(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 439 948**

(51) Int. Cl.:

C07D 403/12	(2006.01)
C07D 413/12	(2006.01)
C07D 413/14	(2006.01)
C07D 417/12	(2006.01)
C07D 498/04	(2006.01)
A61K 31/506	(2006.01)
A61P 29/00	(2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.02.2007** **E 07778258 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2013** **EP 1984357**

(54) Título: **Compuestos de 2,4-pirimidindiamina para el tratamiento o la prevención de enfermedades autoinmunitarias**

(30) Prioridad:

17.02.2006 US 774761 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.01.2014

(73) Titular/es:

RIGEL PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
1180 VETERANS BOULEVARD
SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080, US

(72) Inventor/es:

CLOUGH, JEFFREY WAYNE;
BHAMIDIPATI, SOMASEKHAR;
SINGH, RAJINDER;
MASUDA, ESTEBAN y
ZHAO, HAORAN

(74) Agente/Representante:

PÉREZ BARQUÍN, Eliana

ES 2 439 948 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de 2,4-pirimidindiamina para el tratamiento o la prevención de enfermedades autoinmunitarias

Campo de la invención

La presente invención se refiere generalmente a compuestos de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiamina, composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, intermedios y métodos sintéticos de preparación de los compuestos y métodos de uso de los compuestos y composiciones en una diversidad de contextos, tal como en el tratamiento o prevención de varias enfermedades.

Antecedentes de la invención

La reticulación de receptores de Fc, tal como el receptor de elevada afinidad por IgE (FcεRI) y/o el receptor de elevada afinidad por IgG (FcγRI) activan una cascada de señalización en mastocitos, basófilos y otras células inmunitarias que tiene como resultado la liberación de mediadores químicos responsables de numerosos episodios adversos. Por ejemplo, dicha reticulación conduce a la liberación de mediadores preformados de reacciones de hipersensibilidad anafiláctica de tipo I (inmediata), tales como histamina, a partir de sitios de almacenamiento en gránulos por medio de desgranulado. También conduce a la síntesis y liberación de otros mediadores, incluyendo leucotrienos, prostaglandinas y factores de activación de plaquetas (PAF), que juegan papeles importantes en las reacciones inflamatorias. Los mediadores adicionales que se sintetizan y liberan tras la reticulación de receptores de Fc incluyen citocinas y óxido nítrico.

La(s) cascada(s) de señalización activada(s) por medio de reticulación de receptores de Fc tales como FcεRI y/o FcγRI comprende(n) una disposición de proteínas celulares. Entre los propagadores de señal intracelular más importantes están las tirosina cinasas. Una tirosina cinasa importante involucrada en los mecanismos de transducción de señal asociados a la reticulación de los receptores FcεRI y/o FcγRI, así como otras cascadas de transducción de señales, es cinasa Syk (véase Valent y cols, 2002, Intl. J. Hematol. 75(4): 257-362 para revisión).

Recientemente, se han descubierto varias clases de compuestos de 2,4-pirimidindiamina que inhiben las cascadas de señalización de FcεRI y/o FcγRI y que tienen multitud de usos terapéuticos. Véanse, por ejemplo, la solicitud de EE.UU. N.º de serie 10/355.543 presentada el 31 de enero de 2003 (documento U.S. 2004/0029902A1), la solicitud internacional de N.º de serie PCT/US03/03022 presentada el 31 de enero de 2003 (documento WO 03/063794), la solicitud de EE.UU. N.º de serie 10/631.029 presentada el 29 de julio de 2003, la solicitud internacional de N.º de serie PCT/US03/24087 (documento WO 2004/014382), la solicitud de de EE.UU. N.º de serie 10/903.263 presentada el 30 de julio de 2004 (documento US 2005/0234049), la solicitud internacional de N.º de serie PCT/US2004/24716, la solicitud de EE.UU. N.º de serie 10/903.870 presentada el 30 de julio de 2004.

Debido a que los mediadores liberados como resultado de la reticulación del receptor FcεRI o FcγRI son responsables de, o juegan papeles importantes en, la manifestación de numerosos episodios adversos, la disponibilidad de compuestos capaces de inhibir la(s) cascada(s) de señalización responsable(s) de su liberación sería altamente deseable. Además, debido al papel crítico que juega cinasa Syk en esta(s) y otra(s) cascada(s) de señalización de receptor, la disponibilidad de compuestos capaces de inhibir cinasa Syk sería altamente deseable.

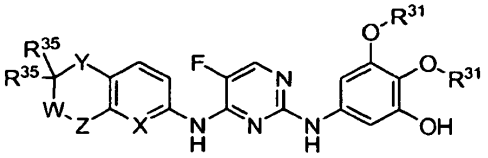
El documento WO 2005/012294 describe compuestos de 2,4-pirimidin diamina para su uso en el tratamiento o prevención de enfermedades autoinmunitarias.

El documento WO 2005/026158 describe derivados de 2,4-di(hetero)arilamino-pirimidina como inhibidores de ZAP-70 y/o de Syk.

El documento WO 2005/013996 describe compuestos de 2,4-pirimidindiamina y usos como agentes antiproliferativos.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos de acuerdo con la fórmula I:



I

en la que:

Y está seleccionado entre el grupo que consiste en S, O, SO, SO_2 y $C(R^7)_2$;

cada R^{35} está seleccionado de forma independiente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo(C_1-C_4) y halo, o ambos R^{35} junto con el carbono al que están unidos forman un grupo carbonilo;

W está seleccionado entre el grupo que consiste en C=O, C=S, C=NH, $C(R^7)_2$ y NR^{37};

Z es C=O o NR^{37}, con la condición de que Z y W no sean ambos NR^{37} y con la condición de que cuando Z es C=O, entonces W es $(CR^7)_2$ o NR^{37};

X es CH o N;

cada R^{31} es de manera independiente alquilo (C_1-C_4) o ambos R^{31} juntos forman un grupo alquileno (C_1-C_2) opcionalmente sustituido con uno a dos grupos alquilo (C_1-C_4) o sustituido con un grupo espirocicloalquilo (C_3-C_7);

cada R^7 es de manera independiente hidrógeno o alquilo (C_1-C_4); y

R^{37} es hidrógeno o metilo opcionalmente sustituido con fenilo o piridilo, en el que dicho fenilo o piridilo está opcionalmente sustituido con alcoxi (C_1-C_4).

También se describen en la presente memoria diversas características relacionadas, tales como métodos, composiciones y usos que se refieren a compuestos de fórmula I y II, que resultarán fácilmente evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

Se apreciará por parte del experto en la técnica que las implementaciones resumidas anteriormente se pueden usar junto con cualquier combinación apropiada para generar implementaciones no expresadamente citadas anteriormente y que dichas implementaciones se consideran parte de la presente invención.

Descripción detallada

A lo largo de la presente solicitud, el texto se refiere, a diversas realizaciones de los presentes compuestos y composiciones, así como también a los métodos descritos en la presente memoria. Se entiende que las diversas realizaciones descritas proporcionan una variedad de ejemplos ilustrativos y no deberían entenderse como descripciones de especies alternativas. En su lugar, debería apreciarse que las descripciones de diversas realizaciones proporcionadas en la presente memoria pueden ser de un alcance que se solapa. Las realizaciones comentadas en la presente memoria son únicamente ilustrativas y no significa que limiten el alcance de la presente invención.

Definiciones

Según se usan en la presente memoria, se aplicarán las siguientes definiciones a menos que se indique lo contrario.

"Alquilo" o "alcanilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a grupos hidrocarbilo alifáticos saturados monovalentes que tienen el número afirmado de átomos de carbono (es decir, C_1-C_4 significa de uno a cuatro átomos de carbono). Este término incluye, a modo de ejemplo, grupos hidrocarbilo lineales y ramificados tales como metilo (CH_3-), etilo (CH_3-CH_2-), *n*-propilo ($CH_3CH_2CH_2$-), isopropilo ($(CH_3)_2CH$-), *n*-butilo ($CH_3CH_2CH_2CH_2$-), isobutilo ($(CH_3)_2CHCH_2$-), *sec*-butilo ($(CH_3)(CH_3CH_2)CH$-), *t*-butilo ($(CH_3)C$-), *n*-pentilo ($CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2$-) y neopentilo ($(CH_3)_3CCH_2$-).

"Bencilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere al grupo $(C_6H_5)CH_2$-.

"Carbonilo" se refiere al grupo >C=O. "Tiocarbonilo" se refiere al grupo >C=S.

"Ciano" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere al grupo -CN.

"Halógeno" o "halo" por si mismos o como parte de otro sustituyente, a menos que se indique lo contrario, se refieren a fluoro, cloro, bromo y yodo.

"Haloalquilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo alquilo en el que uno o más de los átomos de hidrógeno están sustituidos por un halógeno. De este modo, se entiende que el término "haloalquilo" incluye monohaloalquilos, dihaloalquilos, trihaloalquilos, etc., hasta perhaloalquilos. Por ejemplo, la expresión "haloalquilo (C_1-C_2)" incluye fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, 1-fluoroetilo, 1,1-difluoroetilo, 1,2-difluoroetilo, 1,1,1-trifluoroetilo, perfluoroetilo, etc.

"Nitro" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a $-NO_2$.

Los grupos anteriormente mencionados pueden incluir prefijos y/o sufijos que se usan comúnmente en la técnica para crear grupos sustituyentes bien reconocidos. A modo de ejemplos, "alquiloxi" o "alcoxi" se refiere a un grupo de fórmula -OR", en el que R" es alquilo e incluye grupos alcoxi tales como metoxi y etoxi. Como otro ejemplo, "haloalcoxi" o "haloalquiloxi" se refieren a un grupo de fórmula OR´", en el que R´" es haloalquilo. En otros ejemplos, "4-metoxibencilo" se refiere a sustitución de bencilo en la posición 4-para con metoxi y "2-piridilmetilo" se refiere a la sustitución de metilo con un grupo 2-piridilo.

"Alquenilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un alquilo cíclico o de cadena lineal, ramificada insaturado que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono procedente de la retirada de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un alqueno parental. El grupo puede estar bien en conformación cis o trans alrededor del(de los) enlace(s) doble(s). Grupos alquenilos típicos incluyen, pero sin estar limitados a, etenilo; propenilos tales como prop-1-en-1-ilo, prop-1-en-2-ilo, prop-2-en-1-ilo, prop-2-en-2-ilo, ciclopropp-1-en-1-ilo; ciclopropp-2-en-1-ilo; butenilos tales como but-1-en-1-ilo, but-1-en-2-ilo, 2-metil-prop-1-en-1-ilo, but-2-en-1-ilo, but-2-en-2-ilo, buta-1,3-dien-1-ilo, butan-1,3-dien-2-ilo, ciclobut-1-en-1-ilo, ciclobut-1-en-3-ilo, ciclobuta-1,3-dien-1-ilo, etc.; y similares. Según se usa en la presente memoria, "alquenilo inferior" significa alquenilo (C2-C8).

"Alquinilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un alquilo cíclico o de cadena lineal, ramificada insaturado que tiene al menos un enlace triple carbono-carbono procedente de la retirada de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un alquino parental. Grupos alquinilo típicos incluyen, pero sin estar limitados a, etinilo; propinilos tales como prop-1-in-1-ilo, prop-2-in-1-ilo, etc.; butinilos tales como but-1-in-1-ilo, but-1-in-3-ilo, but-3-in-1-ilo, etc.; y similares. Según se usa en la presente memoria, "alquinilo inferior" significa alquinilo (C2-C8).

"Alquildiilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo hidrocarburos divalente cíclico o de cadena lineal, ramificada, saturado o insaturado que tiene el número afirmado de átomos de carbono (es decir, C1-C6 significa de uno a seis átomos de carbono) procedentes de la retirada de un átomo de hidrógeno de cada uno de los dos átomos de carbono diferentes de un alcano, alqueno o alquino parental, o por medio de la retirada de dos átomos de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un alcano, alqueno o alquino parental. Los dos centros radicales monovalentes o cada valencia del centro radical divalente pueden formar enlaces con los mismos átomos o con átomos diferentes. Los grupos alquildiilo típicos incluyen, pero sin estar limitados a, metanodiilo; etildiilos tales como etan-1,1-diilo, etan-1,2-diilo, eten-1,1-diilo, eten-1,2-diilo; propildiilos tales como propan-1,1-diilo, propan-1,2-diilo, propan-2,2-diilo, propan-1,3-diilo, ciclopropan,1,1-diilo, ciclopropan-1,2-diilo, prop-1-en-1,1-diilo, prop-1-en-1,2-diilo, prop-2-en-1,2-diilo, prop-1-en-1,3-diilo, ciclopropp-1-en-1,2-diilo, ciclopropp-2-en-1,2-diilo, ciclopropp-2-en-1,1-diilo, prop-1-in-1,3-diilo, etc.; butildiilos tales como butan-1,1-diilo, butan-1,2-diilo, butan-1,3-diilo, butan-1,4-diilo, butan-2,2-diilo, 2-metil-propan-1,1-diilo, 2-metil-propan-1,2-diilo, ciclobutan-1,1-diilo; ciclobutan-1,2-diilo, ciclobutan-1,3-diilo, but-1-en-1,1-diilo, but-1-en-1,2-diilo, but-1-en-1,3-diilo, but-1-en-1,4-diilo, 2-metil-prop-1-en-1,1-diilo, 2-metaniliden-propan-1,1-diilo, buta-1,3-dien-1,1-diilo, buta-1,3-dien-1,2-diilo, buta-1,3-dien-1,3-diilo, buta-1,3-dien-1,4-diilo, ciclobut-1-en-1,2-diilo, ciclobut-1-en-1,3-diilo, ciclobut-2-en-1,2-diilo, ciclobuta-1,3-dien-1,3-diilo, ciclobuta-1,3-dien-1,3-diilo, but-1-in-1,3-diilo, but-1-in-1,4-diilo, buta-1,3-diin-1,4-diilo, etc.; y similares. Cuando se pretenden niveles específicos de saturación, se usa la nomenclatura de alcanildiilo, alquenildiilo y/o alquinildiilo. Cuando se pretende específicamente que las dos valencias estén sobre el mismo átomo de carbono, se usa la nomenclatura "alquilideno". En algunas realizaciones, el grupo alquildiilo es alquildiilo (C1-C8). Realizaciones específicas incluyen grupos alquinildiilo acíclicos saturados en los que los centros radicales están en los carbonos terminales, por ejemplo, metanodiilo (metano); etan-1,2-diilo (etano); propan-1,3-diilo (propano); butan-1,4-diilo (butano); y similares (también denominados alquilenos, definidos *infra*).

"Alquileno" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo alquildiilo saturado o insaturado de cadena lineal que tiene dos centros radicales monovalentes terminales procedentes de la retirada de un átomo de hidrógeno de cada uno de los dos átomos de carbono terminales del alcano, alqueno o alquino parental de cadena lineal. La localización de un doble enlace o triple enlace, si se encuentran presentes, en un alquileno particular viene indicada por paréntesis cuadrados. Normalmente, los grupos alquileno incluyen, pero sin estar limitados a, metano; etilenos tales como etano, eteno, etino; propileno tales como propano, pro[1]eno, propa[1,2]dieno, prop[1]ino, etc.; butilenos tales como butano, but[1]eno, but[2]eno, buta[1,3]dieno, but[1]ino, but[2]ino, buta[1,3]diino, etc.; y similares. Cuando se pretenden niveles específicos de saturación, se usa la nomenclatura alcano, alqueno y/o alquino. En algunas realizaciones, el grupo alquileno es alquileno (C1-C8) o (C1-C3). Realizaciones específicas incluyen grupos alcano saturados de cadena lineal, por ejemplo, metano, etano, propano, butano y similares.

"Heteroalquilo", "heteroalcanilo", "heteroalquenilo", "heteroalquinilo", "heteroalquildiilo" y "heteroalquileno" por ellos mismos o como parte de otro sustituyente se refieren a grupos alquilo, alcanilo, alquenilo, alquinilo, alquildiilo y alquileno, respectivamente, en los que uno más átomos de carbono están sustituidos de forma independiente por el mismo grupo de heteroátomos por grupos heteroatómicos diferentes. Heteroátomos y/o grupos heteroatómicos típicos que pueden sustituir átomos de carbono incluyen, pero sin estar limitados a, -O-, -S-, -S-O-, -NR´-, -PH-, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)NR´-$, $-S(O)_2NR´-$ y similares, incluyendo sus combinaciones, en los que cada R´ es de manera

independiente hidrógeno o alquilo (C1-C8).

"Cicloalquilo" y "heterocicloalquilo" por si mismos o como parte de otro sustituyente se refieren a versiones cíclicas de grupos "alquilo" y "heteroalquilo", respectivamente. Para los grupos heteroalquilo, un heteroátomo puede ocupar la posición que está unida al resto de la molécula. Grupos cicloalquilo típicos incluyen, pero sin estar limitados a, ciclopropilo; ciclobutilos tales como ciclobutanilo y ciclobutenilo; ciclopentilos tales como ciclopentilo y ciclopentenilo; ciclohexilos tales como ciclohexanilo y ciclohexenilo; y similares. Grupos de heterocicloalquilo típicos incluyen, pero sin estar limitados a, tetrahidrofuranilo (por ejemplo, tetrahidrofuran-2-ilo, tetrahidrofuran-3-ilo, etc.), piperidinilo (por ejemplo, piperidin-1-ilo, piperidin-2-ilo, etc.), morfolinilo (por ejemplo, morfolin-3-ilo, morfolin-4-ilo, etc.), piperazinilo (por ejemplo, piperazin-1-ilo, piperazin-2-ilo, etc.) y similares.

"Puente Heteroatómico Acíclico" se refiere a un puente divalente en el que los átomos de la cadena principal son exclusivamente heteroátomos y/o grupos heteroatómicos. Puentes heteroatómicos acíclicos típicos incluyen, pero sin estar limitados a, -O-, -S-, -S-O-, -NR´-, -PH-, -S(O)-, $-S(O)_2-$, -S(O)NR´-, $-S(O)_2NR'$ y similares, incluyendo sus combinaciones, en las que cada R´ es de manera independiente hidrógeno o alquilo (C1-C8).

"Sistema de Anillo Aromático Parental" se refiere a un sistema de anillo policíclico o cíclico insaturado que tiene un sistema de electrones π. Se incluyen específicamente en la definición de "sistema de anillo aromático parental" sistemas de anillos condensados en los que uno o más de los anillos son aromáticos y uno o más de los anillos están saturados o insaturados, tales como, por ejemplo, fluoreno, indano, indeno, fenaleno, tetrahidronaftaleno, etc. Sistemas de anillo aromático parental típicos incluyen, pero sin estar limitados a, aceantrileno, acenaftileno, acefenantrileno, antraceno, azuleno, benceno, criseno, coroneno, fluoranteno, fluoreno, hexaceno, hexafeno, hexaleno, indaceno, s-indaceno, indano, indeno, naftaleno, octaceno, octafeno, octaleno, ovaleno, penta-2,4-dieno, pentaceno, pentaleno, pentafeno, perileno, fenateno, fenantreno, piceno, pleiadeno, pireno, pirantreno, rubiceno, tetrahidronaftaleno, trifenileno, trinaftaleno y similares.

