia del donador. Los ensayos de transferencia de energía de resonancia resuelta en el tiempo (TR-FRET) para las quinasas de proteína utilizan quelatos de lantánido de terbio o europio de una larga vida como la especie donadora, los cuales superan la interferencia a partir de la autofluorescencia del compuesto o la dispersión de luz a partir de los compuestos precipitados, mediante la introducción de un retardo después de la excitación mediante una fuente de excitación de lámpara de flash. Los resultados se expresan con frecuencia como una proporción de las intensidades de los fluoróforos aceptor y donador. La naturaleza radiométrica de este valor corrige las diferencias en los volúmenes de ensayo entre pozos, así como corrige los efectos de apagado debidos a los compuestos coloreados. El ensayo Adapta^{MR} se puede dividir en dos fases: Una fase de reacción de quinasa y una fase de detección de ADP. En la fase de reacción de quinasa, todos los componentes de la reacción de quinasa se agregan al pozo y la reacción se deja incuban durante un período de tiempo establecido específicamente para cada quinasa. Después de la reacción, se agrega una solución de detección del anticuerpo anti-ADP marcado con Eu, rastreador de ADP marcado con Alexa Fluor® 647, y EDTA (para detener la reacción de quinasa) al pozo de ensayo. El ADP formado mediante la reacción de quinasa desplazará el rastreador de ADP marcado con Alexa Fluor® 647 a partir del anticuerpo, dando como resultado una disminución en la señal de TR-FRET. En la presencia de un inhibidor, se reduce la cantidad de ADP formado mediante la reacción de quinasa, y la interacción resultante del anticuerpo intacto-rastreador mantiene una alta señal de TR-FRET. En el ensayo Adapta^{MR}, el donador (anticuerpo de europio anti-ADP) se excita a 340 nanómetros, y transferirá su energía al aceptor (rastreador de ADP marcado con Alexa Fluor® 647). La emisión a partir del Alexa Fluor® 647 se puede monitorear con un filtro centrado en 665 nanómetros debido a que se localiza entre los picos de emisión del donador, el cual se mide a 615/620 nanómetros. 50 nanolitros de las diluciones de los compuestos se dosificaron en una placa blanca de poliestireno de pequeño volumen de 384 pozos. Entonces se incuban 5 microlitros de cualquiera de PI3-quinasa-gamma o PI3-quinasa-delta y sustrato de lípido (PI o PIP2:PS), seguidos por 5 microlitros de ATP (volumen final del ensayo de 10 microlitros) a temperatura ambiente. El regulador de reacción estándar para el ensayo de TR-FRET Adapta^{MR} contenía Tris-HCl 10 mM, pH de 7.5, MgCl₂ 3mM, NaCl 50 mM, DTT 1 mM, CHAPS al 0.05 % ((1-propan-sulfonato de 3-[(3-colamido-propil)-dimetil-amonio])). Las reacciones se detuvieron con 5 microlitros de una mezcla de EDTA que contenía el anticuerpo anti-ADP marcado con Eu y el rastreador de ADP marcado con Alexa Fluor® 647 en regulador de dilución de TR-FRET. Las placas se leen de 15 a 60 minutos después en un lector Synergy2, utilizando un tiempo de integración de 0.4 segundos y un retraso de 0.05 segundos. El control para la inhibición del 100 % de la reacción de quinasa se llevó a cabo, mediante el reemplazo de la PI3-quinasa por el regulador de reacción estándar. El control para la inhibición del 0 % fue dado por el vehículo de solvente de los compuestos (sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 90 % en H₂O). El compuesto estándar de 1-(3-(trifluoro-metil)-4-(piperazin-1-il)-fenil)-8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1H-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2(3H)-ona (NVP-BGT226) se utilizó como un compuesto de referencia y se incluyó en todas las placas de ensayo en la forma de 16 puntos de dilución por duplicado.

45 Los datos se analizan utilizando el software Excel Fit o Graphpad Prism. Los valores EC₅₀ se derivaron mediante el ajuste de una curva sigmoidea de respuesta a la dosis a una gráfica de la lectura del ensayo sobre la concentración del inhibidor. Todos los ajustes se llevaron a cabo con el programa XLfit4 (ID Business Solutions, Guildford, Reino Unido (UK)). La determinación de los valores IC₅₀ del porcentaje de inhibición de cada compuesto en 8 concentraciones (usualmente 10, 3.0, 1.0, 0.3, 0.1, 0.030, 0.010 y 0.003 μM) se derivó mediante el ajuste de una curva sigmoidea de respuesta a la dosis a una gráfica de la lectura del ensayo sobre la concentración del inhibidor. Todos los ajustes se llevaron a cabo con el programa XLfit4 (ID Business Solutions, Guildford, Reino Unido (UK)).

Ensayo de enlace de una quinasa para mTOR Lanthascreen^{MR} (G)

Los ensayos de enlace se basan en el enlace y desplazamiento de un inhibidor de quinasa competitivo con ATP, marcado con Alexa Fluor® 647 a la quinasa de interés. Los "rastreadores de quinasa" de Invitrogen se han desarrollado para dirigirse hacia una amplia gama de objetivos de quinasa y se basan en los inhibidores de quinasa competitivos con ATP, haciéndolos adecuados para la detección de cualesquiera compuestos que se enlacen al sitio de ATP o a un sitio aloestérico que altere la conformación del sitio de ATP.

