

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 660 263**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/517** (2006.01)

**C07D 239/70** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA  
TRAS OPOSICIÓN

T5

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.03.2012** **PCT/US2012/031679**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2012** **WO12135759**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2012** **E 12764765 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **07.08.2024** **EP 2694072**

54 Título: **Combinación de compuesto inhibidor de AKT y abiraterona para su uso en tratamientos terapéuticos**

30 Prioridad:

**01.04.2011 US 201161470803 P**

**01.04.2011 US 201161470624 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente modificada:  
**10.02.2025**

73 Titular/es:

**GENENTECH, INC. (100.00%)**

**1 DNA Way**

**South San Francisco, CA 94080-4990, US**

72 Inventor/es:

**NANNINI, MICHELLE y**

**SAMPATH, DEEPAK**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

## DESCRIPCIÓN

Combinación de compuesto inhibidor de AKT y abiraterona para su uso en tratamientos terapéuticos

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere en general a combinaciones farmacéuticas de compuestos con actividad contra trastornos hiperproliferativos, tal como cáncer, y que incluyen compuestos que inhiben la actividad de AKT cinasa. La invención también se refiere a las combinaciones para su uso en el diagnóstico o tratamiento *in vitro*, *in situ* e *in vivo* de células de mamífero, o de afecciones patológicas asociadas.

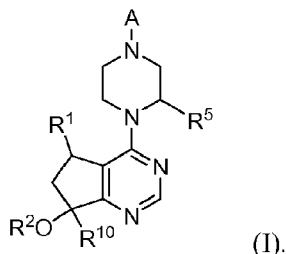
**Antecedentes de la invención**

Las proteína cinasas (PK) son enzimas que catalizan la fosforilación de grupos hidroxilo en residuos de tirosina, serina y treonina de proteínas mediante la transferencia del fosfato terminal (gamma) de ATP. A través de las rutas de transducción de señal, estas enzimas modulan el crecimiento, la diferenciación y la proliferación celular, es decir, prácticamente todos los aspectos de la vida celular que de una manera u otra dependen de la actividad de PK (Hardie, G. y Hanks, S. (1995) The Protein Kinase Facts Book. I and II, Academic Press, San Diego, CA). Además, la actividad anormal de PK se ha relacionado con un huésped de trastornos, que van desde enfermedades relativamente no mortales, tales como la psoriasis, a enfermedades extremadamente virulentas, tales como el glioblastoma (cáncer de cerebro). Las proteína cinasas son una clase de dianas importantes para la modulación terapéutica (Cohen, P. (2002) Nature Rev. Drug Discovery 1: 309).

La Publicación de Solicitud de Patente Internacional Número WO 2008/006040 analiza una serie de inhibidores de AKT de fórmula I:

Carver et al. (Cancer Cell 19, 575-586, 2011) analizan la inhibición farmacológica simultánea de PI3K y las vías del receptor de andrógenos (dos vías oncogénicas reguladas de forma cruzada) para causar una regresión casi total del cáncer de próstata.

La publicación de solicitud de patente internacional número WO 2008/006040 y el documento US 2008/0051399 analizan una serie de inhibidores de AKT de fórmula I:

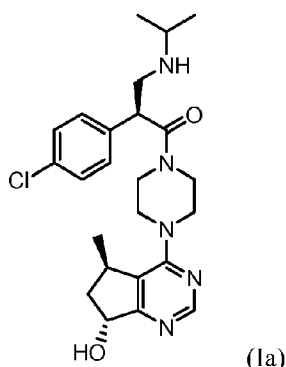


Actualmente, sigue existiendo la necesidad de métodos y composiciones mejoradas que puedan usarse para tratar enfermedades hiperproliferativas tales como el cáncer.

**Sumario de la invención**

Se ha determinado que se pueden conseguir efectos aditivos o sinérgicos en la inhibición del crecimiento de células cancerosas *in vitro* e *in vivo* administrando un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con algunos otros agentes quimioterapéuticos específicos. Las combinaciones y métodos pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos hiperproliferativos tales como cáncer.

Un aspecto de la invención proporciona un compuesto de fórmula Ia:



junto con abiraterona para su uso en el tratamiento de cáncer de próstata.

- 5 El compuesto de fórmula Ia y abiraterona pueden formularse conjuntamente para su administración en una combinación como una composición farmacéutica, o pueden administrarse por separado de forma alterna (secuencialmente) como una combinación terapéutica.

10 También se describe un kit que comprende un compuesto de fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un recipiente y un prospecto o etiqueta que indica la administración del compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con abiraterona para tratar el cáncer de próstata.

15 Un aspecto de la invención proporciona un producto que comprende un compuesto que tiene la fórmula Ia y abiraterona como una preparación combinada para su uso por separado, simultáneo o secuencial en el tratamiento del cáncer de próstata.

Además de proporcionar un tratamiento mejorado para un trastorno hiperproliferativo determinado, la administración de ciertas combinaciones de la invención puede mejorar la calidad de vida de un paciente en comparación con la calidad de vida experimentada por el mismo paciente que recibe un tratamiento diferente. Por ejemplo, la administración de una combinación de un compuesto de fórmula Ia y abiraterona como se describe en el presente documento a un paciente, puede proporcionar una mejor calidad de vida en comparación con la calidad de vida que el mismo paciente experimentaría si recibiera únicamente el agente quimioterapéutico como terapia. Por ejemplo, la terapia combinada con la combinación descrita en el presente documento puede disminuir la dosis de agentes quimioterapéuticos necesarios, disminuyendo de este modo los efectos secundarios asociados a los agentes quimioterapéuticos de dosis altas (por ejemplo, náuseas, vómitos, pérdida del cabello, erupción cutánea, disminución del apetito, pérdida de peso, etc.). La combinación también puede causar una reducción de la carga tumoral y los eventos adversos asociados, tales como dolor, disfunción orgánica, pérdida de peso, etc.

#### Breve descripción de los dibujos

La figura 1 ilustra datos para el compuesto de fórmula Ia (GDC-0068) dosificado PO + abiraterona en tumores de próstata primarios LuCaP35V.

La figura 2 ilustra datos para el compuesto de fórmula Ia (GDC-0068) dosificado PO + abiraterona en tumores de próstata primarios DU-145.x1.

#### Descripción detallada de realizaciones a modo de ejemplo y definiciones

Las palabras "comprender", "que comprende", "incluir", "que incluye" e "incluye" cuando se usan en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones, pretenden especificar la presencia de características, números enteros, componentes o etapas que se indican, pero no excluyen la presencia o adición de una o más características, números enteros, componentes, etapas diferentes o grupos de los mismos.

La actividad de las terapias antiandrogénicas, incluida la bicalutamida, el agonista de la GnRH y la abiraterona, ha dado como resultado una mejor supervivencia para los pacientes con cáncer de próstata. Sin embargo, casi todos los pacientes que presentan cáncer de próstata avanzado sensible a hormonas progresan a CRPC y requieren otras formas de terapia. La activación de la señalización de PI3K/Akt, a menudo manifestada por pérdida de PTEN, es un sello frecuente de CRPC. La desregulación de esta ruta da como resultado la activación de dianas aguas abajo (por ejemplo, PRAS40, MTOR, GSK3b, FOXO, etc.) implicadas en la supervivencia, la proliferación, la progresión del ciclo celular, el crecimiento, la migración y la angiogénesis. Notablemente, la delección de PTEN específica de próstata en modelos de ratón recapitula fielmente las características del cáncer de próstata humano, y la eliminación de Akt1 en un modelo knockout de Pten condicional reduce significativamente el cáncer de próstata (Chen et al., 2006; Guertin et al. 2009; Nardella et al. 2009). Además, la delección de Pten promueve la independencia de andrógenos en líneas celulares y modelos de cáncer de próstata en ratones (Gao et al., 2006;

Jiao et al. 2007). En pacientes con cáncer de próstata, la pérdida de PTEN se asocia con puntuaciones más altas de Gleason, recidiva post-prostatectomía, metástasis óseas y progresión a resistencia a la castración. Además, la pérdida de PTEN se asocia con una disminución en la supervivencia general. Colectivamente, estos resultados sugieren que la activación de la vía de PI3K/Akt es un factor importante para el cáncer de próstata.

Datos no clínicos recientes sugieren que la interferencia recíproca entre las rutas AR y PI3K/Akt se produce en CRPC deficientes en PTEN. Específicamente, la activación de la ruta de PI3K/Akt está asociada con la señalización androgénica reprimida, y la inhibición de la ruta de PI3K/Akt restaura la señalización AR en células de próstata deficientes en PTEN. Los mecanismos propuestos para explicar estas observaciones incluyen la inhibición de PI3K/Akt que da como resultado la activación por retroalimentación de AR a través de la regulación ascendente de HER cinasas y la inhibición de AR que alivia la inhibición por retroalimentación de Akt por la fosfatasa PHLPP (Carver et al., 2011). Esta cooperatividad recíproca entre las vías de PI3K/Akt y AR sugiere que la inhibición de una sola vía conduciría a una eficacia clínica subóptima. Por lo tanto, la inhibición combinada de las vías AR y PI3K/Akt puede dar como resultado una extinción más completa de la viabilidad de las células tumorales y un beneficio clínico más duradero.

Las expresiones "tratar" y "tratamiento" se refieren tanto al tratamiento terapéutico como a las medidas profilácticas o preventivas, en las que el objeto es prevenir o ralentizar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico no deseado, tal como el crecimiento, el desarrollo o la diseminación del cáncer. Para los propósitos de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero sin limitación, el alivio de los síntomas, la disminución de la extensión de la enfermedad, el estado estabilizado (es decir, sin empeoramiento) de la enfermedad, el retraso o la desaceleración del avance de la enfermedad, la mejora o la paliación de la patología, y la remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable. "Tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Los que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya padecen la afección o el trastorno, así como los que son propensos a tener la afección o trastorno o aquellos en los que se debe prevenir la afección o trastorno.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un compuesto de la presente invención que (i) trata la enfermedad, afección o trastorno particular, (ii) atenúa, mejora o elimina uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular, o (iii) previene o retrasa la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular que se describen en el presente documento. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco puede reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir (es decir, retardar hasta cierto punto y preferiblemente detener) la infiltración de células cancerosas en los órganos periféricos; inhibir (es decir, retardar hasta cierto punto y preferiblemente detener) la metástasis tumoral; inhibir, hasta cierto punto, el crecimiento tumoral; y/o aliviar hasta cierto punto uno o más de los síntomas asociados con el cáncer. En la medida en que el fármaco puede prevenir el crecimiento y/o destruir las células cancerosas existentes, puede ser citostático y/o citotóxico. Para la terapia contra el cáncer, la eficacia se puede medir, por ejemplo, evaluando el tiempo hasta el avance de la enfermedad (TTP) y/o determinando la tasa de respuesta (RR).

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren o describen la afección fisiológica en mamíferos que se caracteriza normalmente por un crecimiento celular no regulado. Un "tumor" comprende una o más células cancerosas. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero sin limitación, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma, y leucemia o neoplasias linfoides. Los ejemplos más particulares de tales cánceres incluyen cáncer de células escamosas (por ejemplo, cáncer de células escamosas epiteliales), cáncer de pulmón, incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas ("NSCLC"), adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso del pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago, incluyendo cáncer gastrointestinal, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, carcinoma de glándula salival, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma de pene, así como cáncer de cabeza y cuello. El cáncer gástrico, como se utiliza en el presente documento, incluye cáncer de estómago, que puede desarrollarse en cualquier parte del estómago y puede propagarse por todo el estómago y a otros órganos; particularmente el esófago, los pulmones, los ganglios linfáticos y el hígado.

Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto biológico (molécula grande) o químico (molécula pequeña) útil en el tratamiento del cáncer, independientemente del mecanismo de acción. Las clases de agentes quimioterapéuticos incluyen, pero sin limitación: agentes alquilantes, antimetabolitos, alcaloides antimitóticos de origen vegetal, antibióticos citotóxicos/antitumorales, inhibidores de la topoisomerasa, proteínas, anticuerpos, fotosensibilizadores e inhibidores de la cinasa. Los agentes quimioterapéuticos incluyen compuestos usados en "terapia dirigida" y quimioterapia convencional no dirigida.

El término "mamífero" incluye, pero sin limitación, seres humanos, ratones, ratas, cobayas, monos, perros, gatos, caballos, vacas, cerdos, ovejas y aves de corral.

El término "prospecto" se usa para referirse a las instrucciones habitualmente incluidas en envases comerciales

de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, contraindicaciones y/o advertencias relativas al uso de dichos productos terapéuticos.

Un "solvato" se refiere a una asociación física o complejo de una o más moléculas de disolvente y un compuesto de la invención. Los compuestos pueden existir en formas no solvatadas, así como solvatadas. Los ejemplos de disolventes que forman solvatos incluyen, pero sin limitación, agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético y etanolamina. El término "hidrato" se refiere al complejo donde la molécula de disolvente es agua. Esta asociación física implica grados variables de enlace iónico y covalente, incluyendo enlace de hidrógeno. En ciertos casos, el solvato será capaz de aislarse, por ejemplo, cuando una o más moléculas de disolvente se incorporan en la estructura cristalina del sólido cristalino. En general, se conoce la preparación de solvatos, por ejemplo, M. Caira et al, J. Pharmaceutical Sci., 93(3), 601 611 (2004). Se describen preparaciones similares de solvatos, hemisolvato, hidratos y similares por E. C. van Tonder et al, AAPS PharmSciTech., 5(1), artículo 12 (2004); y A. L. Bingham et al, Chem. Commun., 603 604 (2001). Un proceso típico y no limitante implica disolver el compuesto de la invención en las cantidades deseadas del disolvente deseado (orgánico o agua o mezclas de los mismos) a un valor superior que la temperatura ambiente, y enfriar la solución a una velocidad suficiente para formar cristales que se aislen entonces por métodos estándar. Las técnicas analíticas, tal como, por ejemplo, espectroscopía I.R., muestran la presencia del disolvente (o agua) en los cristales como un solvato (o hidrato).

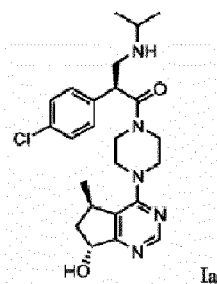
El término "sinérgico", como se usa en el presente documento, se refiere a una combinación terapéutica que es más eficaz que los efectos aditivos de los dos o más agentes únicos. Una determinación de una interacción sinérgica entre un compuesto de fórmula la y abiraterona puede basarse en los resultados obtenidos a partir de los ensayos descritos en el presente documento. Los resultados de estos ensayos pueden analizarse usando el método de combinación de Chou y Talalay y el análisis del efecto de la dosis con el software CalcuSyn para obtener un índice de combinación (Chou y Talalay, 1984, Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55). Las combinaciones proporcionadas por esta invención se han evaluado en varios sistemas de ensayo, y los datos se pueden analizar utilizando un programa estándar para cuantificar sinergia, aditividad y antagonismo entre agentes anticancerosos. El programa utilizado es el descrito por Chou y Talalay, en "New Avenues in Developmental Cancer Chemotherapy", Academic Press, 1987, Capítulo 2. Los valores del Índice de Combinación inferiores a 0,8 indican sinergia, los valores superiores a 1,2 indican antagonismo, y los valores entre 0,8 a 1,2 indican efectos aditivos. La terapia de combinación puede proporcionar "sinergia" y demostrar "sinérgica", es decir, el efecto alcanzado cuando los principios activos usados juntos es superior a la suma de los efectos que resultan del uso separado de los compuestos. Puede alcanzarse un efecto sinérgico cuando los principios activos están: (1) co-formulados y administrados o suministrados simultáneamente en una formulación de dosis unitaria combinada; (2) suministrados de forma alterna o en paralelo como formulaciones separadas; o (3) por algún otro régimen. Cuando se suministran en terapia de alternancia, puede alcanzarse un efecto sinérgico cuando los compuestos se administran o se suministran secuencialmente, por ejemplo, mediante inyecciones diferentes en jeringuillas separadas. En general, durante la terapia de alternancia, se administra una dosificación eficaz de cada principio activo secuencialmente, es decir, en serie, mientras que en la terapia de combinación, las dosis eficaces de dos o más principios activos se administran juntas. En algunos ejemplos, los efectos de combinación se evaluaron usando tanto el modelo de independencia BLISS como el modelo de agente individual mayor (HSA) (Lehár et al. 2007, Molecular Systems Biology 3: 80). Las puntuaciones de BLISS cuantifican el grado de potenciación de los agentes individuales y una puntuación de BLISS > 0 sugiere una aditividad mayor que la sencilla. Una puntuación de HSA > 0 sugiere un efecto de combinación mayor que el máximo de las respuestas del agente individual a las concentraciones correspondientes.