"Arilo" por si mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo de hidrocarburo aromático monovalente que tiene el número afirmado de átomos de carbono (es decir, C6-C15 significa de 6 a 15 átomos de carbono) procedentes de la retirada de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un sistema de anillo aromático parental. Grupos arilo típicos incluyen, pero sin estar limitados a, grupos procedentes de aceantrileno, acenaftileno, acefenantrileno, antraceno, azuleno, benceno, criseno, coroneno, fluoranteno, fluoreno, hexaceno, hexafeno, hexaleno, indaceno, as-indaceno, s-indaceno, indano, indeno, naftaleno, octaceno, octafeno, octaleno, ovaleno, pentaceno, pentaleno, pentafeno, perileno, fenaleno, fenantreno, piceno, pleiadeno, pireno, pirantreno, rubiceno, trifenileno, trinaftaleno y similares, así como varios de sus hidroisómeros. En realizaciones preferidas, el grupo arilo es (C6-C15)arilo, siendo (C6-C10) más típico. Arilos ejemplares específicos incluyen fenilo y naftilo.

"Arilarilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo de hidrocarburo monovalente procedente de la retirada de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un sistema de anillo en el que se unen dos o más sistemas de anillos aromáticos parentales idénticos o no idénticos directamente por medio de un enlace sencillo, en el que el número de dichas uniones de anillo directas es uno menor que el número de sistemas de anillo aromáticos parentales implicados. Grupos de arilarilo típicos incluyen, pero sin estar limitados a, bifenilo, trifenilo, fenil-naftilo, binaftilo, bifenil-naftilo y similares. Cuando el número de átomos de carbono de un grupo arilarilo está especificado, el número se refiere a los átomos de carbono que comprenden cada anillo aromático parental. Por ejemplo, un arilarilo (C6-C15) es un grupo arilarilo en el que cada anillo aromático comprende de 6 a 5 átomos, por ejemplo, bifenilo, trifenilo, binaftilo, fenilnaftilo, etc. En algunas realizaciones, cada sistema de anillo aromático parental de un grupo arilarilo es de manera independiente un sistema aromático (C6-C15), más preferentemente un sistema aromático (C6-C10). Grupos arilarilo ejemplares específicos incluyen aquellos en los que los sistemas de anillos aromáticos parentales son idénticos, por ejemplo, bifenilo, trifenilo, binaftilo, trinaftilo, etc.

"Biarilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo arilarilo que tiene dos sistemas aromáticos parentales idénticos unidos directamente juntos por medio de un enlace individual. Grupos biarilo típicos incluyen, pero sin estar limitados a, bifenilo, binaftilo, biantracenilo y similares. En algunas realizaciones, los sistemas de anillo aromáticos son anillos aromáticos (C6-C15), más típicamente anillos aromáticos (C6-C10). Un grupo biarilo ejemplar particular es bifenilo.

"Arilalquilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unido a un átomo de carbono, normalmente un átomo de carbono sp^3, está sustituido por un grupo arilo. Grupos arilalquilo típicos incluyen, pero sin estar limitados a, bencilo, 2-feniletan-1-ilo, 2-fenileten-1-ilo, naftilmetilo, 2-naftiletan-1-ilo, 2-naftilen-1-ilo, naftobencilo, 2-naftofeniletan-1-ilo y similares. Cuando se pretenden restos alquilo específicos, se usa la nomenclatura arilalcanilo, arilalquenilo y/o arilalquinilo. En algunas realizaciones, el grupo arilalquilo es arilalquilo (C7-C21), por ejemplo, un resto alcanilo, alquenilo o alquinilo del grupo arilalquilo es (C1-C6) y el resto arilo es (C6-C15). En algunas realizaciones específicas el grupo arilalquilo es (C7-C13), por ejemplo, el resto alcanilo, alquenilo o alquinilo del grupo arilalquilo es (C1-C3) y el resto arilo es (C6-C10).

"Sistema de Anillo Heteroaromático Parental" se refiere a un sistema de anillo aromático parental en el que uno o

más átomos de carbono están sustituidos de manera independiente por el mismo heteroatómo o por heteroátomos diferentes o por grupos heteroatómicos diferentes. Heteroátomos o grupos heteroatómicos típicos para sustituir los átomos de carbono incluyen, pero sin estar limitados a, N, NH, P, O, S, S(O), $S(O)_2$, Si, etc. Se incluyen específicamente dentro de la definición de "sistemas de anillo heteroaromáticos parentales" sistemas de anillos condensados en los que uno o más de los anillos son aromáticos y uno o más de los anillos están saturados o insaturados, tales como, por ejemplo, benzodioxano, benzofurano, cromano, cromeno, indol, indolina, xanteno, etc. También se incluyen en la definición de "sistema de anillo heteroaromático parental" los anillos reconocidos que incluyen sustituyentes comunes, tales como, por ejemplo, benzopirona y 1-metil-1,2,3,4-tetrazol. Se excluyen específicamente de la definición de "sistema de anillo heteroaromático parental" los anillos de benceno condensados a polialquilenglicoles cíclicos tales como polietilenglicoles cíclicos. Los sistemas de anillos heteroaromáticos parentales típicos incluyen, pero sin estar limitados a, acridina, bencimidazol, bencisoxazol, benzodioxano, benzodioxol, benzofurano, benzopirona, benzotiadiazol, benzotiazol, benzotriazol, benzoxaxina, benzoxazol, benzoxazolina, carbazol, β-carbolina, cromano, cromeno, cinolina, furano, imidazol, indazol, indol, indolina, indolizina, isobenzofurano, isocromeno, isoindol, isoindolina, isoquinolina, isotiazol, isoxazol, naftiridina, oxadiazol, oxazol, pirimidina, fenantridina, fenantrolina, fenazina, ftalazina, pteridina, purina, pirano, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, pirrolizina, quinazolina, quinolina, quinolizina, quinoxalina, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofeno, triazol, xanteno y similares.

"Heteroarilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo heteroaromático monovalente que tiene el número afirmado de átomos de anillo (por ejemplo, "de 5-14 miembros" significa de 5 a 14 átomos de anillo) procedente de la retirada de un átomo de hidrógeno de un átomo individual de un sistema de anillo heteroaromático parental. Grupos heteroarilo típicos incluyen, pero sin estar limitados a, grupos procedentes de acridina, bencimidazol, bencisoxazol, benzodioxano, benzodiaxol, benzofurano, benzopirona, benzotiadiazol, benzotiazol, benzotriazol, benzoxazina, benzoxazol., benzoxazolina, carbazol, β-carbolina, cromano, cromeno, cinolina, furano, imidazol, indazol, indol, indolina, indolizina, isobenzofurano, isocromeno, isoindol, isoindolina, isoquinolina, isotiazol, isoxazol, naftiridina, oxadiazol, oxazol, perimidina, fenantridina, fenantrolina, fenazina, ftalazina, pteridina, purina, pirano, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, pirrolizina, quinazolina, quinolina, quinolizina, quinoxalina, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofeno, triazol, xanteno y similares, así como también varios de sus hidroisómeros. En realizaciones preferidas, el grupo heteroarilo es un heteroarilo de 5-14 miembros, prefiriéndose particularmente un heteroarilo de 5-10 miembros.

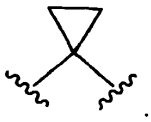
"Heteroarilo-Heteroarilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo heteroaromático monovalente procedente de la retirada de un átomo de hidrógeno de un átomo individual de un sistema de anillo en el que dos o más sistemas de anillo heteroaromáticos parentales idénticos o no idénticos se unen directamente por medio de un enlace sencillo, en el que el número de dichas uniones de anillo es uno menos que el número de de sistema de anillo heteroatómicos parentales implicados. Grupos heteroarilo-heteroarilo típicos incluyen, pero sin estar limitados a, bipiridilo, tripiridilo, piridilpurinilo, bipurinilo, etc. Cuando se especifica el número de átomos, este se refiere al número de átomos que comprende cada uno de los sistemas de anillos heteroaromático parentales. Por ejemplo, heteroarilo-heteroarilo de 5-15 miembros es un grupo heteroarilo-heteroarilo en el que cada sistema de anillo heteroaromático parental comprende de 5 a 15 átomos, por ejemplo, bipiridilo, tripuridilo, etc. En algunas realizaciones, cada sistema de anillo heteroaromático parental es, de forma independiente, un sistema heteroaromático de 5-15 miembros, más normalmente un sistema heteroaromático de 5-10 miembros. Grupos heteroarilo-heteroarilo ejemplares específicos incluyen aquellos en los que los sistemas de anillo heteroaromáticos parentales son idénticos.

"Biheteroarilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo heteroarilo-heteroarilo que tiene dos sistemas de anillo heteroaromáticos parentales idénticos unidos directamente por medio de un enlace sencillo. Grupos biheteroarilo típicos incluyen, pero sin estar limitados a, bipiridilo, bipurinilo, biquinolinilo y similares. En algunas realizaciones, los sistemas de anillo heteroaromáticos son anillos heteroaromáticos de 5-15 miembros, más normalmente son anillos heteroaromáticos de 5-10 miembros.

"Heteroarilalquilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unidos a un átomo de carbono, normalmente un átomo de carbono terminal o sp^3, está sustituido por un grupo heteroarilo. Cuando se pretenden restos alquilo específicos, se usa la nomenclatura heteroarilalcanilo, heteroarilalquenilo y/o heteroarilalquinilo. En algunas realizaciones, el grupo heteroarilalquilo es un heteroarilalquilo de 6-21 miembros, por ejemplo, el resto alcanilo, alquenilo o alquinilo del heteroarilalquilo es alquilo (C1-C6) y el resto heteoarilo es un heteroarilo de 5-15 miembros. En algunas realizaciones específicas ejemplares, el heteroarilalquilo es heteroarilalquilo de 6-13 miembros, por ejemplo, el resto alcanilo, alquenilo o alquinilo es alquilo (C1-C3) y el resto heteoarilo es un heteroarilo de 5-15 miembros.

"Halógeno" o "halo" por sí mismos o como parte de otro sustituyente, a menos que se indique lo contrario, se refieren a fluoro, cloro, bromo y yodo.

"Espirocicloalquilo (C_3-C_7)" se refiere a grupos cíclicos divalentes de 3 a 7 átomos de carbono que tienen un anillo cicloalquilo de 3 a 7 miembros con una unión espiro (la unión formada por medio de un átomo individual que es el único miembro común de los anillos) como queda ejemplificado por medio de la siguiente estructura C_3:



"Sustituido" cuando se usa para modifica un grupo o radical especificado, significa que uno o más átomos de hidrógeno del grupo o radical especificado se han sustituido cada uno, de forma independiente unos de otros, por el mismo sustituyente o sustituyentes diferentes. Los grupos sustituyentes útiles para la sustitución de hidrógenos en átomos de carbono saturados en el grupo especificado o radical incluyen, pero sin estar limitados a, $-R^{60}$, halo, $-O^-M^+$, =O, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-S^-M^+$, =S, $-NR^{80}R^{80}$, $=NR^{70}$, $=N-OR^{70}$, trihalometilo, $-CF_3$, -CN, -OCN, -SCN, -NO, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-S(O)_2R^{70}$, $-S(O)_2O^-M^+$, $-S(O)_2OR^{70}$, $-OS(O)_2R^{70}$, $-OS(O)_2O^-M^+$, $-OS(O)_2OR^{70}$, $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$, $-P(O)(OR^{70})(OR^{70})$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-C(O)O^-M^+$, $-C(O)OR^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OC(O)O^-M^+$, $-OC(O)OR^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}C(O)O^-M^+$, $-NR^{70}C(O)OR^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ y $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, en los que R^{60} está seleccionado entre el grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilalquilo, heteoarilo y heteroarilalquilo; cada R^{70} es de manera independiente hidrógeno o R^{60}; cada R^{80} es de manera independiente R^{70} o alternativamente, los dos R^{80} junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un cicloheteroalquilo de 5, 6 o 7 miembros que, opcionalmente, puede incluir de 1 a 4 de heteroátomos iguales o diferentes seleccionados entre el grupo que consiste en O, N y S; y cada M^+ es un contraión con carga positiva, por ejemplo, una carga positiva que está seleccionada de forma independiente entre K^+, Na^+, $^+N(R^{60})_4$ y Li^+ o dos de M^+ se combinan para formar un contraión divalente, por ejemplo un contraión divalente seleccionado entre Ca^{2+}, Mg^{2+} y Ba^{2+}. Como ejemplos específicos, se entiende que $-NR^{80}R^{80}$ incluye $-NH_2$, -NH-alquilo, N-pirrolidinilo y N-morfolinilo.

Similarmente, grupos sustituyentes útiles para sustituir por hidrógenos en átomos de carbono insaturados en el grupo o radical especifico incluyen, pero sin estar limitados a, $-R^{60}$, halo, $-O^-M^+$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-S^-M^+$, $-NR^{80}R^{80}$, trihalometilo, $-CF_3$, -CN, -OCN, -SCN, -NO, $-NO_2$, $-N_3$, $-S(O)_2R^{70}$, $-S(O)_2O^-M^+$, $-S(O)_2OR^{70}$, $-OS(O)_2R^{70}$, $-OS(O)_2O^-M^+$, $-OS(O)_2OR^{70}$, $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$, $-P(O)(OR^{70})(OR^{70})$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-C(O)O^-M^+$, $-C(O)OR^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OC(O)O^-M^+$, $-OC(O)OR^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}C(O)O^-M^+$, $-NR^{70}C(O)OR^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ y $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, en las que R^{60}, R^{70}, R^{80} y M^+ son como se ha definido previamente.

Los grupos sustituyentes, diferentes de R^p, útiles para sustituir por hidrógenos sobre átomos de nitrógeno en grupos heteroalquilo y cicloheteroalquilo incluyen, pero sin estar limitados a, $-R^{60}$, $-O^-M^+$, $-OR^{70}$, $-SR^{70}$, $-S^-M^+$, $-NR^{80}R^{80}$, trihalometilo, $-CF_3$, -CN, -NO, $-NO_2$, $-S(O)_2R^{70}$, $-S(O)_2O^-M^+$, $-S(O)_2OR^{70}$, $-OS(O)_2R^{70}$, $-OS(O)_2O^-M^+$, $-OS(O)_2OR^{70}$, $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$, $-P(O)(OR^{70})O^-M^+$, $-P(O)(OR^{70})(OR^{70})$, $-C(O)R^{70}$, $-C(S)R^{70}$, $-C(NR^{70})R^{70}$, $-C(O)OR^{70}$, $-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OC(O)OR^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}C(O)OR^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ y $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, en las que R^{60}, R^{70}, R^{80} y M^+ son como se ha definido previamente.

Los grupos sustituyentes a partir del listado anterior útiles para sustituir otros grupos o átomos especificados como "sustituidos" resultarán evidentes para el experto en la técnica.

"Grupo protector" se refiere a un grupo de átomos que, cuando está unido a un grupo funcional reactivo en una molécula, enmascara, reduce o evita la reactividad del grupo funcional. Normalmente, un grupo protector se puede retirar de forma selectiva según se desee durante el curso de la síntesis. Ejemplos de grupos protectores se pueden encontrar en Greene y Wuts, Protective Groups in Organic Chemistry, 3ª Ed., 1999, John Wiley & Sons, NY y Harrison y cols., Compendium of Synthetic Organic Methods, Vols. 1-8, 1971-1996, John Wiley & Sons, NY.Grupos protectores amino representativos incluyen, pero sin estar limitados a, formilo, acetilo, trifluoroacetilo, bencilo, benciloxicarbonilo ("CBZ"), terc-butoxicarbonilo ("Boc"), trimetilsililo ("TMS"), 2-trimetilsilil-etanosulfonilo ("TES"), tritilo y grupos tritilo sustituidos, alcoxicarbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo ("FMOC"), nitro-veratriloxicarbonilo ("NVOC") y similares. Grupos protectores de hidroxilo representativos incluyen, pero sin estar limitados a, aquellos en los que el grupo hidroxilo bien esta acilado o bien está alquilado, tal como éteres de bencilo y tritilo, así como también éteres de alquilo, éteres de tetrahidropiranilo, éteres de trialquilsililo (por ejemplo, grupos TMS o TIPPS) y éteres de alilo.

"Receptor de Fc" se refiere a un miembro de la familia de las moléculas de superficie celular que se une a la parte Fc (que contiene la región constante específica) de una inmunoglobulina. Cada receptor de Fc se une a inmunoglobulinas de un tipo específico. Por ejemplo, el receptor de Fc ("FcαR") se une a IgA, el FcεR se une a IgE y el FcγR se une a IgG.

La familia FcαR incluye el receptor Ig polimérico implicado en el transporte epitelial de IgA/IgM, el receptor RcαRI específico mieloide (también denominado CD89), el receptor Fcα/μR y al menos dos receptores IgA alternativos (para una revisión reciente véase Monteiro & van de Winkel, 2003, Annu. Rev. Immunol., publicación electrónica

avanzada). El receptor FcαRI se expresa sobre células neutrófilas, eosinófilas, monocitos/macrófagos, dendríticas y células de Kupffer. El receptor FcαRI incluye una cadena alfa y el homodímero FcR gamma que porta un motivo de activación (ITAM) en el dominio citoplásmico y cinasa Syk de fosforilatos.

La familia FcεR incluye dos tipos, designados como FcεRI y FcεRII (también conocido como CD23). El FcεRI es un receptor de elevada afinidad (se une a IgE con una afinidad de aproximadamente 10^{10} M^{-1}) que se encuentra en mastocitos, células basófilas y eosinófilas que unen IgE monomérico a la superficie celular. El FcεRI posee una cadena alfa, una cadena beta y un homodímero de cadena gamma comentado anteriormente. El FcεRII es un receptor de baja afinidad expresado sobre fagocitos mononucleares, linfocitos B, eosinófilos y plaquetas. El FcεRII comprende una cadena de polipéptido individual y no incluye el homodímero de cadena gamma.

La familia FcγR incluye tres tipos, designados como FcγRI (también conocido como CD64), FcγRII (también conocido como CD32) y FcγRII (también conocido como CD16). El FcγRI es un receptor de elevada afinidad (se une a IgG1 con una afinidad de $10^{8}M^{-1}$) y se encuentra en mastocitos, células basófilas, mononucleares, neutrófilas, eosinófilas, dendríticas y fagocitos, uniendo IgG monomérico a la superficie celular. El FcγRI incluye un cadena alfa y el dímero de cadena gamma compartido por FcαRI y FcεRI.

El FcγRII es un receptor de baja afinidad expresado en neutrófilos, monocitos, eosinófilos, plaquetas y linfocitos B. El FcγRII incluye una cadena alfa y no incluye el homodímero de cadena gamma comentado anteriormente.

El FcγRIII es un receptor de baja afinidad (se une a IgG1 con una afinidad de 5 x $10^{5}M^{-1}$) expresado sobre NK, eosinófilos, macrófagos, neutrófilos y mastocitos. Comprende una cadena alfa y el homodímero gamma compartido por FcαRI, FcεRI y FcγRI.

Los trabajadores expertos reconocerán que la estructura subunitaria y las propiedades de unión de estos diferentes receptores de Fc, así como también los tipos celulares que los expresan, no están completamente caracterizados. La discusión anterior simplemente refleja el estado actual de la técnica con respecto a estos receptores (véase, por ejemplo, Immunobiology: The Immune System en Health & Disease, 5ª edición, Janeway y cols., Eds., 2001, ISBM 0-8153-3642-X, Figura 9.30, en la página 371) y no se pretende que sean limitantes con respecto a la multitud de cascadas de señalización de receptores que se pueden regular con los profármacos descritos en la presente memoria.