En el ensayo de enlace de una quinasa Lanthascreen^{MR}, el donador (Eu³⁺- anticuerpo anti-GST (glutaciona-S-transferasa)) se excita a 340 nanómetros, y transferirá su energía al aceptor (inhibidor de quinasa competitivo con

ATP marcado con Alexa Fluor® 647 = Rastreador-314). La emisión a partir del Rastreador-314 (inhibidor Alexa Fluor® 647) se puede monitorear con un filtro centrado en 665 nanómetros debido a que se localiza entre los picos de emisión del donador, los cuales se miden en 615/620 nanómetros. El enlace de ambos, el Rastreador-314 y el Eu3+- anticuerpo anti-GST, a la quinasa da como resultado un alto grado de FRET a partir del fluoróforo donador de Eu3+ al fluoróforo aceptor Alexa-Fluor® 647 sobre el Rastreador-314. El enlace de un inhibidor a la quinasa compite por el enlace con el rastreador, dando como resultado una pérdida de FRET.

50 nanolitros de las diluciones de los compuestos se dosificaron en una placa blanca de poliestireno de pequeño volumen de 384 pozos. Entonces se incuban 5 microlitros de GST-mTOR y Europio-anticuerpo anti-GST, seguidos por 5 microlitros del rastreador-314 (volumen final del ensayo de 10 microlitros) a temperatura ambiente. El regulador de reacción estándar para el ensayo de enlace a una quinasa LanthascreenMR contenía HEPES 50 mM, pH de 7.5, MgCl₂ 5mM, EGTA 1mM, Pluronic F-127 al 0.01 %. Las placas se leen 60 minutos después en un lector Synergy2, utilizando un tiempo de integración de 0.2 microsegundos y un retraso de 0.1 microsegundos.

Para calcular la proporción de emisión, la señal emitida a 665 nanómetros a partir del aceptor (Rastreador-314 marcado con Alexa Fluor® 647) se divide entre la señal emitida a 620 nanómetros a partir del donador (Eu3+- anticuerpo anti-GST).

El control para la inhibición del 0 % fue dado por el vehículo de solvente de los compuestos (sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 90 % en H₂O). El control para la inhibición relativa del 100 % se llevó a cabo mediante la adición de 10 µM en la mezcla que contenía GST-mTOR y Europio-anticuerpo anti-GST. Un control adicional para la inhibición absoluta del 0 % es dado por Eu³⁺-anticuerpo anti-GST sin GST-mTOR. Se utilizaron compuestos estándares para la perfilación del panel de quinasa de lípido como una referencia y se incluyeron en todas las placas de ensayo en la forma de 8 puntos de dilución.

Ensayos celulares para PI3-quinasa-alfa (H), beta (I) y delta (J):

AlphaScreen (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay [Ensayo Homogéneo de Proximidad Luminiscente Amplificado] [Ensayo Homogéneo de Proximidad Luminiscente Amplificado], ALFA, Perkin Elmer) es una tecnología de ensayo de proximidad basado en perlas no radioactivas para estudiar las interacciones biomoleculares en un formato de placa de microtitulación homogénea. El nombre de la marca SureFire denota los ensayos AlphaScreen que se adaptan para cuantificar la fosforilación de las proteínas celulares endógenas en los lisados celulares, utilizando pares de anticuerpos emparejados, que consisten en un anticuerpo anti-fosfo-quinasa y un anticuerpo anti-quinasa. El ensayo permite hacer la caracterización de la señalización de quinasa en las células, así como la medición de los efectos del inhibidor de quinasa.

Las líneas celulares de rata-1 que sobre-expresan establemente las isoformas clase I de las PI3-quinasas activadas: Rata-1 pBABEpuro Myr-HA-hp110 delta clon 5 (Rata-1_PI3Kdelta), y Rata-1 pBABEpuro Myr-HA-hp110 alfa clon 6 (Rata-1_PI3Kalfa), y Rata-1 pBABEpuro Myr-HA-hp110 beta (Rata-1_PI3beta), se cultivaron en un medio de crecimiento Complete (DMEM alto en glucosa, suero bovino fetal al 10 % (volumen/volumen), MEM NEAA al 1 % (volumen/volumen), HEPES 10 mM, L-glutamina 2 mM, puromicina (10 microgramos/mililitro para Rata-1_PI3Kdelta y Rata-1_PI3Kalfa, 4 microgramos/mililitro para Rata-1_PI3beta), penicilina/estreptomocina al 1 % (volumen/volumen)) hasta el 90 % de confluencia a 37°C / CO₂ al 5 % / 90 % de humedad en una incubadora humidificada con CO₂, y se dividieron dos veces por semana.