En un aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula la junto con abiraterona que proporciona un efecto sinérgico en el tratamiento del cáncer de próstata. En un aspecto adicional, el efecto sinérgico tiene un valor del índice de combinación de menos de aproximadamente 0,8.

En un aspecto, GDC-0068 o una sal del mismo se administra junto con abiraterona (y, opcionalmente, adicionalmente junto con prednisona o prednisolona) para tratar el cáncer de próstata. En otro ejemplo, el cáncer es cáncer de próstata metastásico. En un ejemplo, el cáncer es adenocarcinoma de próstata.

#### FÓRMULA la

Los compuestos de Fórmula la incluyen un compuesto de fórmula la:



#### PREPARACIÓN DE COMPUESTOS DE FÓRMULA I

- 5 Los compuestos de esta invención pueden sintetizarse mediante rutas de síntesis que incluyen procesos análogos a los ya conocidos en las técnicas químicas, particularmente a la luz de la descripción contenida en el presente documento. Los materiales de partida están disponibles en general a partir de fuentes comerciales, tal como Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI), o se preparan fácilmente usando métodos ya conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, preparados por métodos descritos en general en Louis F. Fieser y Mary Fieser, Reagents for Organic  
10 Synthesis, v. 1-19, Wiley, N.Y. (1967-1999 ed.), o Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlín, incluyendo los suplementos). La síntesis del compuesto de fórmula Ia se describe en el Ejemplo 2.

#### MÉTODOS DE SEPARACIÓN

- 15 En cualquiera de los métodos de síntesis para preparar los compuestos de Fórmula Ia, puede ser ventajoso separar los productos de reacción entre sí y/o de los materiales de partida. Los productos deseados de cada etapa o serie de etapas se separan y/o se purifican hasta el grado deseado de homogeneidad mediante las técnicas comunes en la técnica. Típicamente, tales separaciones implican extracción multifásica, cristalización en un disolvente o  
20 mezcla de disolventes, destilación, sublimación o cromatografía. La cromatografía puede implicar cualquier número de métodos incluyendo, por ejemplo: de fase inversa y fase normal; exclusión de tamaño; intercambio iónico; métodos y aparatos de cromatografía líquida de alta, media y baja presión; analítica a pequeña escala; lecho móvil simulado (SMB) y cromatografía preparativa de capa fina o gruesa, así como técnicas de cromatografía de capa fina y ultrarrápida a pequeña escala.

- 25 Otra clase de métodos de separación implica el tratamiento de una mezcla de reacción con un reactivo seleccionado para unirse o hacer de otro modo separable un producto deseado, material de partida sin reaccionar, reacción por producto, o similar. Dichos reactivos incluyen adsorbentes o absorbentes tales como carbón activado, tamices moleculares, medios de intercambio iónico, o similares. Como alternativa, los reactivos pueden ser ácidos  
30 en el caso de un material básico, bases en el caso de un material ácido, reactivos de unión, tales como anticuerpos, proteínas de unión, quelantes selectivos, tales como éteres corona, reactivos de extracción iónica líquido/líquido (LIX), o similar.

- 35 La selección de los métodos de separación apropiados depende de la naturaleza de los materiales implicados. Por ejemplo, punto de ebullición y peso molecular en la destilación y sublimación, presencia o ausencia de grupos funcionales polares en la cromatografía, estabilidad de los materiales en medios ácidos y básicos en la extracción multifásica, y similares. Un experto en la técnica aplicará técnicas más probables para conseguir la separación deseada.

- 40 Las mezclas diastereoméricas pueden separarse en sus diastereómeros individuales basándose en sus diferencias físico-químicas por métodos bien conocidos por los expertos en la técnica, tales como por cromatografía y/o cristalización fraccional. Los enantiómeros pueden separarse convirtiendo la mezcla enantiomérica en una mezcla diastereomérica por reacción con un compuesto ópticamente activo apropiado (por ejemplo, un auxiliar quiral, tal como un alcohol quiral o cloruro de ácido de Mosher), separando los diastereómeros y convirtiendo (por ejemplo,  
45 hidrolizando) los diastereómeros individuales en los enantiómeros puros correspondientes. Además, algunos de los compuestos de la presente invención pueden ser atropisómeros (por ejemplo, biarilos sustituidos), y se consideran como parte de esta invención. Los enantiómeros también pueden separarse mediante el uso de una columna de HPLC quiral.

- 50 Un estereoisómero individual, por ejemplo, un enantiómero, sustancialmente libre de su estereoisómero, puede obtenerse por resolución de la mezcla racémica usando un método tal como la formación de diastereómeros usando agentes de resolución ópticamente activos (Eliel, E. y Wilen, S. "Stereochemistry of Organic Compounds," John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1994; Lochmuller, C. H., J. Chromatogr., (1975) 113(3): 283-302). Las mezclas racémicas de compuestos quirales de la invención se pueden separar y aislar por cualquier método  
55 adecuado, incluyendo: (1) formación de sales iónicas diastereoméricas con compuestos quirales y separación por cristalización fraccionada u otros métodos, (2) formación de compuestos diastereoméricos con reactivos de

derivación quiral, separación de los diastereómeros, y la conversión en los estereoisómeros puros, y (3) separación de los estereoisómeros sustancialmente puros o enriquecidos directamente en condiciones quirales. Véase: "Drug Stereochemistry, Analytical Methods and Pharmacology", Irving W. Wainer, Ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York (1993).

En el método (1), se pueden formar sales diastereoméricas por reacción de bases quirales enantioméricamente puras, tales como brucina, quinina, efedrina, etricnina,  $\alpha$ -metil- $\beta$ -feniletilamina (anfetamina), y similares, con compuestos asimétricos que llevan una funcionalidad ácida, tales como ácido carboxílico y ácido sulfónico. Las sales diastereoméricas pueden inducirse a separarse por cristalización fraccional o cromatografía iónica. Para la separación de los isómeros ópticos de compuestos amino, la adición de ácidos carboxílicos o sulfónicos quirales, tales como ácido canforsulfónico, ácido tartárico, ácido mandélico, o ácido láctico, puede dar lugar a la formación de las sales diastereoméricas.

Como alternativa, mediante el método (2), el sustrato a resolver se hace reaccionar con un enantiómero de un compuesto quiral para formar un par diastereomérico (E. y Wilen, S. "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., 1994, pág. 322). Los compuestos diastereoméricos pueden formarse haciendo reaccionar compuestos asimétricos con reactivos de derivatización quiral enantioméricamente puros, tales como derivados de mentilo, seguido por separación de los diastereómeros e hidrólisis para producir el enantiómero puro o enriquecido. Un método para determinar la pureza óptica implica la fabricación de ésteres quirales, tales como un éster de mentilo, por ejemplo, cloroformiato de (-)-mentilo en presencia de base, o éster de Mosher, acetato de  $\alpha$ -metoxi- $\alpha$ -(trifluorometil)fenilo (Jacob III. J. Org. Chem., (1982) 47: 4165), de la mezcla racémica, y el análisis del espectro de  $^1\text{H}$  RMN para determinar la presencia de los dos enantiómeros o diastereómeros atropisoméricos. Los diastereoisómeros estables de compuestos atropisómeros se pueden separar y aislar mediante cromatografía de fase normal e inversa siguiendo métodos para la separación de naftil-isoquinolinas atropisoméricas (documento WO 96/15111). Mediante el método (3), una mezcla racémica de dos enantiómeros puede separarse por cromatografía usando una fase quiral estacionaria ("Chiral Liquid Chromatography" (1989) W. J. Lough, Ed., Chapman y Hall, Nueva York; Okamoto, J. of Chromatogr., (1990) 513: 375-378). Los enantiómeros enriquecidos o purificados pueden distinguirse por métodos usados para distinguir otras moléculas quirales con átomos de carbono asimétricos, tales como rotación óptica y dicroísmo circular.

#### AGENTES QUIMIOTERAPÉUTICOS

Ciertos agentes quimioterapéuticos han demostrado propiedades sorprendentes e inesperadas en combinación con compuestos de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la inhibición de la proliferación de células *in vitro* e *in vivo*. Dichos agentes quimioterapéuticos incluyen abiraterona.

La abiraterona (Reg. CAS n.º 154229-19-3; véanse las Patentes de Estados Unidos 5.604.213 y 5.618.807), y su profármaco acetato de abiraterona, es un fármaco bajo investigación para su uso en cáncer de próstata resistente a la castración. Bloquea la formación de testosterona inhibiendo CYP17A1 (CYP450c17), una enzima también conocida como 17 $\alpha$ -hidroxilasa/17,20 liasa. Esta enzima está implicada en la formación de DHEA y androstenodiona, que puede metabolizarse, por último, en testosterona. La abiraterona tiene el nombre (3S,8R,9S,10R,13S,14S)-10,13-dimetil-17-(piridin-3-il)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15-dodecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantren-3-ol. También puede administrarse como el profármaco de acetato de (3S,8R,9S,10R,13S,14S)-10,13-dimetil-17-(piridin-3-il)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15-dodecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantren-3-ilo.

#### Composiciones farmacéuticas

Las composiciones o formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen combinaciones de Fórmula I, abiraterona, y uno o más vehículos, emolientes, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de Fórmula I, y los agentes quimioterapéuticos de la presente invención, pueden existir en formas no solvatadas, así como en formas solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables, tales como agua, etanol, y similares, y se pretende que la invención comprenda tanto las formas solvatadas como las no solvatadas.

Los compuestos de Fórmula I, y la abiraterona de la presente invención, también pueden existir en diferentes formas tautoméricas, y todas estas formas están incluidas dentro del alcance de la invención. El término "tautómero" o "forma tautomérica" se refiere a isómeros estructurales de diferentes energías que son interconvertibles a través de una barrera de baja energía. Por ejemplo, los tautómeros de protón (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen interconversiones a través de la migración de un protón, tales como las isomerizaciones ceto-enol e imina-enamina. Los tautómeros de valencia incluyen interconversiones por reorganización de algunos de los electrones de enlace.

Las composiciones farmacéuticas incluyen tanto la composición en masa como unidades de dosificación individuales comprendidas por más de un agente farmacéuticamente activo (por ejemplo, dos) que incluyen un compuesto de Fórmula I y abiraterona junto con cualquier excipiente, diluyente, vehículo o emoliente

farmacéuticamente inactivo. La composición en masa y cada unidad de dosificación individual pueden contener cantidades fijas de los agentes farmacéuticamente activos mencionados anteriormente. La composición en masa es material que aún no se ha conformado en unidades de dosificación individuales. Una unidad de dosificación ilustrativa es una unidad de dosificación oral tal como comprimidos, píldoras, cápsulas, y similares.

Las composiciones farmacéuticas también incluyen compuestos de la presente invención marcados con isótopos que son idénticos a los citados en el presente documento, pero en los que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra normalmente en la naturaleza. Todos los isótopos de cualquier átomo o elemento en particular tal como se especifica, están contemplados dentro del alcance de los compuestos de la invención, y sus usos. Los isótopos a modo de ejemplo que se pueden incorporar en los compuestos incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro y yodo, tales como  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{33}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^{123}\text{I}$  y  $^{125}\text{I}$ . Ciertos compuestos de la presente invención marcados con isótopos (por ejemplo, los marcados con  $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$ ) son útiles en ensayos de distribución en el tejido de compuesto y/o sustrato. Los isótopos tritados ( $^3\text{H}$ ) y de carbono-14 ( $^{14}\text{C}$ ) son útiles por su facilidad de preparación y su detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio ( $^2\text{H}$ ) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, aumento de la semivida *in vivo* o reducción de los requisitos de dosificación) y, por lo tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias. Los isótopos emisores de positrones tales como  $^{15}\text{O}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{11}\text{C}$  y  $^{18}\text{F}$  son útiles para estudios por tomografía de emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación del receptor de sustrato. Los compuestos marcados con isótopos de la presente invención se pueden preparar generalmente siguiendo procedimientos análogos a los desvelados en los Esquemas y/o en los Ejemplos en el presente documento más adelante, sustituyendo un reactivo marcado con isótopos por un reactivo no marcado con isótopos.

Los compuestos de Fórmula la y los agentes quimioterapéuticos se formulan de acuerdo con la práctica farmacéutica estándar para su uso en una combinación terapéutica para el tratamiento terapéutico (incluyendo el tratamiento profiláctico) de trastornos hiperproliferativos en mamíferos, incluyendo seres humanos.

Los vehículos, diluyentes y excipientes adecuados se conocen bien por los expertos en la técnica e incluyen materiales tales como carbohidratos, ceras, polímeros solubles en agua y/o hinchables, materiales hidrófilos o hidrófobos, gelatina, aceites, disolventes, agua y similares. El vehículo, diluyente o excipiente usado particular dependerá de los medios y el fin para el que se está aplicando el compuesto de la presente invención. Los disolventes se seleccionan generalmente basándose en disolventes reconocidos como seguros (GRAS) por los expertos en la técnica para ser administrados a un mamífero. En general, los disolventes seguros son disolventes acuosos no tóxicos tales como agua y otros disolventes no tóxicos que son solubles o miscibles en agua. Los disolventes acuosos adecuados incluyen agua, etanol, propilenglicol, polietilenglicoles (por ejemplo, PEG 400, PEG 300), etc., y mezclas de los mismos. Las formulaciones pueden incluir también uno o más tampones, agentes estabilizantes, tensioactivos, agentes humectantes, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservantes, antioxidantes, agentes de opacidad, emolientes, coadyuvantes de procesamiento, colorantes, edulcorantes, agentes perfumantes, agentes saporíferos y otros conocidos aditivos para proporcionar una presentación elegante del fármaco (es decir, un compuesto de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo) o para facilitar la elaboración del producto farmacéutico (es decir, del medicamento).

Las formulaciones se pueden preparar usando procedimientos convencionales de disolución y mezcla. Por ejemplo, la sustancia fármaco a granel (es decir, el compuesto de la presente invención o la forma estabilizada del compuesto (por ejemplo, complejo con un derivado de ciclodextrina u otro agente de complejación conocido) se disuelve en un disolvente adecuado en presencia de uno o más de los excipientes descritos anteriormente. El compuesto de la presente invención se formula normalmente en formas farmacéuticas de dosificación para proporcionar una dosificación del fármaco fácilmente controlable y para posibilitar el cumplimiento del paciente con el régimen prescrito.

La composición (o formulación) farmacéutica para aplicación puede ser envasada en diversas formas, dependiendo del método utilizado para la administración del fármaco. Generalmente, un artículo para distribución incluye un recipiente en el que está depositada la formulación farmacéutica en una forma apropiada. Los recipientes adecuados se conocen bien por los expertos en la técnica e incluyen materiales tales como botellas (de plástico y de vidrio), bolsitas, ampollas, bolsas de plástico, cilindros metálicos y similares. El recipiente también puede incluir un ensamblaje a prueba de manipulación para prevenir un acceso indiscreto al contenido del paquete. Además, el recipiente tiene depositada en el mismo una etiqueta que describe el contenido del mismo. La etiqueta también puede incluir las advertencias apropiadas.