"Desgranulado con Mediación de Receptor de Fc" o "Desgranulado Inducido por el Receptor de Fc" se refiere a desgranulado que transcurre por medio de un cascada de transducción de señal del receptor de Fc iniciada por medio de reticulación de un receptor de Fc.

"Desgranulado inducido por IgE" o "Desgranulado con Mediación de FcεRI" se refiere a desgranulado que transcurre por medio de una cascada de transducción de señal del receptor de IgE iniciada por medio de reticulación de FcεRI unido a IgE. La reticulación se puede inducir por medio de un alérgeno específico IgE u otro agente de unión multivalente, tal como un anticuerpo anti-IgE. En mastocitos y/o células basófilas, la cascada de señalización FcεRI que conduce a desgranulado se puede separar en dos etapas: aguas arriba y aguas abajo. La etapa aguas arriba incluye todos los procesos que tienen lugar antes de la movilización del ion de calcio. La etapa aguas abajo incluye la movilización del ion de calcio y todos sus procesos aguas abajo. Los compuestos que inhiben el desgranulado con mediación de FcεRI pueden actuar en cualquier punto a lo largo de la cascada de transducción de señal con mediación de FcεRI. Los compuestos que inhiben selectivamente el desgranulado con mediación de FcεRI aguas arriba actúan para inhibir esa parte de la cascada de señalización FcεRI aguas arriba del punto en el que se induce la movilización del ion de calcio. En los ensayos basados en células, los compuestos que inhiben selectivamente el desgranulado con mediación de FcεRI aguas arriba inhiben el desgranulado de células tales como mastocitos o células basófilas que se activan o son estimuladas con un alérgeno específico de IgE o un agente de unión (tal como un anticuerpo anti-IgE) pero no inhiben de forma apreciable el desgranulado de células que se activan o son estimuladas con agentes de desgranulado que provocan la desviación del mecanismo de señalización de FcεRI, tal como, por ejemplo ionomicina de ionóforos de calcio y A23187.

El "Desgranulado Inducido por IgG" o "Desgranulado con Mediación de FcγRI" se refiere a desgranulado que transcurre por medio de la cascada de transducción de señal de FcγRI iniciada por medio de reticulación de FcγRI unido a IgG. La reticulación se puede inducir por medio de un alérgeno específico de IgG u otro agente de unión multivalente, tal como un anti-IgG o fragmento de anticuerpo. Igual que la cascada de señalización FcεRI, en mastocitos y células basófilas, las cascada de señalización FcγRI también conduce a desgranulado, que se puede separar en dos etapas; aguas arriba y aguas abajo. De forma similar al desgranulado con mediación de FcεRI, los compuestos que inhiben selectivamente el desgranulado con mediación de FcγRI aguas arriba actúan aguas arriba del punto en el que se induce la movilización del ion de calcio. En los ensayos basados en células, los compuestos que inhiben selectivamente el desgranulado con mediación de FcγRI aguas arriba inhiben el desgranulado de células tales como mastocitos o células basófilas que se activan o están estimuladas con un alérgeno específico IgG o un agente de unión (tal como un anticuerpo anti-IgG o fragmento) pero no inhiben de forma apreciable el desgranulado

de células que se activan o son estimuladas con agentes de desgranulado que desvían el mecanismo de señalización de FcγRI, tal como, por ejemplo ionomicina de ionóforos de calcio y A23187.

"Desgranulado Inducido por Ionóforo" o "Desgranulado con Mediación de Ionóforo" se refieren a desgranulado de una célula, tal como un mastocito o célula basófila, que ocurre tras exposición a un ionóforo de calcio, tal como, por ejemplo, ionomicina o A23187.

"Cinasa Syk" se refiere a la tirosina cinasa de proteína esplénica que no es receptor (citoplásmica) de 72 kDA, bien conocida, que se expresa en células B y otras células hematopoyéticas. Cinasa Syk incluye dos dominios de homología 2 (SH2) Src de consenso en tándem que se unen a motivos de activación basados en tirosina de inmunoreceptor fosforilado ("ITAM"), un dominio "de enlace" y un dominio catalítico (para una revisión de la estructura y función de cinasa Syk, véase Sada y cols., 2001, J. Biochem. (Tokio) 130: 177-186); véase también Turner y cols., Immunology Today 21: 148-154). Se ha estudiado ampliamente la cinasa Syk como efector de la señalización del receptor de células B (BCR) (Turner y cols., 2000, supra). Cinasa Syk también es crítica para la fosforilización de tirosina de múltiples proteínas que regulan mecanismos importantes que parten de imunoreceptores, tales como la movilización de Ca^{2+} y desgranulado y cascadas de cinasa de proteína activada con mitógeno (MAPK). Cinasa Syk también juega un papel importante en la señalización de integrina en neutrófilos (véase, por ejemplo, Mocsai y cols., 2002, Immunity 16: 547-558).

Según se usa en la presente memoria, cinasa Syk incluye cinasas procedentes de cualquier especie de animal, incluyendo pero no limitadas a, Homo sapiens, simios, bovinos, porcinos, roedores, etc., reconocidas como pertenecientes a la familia Syk. De manera específica, se incluyen isoformas, variantes de corte, variantes alélicas, mutantes, tanto de origen natural como fabricadas por el hombre. Las secuencias de aminoácidos de dichas cinasas Syks se conocen bien y se encuentran disponibles en GENBANK. Ejemplos específicos de ARNm que codifican diferentes isoformas de cinasa Syk humana se pueden encontrar en GENBANK N.º de acceso gi│21361552│refNM_003177.2│, gi│496899│emb│Z29630.1│HSSYKPTK[496899] y gi│15030258│gb│BC011399.1│BC011399[15030258].

Los trabajadores expertos apreciarán que las tirosina cinasas que pertenecen a otras familias pueden tener sitios activos o huecos de unión que son similares en estructura tri-dimensional a la de Syk. Como consecuencia de esta similitud estructural, se espera que dichas cinasas, denominadas en la presente memoria como "miméticos de Syk", catalicen la fosforilación de sustratos fosforilados por medio de Syk. De este modo, se apreciará que dichas cascadas de transducción de señal de miméticos de Syk, en las que dichos miméticos de Syk juegan un papel, las respuestas biológicas llevadas a cabo por dichos miméticos de Syk y las cascadas de señalización que dependen del mimético de Syk se pueden regular y en particular se pueden inhibir, con muchos de los fármacos descritos en la presente memoria.

"Cascada de Señalización que Depende de Syk" se refiere a una cascada de transducción de señal en la que cinasa Syk juega un papel. Ejemplos no limitantes de dichas cascadas de señalización que dependen de Syk incluyen FcαRI, FcεEI, FcγRI, FcγRIII y BCR y cascadas de señalización de integrina.

"Enfermedad Autoinmunitaria" se refiere a aquellas enfermedades que comúnmente se asocian a reacciones de hipersensibilidad no anafiláctica (reacciones de hipersensibilidad de tipo II, tipo III y/o tipo IV) que generalmente tienen como resultado una consecuencia de la respuesta inmunitaria mediada por células y/o humoral propia del sujeto, frente a una o más sustancias inmunogénicas de origen endógeno y/o exógeno. Dichas enfermedades autoinmunitarias se distinguen de las enfermedades asociadas a las reacciones de hipersensibilidad anafiláctica (de tipo I o con mediación de IgE).

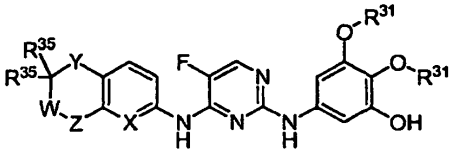
"Profármaco" se refiere a un derivado de un compuesto activo de 2,4-pirimidindiamina (fármaco) que requiere un transformación en condiciones de uso, tal como dentro del cuerpo, para liberar el fármaco activo 2,4-pirimidindiamina o uno de sus metabolitos activos. Con frecuencia, pero no necesariamente, los profármacos son farmacológicamente inactivos hasta que se convierten en el fármaco activo. Normalmente, los profármacos se obtienen por medio de enmascaramiento de uno o más grupos funcionales en el fármaco de 2,4-pirimidindiamina que se piensa que en parte son necesarios para la actividad con un progrupo (definido a continuación) para formar un prorresto que experimenta una transformación, tal como escisión, en condiciones específicas de uso con el fin de liberar el grupo funcional y además el fármaco activo de 2,4-pirimidindiamina. La escisión del prorresto puede transcurrir de forma espontánea, tal como por medio de una reacción de hidrólisis, o puede estar catalizada o inducida por otro agente, tal como por medio de una enzima, por luz, por un ácido o una base, o por medio de un cambio o exposición a un parámetro físico o ambiental, tal como un cambio de temperatura. El agente puede ser endógeno a las condiciones de uso, tal como una enzima presente en las células en las que se administra el profármaco o las condiciones ácidas del estómago, o se puede suministrar de forma exógena.

Una amplia variedad de progrupos, así como los prorrestos resultantes, apropiados para el enmascaramiento de grupos funcionales en los compuestos activos de 2,4-pirimidindiamina para dar lugar a profármacos, se conoce bien en la técnica. Por ejemplo, se puede enmascarar un grupo funcional hidroxi en forma de prorresto de sulfonato, éster o carbonato, que se puede hidrolizar *in vivo* para proporcionar el grupo hidroxilo. Se puede enmascarar un grupo

funcional amino en forma de prorresto de amida, carbamato, imina, urea, fosfenilo, fosforilo o sulfenilo, que se puede hidrolizar *in vivo* para proporcionar el grupo amino. Se puede enmascarar un grupo carboxilo en forma de prorresto de éster (incluyendo ésteres de sililo y tioésteres), amida o hidrazida, que se puede hidrolizar *in vivo* para proporcionar el grupo carboxilo. Los grupos protectores de nitrógeno y los pro-fármacos de nitrógeno de la invención pueden incluir grupos de alquilo inferior así como también amidas, carbamatos, etc. Otros ejemplos específicos de progrupos apropiados y sus respectivos prorrestos resultarán evidentes para los expertos en la técnica.

"Progrupo" se refiere a un tipo de grupo protector que, cuando se usa para enmascarar un grupo funcional dentro de un fármaco activo de 2,4-pirimidindiamina para formar un prorresto, convierto el fármaco en un profármaco. Normalmente, los progrupos están unidos al grupo funcional del fármaco por medio de enlaces que se pueden escindir en las condiciones especificas de uso. De este modo, un progrupo es esa parte de un prorresto que se escinde para liberar el grupo funcional en las condiciones especificas de uso. Como ejemplo específico, un prorresto de amida de fórmula NH-C(O)CH_3 comprende el progrupo -C(O)CH_3.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la fórmula I:



I

o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos, en la que:

Y está seleccionada entre el grupo que consiste en S, O, SO, SO_2 y $C(R^7)_2$;

cada R^{35} está seleccionado de forma independiente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C_1-C_4) y halo, o ambos R^{35} junto con el carbono al que están unidos forman un grupo carbonilo;

W está seleccionado entre el grupo que consiste en C=O, C=S, C=NH, $C(R^7)_2$ y NR^{37};

Z es C=O o NR^{37}, con la condición de que Z y W no sean ambos NR^{37} y con la condición de que cuando Z es C=O, W sea $C(R^7)_2$;

X es CH o N;

cada R^{31} es de manera independiente alquilo (C_1-C_4) o ambos R^{31} juntos forman un grupo alquileno (C_1-C_2) opcionalmente sustituido con uno a dos grupos alquilo (C_1-C_4) o sustituido con un grupo espirocicloalquilo (C_3-C_7);

cada R^7 es de manera independiente hidrógeno o alquilo (C_1-C_4); y

R^{37} es hidrógeno o metilo opcionalmente sustituido con fenilo o piridilo, en el que dicho fenilo o piridilo está opcionalmente sustituido con alcoxi (C_1-C_4).

En una realización, Y es O o S. En algunos aspectos, Y es O.

En otra realización, Y es S o una forma oxidada de S, tal como un SO de sulfóxido o un SO_2 de sulfona.

En otra realización, Y es $C(R^7)_2$. En algunos aspectos, Y es $C(Me)_2$.

En una realización, ambos R^{35} son el mismo. En algunos aspectos, ambos R^{35} son metilo. En otros aspectos ambos R^{35} son hidrógeno o ambos son fluoro. En otro aspecto, ambos R^{35} junto con el carbono al que están unidos forman un grupo carbonilo.

En una realización, W es C=O o C=S. En algunos aspectos, W es C=O.

En otra realización, W es $C(R^7)_2$. En algunos aspectos, W es CH_2.

En otra realización, W es NR^{37}. En algunos aspectos, W es NH.

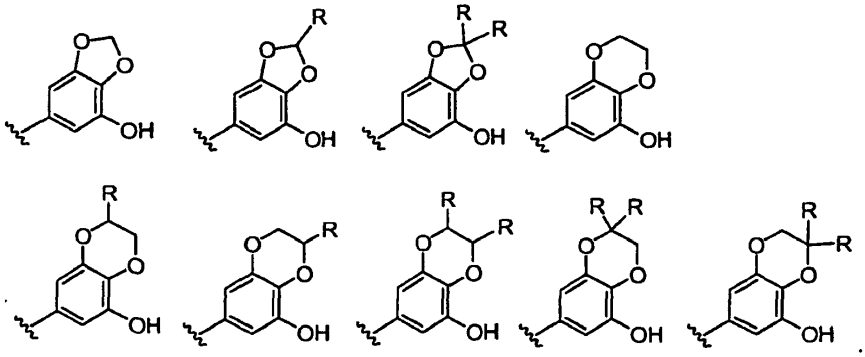
En una realización, Z es NR^{37}. En algunos aspectos, R^{37} es hidrógeno de forma que Z es NH. En otros aspectos, R^{37} es metilo, 2-piridilmetilo o 4-metioxibencilo.

En otra realización, Z es C=O.

En una realización, X es N.

En una realización cada R^{31} es de manera independiente alquilo (C_1-C_2). En algunos aspectos, ambos R^{31} son metilo.

En otra realización, ambos R^{31} juntos forman un grupo alqueno (C_1-C_2) opcionalmente sustituido con uno a dos grupos alquilo (C_1-C_4) o sustituido con un grupo espirocicloalquilo (C_3-C_7). En algunas realizaciones, ambos R^{31} se combinan para formar un acetal o un carbono de cetal. Cuando ambos R^{31} juntos forman un grupo alquileno (C_1-C_2), se forma un sistema de anillos condensados bicíclico con el grupo fenilo que porta los grupos OR^{31}. En algunas realizaciones, el sistema de anillos condensados bicíclico incluye las siguientes estructuras en las que cada R es alquilo (C_1-C_4) o dos R se combinan para formar un espirocicloalquilo (C_3-C_7):



En aún otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto o a uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos seleccionados entre el grupo que consiste en

5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina;

N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina;

N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benz[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina;

N4-[2,2-dimetil-3-oxo-pirid[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina;

5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[3-oxi-benz[1,4]oxazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina;

N4-[2,2-difluoro-3-oxo-benz[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina;

5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[3-oxo-4-(2-piridilmetil)-benz[1,4]oxazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina;

N4-(3,4-dihidro-2H-2,2-dimetil-5-pirido[1,4]oxazin-6-il)-N2-[3,4-dimetoxi-5-hidroxifenil]-5-fluoro-2,4-pirimidindiamina

5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-(1,3-(2H)-4,4-dimetilisoquinolindiona-7-il)-2,4-pirimidindiamina;

(R/S)-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[2-metil-3-oxo-4-(4-metoxibencil)-benz[1,4]oxazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina;

(R/S)-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[2-metil-3-oxo-4-(4-metoxibencil)-benzo[1,4]tiazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina;

5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-(2,2,4-trimetil-1,1,3-trioxi-benzo[1,4]tiazin-6-il)-2,4-pirimidindiamina; y

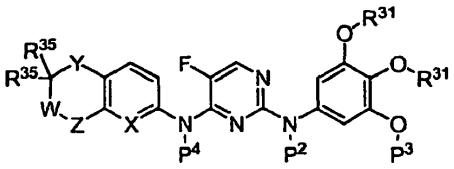
5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-(4-metil-3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il)-2,4-pirimidindiamina.

Los expertos en la técnica apreciarán que los compuestos de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiamina descritos en la presente memoria pueden incluir grupos funcionales que puede estar enmascarados con progrupos con el fin de crear profármacos. Normalmente, pero no necesariamente, dichos profármacos son farmacológicamente inactivos hasta que se convierten en sus forma de fármaco activo. Por ejemplo, los grupos éster comúnmente experimentan hidrólisis catalizada por ácidos para dar lugar al ácido carboxílico parental cuando se exponen a las condiciones ácidas del estómago, o hidrólisis catalizada por base cuando se exponen a las condiciones básicas del intestino o de la sangre. De este modo, cuando se administran a un sujeto por vía oral, 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiaminas que incluyen restos éster se pueden considerar profármacos de su correspondiente ácido carboxílico,

independientemente de si la forma éster es farmacológicamente activa.

En los profármacos relacionados con los compuestos de la invención, se puede enmascarar cualquier resto funcional disponible con un progrupo para dar lugar a un profármaco. En la técnica se conoce una multitud de progrupos apropiados para enmascarar dichos grupos funcionales con el fin de dar lugar a prorrestos que se pueden escindir en las condiciones de uso deseadas. Todos estos progrupos solos o en combinaciones se pueden incluir en los profármacos relacionados con los compuestos de la invención.

Como se describe en la presente memoria, un profármaco relacionado con los compuestos de la invención puede ser un profármaco que tiene la fórmula II



II

en la que:

W está seleccionado entre el grupo que consiste en C=O, C=S, C=NH, $(CR^7)_2$ y NP^1;

Z está seleccionado entre el grupo que consiste en C=O, NR^{37} y NP^1; con la condición de que cuando Z es C=O, entonces W es $C(R^7)_2$ o NP^1 y con la condición de que W y Z no son ambos NR^{37} o NP^1;

Y, R^{35}, X y R^{31} son como se ha definido previamente para la fórmula I; y

P^1, P^2, P^3 y P^4 son de forma independiente hidrógeno o un progrupo R^p, con la condición de que al menos uno de P^1, P^2, P^3 y P^4 sea un progrupo.

En algunos profármacos de fórmula II, P^3 es un progrupo R^p, en el que P^3 y el oxígeno al que está unido forman un prorresto de éster, tioéster, carbonato o carbamato. En algunos aspectos, el prorresto $-OP^3$ es un éster.

En algunos profármacos de fórmula II, el grupo 2-amino, 4-amino o Z=N está unido a un progrupo R^p. En algunos aspectos, Z es $N-R^p$.

En algunos de los profármacos anteriormente mencionados, el progrupo R^p es un progrupo que contiene fósforo.