Se utilizaron los siguientes materiales para la detección de p-AKT(S473) en los lisados celulares de Rata-1: Medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) alto en glucosa (Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, Cat. No. 41965), suero bovino fetal inactivado por calor, calificado (HI FBS; Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, Lote No. 16140), aminoácidos no esenciales MEM (NEAA; Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, Cat. No. 11140), HEPES (Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, Cat. No. 15630), penicilina/estreptomocina (Pen/Strep, 100x; Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, Cat. No. 15140-122), L-glutamina (Gibco Invitrogen, Basilea, Suiza, Cat. No. 25030), puromicina (Sigma Aldrich, Buchs, Suiza, Cat. No. P9620), sulfóxido de dimetilo (DMSO) (MERCK, Dietikon, Suiza, Cat. No. 8.02912.2500), H₂O, MilliQ- H₂O a menos que se informe otra cosa (MILLIPORE QGARDOR1, Millipore, Zug, Suiza), albúmina de suero bovino (BSA; Sigma Aldrich, Buchs, Suiza Cat. No. A8412), SureFire p-Akt 1/2 (Ser473) Kit de Ensayo (PerkinElmer, Schwerzenbach, Suiza, Cat. No. TGRAS50K).

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

Para la prueba de los compuestos, las células se sembraron en una densidad de 4,000 células (Rata-1_PI3Kdelta), 7,500 células (Rata-1_PI3Kalfa), o 6,200 células (Rata-1_PI3Kbeta) en 20 microlitros del medio de crecimiento Complete en las placas de 384 pozos tratadas con el cultivo celular, y se cultivaron a 37°C / CO₂ al 5 % / 90 % de

humedad durante 24 horas. Poco antes de la transferencia del compuesto, se removió el medio Complete, se agregaron 30 microlitros de regulador de ensayo (DMEM alto en glucosa, 1x MEM NEAA, HEPES 10 mM, L-glutamina 2 mM, albúmina de suero bovino (BSA) al 0.1 % (peso/volumen)), y se transfirieron 10 microlitros de las prediluciones de los compuestos a las células. Después del tratamiento con el compuesto durante 1 hora, las células se lisaron mediante la adición de 20 microlitros de regulador de lisis complementado con albúmina de suero bovino (BSA) al 0.24 % (peso/volumen). La detección de p-AKT (Ser473) se llevó a cabo con el Kit de Ensayo de p-Akt 1/2 (Ser473) SureFire de acuerdo con las instrucciones del fabricante, utilizando 5 microlitros del lisado celular en un volumen de detección total de 12 microlitros.

Los valores IC₅₀ del porcentaje de inhibición de cada compuesto en 8 concentraciones (usualmente 10, 3.0, 1.0, 0.3, 0.1, 0.030, 0.010 y 0.003 µM) n = 2 se derivaron mediante el ajuste de una curva sigmoidea de respuesta a la dosis a una gráfica de la lectura del ensayo sobre la concentración del inhibidor como se describe. Todos los ajustes se llevaron a cabo con el programa XLfit4 (ID Business Solutions, Guildford, Reino Unido (UK)).

Ensayo celular de U937 AKT para PI3-quinasa-gamma (K)

La línea celular de monocitos U937 se mantiene en un medio basal de RPMI 1640 complementado con suero bovino fetal (FBS) inactivado por calor al 10 %, 100 Unidades/mililitro de penicilina, 100 microgramos/mililitro de estreptomycin y L-glutamina 2 mM (Invitrogen). El cultivo en suspensión de U937 se mantiene sembrando las células en una densidad de 0.125 x 10⁶ células por mililitro en el medio fresco cada tres o cuatro días. Las células se incuban a 37°C, con CO₂ al 5 %. Tres o cuatro días antes del ensayo, las células se siembran en una densidad de 0.25 x 10⁶ células por mililitro en un volumen total de 40 mililitros en un matraz de cultivo T162.

Antes de empezar las manipulaciones de las células descritas más adelante, la placa de ensayo MSD (Meso Scale Discovery) se bloquea mediante la adición de 150 microlitros/pozo de regulador de bloqueo suministrado, y se incuba con agitación durante un mínimo de una hora a temperatura ambiente. Todos los pasos del ensayo se deben llevar a cabo rápidamente, con períodos de incubación precisamente cronometrados, y observando los controles de temperatura cuando así sea indicado.

Las células sembradas a 0.25 x 10⁶/mililitro 3 o 4 días antes del ensayo se aspiran o se transfieren a un tubo Falcon de 50 mililitros, se cuentan y se centrifugan durante ocho minutos a 300 g a temperatura ambiente.

El sobrenadante se aspira, el aglomerado celular se vuelve a suspender, y se lava una vez en HBSS (solución de sal balanceada de Hank) mediante centrifugación durante ocho minutos a 300 g a temperatura ambiente. El aglomerado celular se vuelve a suspender en HBSS en una concentración de 4 x 10⁶ células por mililitro, y se agregan 100 microlitros de la suspensión celular a cada pozo de una placa de cultivo de tejido de 96 pozos de fondo plano. Las placas de ensayo se incuban durante 1.5 horas a 37°C, con CO₂ al 5 % para permitir que se reduzca la fosforilación de AKT del fondo antes del paso de estimulación del compuesto.