Las formulaciones farmacéuticas de los compuestos de la presente invención pueden prepararse para varias vías y tipos de administración. Por ejemplo, el compuesto de Fórmula la que tiene el grado de pureza deseado se puede mezclar opcionalmente con diluyentes, vehículos, excipientes o estabilizantes farmacéuticamente aceptables (Remington's Pharmaceutical Sciences (1995) 18ª edición, Mack Publ. Co., Easton, PA), en forma de una formulación liofilizada, polvo molido, o una solución acuosa. La formulación puede realizarse mezclando a temperatura ambiente, al pH apropiado, y en el grado de pureza deseado, con vehículos fisiológicamente

aceptables, es decir, vehículos que son no tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas. El pH de la formulación depende principalmente del uso particular y de la concentración del compuesto, pero puede variar de aproximadamente 3 a aproximadamente 8.

- 5 La formulación farmacéutica es preferiblemente estéril. En particular, las formulaciones a usar para la administración *in vivo* deben ser estériles. Dicha esterilización se consigue fácilmente mediante filtración a través de membranas para filtración esterilizante.

10 La formulación farmacéutica se puede almacenar normalmente como una composición sólida, una formulación liofilizada o una solución acuosa.

15 Las formulaciones farmacéuticas se dosificarán y se administrarán de una manera consistente con la buena práctica médica, es decir, cantidades, concentraciones, programación, curso, vehículos y vía de administración. Los factores para consideración en este contexto incluyen el trastorno particular que se está tratando, el mamífero particular que se está tratando, la condición clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el método de administración, la programación de la administración, y otros factores conocidos por los profesionales de la medicina. La "cantidad terapéuticamente eficaz" del compuesto a administrar vendrá gobernada por dichas consideraciones, y es la cantidad mínima necesaria para prevenir, mejorar o tratar el trastorno mediado por el factor de coagulación. Tal cantidad es preferiblemente inferior a la cantidad que es tóxica para el huésped o hace que el huésped sea significativamente más susceptible a la hemorragia.

20 Como propuesta general, la cantidad inicial farmacéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula la administrado por vía oral o parenteral por dosis estará en el intervalo de aproximadamente 0,01-1000 mg/kg, concretamente de aproximadamente 0,1 a 20 mg/kg de peso corporal del paciente por día, siendo el intervalo inicial típico del compuesto usado de 0,3 a 15 mg/kg/día. La dosis del compuesto de Fórmula la y la dosis de abiraterona a administrar pueden variar para cada uno de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg por forma de dosificación unitaria, o de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 100 mg por forma de dosificación unitaria. Las dosis del compuesto de Fórmula la y abiraterona pueden administrarse en una relación de aproximadamente 1:50 a aproximadamente 50:1 en peso, o en una relación de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 10:1 en peso.

30 Los diluyentes, vehículos, excipientes y estabilizantes aceptables son no tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tal como cloruro de octadecildimetilbencilo de amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; alcohol fenólico, butílico o bencílico; parabenos de alquilo tales como metilo o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina sérica, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos, tal como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos, incluyendo glucosa, mannososa, o dextrinas; agentes quelantes, tal como EDTA; azúcares, tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales, tal como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de proteína de Zn); y/o tensioactivos no iónicos, tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG). Los ingredientes farmacéuticos activos también pueden atraparse en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o mediante polimerización interfacial, por ejemplo, hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina y microcápsulas de poli-(metacrilato de metilo), respectivamente, en sistemas de administración de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichas técnicas se desvelan en Remington's Pharmaceutical Sciences 18ª edición, (1995) Mack Publ. Co., Easton, PA.

50 Pueden prepararse preparaciones de liberación sostenida de los compuestos de Fórmula la. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen un compuesto de Fórmula la, cuyas matrices están en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(metacrilato de 2-hidroxietilo), o poli(alcohol vinílico)), poliláctidas (documento US 3773919), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato, acetato de etilen-vinilo no degradable, copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradables, tales como LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas por copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida) y ácido poli-D (-) 3-hidroxibutírico.

60 Las formulaciones farmacéuticas incluyen las adecuadas para las vías de administración que se detallan en el presente documento. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica. Las técnicas y formulaciones se encuentran generalmente en Remington's Pharmaceutical Sciences 18ª Ed. (1995) Mack Publishing Co., Easton, PA. Dichos métodos incluyen la etapa de poner en asociación el principio activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan poniendo en asociación de forma uniforme e íntima el principio activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente

divididos o ambos, y después, si es necesario, conformando el producto.

Las formulaciones de un compuesto de Fórmula la y/o abiraterona adecuadas para administración oral se pueden preparar como unidades discretas tales como píldoras, cápsulas de gelatina, por ejemplo duras o blandas, obleas, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, jarabes o elixires que contienen cada uno una cantidad predeterminada de un compuesto de Fórmula la y/o abiraterona. La cantidad de compuesto de Fórmula la y abiraterona pueden formularse en una píldora, cápsula, solución o suspensión en forma de una formulación combinada. Como alternativa, el compuesto de Fórmula la y abiraterona se pueden formular por separado en una píldora, cápsula, solución o suspensión para la administración por

alternancia.

Las formulaciones pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la elaboración de composiciones farmacéuticas y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes, incluyendo agentes edulcorantes, agentes saporíferos, agentes colorantes y agentes conservantes, con el fin de proporcionar una preparación agradable al paladar. Los comprimidos prensados se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el principio activo en una forma de flujo libre tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden hacer moldeando en una máquina adecuada una mezcla del principio activo en polvo, humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente recubiertos o ranurados y opcionalmente se formulan para que proporcionen una liberación lenta o controlada del principio activo del mismo.

Los excipientes de comprimidos de una formulación farmacéutica de la invención pueden incluir: Una carga (o diluyente) para aumentar el volumen en masa del fármaco en polvo que constituye el comprimido; disgregantes para fomentar la rotura del comprimido en pequeños fragmentos, idealmente partículas de fármaco individuales, cuando se ingiere y se favorece la rápida disolución y absorción del fármaco; aglutinante para asegurar que pueden formarse los gránulos y comprimidos con la resistencia mecánica requerida y que se mantiene un comprimido junto después de haber sido prensado, evitando que se fragmente en sus polvos de componentes durante el envasado, envío y manipulación de rutina; emoliente para mejorar la fluidez del polvo que compone el comprimido durante la producción; lubricante para asegurar que el polvo de formación de comprimidos no se adhiere al equipo utilizado para presionar el comprimido durante la fabricación. Estos mejoran el flujo de las mezclas de polvo a través de las prensas y minimizan la fricción y la rotura a medida que los comprimidos terminados son expulsados del equipo; antiadherente con función similar a la del emoliente, que reduce la adhesión entre el polvo que constituye el comprimido y la máquina que se utiliza para perforar la forma del comprimido durante la fabricación; saporífero incorporado en los comprimidos para darles un sabor más agradable, o para enmascarar uno desagradable; y colorante para facilitar la identificación y el cumplimiento por el paciente.

Son aceptables los comprimidos que contienen el principio activo en mezcla con un excipiente no tóxico y farmacéuticamente aceptable que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes tales como carbonato de sodio o de calcio, lactosa, fosfato de sodio o de calcio; agentes de granulación y desintegrantes, tales como almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes, tales como almidón, gelatina o goma arábiga; y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden ser no recubiertos o pueden ser recubiertos mediante técnicas conocidas, incluyendo microencapsulación, para retrasar la disgregación y la adsorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material retardante tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, en solitario o con una cera.

Para el tratamiento del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo, la boca y la piel, las formulaciones se aplican preferiblemente en forma de pomada o crema tópica que contiene el principio o los principios activos en una cantidad de, por ejemplo, 0,075 al 20 % p/p. Cuando se formula en una pomada, los principios activos pueden emplearse con una base parafínica o una base de pomada miscible en agua. Como alternativa, los principios activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua.

Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo, tal como propilenglicol, butano-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG 400), y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente un compuesto que mejora la absorción o la penetración del principio activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Los ejemplos de dichos potenciadores de la penetración cutánea incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

La fase oleosa de las emulsiones de esta invención puede estar constituida por ingredientes conocidos, de una manera conocida, incluyendo una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite, o con ambas cosas, una grasa y un aceite. Preferiblemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. Juntos, el emulsionante o los emulsionantes, con o sin estabilizantes, constituyen una cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa comprenden una base de pomada emulsionante que forma la fase oleosa dispersa de las formulaciones de crema. Los emulsionantes y estabilizantes de la emulsión adecuados para su uso en la formulación de la invención incluyen Tween® 60, Span® 80, alcohol cetoestearílico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y lauril sulfato sódico.

- Las suspensiones acuosas de las formulaciones farmacéuticas contienen los materiales activos mezclados con los excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes incluyen un agente de suspensión, tal como carboximetilcelulosa sódica, croscarmelosa, povidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábica, y agentes dispersantes o humectantes tales como un fosfátido de origen natural (por ejemplo, lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquileno con un ácido graso (por ejemplo, estearato de polioxietileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo, heptadecaetilenoxietanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol (por ejemplo, monooleato de polioxietilen-sorbitán). La suspensión acuosa puede contener también uno o más conservantes tales como p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saporíferos y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.
- Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de un preparado inyectable estéril, tal como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular de acuerdo con la técnica conocida usando los agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser una solución o una suspensión en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, tal como una solución en 1,3-butanodiol, o puede prepararse a partir de un polvo liofilizado. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear se encuentran agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico. Además, pueden emplearse convencionalmente aceites fijos estériles como medio disolvente o de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo suave incluyendo mono- o di-glicéridos sintéticos. Además, se pueden usar ácidos grasos, tal como ácido oleico, en la preparación de inyectables.
- La cantidad de principio activo que se puede combinar con el material portador para producir una forma de dosificación individual variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Por ejemplo, una formulación de liberación con el tiempo destinada a la administración oral a seres humanos puede contener aproximadamente de 1 a 1000 mg de material activo compuesto con una cantidad apropiada y conveniente de material portador que puede variar de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 95 % de las composiciones totales (peso:peso). La composición farmacéutica puede prepararse para proporcionar cantidades fácilmente medibles para su administración. Por ejemplo, una solución acuosa destinada a la infusión intravenosa puede contener de aproximadamente 3 a 500 µg de principio activo por mililitro de solución, con el fin de que pueda tener lugar la infusión de un volumen adecuado a una velocidad de aproximadamente 30 ml/h.
- Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones estériles para inyección acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, agentes bacteriostáticos y solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor al que se destinan; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes.
- Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en el ojo también incluyen colirios en los que el principio activo se disuelve o se suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el principio activo. El principio activo está presente preferiblemente en dichas formulaciones en una concentración de aproximadamente el 0,5 al 20 % p/p, por ejemplo, de aproximadamente el 0,5 al 10 % p/p, por ejemplo, aproximadamente el 1,5 % p/p.
- Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden el principio activo en una base saborizada, normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábica; y colutorios que comprenden el principio activo en un vehículo líquido adecuado.
- Las formulaciones para administración rectal se pueden presentar como un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.
- Las formulaciones adecuadas para administración intrapulmonar o nasal tienen un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 0,1 a 500 micrómetros (incluyendo tamaños de partícula en un intervalo entre 0,1 y 500 micrómetros en aumentos de micrómetros tales como 0,5, 1, 30 micrómetros, 35 micrómetros, etc.), que se administran mediante inhalación rápida a través del conducto nasal o por inhalación a través de la boca de forma que llegue a los sacos alveolares. Las formulaciones adecuadas incluyen soluciones acuosas u oleosas del principio activo. Las formulaciones adecuadas para administración en aerosol o polvo seco se pueden preparar de acuerdo con métodos convencionales y pueden suministrarse con otros agentes terapéuticos tales como compuestos utilizados hasta ahora en el tratamiento o profilaxis de trastornos como se describe a continuación.
- Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen, además del principio activo, vehículos como los que se conocen como apropiados en la técnica.

Las formulaciones se pueden envasar en recipientes de dosis unitaria o de dosis múltiples, por ejemplo ampollas selladas y viales, y pueden almacenarse en condición secada por congelación (lío-filizada) que requiere solamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyección inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones inyectables extemporáneas se preparan a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito anteriormente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria o una sub-dosis diaria unitaria, como se ha mencionado anteriormente, o una fracción apropiada de la misma, del principio activo.

## 10 TERAPIA DE COMBINACIÓN

El compuesto de Fórmula la se emplea en la invención junto con abiraterona para el tratamiento del cáncer de próstata. En ciertas realizaciones, un compuesto de Fórmula I se combina en un régimen de dosificación como terapia de combinación, con abiraterona. Dichos compuestos pueden administrarse en cantidades que sean eficaces para el propósito pretendido. En una realización, la combinación terapéutica se administra mediante un régimen de dosificación en el que la cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula la se administra en un intervalo entre dos veces al día y a una vez cada tres semanas (q3wk), y la cantidad terapéuticamente eficaz de abiraterona se administra en un intervalo entre dos veces al día y una vez cada tres semanas.

La terapia de combinación se puede administrar como un régimen simultáneo o secuencial. Cuando se administra secuencialmente, la combinación puede ser administrada en dos o más administraciones. La administración combinada incluye la coadministración, usando una formulación separada, y la administración consecutiva en cualquier orden, en la que preferiblemente hay un periodo de tiempo mientras ambos agentes activos (o todos) ejercen simultáneamente sus actividades biológicas.

En un aspecto específico de la invención, el compuesto de fórmula la puede administrarse durante un periodo de tiempo de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 días después del comienzo de la administración de la abiraterona. En otro aspecto específico de la invención, el compuesto de fórmula la puede administrarse durante un periodo de tiempo de aproximadamente 1 a 10 días antes del comienzo de la administración de la combinación.

En otro aspecto específico de la invención, la administración del compuesto de fórmula la y la administración de abiraterona comienzan el mismo día.

Las dosis adecuadas para cualquiera de los agentes coadministrados anteriormente son aquellas que se utilizan actualmente y pueden reducirse debido a la acción combinada (sinergia) del agente recién identificado y otros agentes o tratamientos quimioterapéuticos, tal como aumentar el índice terapéutico o mitigar la toxicidad u otros efectos secundarios o consecuencias.

En una realización particular de la terapia anti-cancerosa, un compuesto de fórmula la puede combinarse con abiraterona, así como combinarse con terapia quirúrgica y radioterapia. Las cantidades del compuesto de fórmula la, y el otro agente o los otros agentes quimioterapéuticos farmacéuticamente activos y la programación cronológica de la administración se seleccionarán con el fin de conseguir el efecto terapéutico combinado deseado.

## ADMINISTRACIÓN DE COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

Los compuestos pueden administrarse por cualquier vía apropiada para la afección a tratar. Las vías adecuadas incluyen la vía oral, parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraarterial, inhalación, intradérmica, intratecal, epidural, y técnicas de infusión), transdérmica, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal. La administración tópica puede implicar también el uso de administración transdérmica tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis.