En algunos de los profármacos anteriormente mencionados, el progrupo R^p incluye un grupo o resto que se metaboliza en las condiciones de uso para dar lugar a un intermedio inestable de α-hidroximetilo, α-aminometilo o α-tiometilo, que posteriormente se metaboliza adicionalmente *in vivo* para dar lugar al fármaco activo de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiamina. En algunos profármacos, el progrupo incluye un resto de α-hidroxialquilo, α-aminoalquilo o α-tioalquilo, por ejemplo, un resto de α-hidroximetilo, α-aminometilo o α-tiometilo, que se metaboliza en las condiciones de uso para dar lugar al fármaco activo de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiamina. Por ejemplo, en algunos profármacos el progrupo R^p es de fórmula $-CR^dR^d-AR^3$, en la que cada R^d está seleccionado, de manera independiente de otro, entre hidrógeno, ciano, alquilo (C1-C20) opcionalmente sustituido, perfluoroalquilo (C1-C20), arilalquilo (C7-C30) opcionalmente sustituido y heteroarialquilo de 6-30 miembros opcionalmente sustituido, en la que cada sustituyente opcional, independientemente de los otros, está seleccionado entre hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo y heteroalquilo, o, alternativamente, los dos R^d se toman junto con el átomo de carbono al que están unidos para formar un cicloalquilo que contiene de 3 a 8 átomos de carbono; A está seleccionado entre O, S y NR^{50}, en la que R^{50} está seleccionado entre hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo y cicloheteroalquilo, o alternativamente se combina con R^3 y junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un anillo de tres a siete miembros y R^3 representa un grupo que se puede metabolizar *in vivo* para dar lugar a un grupo de fórmula $-CR^dR^d-AH$, en la que R^d y A son como se ha definido con anterioridad.

La identidad de R^3 no es crítica, con la condición de que se pueda metabolizar en las condiciones de uso deseadas, por ejemplo en las condiciones ácidas que se encuentran en el estómago y/o por medio de las enzimas que se encuentran *in vivo*, para dar lugar a un grupo de fórmula $-CR^dR^d-AH$, en el que A y R^d son como se ha definido con anterioridad. De este modo, los trabajadores expertos apreciarán que R^3 puede comprender prácticamente cualquier grupo protector de tiol, amina o hidroxilo conocido o por descubrir. Ejemplos no limitantes de grupos protectores apropiados se pueden encontrar, por ejemplo, en Protective Groups in Organic Synthesis, Greene & Wuts, 2ª ed., John Wiley & Sons, Nueva York, 1991 (especialmente las páginas 10-42 (alcoholes, 277-308 (tioles) y 309-405 (aminas)).

En los profármacos específicos, R^3 incluye, junto con A, un enlace éter, un enlace tioéter, un enlace éter de sililo, un enlace tioéter de sililo, un enlace éster, un enlace tioéster, un enlace amida, un enlace carbonato, un enlace tiocarbonato, un enlace carbamato, un enlace tiocarbamato o un enlace urea, $-OCH_2SO_3R$, en la que R es hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo o una sal metálica (por ejemplo, sodio, litio, potasio); $-GCH_2{}^+N(R^{51})_3M^-$, en la que G está ausente o es $-OPO_3-$, OSO_3- o $-CO_2-$, R^{51} es hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, cicloheteroalquilo o cicloheteroalquilalquilo y M^- es un contraión, normalmente un haluro o similar (acetato, sulfato, fosfato, etc.). Como se ha descrito en la presente memoria, ejemplos específicos incluyen, pero sin estar limitados a, progrupos R^p en los que R^3 está seleccionado entre R^f, $-C(O)R^f$, $-C(O)OR^f$, $-C(O)NR^fR^f$ y $-SiR^fR^fR^f$ en las que cada R^f, de manera independiente unos de otros, está seleccionado entre hidrógeno, alquilo inferior opcionalmente sustituido, heteroalquilo inferior opcionalmente sustituido, cicloalquilo inferior opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo inferior opcionalmente sustituido, arilo (C6-C10) opcionalmente sustituido, heteroarilo de 5-10 miembros opcionalmente sustituido, arialquilo (C7-C18) opcionalmente sustituido y heteroarilalquilo de 6-18 miembros opcionalmente sustituido. En una realización específica, cada R^f es el mismo.

Se puede seleccionar la identidad del(de los) progrupo(s) R^p para adaptar la solubilidad en agua y otras propiedades del compuesto subyacente activo de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiamina, para lograr una optimización para un modo de administración particular. También se puede seleccionar para proporcionarse con vistas a la retirada en órganos específicos y/o tejidos del interior del cuerpo, tales como, por ejemplo, en el tracto digestivo, sangre y/o suero, o por medio de enzimas que residen en órganos específicos, tales como el hígado.

En algunos profármacos, los progrupos R^p que son progrupos que contienen fósforo incluyen restos de fosfato que se pueden escindir *in vitro* por medio de enzimas tales como esterasas, lipasas y/o fosfatasas. Dichas enzimas son dominantes por todo el cuerpo, residiendo, por ejemplo, en el estómago y el tracto digestivo, sangre y/o suero y en casi todos los tejidos y órganos. Dichos progrupos R^p que contienen fosfato generalmente aumentan la solubilidad en agua del compuesto de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiamina activo subyacente, haciendo que dichos profármacos que contienen fosfato se adapten de manera ideal a los modos de administración en los que la solubilidad en agua resulta deseable, tales como, por ejemplo, modos de administración oral, bucal, intravenoso, intramuscular y ocular.

En algunos profármacos, cada progrupo R^p que contiene fosfato del profármaco es de fórmula $-(CR^dR^d)_y$-O-P(O)(OH)(OH), o una de sus sales, en los que R^d es como se ha definido previamente e y es n número entero que varía de 1 a 3, normalmente 1 o 2. En un ejemplo específico descrito en la presente memoria, cada R^d, de manera independiente de los otros, está seleccionado entre hidrógeno, alquilo inferior sustituido o no sustituido, fenilo sustituido o no sustituido, metilo sustituido o no sustituido y bencilo sustituido o no sustituido. En otro ejemplo específico descrito en la presente memoria, cada R^d, de manera independiente de los otros, está seleccionado entre hidrógeno y alquilo inferior no sustituido. Grupos R^p que contienen fosfato ejemplares específicos incluyen $-CH_2$-O-P(O)(OH(OH) y $-CH_2CH_2$-O-P(O)(OH)(OH) y/o las correspondiente sales.

Sin pretender adhesión a teoría de operación alguna, cuando y es 1 en los progrupos R^p que contienen fosfato ejemplares, se cree que los profármacos que contienen fosfato se convierten *in vivo* por medio de enzimas tales como fosfatasas, lipasas y/o esterasas en las correspondientes hidroximetilaminas, que posteriormente se metabolizan *in vivo* por medio de eliminación de formaldehido para dar lugar al compuesto de fármaco activo de 2,4-pirimidindiamina. Los subproductos metabólicos de fosfato y formaldehído son inocuos.

Cuando y es 2 en los profármacos que contienen fosfato ejemplares, se cree que los profármacos se metabolizan hasta el compuesto de fármaco activo de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiamina *in vivo* por medio de eliminación de fosfato de enol, que posteriormente se metaboliza hasta acetaldehído y fosfato. Los subproductos metabólicos de fosfato y acetaldehído son inocuos.

Los trabajadores expertos apreciarán que se pueden convertir determinados tipos de precursores *in vivo* en grupos fosfato. Dichos precursores incluyen, a modo de ejemplo y no de limitación, ésteres de fosfato, fosfitos y ésteres de fosfito. Por ejemplo, se pueden oxidar los fosfitos *in vivo* hasta fosfatos. Se pueden hidrolizar los ésteres de fosfato *in vivo* hasta fosfatos. Se pueden oxidar los ésteres de fosfito *in vivo* hasta ésteres de fosfato, que a su vez se pueden hidrolizar *in vivo* hasta fosfatos. Como consecuencia de la capacidad de estos grupos precursores de fosfato para convertirse en fosfatos *in vivo*, los profármacos también pueden incluir progrupos que comprendan dichos precursores de fosfato. En algunos profármacos, los grupos precursores de fosfato se pueden metabolizar directamente hasta el fármaco activo de 2,4-pirimidindiamina, sin convertirse primero en un profármaco de fosfato. En otros profármacos, los profármacos que comprenden progrupos que incluyen dichos precursores de fosfato se metabolizan en primer lugar para dar lugar al profármaco de fosfato correspondiente, que posteriormente se metaboliza hasta el fármaco activo de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiamina por medio de una hidroximetilamina, como se ha comentado anteriormente.

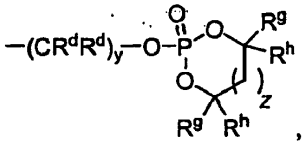
En algunos profármacos, dichos grupos precursores de fosfato son ésteres de fosfato. Los ésteres de fosfato pueden ser acíclicos o cíclicos y pueden ser triésteres de fosfato o diésteres de fosfato. Generalmente, dichos ésteres son menos solubles en agua que los correspondientes profármacos ácidos de fosfato y los correspondientes compuestos activos de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiamina y por tanto normalmente son apropiados para los modos de administración de profármacos de los compuestos activos de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiamina en los que se

desea baja solubilidad en agua, incluyendo, a modo de ejemplo y sin limitación, la administración por medio de inhalación. Se puede adaptar específicamente la solubilidad del profármaco a los modos de administración específicos por medio de la selección apropiada del número y la(s) identidad(es) de los grupos de esterificación del éster de fosfato.

Se puede controlar el mecanismo por medio del que el grupo de éster de fosfato se metaboliza hasta el correspondiente grupo de fosfato, por medio de la selección apropiada de los restos de esterificación. Por ejemplo, se conoce bien que determinados ésteres son lábiles frente a ácidos (o bases), generando el correspondiente fosfato en las condiciones ácidas que se encuentren en el estómago y el tracto digestivo. En los casos en los que resulta deseable que el profármaco de éster de fosfato se metabolice hasta el correspondiente profármaco de fosfato en el tracto digestivo (tales como, por ejemplo, cuando los profármacos se administran por vía oral), es posible seleccionar los progrupos de éster de fosfato que sean lábiles frente a ácidos. Otros tipos de ésteres de fosfato son estables frente a ácidos y bases, convirtiéndose en los correspondientes fosfatos por medio de las enzimas que se encuentren en determinados tejidos y órganos del cuerpo (véanse, por ejemplo, los diferentes ésteres de fosfato cíclicos descritos en Erion y cols., 2004, J. Am. Chem. Soc. 126: 5154-5163). En los casos en los que resulta deseable convertir un profármaco de éster de fosfato en el correspondiente profármaco de fosfato en un tejido diana deseada o sitio dentro del cuerpo, se pueden seleccionar los ésteres de fosfato que tengan propiedades metabólicas deseadas.

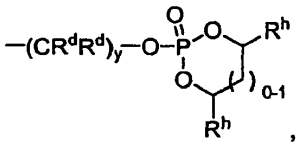
En algunos profármacos, cada grupo Rp que contiene éster de fosfato del profármaco es un éster de fosfato acíclico de fórmula $-(CR^dR^d)_y$-O-P-(O)(OH)(OR^e) o $-(CR^dR^d)_y$-O-P)O)(OR^e)(OR^e), o una de sus sales, en las que cada R^e, de manera independiente de otros, está seleccionado entre alquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo (C6-C14) sustituido o no sustituido (por ejemplo, fenilo, naftilo, 4-alcoxifenilo inferior, 4-metoxifenilo), arialquilo (C7-C20) sustituido o no sustituido (por ejemplo, bencilo, 1-feniletan-1-ilo, 2-feniletan-1-ilo), $-(CR^dR^d)_y$-OR^f-$(CR^dR^d)_y$-O-C(O)R^f, $-(CR^dR^d)_y$-O-C(O)OR^f, $-(CR^dR^d)_y$-S-C(O)R^f; $-(CR^dR^d)_y$-S-C(O)OR^f, $-(CR^dR^d)_y$-NH-C(O)R^f, $-(CR^dR^d)_y$-(NH-C(O)OR^f y -$Si(R^d)_3$, en las que R^d, R^f e y son como se definieron anteriormente. En un ejemplo específico descrito en la presente memoria, cada R está seleccionado entre hidrógeno y alquilo inferior no sustituido y/o cada R^e es un alcanilo inferior no sustituido o bencilo. Como se ha comentado anteriormente, progrupos de éster de fosfato ejemplares específicos incluyen, pero sin estar limitados a, $-CH_2$-O-P(O)(OH)(OR^e)-CH_2CH_2-O-P(O)(OH)(OR^e), $-CH_2$-O-P(O)(OR^e) y -CH_2CH_2-O-P(O)(OR^e)$(OR^e)_n$, en las que R^e está seleccionado entre alcanilo inferior, i-propilo y t-butilo.

En otros profármacos, cada progrupo Rp que contiene éster de fosfato es un éster de fosfato cíclico de fórmula



,

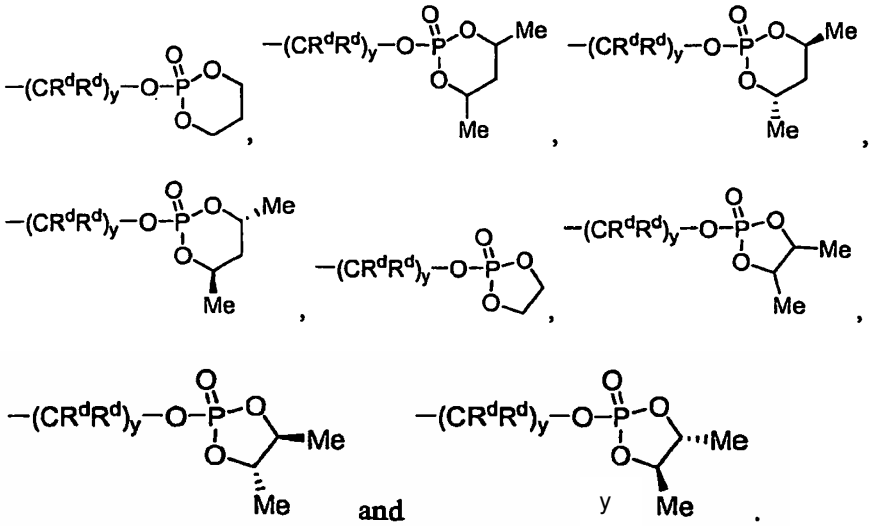
en la que cada R^g, de manera independiente de los otros, está seleccionado entre hidrógeno y alquilo inferior; cada R^h, de manera independiente de los otros, está seleccionado entre hidrógeno, alquilo inferior sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo (C6-C14) sustituido o no sustituido, arilalquilo (C7-C20) sustituido o no sustituido y heteroarilo de 5-14 miembros sustituido o no sustituido; z es un número entero que varía de 0 a 2; y R^d e y son como se ha definido con anterioridad. En un ejemplo específico descrito en la presente memoria, cada grupo R^p que contiene éster de fosfato es un éster de fosfato cíclico de fórmula



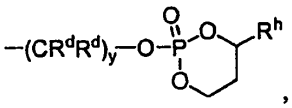
,

en la que R^d, R^h e y son como se ha definido con anterioridad.

El mecanismo por medio del que los profármacos de éster de fosfato cíclicos que incluyen dichos progrupos de éster de fosfato cíclico de metabolizan *in vivo* para dar el compuesto de fármaco activo depende, en parte, de la identidad del sustituyente R^h. Por ejemplo, los progrupos de éster de fosfato cíclico en los que cada R^h, de manera independiente de los otros, está seleccionado entre hidrógeno y alquilo inferior se escinden *in vivo* por medio de esterasas. De este modo, en algunos profármacos, los progrupos de éster de fosfato cíclico están seleccionados de manera que se escindan *in vivo* por medio de esterasas. Como se ha descrito en la presente memoria los ejemplos específicos de dichos progrupos de éster de fosfato cíclico incluyen, pero sin estar limitados a, progrupos seleccionados entre



De manera alternativa, los profármacos de éster de fosfato cíclicos que tienen progrupos en los que los sustituyentes R^h son arilo sustituido o no sustituido, arilalquilo y grupos heteroarilo, no se escinden normalmente por medio de estearasas, sino que en su lugar se metabolizan hasta el profármaco activo por medio de enzimas, tales como enzimas de citocromo P_{450}, que residen en el hígado. Por ejemplo, un serie de profármacos de nucleótido de éster de fosfato cíclico que experimentan una reacción de escisión oxidativa catalizada por una enzima de citocromo P_{450} (CYP) expresada de forma predominante en el hígado se describe en Erion y cols., 2004, J. Am. Chem. Soc. 126: 5154-5163. En algunos profármacos, los progrupos de éster de fosfato cíclico están seleccionados de manera que se puedan escindir por medio de enzimas CYP expresadas en el hígado. Como se ha descrito en la presente memoria, realizaciones de ejemplos específicos de dichos progrupos R^p que contienen éster de fosfato cíclico incluyen, pero sin estar limitados a, progrupos de fórmula



en la que R^h está seleccionado entre fenilo, 3-clorofenilo, 4-piridilo y 4-metoxifenilo.

Como los trabajadores expertos apreciarán, los fosfitos y los ésteres de fosfito pueden experimentar oxidación *in vivo* para dar lugar al fosfato correspondiente y los análogos de éster de fosfato. Dichas reacciones se pueden llevar a cabo *in vivo*, por ejemplo, por medio de enzimas oxidasa, enzimas oxidorreductasas y otras enzimas oxidativas. De este modo, los progrupos R^p que contienen fósforo también pueden incluir fosfito y análogos de éster de fosfito de cualesquiera de los progrupos de fosfato y éster de fosfato descritos anteriormente. En algunos profármacos los progrupos Rp que contienen fósforo incluyen, pero sin estar limitados a, grupos de fórmula $-(CR^dR^d)_y$-O-P-(OH)(OH), $-(CR^dR^d)_y$-P(OH)(OR^e) y $-(CR^dR^d)_y$-O-P(OR^e)(R^e) o sus sales, en las que R^d, R^e e y son según se definió con anterioridad. Como se ha descrito en la presente memoria ejemplos específicos incluyen grupos en los que cada R^d, independientemente de los otros, está seleccionado entre hidrógeno y alquilo inferior no sustituido y/o cada R^e, independientemente de los otros, está seleccionado entre alcanilo inferior no sustituido y bencilo. Como se ha descrito en la presente memoria, ejemplos específicos de progrupos de fosfito y éster de fosfito incluyen, pero sin estar limitados a, $-CH_2$-O-O(OH)(OH), $-CH_2CH_2$-O-P(OH)(OH), $-CH_2$-O-P(OH)(OR^e) y $-CH_2CH_2$-O-P(OR^e)(OR^e), en las que cada R^e está seleccionado entre alcanilo inferior, *i*-propilo y *t*-butilo. Como se ha comentado anteriormente, profármacos de éster de fosfito cíclico ejemplares específicos incluyen análogos de fosfito de los progrupos de éster de fosfato cíclico descritos con anterioridad. Conceptualmente, los compuestos de profármaco que incluyen dichos progrupos de fosfito y/o éster de fosfito pueden interpretarse como profármacos de los correspondientes profármacos de fosfato y éster de fosfato.