Se preparó una concentración de suministro de 5mM del compuesto en sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 100 %; a partir de esto, se hace una dilución a 1 en 125 en HBSS, dando una concentración superior del compuesto de 40µM, sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 0.8 %. Las titulaciones de los compuestos se preparan en una placa de 96 pozos de fondo plano limpia, mediante la dilución 10 veces en serie de 40µM en HBSS con sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 0.8 %; las puntas de pipeta se reemplazan después de que se hace cada dilución. Las concentraciones de los compuestos en esta etapa son 4 veces la concentración final requerida en la placa de ensayo. Las células se estimulan con el compuesto o HBSS en sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 0.8 % mediante la transferencia directa de 50 microlitros/pozo a partir de la placa de dilución de compuestos. La placa de ensayo que contenía las células tratadas con los compuestos se incubaba entonces durante 30 minutos a 37°C. Se utiliza un despliegue de placa estándar para todos los experimentos.

Las células tratadas con los compuestos, en adición a los pozos de control positivo ("max MIP1α"), se estimulan con 50 microlitros por pozo de 40 nanogramos/mililitro de MIP1α (R&D Systems, el número de catálogo 270-LD, el suministro liofilizado se reconstituye hasta 50 microgramos/mililitro con suero regulado con fosfato -albúmina de suero bovino (BSA) al 0.1 %). Los pozos de control negativo ("min HBSS"), se estimulan con 50 micro-litros/pozo de HBSS en ausencia de MIP1α. Las concentraciones finales de los compuestos se diluyen ahora 4 veces, dando una concentración superior de 10µM; en donde se agregue, la concentración final de MIP1α es de 10 nanogramos/mililitro. Las células se incuban con MIP1α durante 3 minutos, a 37°C, con CO₂ al 5 %. Después del período de estimulación de tres minutos, la placa de ensayo se mantiene helada en todo momento. Las placas de ensayo se centrifugan durante 2 minutos a 300 g, a 4°C y el sobrenadante se remueve mediante inversión suave, y entonces se transfiere la placa al tejido. Las células se lavan entonces mediante la adición suave de 150 microlitros/pozo de HBSS helado y la centrifugación a 300 g, durante 5 minutos a 4°C. El sobrenadante se aspira, y la placa se transfiere como se describe anteriormente. La placa se coloca sobre hielo y las células se tratan inmediatamente con 35 microlitros por pozo de regulador de lisis helado, preparado de acuerdo con las instrucciones del kit (por placa de ensayo, a 5 mililitros de regulador de lisis Tris, se les agregan 100 microlitros de la solución inhibidora de proteasa 50x y 50 microlitros de cada una de las soluciones inhibidoras de fosfatasa 100x I y II). Las

ES 2 667 424 T3

placas se incuban sobre hielo durante 20 minutos antes de la centrifugación a 841 g durante 5 minutos, 4°C.

- 5 El regulador de bloqueo se aspira a partir de la placa MSD, y la placa se lava cuatro veces con 300 microlitros/pozo de regulador de lavado Tris. 25 microlitros del lisado celular se transfieren entonces desde la placa de ensayo hasta la placa MSD lavada, la cual se sella y se incuba a temperatura ambiente durante una hora con agitación. La placa se lava cuatro veces con 300 microlitros por pozo de regulador de lavado Tris antes de la adición de 25 microlitros por pozo del anticuerpo de detección anti-AKT/pAKT total con marca-sulfo (60 microlitros de suministro del anticuerpo 50x se diluyen en 1 mililitro de regulador de bloqueo mezclado con 2 mililitros de regulador de lavado), y se incuban a temperatura ambiente durante una hora con agitación. La placa se lava cuatro veces con 300 microlitros por pozo de regulador de lavado Tris y se agregan 150 microlitros por pozo de regulador de lectura, 10 teniendo cuidado de evitar la introducción de burbujas. La placa se lee inmediatamente utilizando un MSD SECTOR Imager 6000. Los resultados se exportan en Excel y se calcula el porcentaje de AKT fosforilada utilizando la ecuación: % Fosfoproteína = $((2 * \text{Señal fosfo}) / (\text{Señal fosfo} + \text{Señal total})) * 100$. La inhibición de la fosforilación de AKT mediada por el compuesto se analiza utilizando el software Prism V Graphpad.

Ensayo de cambio de la forma de neutrófilos de sangre entera (L)

- 15 Se empleó un método basado en citometría de flujo para medir la inhibición del cambio de la forma de los neutrófilos inducido por IL-8 (interleucina-8) en sangre entera humana.

Reactivos, material y equipo

Agua destilada estéril, Baxter # UKF117.

Solución CellFIX 10X, BECTON DICKINSON Biosciences # 340181.

- 20 IL-8, R&D Systems # 208-IL.

DMSO, Hybri-Max, Sigma-Aldrich # D2650.

Suero regulado con fosfato de Dulbecco 1X [+] CaCl_2 , MgCl_2 , Gibco por Life Technologies #14040.

Solución de albúmina a partir del suero bovino (30 %), Sigma Aldrich # A9576-50 mililitros.

Cloruro de amonio NH_4Cl , Sigma Aldrich # A0171.

- 25 Bicarbonato de potasio KHCO_3 , Sigma Aldrich # P9144.

K2 EDTA Vacutainers, Becton Dickinson Vacutainer ® #367525.

Placas de pozos profundos de polipropileno de 96 pozos, VWR # PORV219009.

Placas de 96 pozos, fondo en V con tapa, Costar # 3894.

Placas de polipropileno de 96 pozos, fondo redondo, Greiner # 650261 (para muestreador de alta producción FACS).