La formulación de fármacos se analiza en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Ed., (1995) Mack Publishing Co., Easton, PA. Pueden encontrarse otros ejemplos de formulaciones de fármacos en Liberman, H. A. y Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Vol. 3, 2ª Ed., Nueva York, NY. Para el tratamiento inmunosupresor local, los compuestos se pueden administrar por administración intralesional, incluyendo la perfusión o poniendo en contacto de otra manera el injerto con el inhibidor antes del trasplante. Se apreciará que la vía preferida puede variar por ejemplo con la afección del receptor. Cuando el compuesto es administrado por vía oral, puede formularse como una píldora, cápsula, comprimido, etc., con un vehículo, emoliente, o excipiente farmacéuticamente aceptable. Cuando el compuesto se administra parenteralmente, se puede formular con un vehículo o diluyente parenteral farmacéuticamente aceptable, y en una forma inyectable de dosificación unitaria, como se detalla a continuación.

Una dosis para tratar pacientes humanos puede variar de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 1600 mg por día del compuesto de fórmula la, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Una dosis típica puede ser de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 800 mg del compuesto. Una dosis puede administrarse una vez al día (QD), dos veces al día (BID) o más frecuentemente, dependiendo de las propiedades farmacocinéticas (PK) y farmacodinámicas (PD), incluyendo la absorción, distribución, metabolismo y excreción del compuesto en

particular. Además, los factores de toxicidad pueden influir en la dosis y en el régimen de dosificación de la administración. Cuando se administra por vía oral, la píldora, cápsula o comprimido pueden ingerirse dos veces al día, a diario o menos frecuentemente, tal como semanalmente o una vez cada dos o tres semanas durante un período de tiempo especificado. El régimen se puede repetir durante varios ciclos de terapia.

## MÉTODOS DE TRATAMIENTO

Las combinaciones terapéuticas de: (1) un compuesto de fórmula la y (2) abiraterona son útiles para tratar el cáncer de próstata (incluido el cáncer de próstata por castración "CRPC").

### Artículos de fabricación

También se describe un artículo de fabricación, o "kit", que contiene un compuesto de fórmula la o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como se define en la reivindicación 1. En un caso, el kit comprende un recipiente y un compuesto de fórmula la o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El kit puede comprender además una etiqueta o prospecto unido al envase. El término "prospecto" se utiliza en referencia a las instrucciones incluidas habitualmente en paquetes comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, contraindicaciones y/o advertencias sobre el uso de dichos productos terapéuticos. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, envases blíster, etc. El recipiente puede estar formado de varios materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente puede contener un compuesto de fórmula la o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una formulación del mismo que es eficaz para tratar la afección y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo en la composición es un compuesto de fórmula la o sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La etiqueta o prospecto indica que la composición se usa para tratar la afección de elección. Como alternativa, o adicionalmente, el artículo de fabricación puede comprender además un segundo recipiente que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), una solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y una solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde el punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

El kit puede comprender además instrucciones para la administración del compuesto de un compuesto de fórmula la o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y abiraterona. Por ejemplo, si el kit comprende una primera composición que comprende un compuesto de fórmula la o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y abiraterona, el kit puede comprender además instrucciones para la administración simultánea, secuencial o separada del compuesto de fórmula la y abiraterona a un paciente que lo necesite.

En otro caso, los kits son adecuados para la administración de formas orales sólidas de un compuesto de fórmula la o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como comprimidos o cápsulas. Tal kit incluye preferiblemente varias dosificaciones unitarias. Dichos kits pueden incluir una tarjeta que tiene las dosificaciones orientadas en el orden de su uso pretendido. Un ejemplo de tal kit es un "envase blíster". Los envases blíster se conocen bien en la industria del envasado y se usan ampliamente para el envasado de formas farmacéuticas de dosificación unitaria. Si se desea, se puede proporcionar una ayuda de recordatorio, por ejemplo en forma de números, letras u otras marcas o con un prospecto de calendario, designando los días en el programa de tratamiento en el que se pueden administrar las dosis.

Un kit puede comprender (a) un primer recipiente con un compuesto de fórmula la o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo contenido en el mismo; y opcionalmente (b) un segundo recipiente con abiraterona contenida en el mismo. Como alternativa, o adicionalmente, el kit puede comprender además un tercer recipiente que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), una solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y una solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde el punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

Cuando el kit comprende una composición de un compuesto de fórmula la o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y abiraterona, es decir, el agente quimioterapéutico, el kit puede comprender un recipiente para contener las composiciones separadas tal como una botella dividida o un paquete de aluminio dividido, sin embargo, la composiciones separadas pueden también estar contenidas dentro de un único recipiente no dividido. Típicamente, el kit comprende instrucciones para la administración de los componentes separados. La forma de kit es particularmente ventajosa cuando los componentes separados se administran preferiblemente en formas de dosificación diferentes (por ejemplo, oral y parenteral), se administran en diferentes intervalos de dosificación, o cuando el médico responsable de la prescripción desea la titulación de los componentes individuales de la combinación.

### Aspectos específicos de la invención

En un aspecto específico, el compuesto de fórmula la es para administración simultáneamente con la abiraterona.

En un aspecto específico, el compuesto de fórmula la es para administración secuencial con la abiraterona.

5

En un aspecto específico, el compuesto de fórmula la y la abiraterona, son para administración por separado.

En un aspecto específico, el cáncer de próstata está asociado con la mutación de PTEN.

10 En un aspecto específico, el cáncer de próstata está asociado con la mutación, con la sobreexpresión o con la amplificación de AKT.

En un aspecto específico, el cáncer de próstata está asociado con la mutación de PI3K.

15 En un aspecto específico, el cáncer de próstata está asociado con la mutación de Her2/ErbB2.

En un aspecto específico, la combinación proporciona un efecto sinérgico en el tratamiento del cáncer de próstata, opcionalmente en el que el valor del índice de combinación del efecto sinérgico es inferior a aproximadamente 0,8.

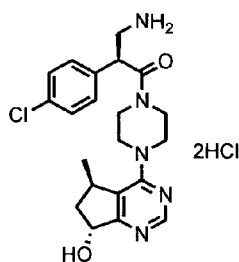
20 En un aspecto específico, el cáncer de próstata es cáncer de próstata resistente a la castración.

### Ejemplos

Con el fin de ilustrar la invención, se incluyen los siguientes ejemplos. Sin embargo, se entenderá que estos ejemplos no limitan la invención y únicamente pretenden sugerir un método para poner en práctica la invención. Los expertos en la técnica reconocerán que las reacciones químicas descritas pueden adaptarse fácilmente para preparar varios inhibidores de AKT diferentes de la invención, y los métodos alternativos para preparar los compuestos de esta invención se consideran dentro del alcance de esta invención. Por ejemplo, la síntesis de compuestos no ejemplificados de acuerdo con la invención puede realizarse con éxito mediante modificaciones evidentes para los expertos en la técnica, por ejemplo, protegiendo apropiadamente los grupos de interferencia, utilizando otros reactivos adecuados conocidos en la técnica distintos de los descritos, y/o realizando modificaciones convencionales de las condiciones de reacción. Como alternativa, se reconocerá que otras reacciones descritas en el presente documento o conocidas en la técnica tienen aplicabilidad para preparar otros compuestos de la invención.

35

### Ejemplo 1 (Ejemplo comparativo)



40 Preparación de clorhidrato de (S)-3-amino-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)propan-1-ona

Etapas 1: En un matraz de fondo redondo de 1 l se añadieron (R)-(+)-Pulegona (76,12 g, 0,5 mmol), NaHCO<sub>3</sub> anhidro (12,5 g) y éter anhidro (500 ml). La mezcla de reacción se enfrió con un baño de hielo en una atmósfera de nitrógeno. El bromo (25,62 ml, 0,5 mmol) se añadió gota a gota durante 30 minutos. La mezcla se filtró y se añadió cuidadosamente a NaOEt (21 %, 412 ml, 1,11 mmol) en un baño enfriado con hielo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después se añadieron 1 l de HCl al 5 % y 300 ml de éter. La fase acuosa se extrajo con éter (2 x 300 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó y se concentró. El residuo se añadió a una solución calentada de clorhidrato de semicarbazida (37,5 g) y NaOAc (37,5 g) en agua (300 ml), y después se añadió etanol en ebullición (300 ml) para dar una solución transparente. La mezcla se calentó a reflujo durante 2,5 horas y después se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se trató con 1 l de agua y 300 ml de éter. La fase acuosa se extrajo con éter (2 x 300 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó y se concentró. El residuo se purificó por destilación al vacío (73-76 °C a 0,8 mm de Hg) para dar 2-metil-5-(propan-2-ilideno)ciclopentanocarboxilato de (2R)-etilo (63 g, 64 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 4,13 (m, 2H), 3,38 (d, J = 16 Hz, 0,5H), 2,93 (m, 0,5H), 2,50-2,17 (m, 2H), 1,98 (m, 1H), 1,76 (m, 1H), 1,23 (m, 6H), 1,05 (m, 6H).

55

Etapas 2: Se enfrió 2-metil-5-(propan-2-ilideno)ciclopentanocarboxilato de (2R)-etilo (24 g, 0,122 mol) en acetato de

etilo (100 ml) a -68 °C con hielo seco/isopropanol. Se burbujeó oxígeno ozonizado (5-7 pies<sup>3</sup>h<sup>-1</sup> de O<sub>2</sub>) a través de la solución durante 3,5 horas. La mezcla de reacción se lavó abundantemente con nitrógeno a temperatura ambiente hasta que el color desapareció. El acetato de etilo se retiró al vacío y el residuo se disolvió en 150 ml de ácido acético y se enfrió con hielo-agua, y se añadió polvo de cinc (45 g). La solución se agitó durante 30 minutos y después se filtró. El filtrado se neutralizó con NaOH 2 N (1,3 l) y NaHCO<sub>3</sub>. La fase acuosa se extrajo con éter (3 x 200 ml). La fase orgánica se combinó, se lavó con agua, se secó y se concentró para proporcionar 2-metil-5-oxociclopentanocarboxilato de (2R)-etilo (20 g, 96 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 4,21 (m, 2H), 2,77 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,50-2,10 (m, 3H), 1,42 (m, 1H), 1,33 (m, 3H), 1,23 (m, 3H).

**Etapa 3:** A una solución de una mezcla de 2-metil-5-oxociclopentanocarboxilato de (2R)-etilo (20 g, 117,5 mmol) y tiourea (9,2 g, 120,9 mmol) en etanol (100 ml) se le añadió KOH (8,3 g, 147,9 mmol) en agua (60 ml). La mezcla se calentó a reflujo durante 10 horas. Después de un periodo de refrigeración, el disolvente se retiró y el residuo se neutralizó con HCl concentrado (12 ml) a 0 °C y después se extrajo con DCM (3 x 150 ml). El disolvente se retiró y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con Hexano/acetato de etilo (2:1) para dar (R)-2-mercapto-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (12 g, 56 %). MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup> 183.

**Etapa 4:** A una suspensión de (R)-2-mercapto-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (12 g, 65,8 mmol) en agua destilada (100 ml) se le añadieron níquel Raney (15 g) y NH<sub>4</sub>OH (20 ml). La mezcla se calentó a reflujo durante 3 horas después se filtró, y el filtrado se concentró para proporcionar (R)-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (9,89 g, 99 %). MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup> +151.

**Etapa 5:** Una mezcla de (R)-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (5,8 g, 38,62 mmol) en POCl<sub>3</sub> (20 ml) se calentó a reflujo durante 5 minutos. El exceso de POCl<sub>3</sub> se retiró al vacío y el residuo se disolvió en DCM (50 ml). Después, la mezcla se añadió a NaHCO<sub>3</sub> saturado (200 ml). La fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 100 ml), y las fases orgánicas combinadas se secaron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo para dar (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (3,18 g, 49 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8,81 (s, 1H), 3,47 (m, 1H), 3,20 (m, 1H), 3,05 (m, 1H), 2,41 (m, 1H), 1,86 (m, 3H), 1,47 (m, 3H).

**Etapa 6:** A una solución de (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (2,5 g, 14,8 mmol) en CHCl<sub>3</sub> (60 ml) se le añadió en tres porciones MCPBA (8,30 g, 37,0 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla se enfrió a 0 °C y a ésta se le añadió gota a gota Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (10 g) en agua (60 ml), seguido de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6 g) en agua (20 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 20 minutos. La fase acuosa se extrajo con CHCl<sub>3</sub> (2 x 200 ml), y las fases orgánicas combinadas se concentraron a baja temperatura (<25 °C). El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo-DCM/MeOH (20:1) para dar óxido de (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (1,45 g, 53 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8,66 (s, 1H), 3,50 (m, 1H), 3,20 (m, 2H), 2,44 (m, 1H), 1,90 (m, 1H), 1,37 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

**Etapa 7:** Una solución de óxido de (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (1,45 g, 7,85 mmol) en anhídrido acético (20 ml) se calentó a 110 °C durante 2 horas. Después de un periodo de refrigeración, el exceso de disolvente se retiró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con Hexano/acetato de etilo (3:1) para dar acetato de (5R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ilo (1,25 g, 70 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8,92 (m, 1H), 6,30-6,03 (m, 1H), 3,60-3,30 (m, 1H), 2,84 (m, 1H), 2,40-2,20 (m, 1H), 2,15 (d, J = 6 Hz, 2H), 1,75 (m, 2H), 1,47 (d, J = 6,8, 2H), 1,38 (d, J = 7,2, 1H). MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup> +227.

**Etapa 8:** A una solución de acetato de (5R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ilo (0,5 g, 2,2 mmol) en NMP (10 ml) se le añadió 1-Boc-piperazina (0,9 g, 4,8 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 110 °C durante 12 horas. Después de un periodo de refrigeración, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con agua (6 x 100 ml). La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo para dar 4-((5R)-7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0,6 g, 72 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8,60 (d, 1H), 6,05-5,90 (m, 1H), 3,80-3,30 (m, 9H), 2,84 (m, 1H), 2,20- (m, 1H), 1,49 (s, 9H), 1,29-1,20 (m, 3H). MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup> +377. La mezcla resultante de los diastereómeros se purificó por HPLC de separación quiral (columna Chiralcel ODH, 250 x 20 mm, 60:40 de Hexano/EtOH, 21 ml/min). El primer pico (TR = 3,73 min) dio el 4-((5R,7R)-7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0,144 g, 24 %). El segundo pico (TR = 5,66 min) dio el 4-((5R,7S)-7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0,172 g, 29 %). MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup> +377.

**Etapa 9:** A una solución de 4-((5R,7R)-7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0,144 g, 0,383 mmol) en THF (4 ml) se le añadió LiOH (3M, 2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas y después se inactivó con HCl 2 N (3 ml). El disolvente se retiró y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo para dar 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (89 mg, 70 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8,52 (s, 1H), 5,48 (a, 1H), 5,14 (m, 1H), 3,82-3,40 (m, 9H), 2,20 (m, 2H), 1,49 (s, 9H), 1,19 (d, J = 6,8 Hz, 3H). MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup> +335.

Etapla 10: Se trató 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo se trató con HCl (4 M en dioxano, 2 ml) en DCM (5 ml) durante 6 horas para dar clorhidrato de (5R,7R)-5-metil-4-(piperazin-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ol. MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup> +235.

Etapla 11: Se disolvió 2,4-dimetoxibencilcarbamato de terc-butilo (3,96 g, 14,8 mmol) en THF (74 ml) y se enfrió a -78 °C. La solución se trató gota a gota con butil litio (7,44 ml, 16,3 mmol) durante un periodo de cinco minutos para proporcionar una solución de color amarillo pálido. La solución se dejó en agitación durante 15 minutos antes de añadir gota a gota cloro(metoxi)metano (1,35 ml, 17,8 mmol) (puro). La reacción se agitó a -78 °C durante 10 minutos, después se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se concentró al vacío para proporcionar un gel de color amarillo que se repartió entre una solución semisaturada de NH<sub>4</sub>Cl y éter. La capa acuosa se extrajo una vez, y los productos orgánicos se combinaron. La capa orgánica se lavó con agua, después con salmuera, se separó, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró al vacío. <sup>1</sup>H RMN soporta el (>90 %) 2,4-dimetoxibencil(metoximetil)carbamato de terc-butilo casi puro deseado (4,81 g, rendimiento del 104 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido que se usó sin purificación.