Como se ha comentado anteriormente, se cree que determinados profármacos que contienen fosfato se metabolizan *in vivo* a través de las correspondientes hidroximetilamina. Aunque estas hidroximetilaminas se metabolizan *in vivo* hasta los correspondientes compuestos activos de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiaminas, son estables a pH 7 y se pueden preparar y administrar como profármacos que contienen hidroxialquilo. En algunos profármacos, cada progrupo R^p que contiene hidroxialquilo de dichos profármacos tiene la fórmula $-CR^dR^d$-OH, en la que R^d es como se ha definido con anterioridad. Un progrupo R^p que contiene hidroxialquilo ejemplar específico es $-CH_2OH$.

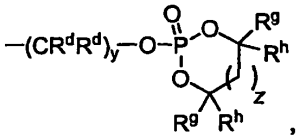
En un ejemplo descrito en la presente memoria, R^p tiene la fórmula $-(CR^dR^d)_y$-O-P(O)$(OH)_2$, o una de sus sales, en la que y es un número entero que varía de 1 a 3; cada R^d, de manera independiente de los otros, está seleccionado entre hidrógeno, alquilo inferior opcionalmente sustituido, arilo (C6-C14) opcionalmente sustituido y arialquilo (C7-

C20) opcionalmente sustituido; en la que los sustituyentes opcionales, independientemente unos de otros, están seleccionados entre hidroxilo, alcoxi inferior, ariloxi (C6-C14), alcoxialquilo inferior, metoximetilo, metoxietilo, etoximetilo, etoxietilo y halógeno, o, de forma alternativa, se toman dos R^d unidos al mismo átomo de carbono junto con el átomo de carbono al que están unidos para formar un grupo cicloalquilo que contiene de 3 a 8 átomos de carbono.

En un ejemplo descrito en la presente memoria, R^p está seleccionado entre $-CH_2-O-P(O)(OH)_2$ y $-CH_2CH_2-O-P(O)(OH)_2$ y sus sales.

En un ejemplo descrito en la presente memoria, R^p comprende un grupo de éster de fosfato.

En un ejemplo descrito en la presente memoria, R^p está seleccionado entre $-(CR^dR^d)_y-O-P(O)(OR^e)(OH)$, $-(CR^dR^d)_y-O-P(O)(OR^e)(OR^e)$,



y sus sales, en la que cada R^e, independientemente de los otros, está seleccionado entre alquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo (C6-C14) sustituido o no sustituido (por ejemplo, fenilo, naftilo, 4-alcoxifenilo inferior, 4-metoxifenilo), arilalquilo (C7-C20) sustituido o no sustituido (por ejemplo, bencilo, 1-feniletan-1-ilo, 2-feniletan-1-ilo), $-(CR^dR^d)_y-OR^f$, $-(CR^dR^d)_y-O-C(O)R^f$, $-(CR^dR^d)_y-O-C(O)OR^f$, $-(CR^dR^d)_y-S-C(O)R^f$, $-(CR^dR^d)_y-S-C(O)OR^f$, $-(CR^dR^d)_y-NH-C(O)R^f$, $-(CR^dR^d)_y-NH-C(O)OR^f$ y $-Si(R^d)_3$, en las que cada R^f, independientemente de los otros, está seleccionado entre hidrógeno, alquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo (C6-C14) sustituido o no sustituido y arialquilo (C7-C20) sustituido o no sustituido; cada R^g, independientemente de los otros, está seleccionado entre hidrógeno y alquilo inferior; cada R^h, independientemente de los otros, está seleccionado entre hidrógeno, alquilo inferior sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo inferior sustituido o no sustituido, arilo (C6-C14) sustituido o no sustituido, arialquilo (C7-C20) sustituido o no sustituido y heteroarilo de 5-14 miembros sustituido o no sustituido; z es un número entero que varía de 0 a 2; y R^d e y son como se ha definido con anterioridad.

En un ejemplo descrito en la presente memoria, R^p está seleccionado entre $-CH_2-O-P(O)(OH)_2$, $-CH_2CH_2-O-P((OH)_2$, $-CH_2OH$ y sus sales. En algunos de dichos aspectos Z es $N-R^p$.

En otra realización, la presente invención proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula I y un vehículo, excipiente o diluyente. También se describe en la presente memoria una composición que comprende un compuesto de fórmula II y un vehículo, excipiente o diluyente.

Los expertos en la técnica apreciarán que muchos de los compuestos de la invención y sus profármacos; así como también las diversas especies de compuestos específicamente descritas y/o ilustradas en la presente memoria, pueden exhibir el fenómeno de tautomerismo, isomerismo conformacional, isomerismo geométrico y/o isomerismo óptico. Por ejemplo, los compuestos de la invención y sus profármacos pueden incluir uno o más centros quirales y/o dobles enlaces y como consecuencia de ello, pueden existir como estereoisómeros, tales como isómeros de doble enlace (es decir, isómeros geométricos), enantiómeros y diastereoisómeros y sus mezclas, tales como mezclas racémicas. A modo de otro ejemplo, los compuestos de la invención y sus profármacos puede existir en varias formas tautómeras, incluyendo la forma de enol, la forma ceto y sus mezclas. Debido a que los diferentes nombres de compuestos, las formulas y los dibujos de los compuestos de la memoria descriptiva y las reivindicaciones pueden representar únicamente una de las posibles formas tautómeras, isoméricas conformacionales, isoméricas ópticas o isoméricas geométricas, debería entenderse que la invención engloba cualesquiera forma tautómeras, isoméricas conformacionales, isoméricas ópticas y/o isoméricas geométricas de los compuestos o profármacos que tienen una o más de las utilidades descritas en la presente memoria, así como también las mezclas de estas diferentes formas isoméricas. En los casos de rotación limitada alrededor de la estructura de núcleo de 2,4-pirimidindiamina, también son posibles atropisómeros y también se incluyen específicamente en los compuestos de la invención.

Además, los trabajadores expertos apreciarán que cuando las listas de sustituyentes alternativos incluyen miembros en los que, debido a los requisitos de valencia u otros motivos, no se pueden usar para sustituir un grupo particular, se pretende que el listado se lea en el contexto para que incluya esos miembros de listado que son apropiados para sustituir el grupo particular. Por ejemplo, los trabajadores expertos apreciarán que aunque se pueden usar todas las alternativas listadas para R^b con el fin de sustituir un grupo alquilo, determinadas alternativas, tales como =O, no se pueden usar para sustituir un grupo fenilo. Debe entenderse que únicamente se pretenden las combinaciones posibles de sustituyente-grupo.

Los compuestos de la invención y/o sus profármacos se pueden identificar por medio de cualquiera de sus estructuras químicas o su nombre químico. Cuando la estructura química y el nombre químico entran en conflicto, la

estructura química es determinante de la identidad del compuesto específico.

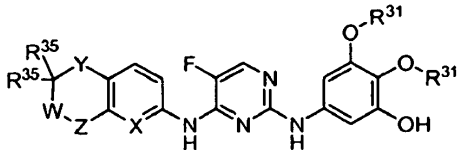
Dependiendo de la naturaleza de los diferentes sustituyentes, los compuestos de 2,4-pirimidindiamina de la invención y sus profármacos pueden estar en forma de sales. Dichas sales incluyen sales apropiadas para usos farmacéuticos ("sales farmacéuticamente aceptables"), sales apropiadas para usos veterinarios, etc. Dichas sales pueden proceder de ácidos o bases, como se conoce bien en la técnica.

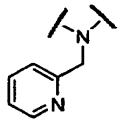
En una realización, la sal es una sal farmacéuticamente aceptable. Generalmente, las sales farmacéuticamente aceptables son aquellas sales que conservan sustancialmente una o más de las actividades farmacológicas deseadas del compuesto parental y que son apropiadas para administración a seres humanos. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición de ácidos formadas con ácidos inorgánicos o ácidos orgánicos. Ácidos inorgánicos apropiados para la formación de sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen, a modo de ejemplo y no de limitación, ácidos de hidrohaluro (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, etc.), ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares. Ácidos orgánicos apropiados para la formación de sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen, a modo de ejemplo y no de limitación, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentapropiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido palmítico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácidos alquilsulfónicos (por ejemplo, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, etc.), ácidos arilsulfónicos (por ejemplo, ácido bencenosulfónico, ácido 4-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalensulfónico, ácido 4-toluensulfónico, ácidos cicloalquilsulfónicos (por ejemplo, ácido alcanforsulfónico), ácido 4-metilbiciclo[2.2.2]-oct-2-en-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido lauril sulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico y similares.

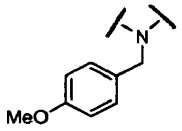
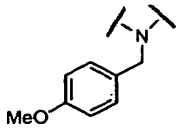
Las sales farmacéuticamente aceptables también incluyen sales formadas cuando está sustituido un protón ácido presente en el compuesto parental por un ion metálico (por ejemplo, un ion de metal alcalino, un ion de metal alcalinotérreo o un ion de aluminio), un ion de amonio o se coordina con una base orgánica (por ejemplo, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, N-metilglucamina, morfolina, piperidina, dimetilamina, dietilamina, etc.).

Los compuestos de 2,4-pirimidindiamina de la invención, así como también sus sales, también pueden estar en forma de hidratos, solvatos y N-óxidos, como se conoce bien en la técnica. En una implementación, la presente invención proporciona un compuesto, o estereoisómero, tautómero, solvato o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, seleccionado entre la Tabla I.

Tabla I



N.º de Compuesto		Y	R^{35}	W	Z	X	R^{31}
R909384		S	H,H	C=O	NH	CH	Me,Me
R909385		S	Me,Me	C=O	NH	CH	Me,Me
R909390	O	Me,Me	C=O	NH		CH	Me,Me
R909391	O	Me,Me	C=O	NH		N	Me,Me
R909402	O	H,H	C=O	NH		CH	Me,Me
R909403	O		C=O	NH		CH	Me,Me
R909404	O	F,F	C=O	NH		CH	Me,Me
R909406	O	H,H	C=O			CH	Me,Me
R909407	O	H,H,	C=O	N-CH_2C≡N		CH	Me,Me
R909408	S	H,H,	C=O	N-CH_2C≡N		CH	Me,Me
R935879	O	H,H	CH_2	NH		N	Me,Me

R909414	$C(CH_3)_2$	=O	NH	C=O	CH	Me,Me
R909415	O	Me,H	C=O		CH	Me,Me
R909416	S	Me,H	C=O		CH	Me,Me
R909417	SO_2	Me,Me	C=O	N-Me	CH	Me,Me
R909418	S	H,H	C=O	N-Me	CH	Me,Me

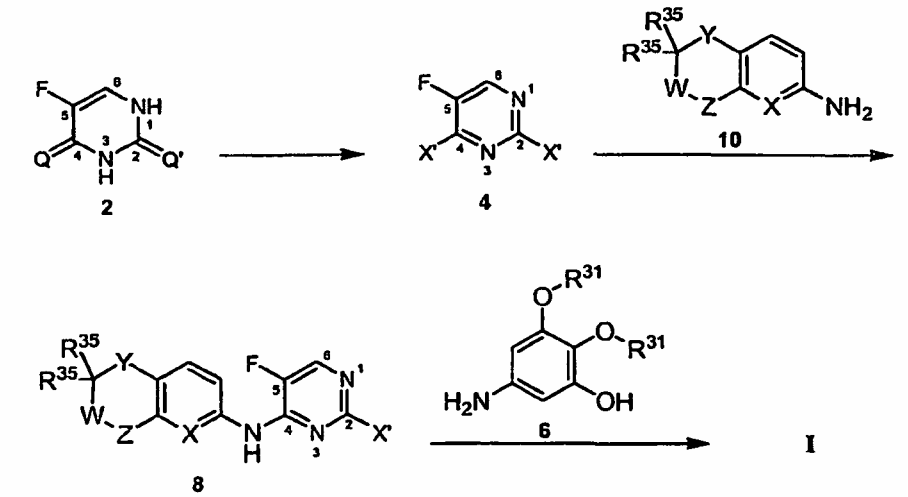
Métodos de síntesis

Se pueden sintetizar los compuestos de la invención y sus profármacos por medio de una diversidad de diferentes vías sintéticas, usando materiales de partida comercialmente disponibles y/o materiales de partida preparados por medio de métodos sintéticos convencionales. Métodos ejemplares apropiados que se puede adaptar de forma rutinaria para sintetizar los compuestos de 2,4-pirimidindiamina de la invención y sus profármacos se encuentran en la patente de EE.UU. N.º: 5.958.935, solicitud de patente de EE.UU. 10/355.543 presentada el 31 de enero de 2003 (publicación de EE.UU. US 20040029902 A1), documento WO 03/063794, publicado el 1 de agosto de 2003, solicitud de patente de EE.UU. 10/631.029 presentada el 29 de julio de 2003 y el documento WO 2004/014382 publicado el 19 de febrero de 2004 y la solicitud de patente de EE.UU. N.º de Serie 10/903.870 presentada el 30 de julio de 2004. Todos los compuestos de fórmulas estructurales (I) y (II) se pueden preparar por medio de adaptación rutinaria de estos métodos.

Una diversidad de rutas sintéticas ejemplares que se pueden usar para sintetizar los compuestos de 3-hidroxi-2,4-pirimidindiamina de la invención se describe en los Esquemas (I)-(II), más adelante. Estos métodos se pueden adaptar de forma rutinaria para sintetizar los profármacos de acuerdo con las fórmulas estructurales (III) y (IV).

En un ejemplo, se pueden sintetizar los compuestos a partir de uracilos sustituidos o no sustituidos o tiouracilos como se ilustra en el Esquema (I) siguiente:

Esquema (I)



En el Esquema (I), R^{35}, R^{31}, Y, W, Z y X son como se ha definido anteriormente para la fórmula estructural (I), X´ es un halógeno (por ejemplo, F, Cl, Br o I) y cada uno de Q y Q´, independientemente uno del otro, está seleccionado entre el grupo que consiste en O y S. Haciendo referencia al Esquema (I), se dihalogena uracilo o tiouracilo 2 en las posiciones 2- y 4- usando un agente de halogenación convencional PXO_3 (u otro agente de halogenación convencional) en condiciones convencionales para dar lugar a 2,4-bishalo pirimidina 4. Normalmente, en pirimidina 4, el haluro de la posición C4 es más reactivo frente a nucleófilos que el haluro de la posición C2. Se puede explicar la reactividad diferencial para sintetizar 2,4-piridindiaminas de acuerdo con la fórmula estructural (I) haciendo reaccionar en primer lugar 2,4-bishalopirimidina 4 con un equivalente de amina 10, dando como resultado 2-halo-4-

pirimidinamina 8 con sustitución 4N, seguida de una amina 6 para dar una 2,4-piridindiamina de acuerdo con la fórmula estructural (I).

Normalmente, el haluro C4 es más reactivo frente a nucleófilos, como viene ilustrado en el Esquema. No obstante, como reconocerán los trabajadores expertos, se puede controlar la regioselectividad de la reacción por medio del ajuste del disolvente y otras condiciones de síntesis (tales como temperatura), como se conoce bien en la técnica.

Las reacciones mostradas en el Esquema (I) pueden transcurrir más rápidamente cuando se calientan las mezclas de reacción por medio de microondas. Cuando se calientan de esta forma, se pueden usar las siguientes condiciones: calentar hasta 175-185 ºC en etanol durante 5-60 minutos en un Reactor Smith (Personal Chemistry) en un tubo sellado (a 20 bar de presión).

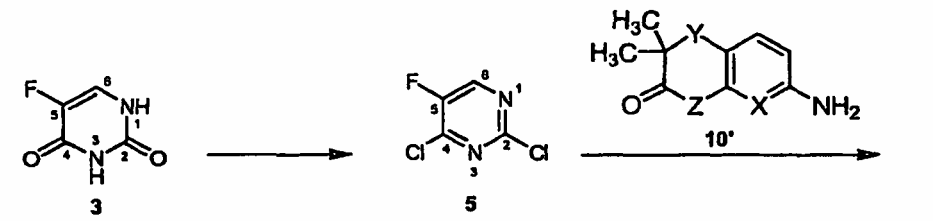
Se pueden adquirir los materiales de partida de uracilo o tiouracilo 2 a partir de fuentes comerciales o se pueden preparar usando técnicas convencionales de química orgánica. Uracilos y tiouracilos comercialmente disponibles que se pueden usar como materiales de partida en el Esquema (I) incluyen, a modo de ejemplo y no de limitación, uracilo (Aldrich N.º: 13, 078-8; Registro CAS 66-22-8); 2-tio-uracilo (Aldrich N.º: 11, 558-4; Registro CAS 141-90-2); 2,4-tiouracilo (Aldrich N.º: 15, 846-1; Registro CAS 2001-93-6); 5-acetouracilo (Chem. Sources Int´l 12000; Registro CAS 6214-65-9); 5-azidouracilo; 5-aminouracilo (Aldrich N.º: 85, 528-6, Registro CAS 932-52-5); 5-bromouracilo (Aldrich N.º: 85, 247-3; Registro CAS 51-20-7); 5-(trans-2-bromovinil)-uracilo (Aldrich N.º: 45, 744-2; Registro CAS 69304-49-0); 5-(trans-2-clorovinil)-uracilo (Registro CAS 81751-48-2): 5-(trans-2-carboxivinil)-uracilo; ácido uracil-5-carboxílico (ácido 2,4-dihidroxipirimidin-5-carboxílico hidratado; Aldrich N.º: 27, 770-3; Registro CAS 23945-44-0); 5-clorouracilo (Aldrich N.º: 22, 458-8; Registro CAS 1820-81-1); 5-cianouracilo (Chem. Sources Int´l 2000; Registro CAS 4425-56-3); 5-etiluracilo (Aldrich N.º: 23, 044-8; Registro CAS 4212-49-1); 5-eteniluracilo (Registro CAS 37107-81-6); 5-fluorouracilo (Aldrich N.º: 85, 847-1; Registro CAS 51-21-8); 5-yodouracilo (Aldrich N.º: 85, 785-8; Registro CAS 696-07-1); 5-metiluracilo (timina; Aldrich N.º: 13, 199-7; Registro CAS 65-71-4); 5-nitrouracilo (Aldrich N.º: 85, 276-7; Registro CAS 611-08-5); ácido uracil-5-sulfámico (Chem. Sources Int´l 2000; Registro CAS 5435-16-5); 5-(trifluorometil)-uracilo (Aldrich N.º: 22, 327-1; Registro CAS 54-20-6); 5-(2,2,2-trifluoroetil)-uracilo (Registro CAS 155143-31-6); 5-(pentafluoroetil)-uracilo (Registro CAS 60007-38-3); 6-aminouracilo (Aldrich N.º: A5060-6; Registro CAS 873-83-6), ácido uracil-6-carboxílico (ácido orótico: Aldrich N.º: 0-840-2; Registro CAS 50887-69-9); 6-metiluracilo (Aldrich N.º: D11, 520-7; Registro CAS 626-48-2); ácido uracil-5-amino-6-carboxílico (ácido 5-aminoorótico; Aldrich N.º: 18, 121-3; Registro CAS N.º: 7164-43-4); 6-amino-5-nitrosouracilo (6-amino-2,4-dihidroxi-5-nitrosopirimidina; Aldrich N.º: 27, 689-8; Registro CAS 5442-24-0); ácido uracil-5-fluoro-6-carboxílico (ácido 5-fluoroorótico; Aldrich N.º: 42, 513-3; Registro CAS 00000-00-0); y ácido uracil-5-nitro-6-carboxílico (ácido 5-nitroorótico; Aldrich N.º: 18, 528-0; Registro CAS 600779-49-9). Uracilos y/o tiouracilos adicionales 5-sustituidos, 6-sustituidos y 5,6-sustituidos están disponibles en General Intermediates of Canada, Inc., Edmonton, Alberta, CA (www.generalintermediates.com) y/o Interchim, Francia (www.interchim.com), o se pueden preparar usando técnicas convencionales. Múltiples referencias de libros de texto que muestran métodos sintéticos apropiados se proporcionan a continuación.