- 30 Puntas de filtro Biohit previamente esterilizadas de 120 microlitros, Biohit #790101F.

Puntas Biohit previamente esterilizadas de 350 microlitros, Biohit #790350.

Puntas Biohit previamente esterilizadas de 1,200 microlitros, Biohit # 791202.

Pipeta electrónica de 8 canales Biohit e1200.

Pipeta electrónica de 8 canales Biohit e120.

- 35 Pipeta Eppendorf Research Plus de 100 a 1,000 microlitros.

Pipeta Eppendorf Research Plus de 20 a 200 microlitros.

Citómetro de flujo Becton Dickinson Biosciences FACS Canto II con MUESTREADOR DE ALTA PRODUCCIÓN.

ES 2 667 424 T3

La IL-8 se reconstituyó hasta suministros de 2µM en albúmina de suero bovino (BSA) al 0.1 %/suero regulado con fosfato (PBS), y se almacenó a -80°C. La IL-8 se diluyó en suero regulado con fosfato (PBS) 10 minutos antes de usarse. La IL-8 se utilizó en una concentración final de 2nM y un intervalo de concentración de 0.003 a 200 nM para la curva de respuesta a la dosis del donador.

5 La solución de fijación del ensayo se preparó fresca cada día a partir de una solución de CellFIX^{MR} concentrada 10X diluida a 1:10 en agua destilada estéril, y entonces a 1:4 con suero regulado con fosfato (PBS). La solución de fijación del ensayo se mantuvo sobre hielo antes de usarse.

10 Se preparó un regulador de lisis 10X con anticipación mediante la disolución de 20.75 gramos de NH₄Cl y 2.5 gramos de KHCO₃ en 250 mililitros de H₂O estéril. Este regulador de lisis 10X se filtró bajo condiciones estériles y se almacenó durante hasta dos semanas a 4°C. En el día de su uso, se preparó una solución de lisis 1X con H₂O destilada estéril, y se mantuvo sobre hielo antes de usarse.

15 Los compuestos de prueba se prepararon como soluciones de suministro 10 mM en un 100 % de sulfóxido de dimetilo (DMSO), y se almacenaron a 4°C. Una vez en el uso para un ensayo, los compuestos de suministro 10 mM se descongelaron y se almacenaron a temperatura ambiente protegidos de la luz. Las diluciones de los compuestos se prepararon frescas en el día de usarse. Lo primero que se hizo en la mañana, fue la primera serie de diluciones en un 100 % de sulfóxido de dimetilo (DMSO). Solamente una vez que se recolectó la sangre y que llegó al laboratorio, se llevó a cabo la siguiente serie de diluciones en suero regulado con fosfato (PBS) (1:10 de suero regulado con fosfato (PBS), sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 10 %). Esto limitó la exposición del compuesto diluido al plástico, y aseguró que el tiempo de exposición fuera consistente entre los ensayos. Los compuestos se agregaron a las placas profundas de 96 pozos a 10X la concentración final deseada (con la adición de sangre final [DMSO] = 1 %).

La tabla 3 ilustra las series de dilución de compuestos utilizadas en el ensayo de cambio de forma de los neutrófilos en la sangre entera humana.

Tabla 3

100% DMSO Dil. en serie 1 en 4	10% DMSO PBS 1 en 10	Placa de Ensayo de DMSO al 1%	Ejemplo; ID Pozo*
10,000 µM	1,000 µM	100 µM	B2; CPD + IL-8
2500	250	25	B3; CPD + IL-8
625	62.5	6.25	B4; CPD + IL-8
156.25	15.62	1.56	B5; CPD + IL-8
39.0625	3.9	0.39	B6; CPD + IL-8
9.765625	0.97	0.097	B7; CPD + IL-8
2.441406	0.24	0.024	B8; CPD + IL-8
0.610352	0.06	0.006	B9; CPD + IL-8
100% DMSO	10% DMSO	1% DMSO	B10; + IL-8

ES 2 667 424 T3

100% DMSO Dil. en serie 1 en 4	10% DMSO PBS 1 en 10	Placa de Ensayo de DMSO al 1%	Ejemplo; ID Pozo*
100% DMSO	10% DMSO	1% DMSO	B11; + PBS

5 En el día de la ejecución del ensayo, se prepararon las soluciones de regulador de fijación del ensayo y de lisis 1X y se almacenaron sobre hielo. Las diluciones de los compuestos en un 100 % de sulfóxido de dimetilo (DMSO) se prepararon como se describe anteriormente. Se recolectó sangre entera humana en K2 EDTA Vacutainers. Una vez que la sangre estuvo en el laboratorio, se llevaron a cabo las diluciones de los compuestos en suero regulado con fosfato como se describen anteriormente y como se ilustran en la tabla 1.

10 10 microlitros de 10X la concentración final del compuesto se agregaron a los pozos apropiados de una placa profunda de 96 pozos, excepto los controles, en donde se agregaron 10 microlitros del sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 10 % en lugar del compuesto, como se ilustra en las series de dilución en la tabla 1. Los pozos externos de la placa de ensayo de pozos profundos se llenaron con 1,200 microlitros de H₂O destilada estéril en un esfuerzo por limitar los efectos de borde (filas A1-H1, A1-A12, A12-H12).