Etapla 12: Se disolvió (R)-4-bencil-3-(2-(4-clorofenil)acetil)oxazolidin-2-ona (3,00 g, 9,10 mmol) en DCM (91 ml) y se enfrió a -78 °C. Se añadió una solución 1 M en tolueno de TiCl<sub>4</sub> (11,4 ml, 11,4 mmol) a la solución seguido de DIEA (1,66 ml, 9,55 mmol) para proporcionar una reacción de color púrpura oscuro. Ésta se dejó en agitación durante 15 minutos antes de añadir gota a gota 2,4-dimetoxibencil(metoximetil)carbamato de terc-butilo (3,40 g, 10,9 mmol) en forma de una solución en DCM (10 ml). La reacción se dejó en agitación durante 15 minutos a -78 °C, después se dejó calentar a -18 °C en un baño de salmuera-hielo durante una hora. Esta reacción se dejó calentar lentamente hasta 0 °C durante un periodo de 2,5 horas. Después, la reacción se interrumpió con la adición de una solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (100 ml). Las capas se separaron, y las capas orgánicas se extrajeron una vez con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar un aceite de color amarillo. El residuo se purificó por cromatografía (gel de sílice eluido con 4:1 de hexanos:acetato de etilo) para proporcionar el material puro en forma de un aceite incoloro 2,4-dimetoxibencil((S)-3-((R)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropil)carbamato de terc-butilo (4,07 g, rendimiento del 73,5 %). Este 2,4-dimetoxibencil((S)-3-((R)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropil)carbamato de terc-butilo (680 mg, 1,12 mmol) se disolvió en DCM (10,6 ml) y agua (560 µl, 19:1 de DCM:agua) a temperatura ambiente. La solución se trató con DDQ (380 mg, 1,67 mmol), y la reacción se dejó en agitación durante un día para proporcionar la finalización de la reacción mediante el análisis por TLC y LCMS. La reacción se diluyó con DCM y se lavó dos veces con una solución semi-saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La capa orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar un aceite de color amarillo-naranja. El residuo se purificó por cromatografía (gel de sílice eluido con 9:1 de hexanos:acetato de etilo) para proporcionar una mezcla del subproducto de aldehído y (S)-3-((R)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropilcarbamato de terc-butilo (no separables) en forma de un aceite de color amarillo pálido (729 mg de masa combinada). LC/MS (APCI+) m/z 359,1 [M-BOC+H]<sup>+</sup>.

Etapla 13: Se añadió H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 35 % (0,240 ml, 2,91 mmol) a una solución de LiOH-H<sub>2</sub>O (0,0978 g, 2,33 mmol) en 2:1 de THF:H<sub>2</sub>O (33 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 35 minutos, y después se enfrió a 0 °C. Una solución que contenía una mezcla de (S)-3-((R)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropilcarbamato de terc-butilo (0,535 g, 1,17 mmol) y 2,4-dimetoxibenzaldehído (0,194 g, 1,17 mmol) en THF (7 ml) se añadió gota a gota mediante un embudo de adición. El baño de hielo se dejó calentar lentamente, y la mezcla de reacción se agitó durante una noche. Después, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, y se añadió Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 1 M (7 ml). La mezcla se agitó durante 5 minutos, y después se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 20 minutos más. Después, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo de decantación y se lavó con éter (3 x). La capa acuosa se acidificó con KHSO<sub>4</sub>(s), y la mezcla se extrajo con DCM (2 X). Los extractos combinados se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron para dar ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,329 g, rendimiento del 94,2 %) en forma de un residuo de color blanco. LC/MS (APCI+) m/z 200 [M-BOC+H]<sup>+</sup>.

Etapla 14: Se añadió HCl 4 M/dioxano (5,49 ml, 22,0 mmol) a una solución de ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,329 g, 1,10 mmol) en 2:1 de dioxano:DCM (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche (16 horas), después de lo cual se concentró hasta 1/3 de volumen. La mezcla turbia resultante se diluyó con éter, y la mezcla se concentró de nuevo a 1/3 de volumen. La mezcla se diluyó de nuevo con éter (20 ml), y los sólidos se aislaron por filtración a través de un embudo de frit media con presión de nitrógeno, se aclararon con éter (5 x 10 ml), se secaron a una presión de nitrógeno, y se secaron al vacío para dar clorhidrato del ácido (S)-3-amino-2-(4-clorofenil)propanoico (0,199 g, rendimiento del 76,8 %) en forma de un polvo de color blanco. HPLC >99 % de área pura. LC/MS (APCI+) m/z 200.

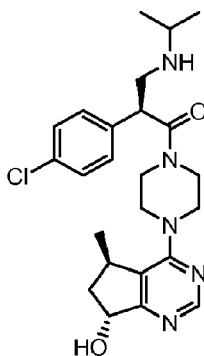
Etapla 15: Se añadió Boc<sub>2</sub>O (0,368 g, 1,69 mmol) a una solución de clorhidrato del ácido (S)-3-amino-2-(4-clorofenil)propanoico (0,199 g, 0,843 mmol) e hidróxido de tetrametilamonio pentahidrato (0,382 g, 2,11 mmol) en 10:1 de MeCN:H<sub>2</sub>O (7,7 ml). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente (12 horas), después de lo cual se eliminó MeCN en un evaporador rotatorio. La mezcla se diluyó con agua y se lavó con éter (2 x). La capa acuosa se acidificó con KHSO<sub>4</sub>(s), la mezcla se extrajo con DCM, y los extractos combinados se

secaron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtraron y se concentraron para dar ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,229 g, rendimiento del 90,6 %) en forma de una espuma. HPLC >99 % de área pura. LC/MS (APCI+) m/z 200  $[\text{M}-\text{BOC}+\text{H}]^+$ .

5 Etapla 16: A una solución de clorhidrato de (5R,7R)-5-metil-4-(piperazin-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ol (88 mg, 0,29 mmol) y ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(4-clorofenil)propanoico (86 mg, 0,29 mmol) en DCM (10 ml) y diisopropiletilamina (0,22 ml, 1,3 mmol) se le añadió HBTU (110 mg, 0,29 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se retiró y el residuo se disolvió en acetato de etilo (100 ml), se lavó con agua (6 x 50 ml). La fase orgánica se secó y se concentró para dar (S)-2-(4-clorofenil)-3-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-oxopropilcarbamato de terc-butilo (116 mg, 78 %).  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8,51 (s, 1H), 7,34-7,20 (m, 4H), 5,15-5,09 (m, 2H), 4,15-4,05 (m, 1H), 3,87-3,85 (m, 2H), 3,78-3,38 (m, 7H), 3,22-3,19 (m, 1H), 2,20-2,10 (m, 2H), 1,48 (s, 9H), 1,41 (s, 9H), 1,14-1,12 (d, J = 7,2 Hz, 3H). MS (APCI+)  $[\text{M}+\text{H}]^+$  +516.

15 Etapla 17: El tratamiento de (S)-2-(4-clorofenil)-3-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-oxopropilcarbamato de terc-butilo con HCl (4 M en dioxano, 2 ml) en DCM (5 ml) durante 6 horas para dar diclorhidrato de (S)-3-amino-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)propan-1-ona.  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz)  $\delta$  8,38 (s, 1H), 7,37-7,35 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,23-7,21 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,29-5,25 (m, 1H), 4,64 (s, 9H), 4,31-4,28 (m, 1H), 4,11 (m, 1H), 3,88-3,79 (m, 2H), 3,70-3,20 (m, 10H), 2,23-2,17 (m, 1H), 2,07-1,99 (m, 1H), 1,22-1,20 (m, 2H), 0,98-0,96 (d, J = 6,8 Hz, 2H). MS (APCI+)  $[\text{M}+\text{H}]^+$  +416.

## Ejemplo 2



25 (S)-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-(isopropilamino)propan-1-ona

30 Etapla 1: Se enfrió pulegenato de etilo (130 g, 662 mmol) en EtOAc (900 ml) a  $-78^\circ\text{C}$  usando un baño de hielo seco-isopropanol. Esta mezcla se sometió a ozonólisis hasta que la reacción se volvió de color púrpura. En este punto, se detuvo la generación de ozono, y la reacción se retiró del baño de hielo seco. Se burbujeó oxígeno a través de la mezcla de reacción hasta que se volvió de color amarillo. La mezcla de reacción se concentró al vacío, y el residuo resultante se disolvió en ácido acético glacial (400 ml). La solución se enfrió a  $0^\circ\text{C}$ , y se añadió en porciones polvo de Zn (65 g, 993 mmol) durante 30 minutos. Después, la reacción se dejó en agitación durante 35 2 horas, momento en el que la mezcla de reacción se filtró a través de una capa de celite para retirar el polvo de cinc. El ácido acético se neutralizó a pH 7 con NaOH acuoso y  $\text{NaHCO}_3$  y se extrajo con éter (3 x 800 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron con salmuera,  $\text{MgSO}_4$  y se concentraron para dar 2-metil-5-oxociclopentano-carboxilato de (2R)-etilo en forma de un líquido de color pardo (107 g, 95 %).

40 Etapla 2: Se añadió acetato de amonio (240,03 g, 3113,9 mmol) a una solución de 2-metil-5-oxociclopentanocarboxilato de (R)-etilo (106,0 g, 622,78 mmol) en MeOH (1,2 l). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 20 horas, después de lo cual se completó según se determinó por TLC y HPLC. La mezcla de reacción se concentró para retirar el MeOH. El residuo resultante se disolvió en DCM, se lavó dos veces con  $\text{H}_2\text{O}$ , una vez con salmuera, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró, y se concentró para dar 2-amino-5-metilciclopent-1-enocarboxilato de (R)-etilo (102 g, rendimiento del 97 %) en forma de un aceite de color naranja. LC/MS (APCI+) m/z 170  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

50 Etapla 3: Una solución que contenía 2-amino-5-metilciclopent-1-enocarboxilato de (R)-etilo (161,61 g, 955,024 mmol) y formiato amónico (90,3298 g, 1432,54 mmol) en formamida (303,456 ml, 7640,19 mmol) se calentó a una temperatura interna de  $150^\circ\text{C}$  y se agitó durante 17 horas. La mezcla de reacción se enfrió, y se transfirió a un matraz de una boca de 2 l. Después, el exceso de formamidina se retiró por destilación a alto vacío. Una vez se detuvo la formación de formamidina, el aceite restante en el destilador se disolvió en DCM y se lavó con salmuera (3 x 200 ml). Los lavados acuosos combinados se extrajeron con DCM. Los extractos orgánicos combinados se secaron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtraron y se concentraron. El aceite de color pardo resultante se disolvió en

DCM mínimo, y esta solución se añadió usando un embudo de decantación a una solución agitada de éter (aprox. 5 vol. de éter frente a una solución de DCM), causando la formación de algo de precipitado de color pardo. Este precipitado de color pardo se retiró por filtración a través de un embudo sinterizado medio que se aclaró con éter y se desechó. El filtrado se concentró, la trituración de éter se repitió dos veces más y después se secó en una línea de alto vacío para dar (R)-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (93,225 g, rendimiento del 65,00 %) en forma de un sólido pastoso de color pardo-amarillo. LC/MS (APCI-) m/z 149,2.

**Etapa 4:** Se añadió lentamente POCl<sub>3</sub> puro (463,9 ml, 5067 mmol) mediante un embudo de adición a una solución a 0 °C de (R)-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-ol (152,2 g, 1013 mmol) en DCE (1,2 l). Después de la finalización de la adición, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, después se calentó a reflujo y se agitó durante 70 minutos. La reacción se completó según se determinó por HPLC. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y el exceso de POCl<sub>3</sub> se inactivó en 4 porciones como se indica a continuación: La mezcla de reacción se transfirió a un embudo de decantación y se añadió por goteo en un vaso de precipitados que contenía hielo y una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> enfriada en un baño de hielo. Una vez que se completó la adición de cada porción de la mezcla de reacción, la mezcla inactivada se agitó durante 30 minutos para asegurar la destrucción completa de POCl<sub>3</sub> antes de la transferencia al embudo de decantación. La mezcla se transfirió al embudo de decantación y se extrajo dos veces con DCM. Los extractos combinados se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó sobre gel de sílice como se indica a continuación: Se suspendió gel de sílice (1 kg) en 9:1 de hexano:acetato de etilo sobre un embudo sinterizado de 3 l, la sílice se sedimentó al vacío, y se coronó con arena. El producto en bruto se cargó con una mezcla de DCM/hexano, y el compuesto se eluyó usando matraces de brazo lateral de 1 l al vacío. Los subproductos de alto Fr eluyeron en primer lugar, después (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (104,4 g, rendimiento del 61,09 %) en forma de un aceite de color pardo. Se añadieron trietilamina (93,0 ml, 534 mmol) y piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (34,8 g, 187 mmol) a una solución de (R)-4-cloro-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidina (30,0 g, 178 mmol) en n-BuOH (250 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante una noche (17 horas), después de lo cual se concentró en un evaporador rotatorio. El aceite resultante se disolvió en DCM, se lavó con H<sub>2</sub>O, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró. El aceite de color pardo resultante se purificó sobre gel de sílice eluyendo en primer lugar con 2:1 de hexanos:acetato de etilo hasta que el producto se eluyó limpiamente, después a gradiente de 1:1 a 1:5 de DCM:acetato de etilo para dar 4-(5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-terc-butilo (42,0 g, rendimiento del 74,1 %) en forma de un polvo beige. LC/MS (APCI+) m/z 319,1 [M+H]<sup>+</sup>.

**Etapa 5:** Se añadió en porciones MCPBA sólido máx. al 77 % (23,9 g, 107 mmol) a una solución a 0 °C de 4-(5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-terc-butilo (20,0 g, 62,8 mmol) en CHCl<sub>3</sub> (310 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 5 minutos, después se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 90 minutos. El análisis por HPLC parecía similar después de 7,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, después se añadieron NaHCO<sub>3</sub> (13,2 g, 157 mmol) y 0,5 equivalentes más de m-CPBA. La mezcla de reacción se agitó durante una noche (14 horas). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, y se añadió gota a gota mediante un embudo de adición una solución de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (29,8 g, 188 mmol) en H<sub>2</sub>O (50 ml). Esto se siguió de una solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (24,6 g, 232 mmol) en H<sub>2</sub>O (70 ml) mediante un embudo de adición (la mezcla se volvió homogénea). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, después la mezcla se extrajo con CHCl<sub>3</sub> (3 x 150 ml). Los extractos combinados se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron para dar el N-óxido. LC/MS (APCI+) m/z 335,1 [M+H]<sup>+</sup>.

**Etapa 6:** Se añadió Ac<sub>2</sub>O (77,0 ml, 816 mmol) al N-óxido (21,0 g, 62,8 mmol) de la Etapa 5. La mezcla de reacción se calentó en una atmósfera de nitrógeno en un baño de arena a 90 °C y se agitó durante 100 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y el exceso de anhídrido acético se retiró por evaporación rotatoria. El aceite resultante se disolvió en DCM, que después se vertió cuidadosamente en Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> saturado en hielo. La mezcla se extrajo con DCM, y los extractos combinados se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron para dar 4-(7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (5R)-terc-butilo (23,6 g, 100 %) en forma de una espuma de color pardo. LC/MS (APCI+) m/z 377,1 [M+H]<sup>+</sup>.