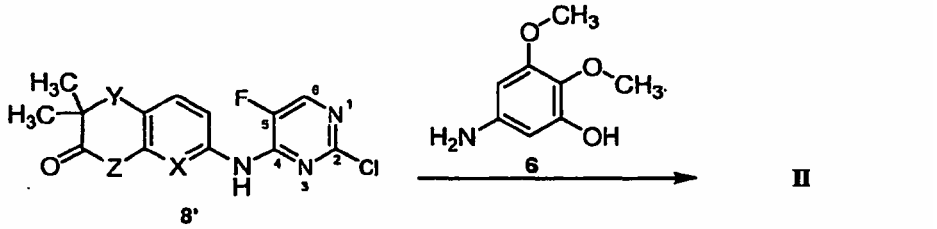
Se pueden adquirir las aminas 6 y 10 a partir de fuentes comerciales o, alternativamente, se pueden sintetizar utilizando técnicas convencionales. Por ejemplo, se puede sintetizar aminas apropiadas a partir de precursores nitro usando química convencional. Se proporcionan reacciones ejemplares específicas en la sección de Ejemplos. Véase también Vogel, 1989, Practical Organic Chemistry, Addison Wesley Longman, Ltd. y John Wiley & Sons, Inc.

Los trabajadores expertos reconocen que en algunos casos, las aminas 6 (tal como el resto 3-hidroxi) y 10 y/o otros sustituyentes de uracilo o tiouracilo 2, pueden incluir grupos funcionales que requieren protección durante la síntesis. La identidad exacta de cualquier/cualesquiera grupo(s) protector(es) usado dependerá de la identidad del grupo funcional qie se está protegiendo y resultará evidente para el experto en la técnica. Orientación para la elección de los grupos protectores apropiados, así como las estrategias sintéticas para su unión y retirada, se pueden encontrar, por ejemplo, en Greene & Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York (1999) y las referencias citadas en el mismo (en lo sucesivo "Greene & Wuts").

Un ejemplo específico del Esquema (I) que utiliza 5-fluorouracilo (Aldrich N.º: 32, 937-1) como material de partida se ilustra en el Esquema (I) siguiente:

Esquema (II)

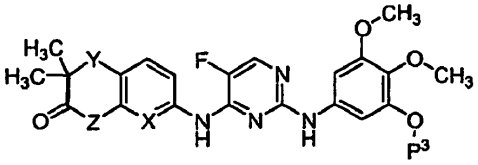




En el Esquema (II), Y, Z y X son como se ha definido previamente para el Esquema (I). De acuerdo con el Esquema (II), se halogena 5-fluorouracilo 3 con $POCl_3$ para dar lugar a 2,4-dicloro-5-fluoropirimidina 5, que posteriormente se hace reaccionar con un equivalente de amina 10´(para dar lugar a 2-cloro-N4-sustituida-5-fluoro-4-pirimidindiamina 8´) seguido de uno o más equivalentes de amina 6 para dar los compuestos de fórmula (II).

Se pueden preparar los profármacos de acuerdo con la fórmula estructural (II) por medio de modificación rutinaria de los métodos descritos anteriormente. Alternativamente, se pueden preparar dichos profármacos haciendo reaccionar una 2,4-pirimidindiamina protegida de forma apropiada de fórmula estructural (I) con un progrupo apropiado. Las condiciones para llevar a cabo dichas reacciones y la desprotección del producto para dar lugar a un profármaco de fórmulas (III) y (IV) se conocen bien, e incluyen, por ejemplo, las que se muestran en la solicitud de patente de EE.UU. N.º: 2006-0211657, publicación PCT WO 2006/078846 y la solicitud de EE.UU. N.º de Serie 11/295.752 presentada el 6 de diciembre de 2005.

Según se describe en la presente memoria, se prepara un profármaco de fórmula V



V

en el que Y, Z y X son como se han definido anteriormente para la fórmula I y P^3 y el átomo de oxígeno al que se encuentra unido forman un prorresto de éster, haciendo reaccionar un compuesto de 3-hidroxi fenilo de fórmula V en el que P^3 es hidrógeno con un haluro de ácido apropiado o anhídrido y opcionalmente en presencia de una base tal como una amina. En otro ejemplo divulgado en la presente memoria el compuesto se hace reaccionar con un ácido apropiado en presencia de un catalizador ácido o un reactivo de acoplamiento. En algunos ejemplos descritos en la presente memoria, el catalizador ácido es ácido sulfúrico o HCl. En otros ejemplos descritos en la presente memoria, el agente de acoplamiento es una carbodiimida tal como diciclohexilcarbodiimida o es 1,1´-carbonildiimidazol.

En la técnica se conocen multitud de referencias que muestran métodos útiles para sintetizar pirimidinas de forma general, así como también los materiales de partida descritos en los Esquemas (I)-(II). Para orientación específica, se dirige al lector a Brown, D.J., "The Pyrimidines", en The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Volumen 16 (Weissberger, A., Ed.), 1962, Interscience Publishers, (una division de John Wiley & Sons), Nueva York ("Brown I"); Brown, D.J., "The Pyrimidines" en The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Volumen 16, Suplemento I (Weissberger, A. y Taylor, E.C. Ed.), 1970, Wiley-Interscience, (una division de John Wiley & Sons), Nueva York ("Brown II"); Brown, D. J., "The Pyrimidines", en The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Volumen 16, Suplemento II (Weissberger, A. y Taylor, E. C., Ed.), 1985, An Intersecience Publication (John Wiley & Sons), Nueva York ("Brown III"); Brown, D.J., "The Pyrimidines" en The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Volumen 52 (Weissbergar, A. y Taylor, E.C. Ed.), 1994, John Wiley & Sons, Inc. Nueva York, pp. 1-1509 ("Brown IV"); Kenner, G. W. y Todd, A., en Heterocyclic Compounds, Volumen 6, (Elderfield, R.C. Ed.), 1957, John Wiley, Nueva York, Capítulo 7 (pirimidinas); Paquette, L.A., Principles of Modern Heterocyclic Chemistry, 1968, W.A. Benjamin, Inc., Nueva York, pp. 1-401 (síntesis de uracilo pp. 313, 315; síntesis de pirimidina pp. 313-316; síntesis de amino pirimidina pp. 315); Joule, J. A., Mills, K. y Smith, G. F., Heterocyclic Chemistry, 3ª edición, 1995; Chapman y Hall, Londres, Reino Unido, pp., 1-516; Vobrüggen, H. and Ruh-Pohlenz, C., Handbook of Nucleoside Synthesis, John Wiley & Sons, Nueva York, 2001, pp. 1-631 (protección de pirimidinas por medio de acilación pp. 90-91; sililación de pirimidinas pp. 91-93); Joule, J. A., Mills, K. y Smith, G. F., Heterocyclic Chemistry, 4ª edición, 2000, Blackwell Science, Ltd., Oxford, Reino Unido, pp. 1-589; y Comprehensive Organic Synthesis, Volúmenes 1-9 (Trost, B. M. y Fleming, I., Ed.), 1991, Pergamon Press, Oxford, Reino Unido.

Inhibición de cascadas de señal de receptor de Fc

Los compuestos activos de 2,4-pirimidindiamina de la invención inhiben las cascadas de señalización del receptor de Fc que conducen a, entre otras cosas, el desgranulado de células. Como ejemplo específico, los compuestos

inhiben las cascadas de señal de FcεRI y/o FcγRI que conducen al desgranulado de células inmunitarias tales como células neutrófilas, eosinófilas, mastocitos y/o basófilas. Tanto los mastocitos como las células basófilas juegan un papel central en los trastornos inducidos por alérgenos, incluyendo, por ejemplo, rinitis alérgica y asma. Tras la exposición a alérgenos, que pueden ser, entre otras cosas, polen o parásitos, se sintetizan los anticuerpos IgE específicos de alérgeno por parte de las células B activadas por IL-4 (o IL-3) y otros mensajeros para activar la síntesis de anticuerpos específicos de clase IgE. Esas IgEs específicas de alérgeno se unen a FcεRI de elevada afinidad. Tras la unión de antígeno, se produce la reticulación de IgEs con FcεRI unido y se activa el mecanismo de transducción de señal del receptor de IgE, lo que conduce al desgranulado de las células y a la posterior liberación y/o síntesis de un hospedador de mediadores químicos, incluyendo histamina, proteasas (por ejemplo, triptasa y quimasa), mediadores de lípidos tales como leucotrienos (por ejemplo, LTC4), factor de activación de plaquetas (PAF) y prostaglandinas (por ejemplo, PGD2) y una serie de citocinas, incluyendo TNF-α, IL-4, IL-13, IL-5, IL-6, IL-8, GMCSF, VEGF y TGF-β. La liberación y/o síntesis de estos mediadores a partir de mastocitos y/o células basófilas se tiene en cuenta para las respuestas de etapa temprana y tardía inducidas por alérgenos y está(n) directamente relacionada(s) con los episodios aguas abajo que conducen a un estado inflamatorio prolongado.

Los episodios moleculares en la ruta de transducción de señales de FcεRI que conducen a la liberación de los mediadores preformados por medio de desgranulado y liberación y/o síntesis de otros mediadores químicos se conocen bien. FcεRI es un receptor heterotetramérico formado por una alfa-subunidad de unión de IgE, una subunidad beta y dos subunidades gamma (homodímero gamma). La reticulación de IgE unido a FcεRI por medio de agentes de unión multivalentes (incluyendo, por ejemplo alérgenos específicos de IgE o fragmentos o anticuerpos anti-IgE) induce la asociación rápida y la activación rápida de la cinasa Lyn relacionada con Src. Lyn produce la fosforilación de los motivos de activación basados en tirosina del inmunoreceptor (ITAM) sobre las subunidades intracelulares beta y gamma, lo que conduce al reclutamiento de Lyn adicional para la subunidad beta y cinasa Syk para el homodímero gamma. Estas cinasas asociadas a receptor, que se activan por medio de fosforilación intra- e inter-molecular, fosforilan de otros componentes de la ruta, tales como Btk cinasa, LAT y fosfolipasa C-gamma PLC-gamma. PLC-gamma activada inicia mecanismos que conducen a la activación de proteína cinasa C y a la movilización de Ca^{2+}, requiriéndose ambos para el desgranulado. La reticulación de FcεRI también activa las tres clases principales de proteína cinasas activadas con mitógeno (MAP), es decir, ERK1/2, JNK 1/2 y p38. La activación de estos mecanismos es importante en la regulación transcripcional de mediadores proinflamatorios, tales como TNF-α y IL-6, así como también el leucotrieno CA (LTC4) de mediador de lípidos.

Aunque no se muestra, se cree que la cascada de señalización FcγRI comparte determinados elementos comunes con la cascada de señalización FcεRI. De manera importante, FcγRI incluye un homodímero gamma que experimenta fosforilación y recluta Syk, e igual que FcεRI, la activación de la cascada de FcγRI conduce a, entre otras cosas, desgranulado. Otros receptores de Fc que comparten el mismo homodímero gamma y que se pueden regular por medio de los compuestos activos de 2,4-pirimidindiamina incluyen, pero sin estar limitados a, FcαRI y FcγRIII.

Se puede determinar de forma simple la capacidad de los compuestos de 2,4-pirimidindiamina de la invención para inhibir las cascadas de señalización del receptor de Fc o se puede confirmar por medio de ensayos *in vitro*. Se proporcionan ensayos apropiados para confirmar la inhibición del desgranulado mediado por FcεRI en la sección de Ejemplos. En un ensayo típico, primero se cultivan células capaces de experimentar desgranulado mediado por FcεRI, tal como mastocitos o células basófilas, en presencia de IL-4, Factor de Células Madre (SCF), IL-6 e IgE para aumentar la expresión de FcεRI, se exponen al compuesto de ensayo de 2,4-pirimidindiamina de la invención y se estimulan con anticuerpos anti-IgE (o, alternativamente, un con alérgeno específico de IgE). Tras la incubación, se puede cuantificar la cantidad de mediador químico u otro agente químico liberado y/o sintetizado como consecuencia de la activación de la cascada de señalización de FcεRI, usando técnicas convencionales y se puede comparar con la cantidad de mediador o agente liberado a partir de las células de control (es decir, células que se estimulan pero que no se exponen al compuesto de ensayo). La concentración del compuesto de ensayo que da lugar a una reducción de 50 % de la cantidad de mediador o agente medido, en comparación con las células de control es la CI_{50} del compuesto de ensayo. El origen de los mastocitos o células básofilas usadas en el ensayo depende, en parte, del uso deseado de los compuestos y resultará evidente para los expertos en la técnica. Por ejemplo, si los compuestos se usan para tratar o prevenir una enfermedad particular en seres humanos, una fuente apropiada de mastocitos o células basófilas es un ser humano u otro animal que constituye un modelo clínico aceptado o conocido para la enfermedad particular. De este modo, dependiendo de la aplicación particular, los mastocitos o células basófilas pueden proceder de una amplia variedad de fuentes animales, que varían desde, por ejemplo, mamíferos inferiores tales como ratones y ratas, hasta perros, ovejas y otros mamíferos comúnmente empleados en la realización de los ensayos clínicos, mamíferos superiores tales como monos, chimpancés y simios, hasta seres humanos. Ejemplos específicos de células apropiadas para llevar a cabo los ensayos *in vitro* incluyen, pero sin estar limitados a, células basófilas de roedores o de seres humanos, estirpes celulares de leucemia basófila de ratas, mastocitos de ratón primarios (tales como mastocitos de ratón procedentes de médula ósea "BMMC") y mastocitos humanos primarios aislados a partir de sangre del cordón umbilical ("CHMC") u otros tejidos tales como pulmón. Los métodos para aislar y someter a cultivo estos tipos celulares se conocen bien o se proporcionan en la sección de los Ejemplos (véanse, por ejemplo, Demo y cols., 1999, Cytometry 36 (4): 340-348 y la solicitud relacionada de N.º de Serie 10/053.355 presentada el 8 de noviembre de 2001). Por supuesto, también se pueden usar otros tipos de

células inmunitarias que experimentan desgranulado tras activación de la cascada de señalización de FcεRI incluyendo, por ejemplo, eosinófilos.

Como reconocerán los trabajadores expertos, el mediador o agente cuantificado no es crítico. El único requisito es que sea un mediador o agente liberado y/o sintetizado como consecuencia de la iniciación o activación de la cascada de señalización del receptor de Fc. Por ejemplo, la activación de la cascada de señalización FcεRI en mastocitos o células basófilas conduce a numerosos episodios aguas abajo. Por ejemplo, la activación de la cascada de señal de FcεRI conduce a la liberación inmediata (es decir, en 1-3 minutos tras la activación del receptor) de una variedad de mediadores químicos preformados y agentes por medio de desgranulado. De este modo, en una realización, el mediador o agente cuantificado puede ser específico para los gránulos (es decir, presente en los gránulos pero no en el citoplasma celular de forma general). Ejemplos de mediadores específicos de gránulos o agentes que se pueden cuantificar para determinar y/o confirmar la actividad del compuesto de 2,4-pirimidindiamina de la invención incluyen, pero sin estar limitados a, enzimas específicas de gránulos tales como hexosaminidasa y triptasa y componentes específicos de gránulos tales como histamina y serotonina. Se conocen bien los ensayos para cuantificar dichos factores y en muchos casos, se encuentran disponibles comercialmente. Por ejemplo, se puede cuantificar la liberación de triptasa y/o hexosaminidasa por medio de incubación de las células con sustratos aptos para escisión que experimentan fluorescencia tras escisión y cuantificando la cantidad de fluorescencia producida usando técnicas convencionales. Dichos sustratos fluorogénicos aptos para escisión se encuentran comercialmente disponibles. Por ejemplo, se pueden usar los sustratos fluorogénicos Z-Gly-Pro-Arg-AMC (Z= benciloxicarbonilo; AMC = 7-amino-4-metilcumarina; BiOMOL Research Laboratories, Inc., Plymouth Meeting, PA 19462, N.º de Catálogo P-142) y Z-Ala-Lys-Arg-AMC (Enzyme Systems Products, una división de ICN Biomedicals, Inc., Livermore, CA 94550, N.º de Catálogo AMC-246) para cuantificar la cantidad de triptasa liberada. Se puede usar 4-metilumbeliferil-N-acetil-β-D-glucosaminida de sustrato fluorogénico (Sigma, St. Louis, MO, N.º de Catálogo 69585) para cuantificar la cantidad de hexosaminidasa liberada. Se puede cuantificar la liberación de histamina usando un ensayo inmunoabsorbente unido a enzima (ELISA) disponible comercialmente tal como un ensayo ELISA de histamina Immunotech N.º: M2015 (Beckman-Coluter, Inc.). Métodos específicos para cuantificar la liberación de triptasa, hexosaminidasa e histamina se proporcionan en la sección de Ejemplos. Se puede usar cualquiera de estos ensayos para determinar o confirmar la actividad de los compuestos de 2,4-pirimidindiamina de la invención.

El desgranulado es solo una de las diferentes respuestas iniciadas por la cascada de señalización de FcεRI. Además, la activación de este mecanismo de señalización conduce la síntesis *de novo* y a la liberación de citocinas y quimiocinas (tales como IL-4, IL-5, IL-6, TNF-α, IL-13 y MIP1-α) y la liberación de mediadores de lípidos tales como leucotrienos (por ejemplo, LTC4), factor de activación de plaquetas (PAF) y prostaglandinas. Por consiguiente, también se puede evaluar la actividad de los compuestos de 2,4-pirimidindiamina de la invención cuantificando la cantidad de uno o más de estos mediadores liberados y/o sintetizados por parte de las células activadas.

A diferencia de los componentes específicos de gránulo comentados anteriormente, estos mediadores de "etapa tardía" no se liberan inmediatamente después de la activación de la cascada de señalización de FcεRI. Por consiguiente, cuando se produce la cuantificación de esos mediadores de etapa tardía, se debe tomar precaución para garantizar que el cultivo de células activadas se incuba durante el tiempo suficiente para que dé como resultado la síntesis (si fuese necesario) y la liberación del mediador objeto de cuantificación. De manera general, PAF y los mediadores de lípidos tales como leucotrieno C4 se liberan en 3-30 minutos tras la activación de FcεRI. Las citocinas y otros mediadores de etapa tardía se liberan aproximadamente 4-8 horas después de la activación de FcεRI. Los tiempos de incubación apropiados para un mediador apropiado resultarán evidentes para los expertos en la técnica. Se proporcionan orientación específica y ensayos en la sección de los Ejemplos.