15 Se determinó una respuesta a la dosis de IL-8, para cada donador de sangre examinado, para monitorear la respuesta del donador a la IL-8. En este paso en la preparación del ensayo para las muestras de respuesta a la dosis de IL-8, se agregaron 10 microlitros de suero regulado con fosfato (PBS) a los pozos designados. En adición, también se evaluó la ventana del ensayo sin sulfóxido de dimetilo (DMSO) cada día. Para estas muestras en este paso en la preparación del ensayo, se agregaron 10 microlitros de suero regulado con fosfato (PBS) en lugar del sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 10 %.

20 Se agregaron 80 microlitros de sangre entera al compuesto/sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 10 %/suero regulado con fosfato (PBS), y se mezclaron una vez suavemente después de la adición. Se colocaron las tapas sobre las placas de 96 pozos, y las muestras se incubaron durante 15 minutos a 37°C en un baño de agua.

25 En seguida de la pre-incubación del compuesto, se agregó la IL-8 final 10X a los pozos apropiados (10 microlitros de IL-8 de suministro de procesamiento 20nM, concentración final de IL-8 en sangre = 2nM), y se agregaron 10 microlitros de suero regulado con fosfato (PBS) a los controles no estimulados. También se agregó la IL-8 de 10X el intervalo de respuesta final a la dosis a los pozos designados (el intervalo de concentración final en la placa de ensayo fue de 200nM a 0.0005nM, 1:5 dilución en serie en suero regulado con fosfato (PBS)). Se agregaron la IL-8 y el suero regulado con fosfato (PBS) a los pozos apropiados a través de todas las placas de ensayo en la misma secuencia que la adición de la sangre al compuesto. Una vez que se agregaron a todas las placas de ensayo, las muestras se mezclaron rápidamente una vez para asegurar la distribución uniforme de la IL-8. Las muestras se incubaron durante 5 minutos a 37°C en un baño de agua. En seguida de la incubación, las placas de muestras se transfirieron a hielo, en donde se agregaron inmediatamente 250 microlitros del regulador de fijación del ensayo helado a todos los pozos.

35 Las muestras se incubaron sobre hielo durante 7 minutos (sin mezclarse). En seguida de la fijación, se agregaron entonces inmediatamente 1.2 mililitros de solución de lisis 1X a cada pozo. Una vez que se agregaron, las muestras se mezclaron una vez, y se incubaron sobre hielo durante 30 minutos para lograr una lisis uniforme de los glóbulos rojos sanguíneos. Después de la lisis, se transfirieron 200 microlitros de muestra a la microplaca de 96 pozos sobre hielo. Las muestras se adquirieron utilizando el HTS en el modo de alta producción en un Becton Dickinson FACS Canto II. Los granulocitos se identificaron basándose en las características de dispersión lateral diferencial (SSC), y de dispersión hacia adelante (FSC). Los neutrófilos se distinguieron de los eosinófilos utilizando el canal de ficoeritrina, debido a que éste último tiene una auto-fluorescencia más alta.

40 El valor de FSC promedio para la población de neutrófilos se tomó como una medida del cambio de forma de las células (el mayor valor de FSC significaba el mayor grado de cambio de forma). Los datos se presentaron de acuerdo como el porcentaje de cambio de forma sobre la basal para la curva de respuesta a la dosis de IL-8 y los controles de la ventana del ensayo, y se presentaron como el porcentaje de inhibición de cambio de forma para las muestras tratadas con el compuesto.

45 Porcentaje de cambio de forma sobre la basal

Se sustrae la lectura de FSC del control no estimulado a partir de las lecturas de FSC de los agonistas, se dividen los resultados entre el valor de SFC no estimulado, y se multiplica por 100, para dar el porcentaje de cambio de

forma sobre la basal.

Porcentaje de inhibición

% de inhibición = $(X-Y)/X \times 100$ (figura 2 para los valores de las muestras).

X = respuesta de FSC a IL-8 menos la FSC del control no estimulado (basal).

5 $(120,984 - 86,163 = 34,821 = X)$

Y = respuesta de FSC a IL-8 en las muestras tratadas con el compuesto menos la FSC del control no estimulado (basal).

$(89,841 - 86,163 = 3,678 = Y)$

$(34,821 - 3,678) / 34,821 \times 100 = 89 \%$ de inhibición de cambio de forma.

10 Los valores del porcentaje de inhibición se graficaron sobre el eje-Y contra la concentración de los compuestos sobre el eje-X, para dar los valores de IC₅₀.