**Etapa 7:** Se añadió LiOH-H<sub>2</sub>O (6,577 g, 156,7 mmol) a una solución a 0 °C de 4-(7-acetoxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (5R)-terc-butilo (23,6 g, 62,69 mmol) en 2:1 de THF:H<sub>2</sub>O (320 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos, y después se calentó a temperatura ambiente. LC/MS parecía igual a las 3 horas y las 4,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, y después a la mezcla se le añadió NH<sub>4</sub>Cl saturado. La mezcla se agitó durante 5 minutos, y la mayor parte del THF se retiró por evaporación rotatoria. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 250 ml), y los extractos combinados se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se sometió a cromatografía ultrarrápida en Biotage 65M: 4:1 de DCM:acetato de etilo, después a gradiente de 1:1 a 1:4 de DCM:acetato de etilo. Una vez que el producto se eluyó, entonces el acetato de etilo se lavó abundantemente a través de la columna. Después, 30:1 de DCM:MeOH eluyó el resto del producto (8,83 g). Las fracciones mixtas se sometieron de nuevo a cromatografía ultrarrápida con Biotage 40M usando las mismas condiciones para dar 2,99 g más que dieron un rendimiento combinado de 4-(7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (5R)-terc-butilo (11,82 g, rendimiento del 56,38 %) en forma de una espuma de color pardo. LC/MS (APCI+) m/z 335,1 [M+H]<sup>+</sup>.

**Etapla 8:** Una solución de DMSO (5,45 ml, 76,8 mmol) en DCM (50 ml) se añadió gota a gota mediante un embudo de adición a una solución a -78 °C de cloruro de oxalilo (3,35 ml, 38,4 mmol) en DCM (150 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 35 minutos, y después se añadió lentamente una solución de 4-(7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (5R)-terc-butilo (9,17 g, 27,4 mmol) en DCM (80 ml) mediante un embudo de adición. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora más a -78 °C, después de lo cual, a la mezcla se le añadió trietilamina pura (18,0 ml, 129 mmol). Después, la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, y después se agitó durante 30 minutos. Se añadió H<sub>2</sub>O. La mezcla se extrajo con DCM (3 x 200 ml), y los extractos combinados se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó sobre gel de sílice (Biotage 65M): la columna se lavó abundantemente con aprox. 800 ml de 4:1 de DCM:EtOAc, después a un gradiente de 1:1 de DCM:acetato de etilo hasta la elución del producto, después a 1:4 de DCM:EtOAc se eluyó el producto para dar 4-(5-metil-7-oxo-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-terc-butilo (7,5 g, rendimiento del 82,3 %) en forma de una espuma de color pardo. La espuma se concentró (3 x) en DCM/hexanos, que dio una espuma de color pardo muy claro. HPLC >95 % de área. LC/MS (APCI+) m/z 333 [M+H]<sup>+</sup>.

**Etapla 9:** Se añadieron trietilamina (4,33 ml, 31,1 mmol; desgasificada con nitrógeno 30 minutos antes de su uso) y ácido fórmico (1,36 ml, 36,1 mmol; desgasificado con nitrógeno 30 minutos antes de su uso) a una solución de 4-(5-metil-7-oxo-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-terc-butilo (9,75 g, 29,3 mmol) en DCM (210 ml; desgasificado con nitrógeno 30 minutos antes de su uso). La mezcla se agitó durante 5 minutos, después se añadió un catalizador de Ru (0,0933 g, 0,147 mmol). La reacción se agitó a una presión de nitrógeno positiva durante una noche (18 horas). La mezcla de reacción se concentró a sequedad y se secó al vacío. El material impuro se sometió a cromatografía ultrarrápida en Biotage 65M cargada de 1:1 de DCM:acetato de etilo, se lavaron abundantemente 500 ml, después a 1:4 de DCM:acetato de etilo hasta el producto (2º punto), después a gradiente de acetato de etilo puro, después a 25:1 de DCM:MeOH se eluyó el resto del producto. Las fracciones se combinaron y se concentraron en un evaporador rotatorio. El residuo se concentró de nuevo en DCM/hexanos para dar una mezcla de 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (principal) y 4-((5R,7S)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (secundario) (9,35 g, rendimiento del 95,3 %) en forma de una espuma de color beige. LC/MS (APCI+) m/z 335 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) muestra el 88 % por integración de carbinol metino.

**Etapla 10:** Se añadió cloruro de 4-nitrobenzoilo (4,27 g, 23,0 mmol) a una solución a 0 °C de 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (7,0 g, 20,9 mmol) y trietilamina (4,38 ml, 31,4 mmol) en DCM (110 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche, después de lo cual se añadió NaHCO<sub>3</sub> saturado. La mezcla se agitó durante 10 minutos, y después se extrajo con DCM. Los extractos combinados se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se sometió a cromatografía ultrarrápida en Biotage 65M (producto en bruto cargado con 3:1 de hexanos:acetato de etilo, después 2:1 de hexanos:acetato de etilo eluyeron 4-((5R,7R)-5-metil-7-(4-nitrobenzoiloxi)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo y algunas fracciones mixtas). Después, se eluyó 4-((5R,7S)-5-metil-7-(4-nitrobenzoiloxi)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo usando 1:2 de hexanos:acetato de etilo. Las fracciones con producto se concentraron por evaporación rotatoria para dar 4-((5R,7R)-5-metil-7-(4-nitrobenzoiloxi)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (8,55 g, rendimiento del 84,5 %) en forma de una espuma de color amarillo. LC/MS (APCI+) m/z 484 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) muestra un diastereómero individual). Las fracciones con otro diastereómero se concentraron por evaporación rotatoria para dar 4-((5R,7S)-5-metil-7-(4-nitrobenzoiloxi)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0,356 g, rendimiento del 3,52 %) en forma de una espuma de color pardo. LC/MS (APCI+) m/z 484 [M+H]<sup>+</sup>.

**Etapla 11:** Se añadió LiOH-H<sub>2</sub>O (0,499 g, 11,9 mmol) a una solución a 0 °C de 4-((5R,7R)-5-metil-7-(4-nitrobenzoiloxi)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (2,30 g, 4,76 mmol) en 2:1 de THF:H<sub>2</sub>O (40 ml). La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. La THF se retiró por evaporación rotatoria, se añadió NaHCO<sub>3</sub> saturado, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron (1 x) con NaHCO<sub>3</sub> saturado, se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron para dar 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (1,59 g, rendimiento del 100,0 %) en forma de una espuma de color amarillo. Análisis por HPLC después del tratamiento solo producto >98 % de área puro. LC/MS (APCI+) m/z 335 [M+H]<sup>+</sup>. El 4-((5R,7S)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo se preparó usando un método análogo.

**Etapla 12:** Se añadió HCl 4 M/dioxano (11,2 ml, 44,9 mmol) a una solución de 4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0,600 g, 1,79 mmol) en dioxano (15 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante una noche (20 horas). La mezcla se concentró a sequedad y se secó en una línea de alto vacío. El producto en bruto se suspendió en éter, se sonicó y se agitó durante 5 minutos. Los sólidos se aislaron por filtración a través de un embudo sinterizado medio con presión de nitrógeno, se aclararon con éter, se secaron a presión de nitrógeno, y se secaron adicionalmente en una línea de alto vacío para dar diclorhidrato de (5R,7R)-5-metil-4-(piperazin-1-il)-

6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ol (0,440 g, rendimiento del 79,8 %) en forma de un polvo de color amarillo. LC/MS (APCI+) m/z 235. El diclorhidrato de (5R,7S)-5-metil-4-(piperazin-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ol se preparó usando un método análogo.

5 Etapla 13: Se disolvieron/suspendieron 2-(4-clorofenil)acetato de metilo (36,7 g, 199 mmol) y paraformaldehído (6,27 g, 209 mmol) en DMSO (400 ml) y se trataron con NaOMe (537 mg, 9,94 mmol). La mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 horas hasta la finalización por análisis de TLC del producto en bruto. La reacción se vertió en agua enfriada con hielo (700 ml; emulsión de color blanco) y se neutralizó con la adición de una solución 1 M de HCl. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x), y los productos orgánicos se combinaron. La capa orgánica se lavó con agua (2 x) y salmuera (1 x), se separó, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el producto en bruto en forma de un aceite de color amarillo. El residuo se cargó sobre un filtro sinterizado grande con gel de sílice y se eluyó con 9:1 de hexanos:acetato de etilo hasta que se recogieron el material de partida/olefina. Después, el lecho se eluyó con 1:1 de hexanos:acetato de etilo hasta que el producto puro deseado se eluyó completamente. Las fracciones puras concentradas produjeron 2-(4-clorofenil)-3-hidroxipropionato de metilo en forma de un aceite incoloro (39,4 g, 92 %).

20 Etapla 14: Se disolvió 2-(4-clorofenil)-3-hidroxipropionato de metilo (39,4 g, 184 mmol) en DCM (500 ml) y se trató con TEA (64,0 ml, 459 mmol). La solución se enfrió a 0 °C y se trató lentamente con MsCl (15,6 ml, 202 mmol), después se dejó en agitación durante 30 minutos hasta la finalización por el análisis de TLC. La solución se repartió con una solución 1 N de HCl, y la capa acuosa se extrajo una vez con DCM. La capa orgánica combinada se lavó una vez más con una solución 1 N de HCl, se separó, se lavó con una solución diluida de NaHCO<sub>3</sub> y se separó. La capa orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar un aceite de color naranja. El residuo se cargó sobre un filtro sinterizado grande con un lecho de gel de sílice y se eluyó con 9:1 de hexanos:acetato de etilo proporcionando el producto puro deseado por análisis de TLC. Las fracciones puras concentradas produjeron el 2-(4-clorofenil)acrilato de metilo en forma de un aceite incoloro (30,8 g, 85 %). Éste 2-(4-clorofenil)acrilato de metilo (500 mg, 2,54 mmol) se añadió como una solución en THF (1,35 ml) a una solución en agitación de i-PrNH<sub>2</sub> (217 ul, 2,54 mmol) en THF (5,0 ml) a 0 °C. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche hasta la finalización por el análisis de LCMS. A la amina en agitación se le añadió Boc<sub>2</sub>O (584 ul, 2,54 mmol) a través de una pipeta. La reacción se dejó en agitación durante una noche hasta la finalización por análisis de LCMS y TLC de la mezcla. La solución se concentró al vacío para proporcionar 3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoato de metilo en forma de un aceite incoloro (854 mg, 94 %). LC/MS (APCI+) m/z 256,1 [M-Boc]+.

35 Etapla 15: Se disolvió 3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoato de metilo (133 g, 374 mmol) en THF (1,0 l) y se trató con KOTMS (56,0 g, 392 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se dejó en agitación durante una noche hasta la finalización por análisis de LCMS del producto en bruto. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar una espuma húmeda, que se dejó secar al vacío durante una noche para proporcionar 3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoato potásico en forma de un sólido de color blanco (148,7 g, 105 %). LC/MS (APCI+) m/z 242,1 [M-Boc-K]+.

40 Etapla 16: Se disolvió 3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoato potásico (77,2 g, 203 mmol) en THF (515 ml) y se trató con cloruro de pivaloilo (26,3 ml, 213 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se dejó en agitación durante 3 horas para formar el anhídrido mixto. Se disolvió (S)-4-benciloxazolidin-2-ona (46,1 g, 260 mmol) en THF (600 ml) y se enfrió a -78 °C en un matraz separado. La solución se trató con n-BuLi (102 ml de una solución 2,50 M en hexanos, 254 mmol) y se dejó agitar durante una hora. La solución de anhídrido preparada se añadió a la Li-oxazolidinona en agitación mediante una cánula, y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se inactivó con la adición de una solución saturada de cloruro de amonio, y después se repartió entre más agua y acetato de etilo. La capa acuosa se extrajo varias veces, y los productos orgánicos se combinaron. La capa orgánica se lavó con agua, después con salmuera, se separó, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó/separó (diastereómeros) por cromatografía (gel de sílice eluida con 4:1 de hexanos:acetato de etilo) para proporcionar los diastereómeros completamente separados en forma de aceites viscosos: (R)-3-((S)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropil(isopropil)carbamato de terc-butilo (12,16 g, 24 % basado en 1/2 de racemato de ácido) y (S)-3-((S)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropil(isopropil)carbamato de terc-butilo (39,14 g, 77 % basado en 1/2 de racemato de ácido). LC/MS (APCI+) m/z 401,2 [M-Boc]+.

60 Etapla 17: Se añadió LiOH-H<sub>2</sub>O (168 mg, 4,00 mmol) a una solución en agitación de THF (30 ml) y agua (15 ml) a temperatura ambiente hasta que se disolvió. La mezcla se trató con peróxido de hidrógeno (658 ul de una solución al 35 % en peso en agua, 8,00 mmol) y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 10 minutos. La reacción se enfrió a 0 °C en un baño de hielo, y el (S)-3-((S)-4-bencil-2-oxooxazolidin-3-il)-2-(4-clorofenil)-3-oxopropil(isopropil)carbamato de terc-butilo (1,00 g, 2,00 mmol) se añadió gota a gota mediante un embudo de adición en forma de una solución en THF (15 ml) durante 10 minutos. La mezcla se dejó en agitación durante una noche a temperatura ambiente hasta la finalización por análisis de LCMS del producto en bruto. La reacción se enfrió a 0 °C, y después se trató con una solución 1 M de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (9,00 ml) mediante un embudo de adición durante un periodo de diez minutos. Después de la finalización de la adición, la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante 10 minutos. La mezcla se concentró para retirar el THF, y después se diluyó con agua. La capa

acuosa se lavó dos veces con acetato de etilo (descartada). La capa acuosa se repartió con acetato de etilo, después se trató gota a gota mientras se agitaba con HCl 1 M hasta que se consiguió un pH de 2-3. La capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo, y los productos orgánicos se combinaron. El producto orgánico se lavó con salmuera, se separó, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró y se concentró al vacío. El producto de aceite incoloro se secó a alto vacío durante una hora para proporcionar ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoico en forma de un aceite viscoso/espuma (685 mg, 100 %). LC/MS (APCI+) m/z 242,1 [M-Boc]<sup>+</sup>.

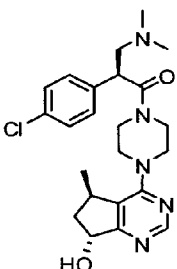
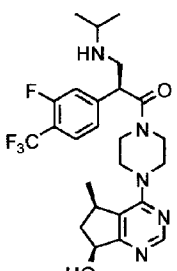
**Etapa 18:** Una solución de diclorhidrato de (5R,7R)-5-metil-4-(piperazin-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-7-ol (2,92 g, 9,51 mmol) y ácido (S)-3-(terc-butoxicarbonil(isopropil)amino)-2-(4-clorofenil)propanoico (3,25 g, 9,51 mmol) en DCM (40 ml) y DIEA (5,0 ml, 28,7 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. A la mezcla se le añadió HBTU (3,61 g, 9,51 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se retiró, y el residuo se disolvió en acetato de etilo (500 ml) y se lavó con agua (6 x 100 ml). La fase orgánica se secó y se concentró. El residuo se sometió a cromatografía en columna, y se eluyó por EtOAc-DCM/MeOH (20:1) para dar (S)-2-(4-clorofenil)-3-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-oxopropil(isopropil)carbamato de terc-butilo (3,68 g, 69 %). LC/MS (APCI+) m/z 558,2 [M+H]<sup>+</sup>.

**Etapa 19:** El (S)-2-(4-clorofenil)-3-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-oxopropil(isopropil) carbamato de terc-butilo (2,50 g, 4,48 mmol) se disolvió en dioxano (22,4 ml) y se trató con HCl 4 M en dioxano (22,4 ml, 89,6 mmol) a temperatura ambiente. La solución resultante se dejó en agitación durante una noche hasta su finalización por análisis LCMS del producto en bruto. La solución se concentró al vacío para proporcionar un gel que se disolvió en una cantidad mínima de metanol (10 ml). La solución se transfirió a través de una pipeta a éter agitado (300 ml) para proporcionar un precipitado de color blanco del producto deseado. La adición fue aproximadamente la mitad cuando el precipitado blanco se fundió en un gel de color amarillo. El material se concentró al vacío para proporcionar un gel de color amarillo que se dejó en reposo a presión reducida durante una noche para producir diclorhidrato de (S)-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-(isopropilamino)propan-1-ona en forma de un polvo amarillo claro (2,14 g, 90 %).