Se puede cuantificar la cantidad liberada de un mediador de etapa tardía particular usando cualquier técnica convencional. En una realización, se puede(n) cuantificar la(s) cantidad(es) usando ensayos de ELISA. Los kits de ensayo de ELISA apropiados para cuantificar la cantidad de TNF-α, IL-4, IL-5, IL-6 y/o IL-13 liberados se encuentran disponibles en, por ejemplo, Biosource International, Inc., Camarillo, CA 93012 (véase, por ejemplo, N.ºs de Catálogo KHC3011, KHC0042, KHC0052, KHC0061 y KHC0132). Los kits de ensayo de ELISA apropiados para cuantificar la cantidad de leucotrieno C4 (LTC4) liberada por las células se encuentran disponibles en Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI 48108 (véase, por ejemplo, el N.º de Catálogo 520211).

Normalmente, los compuestos activos de 2,4-pirimidindiamina de la invención exhibirán CI_{50} con respecto al desgranulado mediado por FcεRI y/o con respecto a la liberación de mediador o síntesis de aproximadamente 20 μM o menos, como se mide en un ensayo *in vitro*, tal como uno de los ensayos *in vitro* descritos anteriormente en la sección de Ejemplos. Por supuesto, los trabajadores expertos apreciarán que los compuestos que exhiben valores de CI_{50} menores, por ejemplo del orden de 10 μM, I μM, 100 nM, 10 nM, 1 nM o incluso menores, son particularmente útiles.

Los trabajadores expertos también apreciarán que los diferentes mediadores comentados anteriormente pueden inducir diferentes efectos adversos o exhibir potencias diferentes con respecto al mismo efecto adverso. Por ejemplo, el mediador de lípidos LTC4 es un potente vasoconstrictor -es aproximadamente 1000 veces más potente

para inducir vasoconstricción que la histamina. A modo de otro ejemplo, además de mediar las reacciones atópicas o de hipersensibilidad de tipo I, las citocinas también pueden provocar la remodelación tisular y la proliferación celular. De este modo, aunque los compuestos que inhiben la liberación y/o la síntesis de uno cualquiera de los mediadores químicos previamente comentados son útiles, los trabajadores expertos apreciarán que los compuestos que inhiben la liberación y/o la síntesis de una pluralidad, o incluso de todos, los mediadores previamente descritos encuentran un uso particular, ya que dichos compuestos son útiles para aliviar o prevenir completamente una pluralidad, o incluso todos, los efectos adversos inducidos por los mediadores particulares. Por ejemplo, los compuestos que inhiben la liberación de los tres tipos de mediadores -específicos de gránulos, lípidos y citocinas- son útiles para tratar o prevenir las reacciones inmediatas de hipersensibilidad de tipo I así como también los síntomas crónicos asociados a las mismas.

Los compuestos de la invención capaces de inhibir la liberación de más de un tipo de mediador (por ejemplo, específicos de gránulos o de etapa tardía) se pueden identificar por medio de la determinación de CI_{50} con respecto a un mediador representativo de cada clase, usando los diversos ensayos *in vitro* descritos anteriormente (u otros ensayos *in vitro* equivalentes). Normalmente, los compuestos de la invención que son capaces de inhibir la liberación de más de un tipo de mediador exhibirán una CI_{50} para cada tipo de mediador sometido a ensayo menor que aproximadamente 20 μM. Por ejemplo, un compuesto que exhibe un CI_{50} de 1 μM con respecto a la liberación de histamina ($CI_{50}^{histamina}$) y un CI_{50} de 1 nM con respecto a la síntesis y/o liberación de LTC4 de leucotrieno (CI_{50} LCT4) inhibe la liberación de mediador tanto inmediata (específica de gránulo) como de etapa tardía. A modo de otro ejemplo específico, un compuesto que exhibe una $CI_{50}^{triptasa}$ de 10 μM, una CI_{50}^{LTC4} de 0,1 μM y una CI_{50}^{IL-4} de 1 μM inhibe la liberación inmediata de mediador de citocina y lípido. Aunque los ejemplos específicos anteriores utilizan los valores de CI_{50} de un mediador representativo de cada clase, los trabajadores expertos apreciarán que se pueden obtener los valores de CI_{50} de una pluralidad, o incluso de todos, los mediadores que comprenden una o más clases. La(s) cantidad(es) e identidad(es) de los mediadores para los que se deberían determinar los datos de CI_{50} para una aplicación y compuesto particular resultarán evidentes para los expertos en la técnica.

Se pueden utilizar ensayos similares para confirmar la inhibición de las cascadas de transducción de señales iniciadas por otros receptores de Fc, tales como señalización de FcαRI, FcγRI y/o FcγRIII, con modificación de rutina. Por ejemplo, se puede confirmar la capacidad de los compuestos para inhibir la transducción de señal de FcγRI en ensayos similares a los descritos anteriormente, con la excepción de que se activa la cascada de señalización de FcγRI, por ejemplo por medio de incubación de las células con IgG y un anticuerpo o alérgeno específico de IgG, en lugar de IgE y un anticuerpo o alérgeno específico de IgE. Los tipos de células apropiados, agentes de activación y agentes para cuantificar con el fin de confirmar la inhibición de otros receptores de Fc, tales como receptores de Fc que comprenden un homodímero gamma, resultarán evidentes para los expertos en la técnica.

Un clase particularmente útil de compuestos incluye los compuestos de 2,4-pirimidindiamina que inhiben la liberación de mediadores inmediatos específicos de gránulo y mediadores de etapa tardía con valores de CI_{50} aproximadamente equivalentes. Por aproximadamente equivalente se entiende que los valores de CI_{50} para cada tipo de mediador están dentro de aproximadamente un intervalo de 10 veces uno con respecto a otro. Otra clase particularmente útil de compuestos incluye compuestos de 2,4-pirimidindiamina que inhiben la liberación de mediadores inmediatos específicos de gránulo, mediadores de lípidos y mediadores de citocinas con CI_{50} aproximadamente equivalentes. En una realización específica, dichos compuestos inhiben la liberación de los siguientes mediadores con CI_{50} aproximadamente equivalentes: histamina, triptasa, hexosaminidasa, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, TNFα y LTC4. Dichos compuestos son particularmente útiles para, entre otras cosas, aliviar o prevenir completamente las respuestas de etapa tanto temprana como tardía asociadas con reacciones atópicas o inmediatas de hipersensibilidad de tipo I.

De manera ideal, la capacidad para inhibir la liberación de todos los tipos deseados de mediadores reside en un compuesto individual. No obstante, también se pueden identificar mezclas de compuestos que logran el mismo resultado. Por ejemplo, se puede usar un primer compuesto que inhibe la liberación de mediadores específicos de gránulo en combinación con un segundo compuesto que inhibe la liberación y/o la síntesis de mediadores de citocina.

Además de los mecanismos de desgranulado de FcεRI o FcγRI comentados anteriormente, se puede inducir el desgranulado de mastocitos y/o células basófilas por parte de otros agentes. Por ejemplo, ionomicina, un ionóforo de calcio que desvía la maquinaria de la célula de transducción temprana de señal de FcεRI o FcγRI, induce directamente un flujo de calcio que activa el desgranulado. PLCγ activado inicia los mecanismos que conducen a, entre otros, la movilización de ion de calcio y el posterior desgranulado. Como se ilustra, esta movilización de Ca^{2+} se activa de forma tardía en el mecanismo de transducción de señal de FcεRI. Como se ha mencionado anteriormente, la ionomicina induce directamente la movilización de Ca^{2+} y el flujo de Ca^{2+} que conduce al desgranulado. Otros ionóforos que inducen el desgranulado de este manera incluyen A23187. Se puede usar la capacidad de los ionóforos que inducen granulado tal como ionomicina para desviar las etapas tempranas de las cascadas de señalización de FcεRI y/o FcγRI, como una pantalla de conteo para identificar los compuestos activos de la invención que ejercen específicamente su actividad inhibidora de desgranulado por medio de bloqueo o

inhibición de las cascadas tempranas de señalización de FcεRI o FcγRI, como se ha comentado anteriormente. Los compuestos que inhiben específicamente dicho desgranulado temprano mediado por FcεRI o FcγRI inhiben no solo el desgranulado y la liberación rápida posterior de histamina, triptasa y otros contenidos de gránulos, sino que también inhiben las vías de activación pro-inflamatorias que provocan la liberación de TNFα, IL-4, IL-13 y los mediadores de lípidos tales como LTC4. De este modo, los compuestos que inhiben específicamente el desgranulado temprano mediado por FcεRI y/o FcγRI bloquean o inhiben no solo las reacciones atópicas y de hipersensibilidad de tipo I agudas, sino también las respuestas tardías que implican los mediadores inflamatorios múltiples.

Los compuestos de la invención que inhiben específicamente el desgranulado temprano mediado por FcεRI y/o FcγRI son los compuestos que inhiben el desgranulado mediado por FcεRI y/o FcγRI (por ejemplo, que tienen un CI_{50} de menos de aproximadamente 20 μM con respecto a la liberación del mediador específico de gránulo o el componente, medido en un ensayo *in vitro* con células estimuladas con un agente de unión de IgE o IgG) pero que no inhiben de manera apreciable el desgranulado inducido por ionóforo. En una realización, se considera que los compuestos no inhiben de forma apreciable el desgranulado inducido por ionóforo si exhiben un CI_{50} de desgranulado inducido por ionóforo mayor de aproximadamente 20 μM, según se mide en un ensayo *in vitro.* Por supuesto, los compuestos activos que exhiben valores de CI_{50} incluso más elevados de desgranulado inducido por ionóforos, o que no inhiben para nada el desgranulado inducido por ionóforos, son particularmente útiles. En otra realización, se considera que los compuestos no inhiben de forma apreciable el desgranulado inducido por ionóforo si exhiben una diferencia de más de 10 veces en sus valores de CI_{50} de desgranulado mediado por FcεRI y/o FcγRI y desgranulado inducido por ionóforo, según se mide en un ensayo *in vivo.* Los ensayos apropiados para determinar el CI_{50} del desgranulado inducido por ionóforo incluyen cualquiera de los ensayos de desgranulado descritos previamente, con la modificación de las células se estimulan o activan con un ionóforo de calcio que induce desgranulado tal como ionomicina o A23187 (A. G. Scientific, San Diego, CA) en lugar de anticuerpos anti-IgE o con un alérgeno específico de IgE. Los ensayos específicos para evaluar la capacidad de un compuesto particular de 2,4-pirimidindiamina de la invención para inhibir el desgranulado inducido por ionóforo se proporcionan en la sección de Ejemplos.

Como se reconocerá por los trabajadores expertos, los compuestos que exhiben un elevado grado de selectividad de desgranulado mediado por FcεRI encuentran un uso particular, ya que dichos compuestos dirigen selectivamente la cascada de FcεRI y no interfieren con otros mecanismos de desgranulado. De manera similar, los compuestos que exhiben un elevado grado de selectividad de desgranulado mediado por FcγRI encuentran uso particular, ya que dichos compuestos dirigen selectivamente la cascada de FcγRI y no interfieren con otros mecanismos de desgranulado. Los compuestos que exhiben un elevado grado de selectividad generalmente son 10 veces o más selectivos para el desgranulado mediado por FcεRI y/o FcγRI con respecto al desgranulado inducido por ionóforo, tal como el desgranulado inducido por ionomicina.

Por consiguiente, la actividad de los compuestos de 2,4-pirimidindiamina de la invención también se puede confirmar en ensayos bioquímicos o celulares de actividad de cinasa Syk. En la cascada de señalización de FcεRI en mastocitos y/o células basófilas, cinasa Syk produce la fosforilación de LAT y PLC-gamma 1, lo que conduce, entre otras cosas, a desgranulado. En una realización, la actividad se confirma poniendo en contacto una cinasa Syk aislada, o uno de sus fragmentos activos con un compuesto de 2,4-pirimidindiamina en presencia de un sustrato de cinasa Syk (por ejemplo, un péptido sintético o una proteína que se sabe que experimenta fosforilación por parte de Syk en una cascada de señalización) y evaluando si la cinasa Syk produce la fosforilación del sustrato. De manera alternativa, el ensayo se puede llevar a cabo con células que expresan un cinasa Syk. Las células pueden expresar la cinasa Syk de forma endógena o se pueden someter a estudio técnico para expresar un cinasa Syk recombinante. De manera opcional, las células también expresan el sustrato de cinasa Syk. Las células apropiadas para llevar a cabo dichos ensayos de confirmación, así como los métodos para someter a estudio técnico células apropiadas resultarán evidentes para los expertos en la técnica. Ejemplos específicos de ensayos bioquímicos y celulares apropiados para confirmar la actividad de los compuestos de 2,4-pirimidindiamina se proporcionan en la sección de Ejemplos.

De manera general, los compuestos que son inhibidores de cinasa Syk exhiben una CI_{50} con respecto a la actividad de cinasa Syk, tal como la capacidad de cinasa Syk para fosforilar un sustrato endógeno sintético, en un ensayo *in vitro* o ensayo celular dentro del intervalo de aproximadamente 20 μM o menos. Los trabajadores expertos apreciarán que los compuestos que exhiben valores menores de CI_{50}, tal como dentro del intervalo de 10 μM, 1 μM, 100 nM, 10 nM, 1 nM o incluso menores, son particularmente útiles.

Usos y composiciones

Como se ha comentado previamente, los compuestos activos de la invención inhiben las cascadas de señalización del receptor de Fc, especialmente aquellos receptores de Fc que incluyen homodímero gamma, tal como las cascadas de señalización de FcεRI y/o FcγRI, que conducen a, entre otras cosas, la liberación y/o síntesis de mediadores químicos a partir de células, bien por medio de desgranulado o bien por otros métodos. Como también se ha comentado, los compuestos activos también son potentes inhibidores de cinasa Syk. Como consecuencia de

estas actividades, los compuestos activos de la invención se pueden usar en una variedad de contextos *in vitro, in vivo* y *ex vivo* para regular o inhibir cinasa Syk, cascadas de señalización en las que cinasa Syk juega un papel importante, cascadas de señalización del receptor de Fc y las respuestas biológicas efectuadas por dichas cascadas de señalización. Por ejemplo, en una realización, los compuestos pueden ser para su uso con el fin de inhibir cinasa Syk, bien *in vitro* o *in vivo*, en prácticamente cualquier tipo celular que exprese Syk cinasa. También se pueden usar para regular las cascadas de transducción de señales en las que cinasa Syk juega un papel. Dichas cascadas de transducción de señal que dependen de Syk incluyen, pero no están limitadas a, FcεRI, FcγRI, FcγRIII, BCR y cascadas de transducción de señales de integrina. Los compuestos también pueden ser útiles para su uso *in vitro* o *in vivo* para regular y en particular inhibir, las respuestas celulares o biológicas llevadas a cabo por cascadas de transducción de señales que dependen de Syk. Dichas respuestas celulares o biológicas incluyen, pero no están limitadas a, impulso respiratorio, adhesión celular, desgranulado celular, dispersión celular, migración celular, agregación celular, fagocitosis, síntesis y liberación de citocinas, maduración celular y flujo de Ca^{2+}. De manera importante, los compuestos se pueden usar para inhibir cinasa Syk *in vivo* como enfoque terapéutico frente al tratamiento o prevención de enfermedades con mediación, total o parcial, de actividad de cinasa Syk. Ejemplos no limitantes de enfermedades mediadas por cinasa Syk que se pueden tratar o prevenir con los compuestos se comentan con más detalle a continuación.

En otra realización, los compuestos activos se pueden usar para regular o inhibir las cascadas de señalización de receptor de Fc y/o desgranulado mediado por FcεRI y/o FcγRI como enfoque terapéutico frente al tratamiento o prevención de enfermedades caracterizadas por, provocadas por y/o asociadas con la liberación o síntesis de mediadores químicos de dichas cascadas de señalización de receptor de Fc o desgranulado. Dichos tratamientos se pueden administrar a animales en contextos veterinarios o a seres humanos. Las enfermedades que se caracterizan por, están provocadas por o que se asocian a dicha liberación de mediador, síntesis o desgranulado y que, por tanto, se pueden tratar o prevenir con los compuestos activos incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, reacciones atópicas o de hipersensibilidad anafiláctica o alérgicas, alergias (por ejemplo, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica, asma atópico, dermatitis atópica y alergias alimentarias), cicatrización patológica de grado bajo (por ejemplo, escleroderma, incremento de fibrosis, queloides, cicatrices pos-quirúrgicas, fibrosis pulmonar, espasmos vasculares, migrañas, lesión de reperfusión y infarto pos miocárdico), enfermedades asociadas a la destrucción de tejidos (por ejemplo, COPD, cardiobronquitis y infarto pos-miocárdico), enfermedades asociadas a la inflamación de tejidos (por ejemplo, síndrome de intestino irritable, colon irritable y enfermedad inflamatoria del intestino), inflamación y cicatrización.

Además de la multitud de enfermedades comentadas anteriormente, los datos empíricos celulares y animales confirman que los compuestos de 2,4-pirimidindiamina descritos en la presente memoria también son útiles para el tratamiento o la prevención de enfermedades autoinmunitarias, así como de los diferentes síntomas asociados a dichas enfermedades. Los tipos de enfermedades autoinmunitarias que se pueden tratar o prevenir con los compuestos de 2,4-pirimidindiamina generalmente incluyen aquellos trastornos que implican lesión tisular que tiene lugar como resultado de una respuesta humoral y/o con mediación celular frente a inmunógenos o antígenos de origen endógeno y/o exógeno. Con frecuencia, dichas enfermedades son denominadas enfermedades que implican reacciones de hipersensibilidad no anafiláctica (es decir, de tipo II, de tipo III y/o de tipo IV).

Como se ha comentado anteriormente, las reacciones de hipersensibilidad de tipo I generalmente tienen como resultado la liberación de sustancias farmacológicamente activas, tales como histamina, a partir de mastocitos y/o células basófilas tras el contacto con un antígeno exógeno específico. Como se ha comentado anteriormente, dichas reacciones de tipo I juegan un papel en numerosas enfermedades, incluyendo asma alérgico, rinitis alérgica, etc.

Las reacciones de hipersensibilidad de tipo II (también denominadas reacciones de hipersensibilidad de estimulación celular, citotóxicas o dependientes de complemento citolítico) tienen lugar cuando las inmunoglobulinas reaccionan con componentes antigénicos de células o tejidos, o con un antígeno o hapteno que se ha acoplado de forma estrecha a células o a tejido. Las enfermedades que se asocian comúnmente con las reacciones de hipersensibilidad de tipo II incluyen, pero no están limitadas a, anemia hemolítica autoinmunitaria, eritroblastosis fetal y enfermedad de Goodpasture.

Las reacciones de hipersensibilidad de tipo III (también denominadas reacciones de hipersensibilidad de complejo inmunitarias, de complejo tóxico o de complejo soluble) tienen lugar a partir de la deposición de complejos solubles circulantes de antígeno-inmunoglobulina en los vasos sanguíneos o en los tejidos, con reacciones inflamatorias aguas asociadas en el sitio de la deposición del complejo inmunitario. Ejemplos no limitantes de enfermedades de reacción de tipo III prototípicas incluyen reacción de Arthus, artritis reumatoide, enfermedad del suero, lupus eritematoso sistémico, determinados tipos de glomerulonefritis, esclerosis múltiple y penfigoide vesicular.