Los datos del ensayo bioquímico para los ejemplos 1 a 13 se proporcionan en la siguiente tabla:

Tabla 4: Datos del ensayo bioquímico

	Ensayo A	Ensayo B	Ensayo C	Ensayo D	Ensayo E	Ensayo F	Ensayo G
Ejemplo	PI3K α	PI3K β	VPS34	PI4K β	PI3K γ	PI3K δ	mTOR
	IC ₅₀ (μ M)						
1	0.19	6.16	3.07	> 9.1	0.022	0.20	5.25
2	0.05	0.71	3.45	> 9.775	0.019	0.06	1.18
3	0.08	1.45	5.30	> 9.55	0.048	0.07	3.85
4	0.06	0.68	4.30	> 10	0.014	0.07	0.89
5	0.15	1.12	1.81	> 9.1	0.015	0.09	4.77
6	0.04	0.45	9.40	> 10	0.013	0.09	0.77
7	0.09	0.63	4.40	> 10	0.011	0.10	6.00
8	0.06	0.68	4.40	> 9.55	0.020	0.07	1.95

ES 2 667 424 T3

	Ensayo A	Ensayo B	Ensayo C	Ensayo D	Ensayo E	Ensayo F	Ensayo G
Ejemplo	PI3K α	PI3K β	VPS34	PI4K β	PI3K γ	PI3K δ	mTOR
	IC ₅₀ (μ M)						
9	0.26	> 9.10	> 9.1	> 9.1	0.160	0.01	> 9.1
10	0.07	8.50	> 10	> 10	0.027	0.02	9.80
11	0.40	3.93	3.08	> 9.1	0.088	0.12	6.24
12	0.16	> 9.10	8.60	> 9.1	0.006	0.01	> 9.1
13	0.10	1.90	2.45	> 9.55	0.038	0.04	3.00

Los datos del ensayo celular y los datos del ensayo funcional de cambio de forma de sangre entera, para los ejemplos 1 a 13, se proporcionan en la siguiente tabla:

Tabla 5: Datos del ensayo celular y datos de cambio de forma de sangre entera

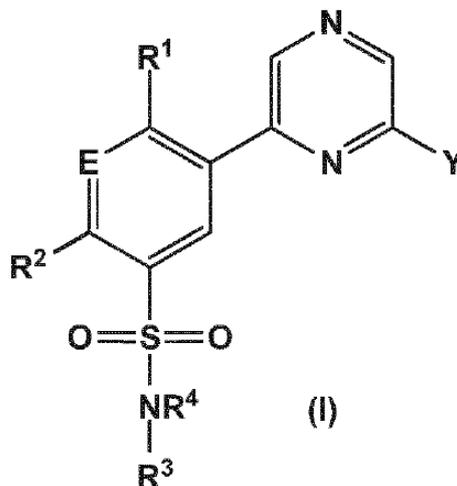
	Ensayo H	Ensayo I	Ensayo J	Ensayo K	Ensayo L
Ejemplo	PI3K α	PI3K β	PI3K δ	PI3K γ	WBSC
	IC ₅₀ (μ M)				
1				0.329	1.331
2	0.45	0.784	0.3665	0.066	0.266
3	1.02	3.18	1.37	0.080	1.075
4	0.293	0.833	0.285	0.054	0.548
5	0.838	9.42	0.54	0.038	0.179
6	0.709	1.05	0.515	0.022	0.374
7				0.061	0.212

ES 2 667 424 T3

	Ensayo H	Ensayo I	Ensayo J	Ensayo K	Ensayo L
Ejemplo	PI3K α	PI3K β	PI3K δ	PI3K γ	WBSC
	IC ₅₀ (μ M)				
8				0.096	0.625
9	2.48	6.98	1.68	0.599	0.598
10	3.09	3.83	0.771	0.121	0.663
11	1.7	> 10	1.05	0.213	0.752
12	1.14	1.11	0.306	0.122	0.830
13				0.122	0.847

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I):



en donde:

5 E se selecciona a partir de N y CR^E;

R¹, R² y R^E se seleccionan independientemente a partir de H, halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono;

R³ se selecciona a partir de:

10 (i) alquilo de 1 a 4 átomos de carbono que está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, oxo, -NR^{3a}R^{3b} y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o
15 sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

(ii) alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono que está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, oxo, -NR^{3a}R^{3b} y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o
20 sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

(iii) -cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono o -O-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-NR^{3a}R^{3b};

(iv) -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono u -(O-alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono espiro-fusionado con un segundo cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, o heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, o heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3
30 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxil-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-NR^{3a}R^{3b};

(v) -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono u -(O-alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de
35

carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$;

- 5 (vi) $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono u $-(\text{O-alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está espiro-fusionado con un segundo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$;

R^{3a} y R^{3b} se seleccionan independientemente a partir de H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

- 15 R^4 se selecciona a partir de H y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; o

R^3 y R^4 junto con el átomo de nitrógeno con el que están unidos, forman un heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, cuyo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está opcionalmente, espiro-fusionado con un segundo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, y cuyo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, y cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono están insustituidos o sustituidos con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

25 Y es un heteroarilo de 5 a 6 miembros, cuyo heteroarilo está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$, $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, y $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 30 2. El compuesto o la sal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R^3 se selecciona a partir de:

(i) alquilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, oxo, y $-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$;

(ii) alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, halógeno, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

- 35 (iii) $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y halógeno;

40 (iv) $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono espiro-fusionado con un segundo cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, en donde el segundo cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo y halógeno; y

45 (v) $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono e hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

50 (vi) un $-(\text{alquilo de 0 a 3 átomos de carbono})$ -heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono contiene cuando menos un heteroátomo seleccionado a partir de O y N, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está espiro-fusionado con un segundo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, mediante un solo átomo de carbono, y en donde el heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, o cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con

1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo e hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R^{3a} y R^{3b} se seleccionan independientemente a partir de H y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁴ se selecciona a partir de H y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; o

- 5 R³ y R⁴ junto con el átomo de nitrógeno con el que están unidos, forman un heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono, cuyo heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de hidroxilo, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y alquilo de 1 a 4 átomos de carbono.