<sup>1</sup>H RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz)  $\delta$  8,39 (s, 1H), 7,37-7,35 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,23-7,20 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,29-5,25 (m, 1H), 4,33-4,29 (m, 1H), 4,14-4,10 (m, 1H), 3,89-3,19 (m, 11H), 2,23-2,17 (m, 1H), 2,08-1,99 (m, 1H), 1,20-1,18 (m, 6H), 0,98-0,96 (d, J = 6,8 Hz, 3H). MS (APCI+) [M+H]<sup>+</sup> 458.

Los Ejemplos 3-9 mostrados en la Tabla 1 también pueden fabricarse de acuerdo con los métodos descritos anteriormente. Los Ejemplos 3-9 son todos ejemplos comparativos.

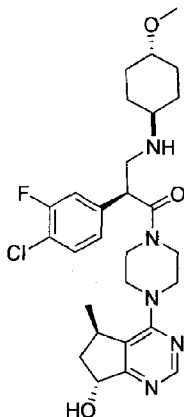
Tabla 1

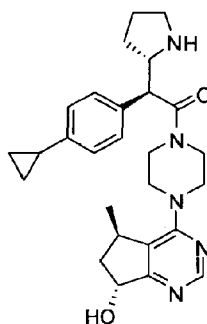
Ejemplo comparativo	Estructura	Nombre	LCMS o <sup>1</sup> H RMN
3		(S)-2-(4-clorofenil)-3-(dimetilamino)-1-(4-((5R, 7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d] pirimidin-4-il)piperazin-1-il)propan-1-ona	444,1
4		(S)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-1-(4-((5R, 7S)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d] pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-(isopropilamino)propan-1-ona	510,3

(continuación)

Ejemplo comparativo	Estructura	Nombre	LCMS o <sup>1</sup> H RMN
5		(S)-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7S)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il) piperazin-1-il)-3-(isopropilamino)propan-1-ona	458,3
6		(R)-2-(4-clorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il) piperazin-1-il)-3-(isopropilamino)propan-1-ona	458
7		(S)-2-(4-cloro-3-fluorofenil)-3-(ciclopropilmetilamino)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)propan-1-ona	LCMS (APCI+) m/z 488, 490 [M+H] <sup>+</sup>
8		(S)-2-(4-cloro-3-fluorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il) piperazin-1-il)-3-(tetrahidro-2H-piran-4-ilamino)propan-1-ona	LCMS (APCI+) m/z 518, 520 [M+H] <sup>+</sup>

(continuación)

Ejemplo comparativo	Estructura	Nombre	LCMS o <sup>1</sup> H RMN
9		(S)-2-(4-cloro-3-fluorofenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-3-((1r,4S)-4-metoxiciclohexilamino)propan-1-ona	LCMS (APCI+) m/z 546

**Ejemplo 10** (Ejemplo comparativo)

5 (S)-2-(4-ciclopopilfenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-2-((S)-pirrolidin-2-il)etanona

Etapas 1: Se trató bromuro de ciclopropilmagnesio (64,0 ml, 32,00 mmol) en THF con una solución de cloruro de cinc (II) (64,00 ml, 32,00 mmol) en THF. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se añadieron 2-(4-bromofenil)acetonitrilo (5,228 g, 26,67 mmol) y bis[tri-*t*-butil fosfina]paladio (0,6814 g, 1,333 mmol) en forma de una solución en THF (2 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 12 horas. La reacción se interrumpió con NH<sub>4</sub>Cl saturado, se diluyó con cloruro de metileno y se separó. La capa acuosa se lavó con cloruro de metileno (2 x), y después las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron al vacío. El producto en bruto se sometió a cromatografía sobre SiO<sub>2</sub> eluyendo con 25:1 de hexanos/acetato de etilo para producir 2-(4-ciclopopilfenil)acetonitrilo (2,76 g, 66 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7,20 (d, J = 8,2, 2H), 7,07 (d, J = 8,2, 2H), 3,70 (s, 2H), 1,94-1,85 (m, 1H), 1,01-0,95 (m, 2H), 0,71-0,66 (m, 2H).

Etapas 2: Se enfrió metanol (65 ml) a 0 °C y se saturó con HCl (g). Esta solución se trató con una solución de 2-(4-ciclopopilfenil)acetonitrilo (2,76 g, 17,56 mmol) en metanol (6 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante una noche en un tubo de secado que contenía CaSO<sub>4</sub>. La reacción se enfrió y se concentró al vacío. La mezcla en bruto se suspendió de nuevo en acetato de etilo y agua y después se separó. La capa orgánica se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado, NaCl saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró al vacío para proporcionar 2-(4-ciclopopilfenil)acetato de metilo en forma de un aceite (3,10 g, 93 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7,16 (d, J = 8,3, 2H), 7,02 (d, 2H), 3,68 (s, 3H), 3,58 (s, 2H), 1,92-1,83 (m, 1H), 0,97-0,91 (m, 2H), 0,70-0,64 (m, 2H).

Etapas 3: Se disolvió 2-(4-ciclopopilfenil)acetato de metilo (3,10 g, 16,30 mmol) en una mezcla de THF/MeOH/agua (2:2:1, 80 ml), y la solución se trató con hidróxido de litio hidrato (0,8548 g, 20,37 mmol). Después, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se neutralizó a un pH de 4 con HCl 3 N y se concentró al vacío. Los sólidos se disolvieron de nuevo en acetato de etilo y agua. El pH se reajustó a un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 con HCl 3 N. Después, las capas se separaron. La capa acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x). Después, las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaCl saturado, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron para producir ácido 2-(4-ciclopopilfenil)acético (2,82 g, 98 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7,16 (d, J = 8,2, 2H), 7,03 (d, 2H), 3,60 (s, 2H), 1,92-1,83 (m, 1H), 0,98-0,91 (m, 2H), 0,70-0,64 (m, 2H).

**Etapla 4:** Se combinó ácido 2-(4-ciclopropilfenil)acético (2,82 g, 16,003 mmol) con (R)-4-benciloxazolidin-2-ona (3,4030 g, 19,204 mmol) en tolueno (14 ml). La suspensión se trató con trietilamina (6,6917 ml, 48,010 mmol) y después se calentó a 80 °C. La solución se trató gota a gota con una solución de cloruro de pivaloilo (1,9893 ml, 16,003 mmol) en tolueno (3,5 ml). La reacción se calentó durante una noche a 80 °C. La reacción se enfrió y se lavó con HCl 2 N y después se separó. La capa acuosa se lavó con tolueno, y los productos orgánicos combinados se lavaron entonces con HCl 2 N, agua, NaHCO<sub>3</sub> saturado (2 x), NaCl saturado, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron al vacío. El producto en bruto se sometió a cromatografía sobre SiO<sub>2</sub> eluyendo con 9:1 de hexanos/acetato de etilo para producir (R)-4-bencil-3-(2-(4-ciclopropilfenil)acetil)oxazolidin-2-ona (3,43 g, 64 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7,33-7,20 (m, 5H), 7,16-7,11 (m, 2H), 7,05 (d, J = 8,2, 2H), 4,70-4,63 (m, 1H), 4,32-4,14 (m, 4H), 3,26 (dd, J<sub>1</sub> = 3,2, J<sub>2</sub> = 13,3, 1H), 2,75 (dd, J<sub>1</sub> = 9,5, J<sub>2</sub> = 13,3, 1H), 1,93-1,85 (m, 1H), 0,98-0,92 (m, 2H), 0,72-0,66 (m, 2H).

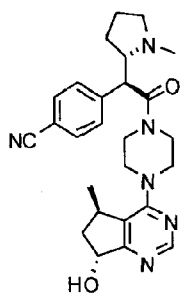
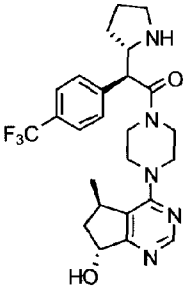
**Etapla 5:** Se preparó ácido (S)-2-((S)-1-(terc-Butoxicarbonil)pirrolidin-2-il)-2-(4-ciclopropilfenil)acético de acuerdo con el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, usando (R)-4-bencil-3-(2-(4-ciclopropilfenil)acetil)oxazolidin-2-ona (0,287 g, 26 %). MS (ESI+) [M+H] 345,7.

**Etapla 6:** Se preparó 2-((S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-2-oxoetil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo de acuerdo con el procedimiento descrito para el Ejemplo 3 usando ácido (S)-2-((S)-1-(terc-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il)-2-(4-ciclopropilfenil)acético (0,199 g, 94 %). MS (ESI+) [M+H] 562,1.

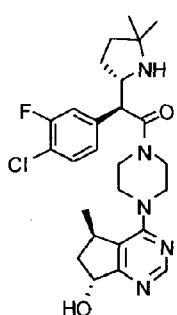
**Etapla 7:** Se preparó (S)-2-(4-ciclopropilfenil)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-2-((S)-pirrolidin-2-il)etanona de acuerdo con el procedimiento descrito para el Ejemplo 3 usando 2-((S)-1-(4-ciclopropilfenil)-2-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-2-oxoetil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (0,145 g, 77 %). MS (ESI+) [M+H] 462,2, <sup>1</sup>H RMN (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 8,56 (s, 1H), 7,26 (d, 2H), 7,13 (d, 2H), 5,29 (dd, 1H), 5,32-5,26 (dd, 1H), 4,32 (d, 1H), 4,29-4,18 (m, 1H), 4,12-3,95 (m, 2H), 3,88-3,61 (m, 6H), 3,51-3,38 (m, 1H), 3,35-3,30 (m, 1H), 2,32-2,24 (m, 1H), 2,22-2,03 (m, 2H), 1,95-1,85 (m, 2H), 1,82-1,73 (m, 2H), 1,40-1,34 (m, 1H), 1,16 (d, 3H), 1,01-0,95 (m, 2H), 0,69-0,64 (m, 2H).

Los Ejemplos mostrados en la Tabla 2 también pueden fabricarse de acuerdo con los métodos descritos anteriormente. Los Ejemplos 11-13 son todos ejemplos comparativos.

Tabla 2

Ejemplo comparativo	Estructura	Nombre	LCMS o <sup>1</sup> H RMN
11		4-((S)-2-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-1-((S)-1-metilpirrolidin-2-il)-2-oxoetil)benzonitrilo	m/z 461,3; <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-D <sub>6</sub> ) d ppm 8,65 (s, 1H), 7,85 (d, 2H), 7,65 (d, 2H), 5,10 (t, 1H), 4,80 (d, 1H), 4,10-3,85 (m, 5H), 3,68 (m, 2H), 3,40 (m, 2H), 2,90 (s, 3H), 2,20-2,02 (m, 2H), 1,93 (m, 2H), 1,68 (m, 1H), 1,50 (m, 1H), 1,35-1,25 (m, 11H), 1,10 (d, 3H)
12		(S)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)-2-((S)-pirrolidin-2-il)-2-(4-(trifluorometil)fenil)etanona	m/z 490,3; <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-D <sub>6</sub> ) d ppm 9,18 (m, 1H), 8,85 (m, 1H), 8,57 (s, 1H), 7,78 (d, 2H), 7,62 (d, 2H), 5,04 (t, 1H), 4,48 (d, 1H), 4,02 (m, 2H), 3,95 (m, 2H), 3,75-3,50 (m, 6H), 3,42 (m, 2H), 3,30-3,10 (m, 4H), 2,10-1,90 (m, 3H), 1,75 (m, 1H), 1,70-1,50 (m, 2H), 1,04 (d, 3H)

(continuación)

Ejemplo comparativo	Estructura	Nombre	LCMS o <sup>1</sup> H RMN
13		(S)-2-(4-cloro-3-fluorofenil)-2-((S)-5,5-dimetilpirrolidin-2-il)-1-(4-((5R,7R)-7-hidroxi-5-metil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-4-il)piperazin-1-il)etanona	LCMS (apci+) 502 [M+H] <sup>+</sup> ; 2,68 min; HPLC t.a. = 1,98 min, >97 % de pureza; <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, D <sub>2</sub> O) d ppm 8,37 (s, 1H), 7,43 (t, J = 8,2 Hz, 1H), 7,16 (d, J = 9,8 Hz, 1H), 7,06 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,24 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 4,27 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 4,22-4,02 (m, 1H), 3,88-3,75 (m, 2H), 3,72-3,60 (m, 1H), 3,59-3,41 (m, 4H), 3,37-3,22 (m, 1H), 2,24-2,11 (m, 0,5H), 2,10-1,94 (m, 0,5H), 1,89-1,71 (m, 4H), 1,36 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 0,96 (d, J = 7,0 Hz, 3H)

**Ejemplo 14 Ensayos de proliferación de células *in vitro* (Ejemplo de referencia)**

- 5 La potencia *in vitro* de la combinaciones del compuesto del Ejemplo 2 con ciertos agentes quimioterapéuticos específicos se midió usando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo<sup>®</sup>, disponible en el mercado en Promega Corp., Madison, WI. Este método de ensayo homogéneo se basa en la expresión recombinante de *Coleoptera* luciferasa (documentos US 5583024; US 5674713; US 5700670) y determina el número de células viables en el cultivo basándose en la cuantificación de la ATP presente, un indicador de células metabólicamente
- 10 activas (Crouch et al (1993) J. Immunol. Meth. 160: 81-88; documento US 6602677). El ensayo CellTiter-Glo<sup>®</sup> se realizó en un formato de 96 o 384 pocillos, que lo hace válido para el cribado automatizado de alto rendimiento (HTS) (Cree et al (1995) AntiCancer Drugs 6: 398-404). El procedimiento de ensayo homogéneo implica la adición del reactivo individual (reactivo CellTiter-Glo<sup>®</sup>) directamente a las células cultivadas en medio complementado con suero. El lavado de células, la eliminación del medio y las múltiples etapas de pipeteado no son necesarias. El
- 15 sistema detecta una cantidad tan pequeña como 15 células/pocillo en un formato de 384 pocillos en 10 minutos después de añadir el reactivo y mezclar.

El formato homogéneo "añadir-mezclar-medir" da como resultado la lisis celular y la generación de una señal luminiscente proporcional a la cantidad de ATP presente. La cantidad de ATP es directamente proporcional al

20 número de células presentes en el cultivo. El ensayo CellTiter-Glo<sup>®</sup> genera una señal luminiscente de "tipo resplandor", producida por la reacción con la luciferasa, que tiene una semivida generalmente mayor de cinco horas, dependiendo del tipo de células y del medio utilizado. Las células viables se reflejan en unidades relativas de luminiscencia (RLU). El sustrato, luciferina de escarabajo, se descarboxila oxidativamente por luciferasa de luciérnaga recombinante con la conversión concomitante de ATP en AMP y la generación de fotones. La

25 prolongada semivida elimina la necesidad de usar inyectores de reactivo y proporciona flexibilidad para el procesamiento de modo continuo o en lotes de múltiples placas. Este ensayo de proliferación de células se puede utilizar con varios formatos de múltiples pocillos, por ejemplo, formato de 96 o 384 pocillos. Los datos pueden registrarse por un dispositivo de luminómetro o imágenes por cámara CCD. El resultado de la luminiscencia se presenta como unidades luminosas relativas (RLU), medidas a lo largo del tiempo.

30 Los efectos anti-proliferativos de las combinaciones del compuesto del Ejemplo 2 y ciertos agentes quimioterapéuticos se midieron usando el ensayo CellTiter-Glo<sup>®</sup>. Los valores de CE<sub>50</sub> se establecieron para los compuestos y combinaciones ensayadas. El intervalo de actividades de potencia celular *in vitro* era de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 10 µM.

**Ejemplo 15 Eficacia del xenoinjerto tumoral *in vivo***

La eficacia de las combinaciones representativas de la invención se puede medir *in vivo* implantando aloinjertos o xenoinjertos de células cancerosas en roedores y tratando con las combinaciones a los animales portadores de tumor. Son de esperar resultados variables dependiendo de la línea celular, la presencia o ausencia de ciertas

40 mutaciones en las células tumorales, la secuencia de administración del compuesto del Ejemplo 2 y el agente quimioterapéutico, el régimen de dosificación, y otros factores. Los ratones objeto se trataron con fármaco(s) o control (vehículo) y se supervisaron durante varias semanas o más para medir el tiempo hasta la duplicación del tumor, la destrucción celular logarítmica y la inhibición tumoral.

- 45 Los resultados para las combinaciones representativas de la invención que se ensayaron en este modelo se presentan en las figuras 1-2.

Los datos en las figuras demuestran que las combinaciones representativas proporcionan mejores resultados en comparación con la administración de los agentes respectivos individualmente.

Se ha determinado que ciertas combinaciones de la invención proporcionan mejores efectos contra ciertos fenotipos de cáncer. Por ejemplo, ciertas combinaciones de la invención proporcionan efectos mejorados contra los cánceres asociados a la mutación de PTEN, la mutación de AKT (por ejemplo, sobreexpresión o amplificación), mutación de PI3K, o amplificación de Her2/ErbB2. Por consiguiente, ciertas combinaciones descritas en el presente documento pueden ser particularmente útiles contra estos tipos de cánceres. Por ejemplo, en cáncer gástrico, la pérdida de PTEN predice una mejor eficacia con ciertas combinaciones de la invención (por ejemplo, un compuesto de fórmula la con 5-FU/cisplatino), y en el cáncer de próstata, se observó un efecto más fuerte para una combinación de un compuesto de fórmula la y docetaxel en líneas de PTEN-nulo.

El estado PTEN puede medirse mediante cualquier medio adecuado que se conozca en la técnica. En un ejemplo, se usa IHC. Como alternativa, puede usarse análisis por Western blot. Los anticuerpos contra PTEN están disponibles en el mercado (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, Cascade Biosciences, Winchester, MA). Los procedimientos a modo de ejemplo para IHC y el análisis por Western blot para el estado PTEN se describen en Neshat, M. S. et al. Enhanced sensitivity of PTEN-deficient tumors to inhibition of FRAP/mTOR, Proc. Natl Acad. Sci. USA 98, 10314-10319 (2001) y Perren, A., et. al. Immunohistochemical Evidence of Loss of PTEN Expression in Primary Ductal Adenocarcinomas of the Breast, American Journal of Pathology, Vol. 155, n.º 4, octubre de 1999. Además, los cánceres asociados a la mutación de AKT, la mutación de PI3K, y a la amplificación o mutación de Her2/ErbB2 pueden identificarse usando técnicas que se conocen en la técnica. En un ejemplo, el estado PTEN de un paciente o muestra tisular se determina usando IHC, y se asigna una histo-puntuación o HScore a la muestra o paciente. Un modo ilustrativo de cálculo de HScore usa la fórmula:  $HScore = (\% \text{ de } 1+\text{células} \times 1) + (\% \text{ de } 2+\text{células} \times 2) + (\% \text{ de } 3+\text{células} \times 3)$  (Véase Shoman, N, et. al, Mod Path (2005) 18, 250-259). Puede usarse una HScore de PTEN media del tejido no canceroso del mismo paciente o una recopilación de pacientes para determinar si las HScores del paciente o la muestra son bajas o nulas. En un ejemplo, las HScores de menos de aproximadamente 200 se consideran bajas y corresponden a PTEN bajo, y las HScores de aproximadamente 0 se consideran nulas.

Un aspecto incluye un compuesto en combinación como se define en la reivindicación 1 para su uso en la inhibición del crecimiento tumoral (TGI) en un paciente que padece un cáncer que comprende una mutación PTEN, mutación AKT (por ejemplo, sobreexpresión o amplificación), mutación PI3K o amplificación o mutación Her2/ErbB2. En ciertas realizaciones, la combinación es sinérgica. En ciertas realizaciones, la TGI de la combinación es mayor que la TGI de GDC-0068 o abiraterona. En ciertas realizaciones, la TGI de la combinación es aproximadamente el 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 o 75 por ciento mayor que la TGI de GDC-0068 o abiraterona en solitario.

Se conocen en la técnica métodos de medición de la TGI. En un método de ejemplo, se determinan y se comparan los volúmenes tumorales medios del paciente antes y después del tratamiento. Los volúmenes tumorales se pueden medir en dos dimensiones (longitud y ancho) usando cualquier método en la técnica, por ejemplo, calibradores UltraCal IV (Fred V. Fowler Company) o por PET (tomografía por emisión de positrones), o por algún otro método. Se puede utilizar la fórmula volumen tumoral ( $\text{mm}^3$ ) = (longitud x anchura<sup>2</sup>) x 0,5. La medición de volúmenes tumorales a lo largo de múltiples períodos de tiempo puede realizarse usando un procedimiento de efectos mixtos lineales (LME) de modelado mixto (Pinheiro et al., 2009). Este procedimiento puede abordar tanto mediciones repetidas (como múltiples pacientes). Pueden usarse splines de regresión cúbica para ajustar un perfil no lineal a los transcurso de tiempo del volumen tumoral en cada nivel de dosis. Estos perfiles no lineales pueden relacionarse entonces con una dosis dentro del modelo mixto. La inhibición del crecimiento tumoral como porcentaje del vehículo se puede calcular como un porcentaje de área bajo la curva ajustada (AUC) por día en relación con el vehículo, usando la siguiente fórmula:

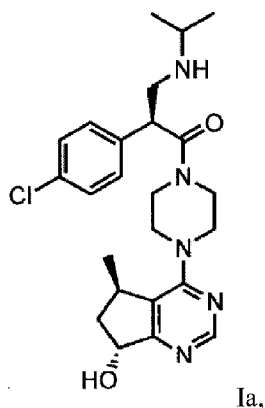
$$\% \text{ de TGI} = 100 \left[ 1 - \left( \frac{\text{AUC}_{\text{tratamiento}} / \text{día}}{\text{AUC}_{\text{vehículo}} / \text{día}} \right) \right]$$

Utilizando esta fórmula, un valor de TGI del 100 % indica estasis tumoral, más de aproximadamente el 1 %, pero menos de aproximadamente el 100 % indica la inhibición del crecimiento tumoral, y más de aproximadamente el 100 % indica una regresión tumoral.

En ciertas realizaciones, el cáncer comprende uno o más de las mutaciones AKT, PI3k, PTEN y HER2 o señalización aberrante de AKT, PI3k, PTEN o HER2. Un aspecto específico incluye un compuesto en combinación como se define en la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un cáncer que está asociado a una mutación o pérdida de expresión de PTEN, mutación o amplificación de AKT, mutación o amplificación de PI3K, o amplificación de Her2/ErbB2. En otro ejemplo, el cáncer a tratar está asociado al estado positivo, bajo o nulo de PTEN junto con el estado positivo o negativo de HER2.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula Ia:



junto con abiraterona para su uso en el tratamiento terapéutico de un trastorno hiperproliferativo, en donde el trastorno hiperproliferativo es cáncer de próstata.

2. El compuesto en combinación para su uso de la reivindicación 1, en donde el compuesto de fórmula Ia es para administración simultánea con la abiraterona.

3. El compuesto en combinación para su uso de la reivindicación 1, en donde el compuesto de fórmula Ia es para administración secuencial con la abiraterona.

4. El compuesto en combinación para su uso de la reivindicación 1, en donde el compuesto de fórmula Ia y la abiraterona, son para su administración por separado.

5. El compuesto en combinación para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el cáncer está asociado a la mutación de PTEN.

6. El compuesto en combinación para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el cáncer está asociado a la mutación, a la sobreexpresión o a la amplificación de AKT.

7. El compuesto en combinación para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el cáncer está asociado a la mutación de PI3K.

8. El compuesto en combinación para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el cáncer está asociado a la mutación de Her2/ErbB2.

9. El compuesto en combinación para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que la combinación proporciona un efecto sinérgico en el tratamiento del trastorno hiperproliferativo, opcionalmente en donde el valor del índice de combinación del efecto sinérgico es menor de aproximadamente 0,8.

10. El compuesto en combinación para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde dicho cáncer de próstata es cáncer de próstata resistente a la castración.

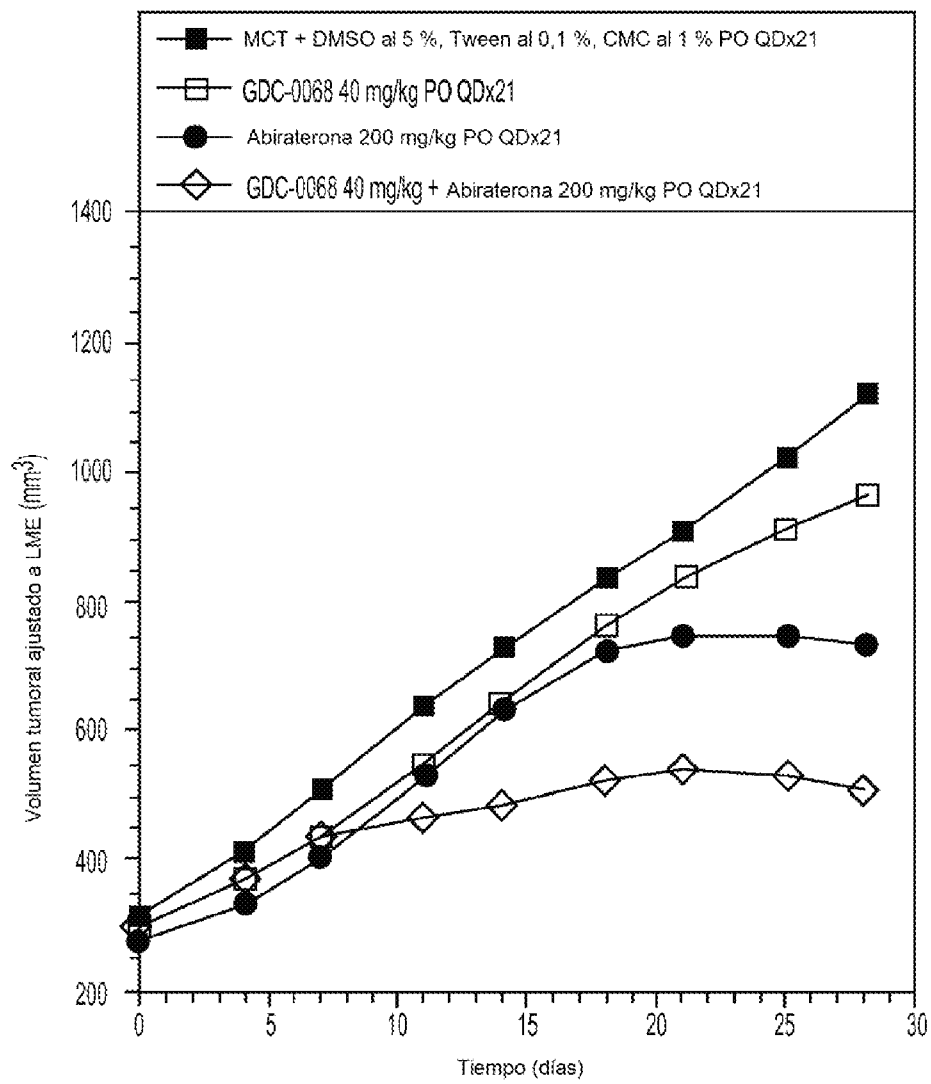


FIG. 1

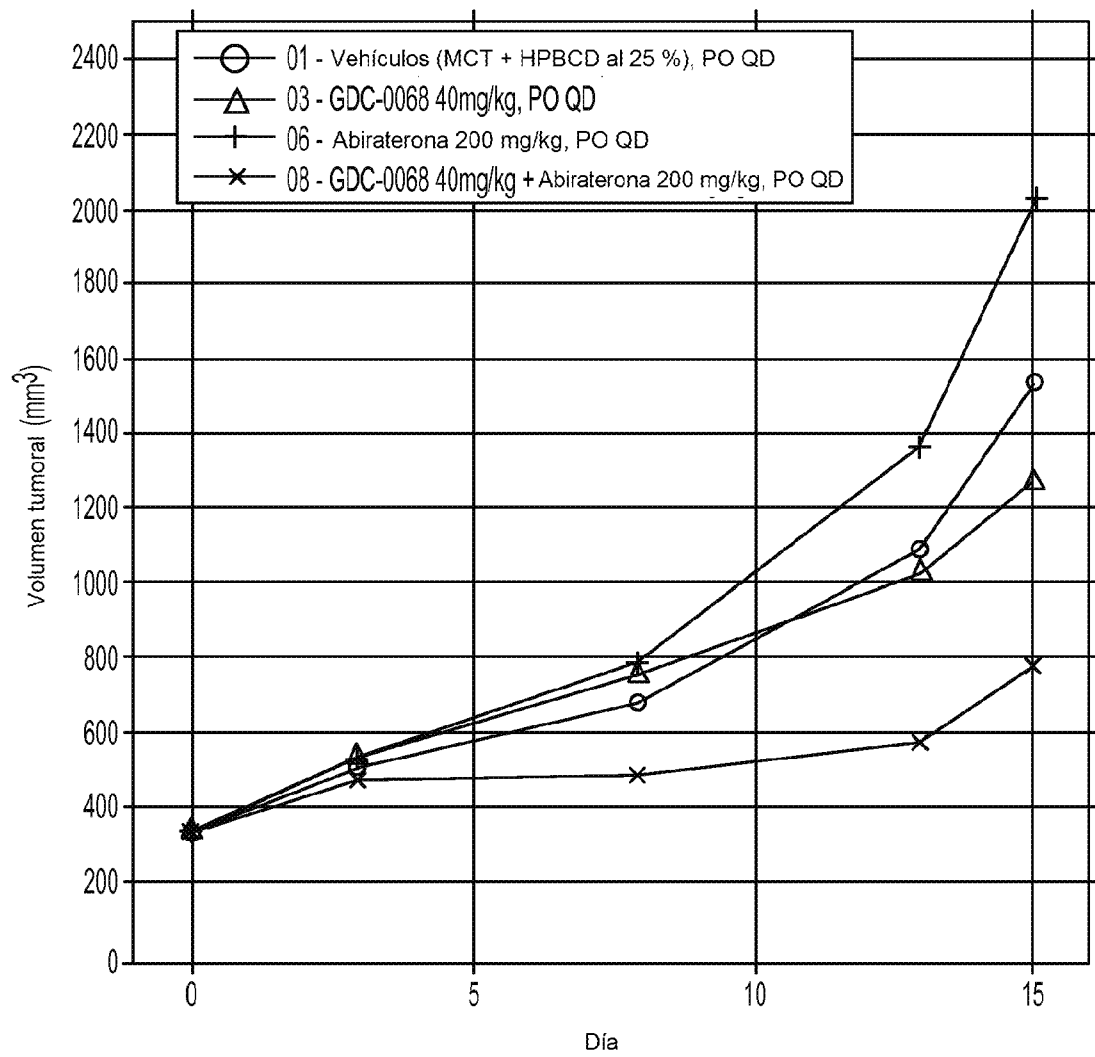


FIG. 2