3. El compuesto o la sal de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde:

- 10 Y se selecciona a partir de:

- tiazolilo,

- pirazolilo,

- piridilo,

- triazolilo,

- 15 - imidazolilo,

- oxadiazolilo,

- pirimidinilo,

- isoxazolilo,

- oxazolilo, y

- 20 - tienilo;

25 cada uno de los cuales está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono-alquilo, -NR^{3a}R^{3b}, -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-heterociclilo de 3 a 6 átomos de carbono.

4. El compuesto o la sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3:

Y se selecciona a partir de:

- tiazol-5-ilo,

- 30 - pirazol-4-ilo,

- pirazol-5-ilo,

- pirazol-1-ilo,

- pirid-4-ilo,

- pirid-3-ilo,

- 35 - 1,2,4-triazol-1-ilo,

- 1,2,3-triazol-4-ilo,

- imidazol-1-ilo,
- 1,2,4-oxadiazol-5-ilo,
- 1,3,4-oxadiazol-2-ilo,
- tien-3-ilo,

- 5 - isoxazol-5-ilo,
- pirimidin-5-ilo,

10 cada uno de los cuales está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, hidroxi-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, halo-alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, y -(alquilo de 0 a 3 átomos de carbono)-cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono.

5. El compuesto o la sal de acuerdo una con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4:

en donde Y se selecciona a partir de:

- tiazol-5-ilo,
- 15 - pirazol-4-ilo,
- pirazol-5-ilo,
- pirazol-1-ilo,
- pirid-4-ilo,
- pirid-3-ilo,
- 20 - 1,2,4-triazol-1-ilo,
- 1,2,3-triazol-4-ilo,
- imidazol-1-ilo,
- 1,2,4-oxadiazol-5-ilo,
- isoxazol-5-ilo,
- 25 - pirimidin-5-ilo,
- tien-3-ilo,

cada uno de los cuales está insustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente a partir de metilo, etilo, propilo, isopropilo, ciclopropilo, CF₃, hidroxi-etilo, metoxi-etilo y metoxilo.

6. El compuesto o la sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde:

- 30 R³ se selecciona a partir de propilo, butilo y pentilo sustituidos por 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados a partir de hidroxilo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, halógeno, -NR^{3a}R^{3b}, y oxo.

7. El compuesto o la sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde:

R¹ se selecciona a partir de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono y H; y

R² se selecciona a partir de H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono y halógeno.

8. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado a partir de:

N-(3-hidroxi-propil)-4-metil-3-[6-(2-metil-tiazol-5-il)-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida;

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(2-hidroxi-2-metil-propil)-4-metil-bencen-sulfonamida;

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-bencen-sulfonamida;

5 3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-4-metil-N-(3-metil-oxetan-3-il-metil)-bencen-sulfonamida;

N-((1r,4r)-4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-3-(6-(2-metil-tiazol-5-il)-pirazin-2-il)-bencen-sulfonamida;

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(6-hidroxi-espiro-[3.3]-hept-2-il)-4-metil-bencen-sulfonamida;

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-ciclobutil-metil)-4-metil-bencen-sulfonamida;

3-[6-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-2,2-dimetil-propil)-4-metil-bencen-sulfonamida;

10 N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-3-[6-[1-(2-morfolin-4-il-etil)-1H-pirazol-4-il]-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida;

N-(3-hidroxi-3-metil-butil)-4-metil-3-[6-[3-metil-1-(2-morfolin-4-il-etil)-1H-pirazol-4-il]-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida;

N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-3-(6-piridin-3-il-pirazin-2-il)-bencen-sulfonamida;

N-(4-hidroxi-ciclohexil)-4-metil-3-[6-(5-morfolin-4-il-metil-tiofen-3-il)-pirazin-2-il]-bencen-sulfonamida; y

3-[6-(2,5-dimetil-2H-pirazol-3-il)-pirazin-2-il]-N-(3-hidroxi-ciclobutil-metil)-4-metil-bencen-sulfonamida;

15 o a una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

9. Una composición farmacéutica, la cual comprende:

una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto o de la sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

10. Una combinación farmacéutica, la cual comprende:

20 una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto o de la sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, y un segundo agente activo.

11. Un compuesto o una sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para utilizarse en medicina.

25 12. Un compuesto o una sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para utilizarse en el tratamiento de un trastorno o de una enfermedad mediada por la activación de la isoforma gamma de PI3-quinasa.

13. un compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para uso en el tratamiento de afecciones inflamatorias, obstructivas o alérgicas.

30 14. Un compuesto o una sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para utilizarse en el tratamiento de enfermedades respiratorias, alergias, artritis reumatoide, osteoartritis, trastornos reumáticos, psoriasis, colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, choque séptico, trastornos proliferativos, tales como cáncer, aterosclerosis, rechazo de aloinjerto en seguida de trasplante, diabetes, embolia, obesidad y restenosis.