Las reacciones de hipersensibilidad de tipo IV (frecuentemente denominadas reacciones de hipersensibilidad de tipo tuberculina, celulares, con mediación celular o retardadas) están provocadas por linfocitos-T sensibilizados, que son el resultado del contacto con un antígeno específico. Ejemplos no limitantes de las enfermedades citadas que implican reacciones de tipo IV son dermatitis de contacto y rechazo de aloinjerto.

Las enfermedades autoinmunitarias asociadas a cualquiera de las reacciones de hipersensibilidad no anafiláctica

anteriores se pueden tratar o prevenir con los compuestos de 2,4-pirimidindiamina de la invención. En particular, los compuestos se pueden usar para tratar o prevenir aquellas enfermedades autoinmunitarias caracterizadas frecuentemente como trastornos autoinmunitarios de tipo célula individual u órgano individual que incluyen, pero sin limitarse a: tiroiditis de Hashimoto, anemia hemolítica autoinmunitaria, gastritis atrófica autoinmunitaria de anemia perniciosa, encefalomielitis autoinmunitaria, orquitis autoinmunitaria, enfermedad de Goodpasture, trombocitopenia autoinmunitaria, oftalmia simpática, miastenia grave, enfermedad de Grave, cirrosis biliar primaria, hepatitis agresiva crónica, colitis ulcerosa y glomerulopatía membranosa, así como también las enfermedades autoinmunitarias frecuentemente caracterizadas por implicar un trastorno del sistema inmunológico, que incluyen pero sin limitarse a: lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, síndrome de Sjogren, síndrome de Reiter, polimiositis-dermatomiositis, esclerosis sistémica, poliarteritis nodular, esclerosis múltiple o penfigoide vesicular.

Los trabajadores expertos apreciarán que muchas de las enfermedades autoinmunitarias anteriormente mencionadas se asocian con síntomas graves, cuyo alivio proporciona un beneficio terapéutico significativo incluso en los casos en los que no sea posible aliviar la enfermedad autoinmunitaria subyacente. Muchos de estos síntomas, así como también sus estados de enfermedad subyacente, son el resultado de la activación de las cascadas de señalización de FcγRI en las células monocíticas. Debido a que los compuestos de 2,4-pirimidindiamina descritos en la presente memoria son potentes inhibidores de dichas cascadas de señalización de FcγRI en monocitos y otras células, los compuestos se pueden usar en el tratamiento y/o prevención de multitud de síntomas adversos asociados a las enfermedades autoinmunitarias anteriormente mencionadas.

Como ejemplo específico, normalmente la artritis reumatoide (RA) tiene como resultado inflamación, dolor y pérdida de movilidad y dolor con la palpación en las articulaciones diana del cuerpo. RA se caracteriza por que el sinovia inflamado de forma crónica se puebla de manera densa de linfocitos. La membrana sinovial, que normalmente es de una capa celular de espesor, se vuelve intensamente celular y asume una forma similar a la de un tejido linfoide, incluyendo celular dendríticas, células T-, B- y NK, macrófagos y asociados de células de plasma. Este proceso, así como también una plétora de mecanismos inmuno-patológicos que incluyen la formación de complejos antígeno-inmunoglobulina, finalmente tienen como resultado la destrucción de la integridad de la articulación, dando como resultado una pérdida permanente de función con deformidad y/o erosión ósea en la articulación o en sus proximidades. Los compuestos se pueden usar para tratar o aliviar uno cualquiera, varios o la totalidad de estos síntomas de RA. De este modo, en el contexto de RA, se considera que los compuestos proporcionan un beneficio terapéutico (comentado de forma más general a continuación) cuando se logra una reducción o alivio de los síntomas comúnmente asociados a RA, independientemente de si el tratamiento tiene como resultado un tratamiento concomitante de RA subyacente y/o una reducción de la cantidad de factor reumatoide circulante ("RF").

A modo de otro ejemplo específico, normalmente el lupus eritematoso sistémico ("SLE") se asocia a síntomas tales como fiebre, dolor articular (artralgias), artritis y serositis (pleuritis o pericarditis). En el contexto de SLE, se considera que los compuestos proporcionan un beneficio terapéutico cuando se logra una reducción o alivio de cualquiera de los síntomas comúnmente asociados a SLE, independientemente de si el tratamiento tiene como resultado un tratamiento concomitante de SLE subyacente.

A modo de otro ejemplo específico, la esclerosis múltiple ("MS") afecta negativamente al paciente alterando la agudeza visual; estimulando la visión doble; alterando las funciones motoras que afectan las acciones de caminar y uso de las manos; produciendo incontinencia intestinal y vesical; espasmos y deficiencias sensoriales (sensibilidad al tacto, dolor y temperatura). En el contexto de MS, se considera que los compuestos proporcionan un efecto terapéutico cuando se logra una mejora o una reducción de la progresión de uno cualquiera o de más de uno de los efectos limitadores asociados comúnmente a MS, independientemente de si el tratamiento tiene como resultado un tratamiento concomitante de la MS subyacente.

Cuando se usan para tratar o prevenir dichas enfermedades, los compuestos activos se pueden administrar de forma individual, en forma de mezclas de uno o más compuestos activos o en mezcla o combinación con otros agentes útiles para el tratamiento de dichas enfermedades y/o los síntomas asociados a dichas enfermedades. También se pueden administrar los compuestos activos en una mezcla o en combinación con agentes útiles para tratar otros trastornos o males, tales como esteroides, estabilizadores de membrana, inhibidores de 5LO, síntesis de leucotrieno e inhibidores de receptor, inhibidores de la activación de isotipo IgE o síntesis de IgE, activación de isotipo IgE o síntesis de IgE, β-agonistas, inhibidores de triptasa, aspirina, inhibidores de COX, metotrexato, fármacos anti-TNF, Rituximab, inhibidores PD4, inhibidores p38, inhibidores PDE4 y antihistamínicos, por nombrar algunos. Se pueden administrar los compuestos activos por sí mismos en forma de profármacos o como composiciones farmacéuticas, que comprenden un compuesto activo o profármaco.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos activos de la invención (o sus profármacos) se pueden fabricar por medio de métodos de mezcla convencional, solución, granulado, levigación para la fabricación de grageas, emulsionado, encapsulado, aprisionado o liofilización. Se pueden formular las composiciones de manera convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables, diluyentes, excipientes o sustancias auxiliares que faciliten el procesado de los compuestos activos para dar lugar a preparaciones que se puedan usar desde el punto de vista farmacéutico.

Se puede formar el compuesto activo o profármaco en las composiciones farmacéuticas por sí mismo, o en forma de hidrato, solvato, N-óxido o sal farmacéuticamente aceptable como se ha descrito con anterioridad. Normalmente, dichas sales son más solubles en las soluciones acuosas que los correspondientes ácidos libres y bases, pero también se pueden formar sales que tengan una solubilidad menor que la de los correspondiente bases y ácidos libres.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden adoptar una forma apropiada para prácticamente cualquier modo de administración, incluyendo, por ejemplo, tópica, ocular, oral, bucal, sistémica, nasal, inyección, transdérmica, rectal, vaginal, etc., o una forma apropiada de administración por medio de inhalación o insuflado.

Para administración tópica, el(los) componente(s) activo(s) se puede(n) formular en forma de soluciones, geles, pomadas, cremas, suspensiones, etc., como se conoce bien en la técnica.

Las formulaciones sistémicas incluyen las diseñadas para administración por medio de inyección, por ejemplo, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intratecal o intraperitoneal, así como también las diseñadas para administración transdérmica, transmucosal, oral o pulmonar.

Preparaciones inyectables útiles incluyen suspensiones estériles, soluciones o emulsiones del(de los) compuesto(s) activo(s) en vehículos acuosos u oleosos. Las composiciones también pueden contener agentes de formulación, tales como agente de suspensión, estabilización y/o dispersión. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas en recipientes de multi-dosis y pueden contener conservantes añadidos.

Alternativamente, la formulación inyectable se puede proporcionar en forma de polvo para reconstitución con un vehículo apropiado, incluyendo pero sin limitarse a agua estéril libre de pirógenos, una solución tampón, una solución de dextrosa, etc., antes de su uso. A tal fin, el(los) compuesto(s) activo(s) se puede secar por medio de cualquier técnica conocida, tal como liofilización y se reconstituye antes de su uso.

Para administración transmucosal, se usan en la formulación sustancias penetrantes apropiadas para la barrera para permearse. Dichas sustancias penetrantes se conocen en la técnica.

Para administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden adoptar la forma de, por ejemplo, pastillas, comprimidos o cápsulas preparados por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes de unión (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); sustancias de carga (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrógeno fosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); disgregantes (por ejemplo, almidón de patata o glicolato de sodio almidón); o agentes humectantes (por ejemplo, lauril sulfato de sodio). Los comprimidos se pueden revestir por medio de métodos bien conocidos en la técnica con, por ejemplo, azúcares, películas o revestimientos entéricos.

Las preparaciones líquidas para administración oral pueden adoptar la forma de, por ejemplo, elixires, soluciones, jarabes o suspensiones, o se pueden presentar como un producto seco para constitución con agua u otro vehículo apropiado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas se pueden preparar por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o goma arábiga); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendra, ésteres oleosos, alcohol etílico, cremophore^{tm} o aceites vegetales separados); y conservantes (por ejemplo, p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido ascórbico). Las preparaciones también pueden contener sales tampón, conservantes, aromatizantes, agentes colorantes y edulcorantes según sea apropiado.

De manera apropiada, se puede formular las preparaciones para administración oral para proporcionar la liberación controlada del compuesto activo o profármaco, como se conoce bien.

Para administración bucal, las composiciones pueden adoptar la forma de comprimidos o pastillas formulados de manera convencional.

Para las rutas de administración rectal o vaginal, el(los) compuesto(s) activo(s) se puede(n) formular en forma de soluciones (para enemas de retención), supositorios o pomadas que contienen bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

Para administración nasal o administración por medio de inhalación o insuflado, el(los) compuesto(s) activo(s) o profármaco(s) se puede(n) administrar de manera apropiada en forma de una pulverización de aerosol en envases presurizados o un nebulización con el uso de un propelente apropiado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, fluorocarbonos, dióxido de carbono u otro gas apropiado. En el caso de un aerosol presurizado, se puede determinar la unidad de dosificación proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. Se pueden formular las cápsulas y cartuchos para su uso en un inhalador o insuflador (por

ejemplo cápsulas y cartuchos formados por gelatina) de manera que contengan una mezcla de polvo del compuesto y una base apropiada en forma de polvo tal como lactosa o almidón.

Un ejemplo específico de formulación de suspensión acuosa apropiada para administración nasal que usa dispositivos de pulverización nasal comercialmente disponibles incluye los siguientes ingredientes: compuesto activo o profármaco (0,5-20 mg/ml); cloruro de benzalconio (0,1-0,2 mg/ml); polisorbato 80 (TWEEN® 80: 0,5-5 mg/ml); carboximetilcelulosa de sodio o celulosa microcristalina (1-15 mg/ml); feniletanol (1-4 mg/ml) y dextrosa (20-50 mg/ml). Se puede ajustar el pH de la suspensión final para que varíe dentro de aproximadamente pH 5 a pH 7, siendo pH 5,5 un valor típico.

Otro ejemplo específico de suspensión acuosa apropiada para la administración de los compuestos por medio de inhalación y en particular para dicha administración de un compuesto de la invención, contiene 1-20 mg/ml del compuesto o profármaco, 0,1-1 % (v/v) de Polisorbato 80 (TWEEN®80), citrato 50 nM y/o 0,9 5 de cloruro de sodio.

Para administración ocular, el(los) compuesto(s) activo(s) o profármaco(s) se puede formular como solución, emulsión, suspensión, etc., apropiada para administración al ojo. Se conoce una diversidad de vehículos apropiados para administrar compuestos al ojo. Ejemplos no limitantes específicos se describen en la patente de EE.UU. N.º: 6.261.547; la patente de EE.UU. N.º: 6.197.934; la patente de EE.UU. N.º: 6.056.950; la patente de EE.UU. N. 5.800.807; la patente de EE.UU. N.º: 5.776.445; la patente de EE.UU. N.º: 5.698.219; la patente de EE.UU. N.º: 5.521.222; la patente de EE.UU. N.º: 5.403.841; la patente de EE.UU. N.º: 5.077.033; la patente de EE.UU. N.º: 4.882.150 y la patente de EE.UU. N.º: 4.738.851.

Para una administración prolongada, el(los) compuesto(s) activo(s) o profármaco(s) se puede(n) formular como preparación de liberación prolongada para administración por medio de implantación o inyección intramuscular. Se puede formular el ingrediente activo con materiales polímeros o hidrófobos apropiados (por ejemplo, en forma de emulsión en aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados moderadamente solubles, por ejemplo, una sal moderadamente soluble. Alternativamente, se pueden usar los sistemas de administración transdérmica fabricados en forma de disco adhesivo o parche que liberan lentamente el(los) compuesto(s) activo(s) para absorción percutánea. A tal fin, se pueden usar los mejoradores de permeabilidad para facilitar la penetración del(de los) compuesto(s) activo(s). Parches transdérmicos apropiados se describen por ejemplo en la patente de EE.UU. N.º: 5.407.713; la patente de EE.UU. N.º: 5.352.456; la patente de EE.UU. N.º: 5.332.213; la patente de EE.UU. N.º: 5.336.168; la patente de EE.UU. N.º: 5.290.561; la patente de EE.UU. N.º: 5.254.346; la patente de EE.UU. N.º: 5.164.189; la patente de EE.UU. N.º: 5.163.899, la patente de EE.UU. N.º: 5.088.977; la patente de EE.UU. N.º: 5.087.240; la patente de EE.UU. N.º: 5.008.110; y la patente de EE.UU. N.º: 4.921.475.

Alternativamente, se pueden emplear otros sistemas de administración farmacéutica. Los liposomas y las emulsiones son ejemplos bien conocidos de vehículos de administración que se pueden usar para administrar el(los) compuesto(s) activo(s) o profármaco(s). También se pueden usar determinados disolventes orgánicos tales como dimetilsulfóxido (DMSO), aunque normalmente a coste de mayor toxicidad.

Si se desea, las composiciones farmacéuticas se pueden presentar en un envase o dispositivo dispensador que puede contener una o más formas de dosificación que contienen el(los) compuesto(s) activo(s). Por ejemplo, el envase puede comprender metal o papel metalizado de plástico, tal como un envase de blíster. El envase o dispositivo dispensador puede venir acompañado de instrucciones de administración.

Dosificaciones eficaces

El(los) compuesto(s) activo(s) de la invención o su(s) profármaco(s), o sus composiciones, generalmente se usan en una cantidad eficaz para lograr el resultado pretendido, por ejemplo, en una cantidad eficaz para tratar o prevenir la enfermedad particular objeto de tratamiento. El(los) compuesto(s) se puede administrar terapéuticamente para lograr el beneficio terapéutico o profilácticamente para lograr un beneficio profiláctico. Por beneficio terapéutico se entiende la erradicación o alivio del trastorno subyacente objeto de tratamiento y/o la erradicación o alivio de uno o más de los síntomas asociados al trastorno subyacente de manera que el paciente experimente una mejora de la sensación o estado, a pesar de que el paciente puede todavía verse afectado por el trastorno subyacente. Por ejemplo, la administración de un compuesto a un paciente que padece una alergia proporciona un beneficio terapéutico no solo cuando se erradica o alivia la respuesta alérgica subyacente, sino también cuando el paciente experimenta una disminución de la gravedad o duración de los síntomas asociados con la alergia tras la exposición al alérgeno. A modo de otro ejemplo, el beneficio terapéutico en el contexto del asma incluye una mejora de la respiración tras la aparición de un ataque asmático, o una reducción de la frecuencia o gravedad de los episodios asmáticos. El beneficio terapéutico también incluye la detección o ralentización de la progresión de la enfermedad, independientemente de si se lleva a cabo la mejora.

Para administración profiláctica, se puede administrar el compuesto a un paciente con riesgo de desarrollar una de las enfermedades descritas con anterioridad. Por ejemplo, si se desconoce si un paciente es alérgico a un fármaco en particular, se puede administrar el compuesto antes de la administración del fármaco para prevenir o aliviar una respuesta alérgica al fármaco. Alternativamente, se puede aplicar administración profiláctica para prevenir la

aparición de síntomas en un paciente diagnosticado con el trastorno subyacente. Por ejemplo, se puede administrar un compuesto a un paciente que padece alergia antes de la exposición esperada al alérgeno. También se pueden administrar profilácticamente compuestos a individuos sanos que se exponen repetidamente a agentes conocidos a uno de los males anteriormente mencionados con el fin de prevenir la aparición del trastorno. Por ejemplo, se puede administrar a un individuo sano que se expone repetidamente a un alérgeno conocido para inducir alergias, tal como látex, en un esfuerzo para prevenir que el individuo desarrolle una alergia. Alternativamente, se puede administrar un compuesto a un paciente que padece asma antes de tomar parte en actividades que activen ataques de asma para suavizar la gravedad, o para prevenir completamente, un episodio asmático.

La cantidad de compuesto administrado depende de varios factores, incluyendo, por ejemplo, la indicación particular objeto de tratamiento, el modo de administración, si el beneficio deseado es profiláctico o anafiláctico, la gravedad de la indicación objeto de tratamiento y la edad y el peso del paciente, la biodisponibilidad del compuesto activo particular, etc. La determinación de una dosificación eficaz se encuentra dentro de las capacidades de los expertos en la técnica.

Inicialmente, se pueden estimar las dosificaciones eficaces a partir de ensayos *in vitro*. Por ejemplo, se puede formular una dosificación inicial para su uso en animales con el fin de lograr un concentración de compuesto activo en el torrente sanguíneo o en el suero que sea igual o mayor que CI_{50} del compuesto particular, medido en un ensayo *in vitro*, tal como CHMC o BMMC *in vitro* y otros ensayos *in vitro* descritos en la sección de Ejemplos. El cálculo de las dosificaciones para lograr las concentraciones en suero o torrente sanguíneo, teniendo en cuenta la biodisponibilidad del compuesto particular, se encuentra dentro de las capacidades de los trabajadores expertos. A modo de orientación, se remite al lector a Fing & Woodbury, "General Principles", In: Goodman and Gilman´s The Pharmaceutical Basis of Therapeutics, Capítulo 1, pp. 1-46, última edición, Pagarnonon Press y las referencias citadas en el mismo.

También se pueden estimar las dosificaciones iniciales a partir de datos *in vivo*. Los modelos animales útiles para someter a ensayo la eficacia de los compuestos para tratar o prevenir las diferentes enfermedades descritas anteriormente se conocen bien en la técnica. Modelos animales apropiados de reacciones de hipersensibilidad o alérgicas se describen en Foster, 1995, Allergy 50 (Supl. 21): 6-9, discusión 34-38 y Tumas y cols., 2001, J. Allergy Clin. Immunol. 107(6): 1025-1033. Modelos animales apropiados de rinitis alérgica se describen en Szelenyi y cols., 2000, Arzneimittelforschung 50 (11): 1037-42; Kawaguchi y cols., 1994, Clin Exp. Allergy 24(3): 238-244 y Sugimoto y cols., 2000, Immunopharmacology 48(1): 1-7. Modelos animales apropiados de conjuntivitis alérgica se describen en Carreras y cols., 1993, Br. J. Opthalmol. 77 (8): 509-514; Saiga y cols. 1992, Opthalmic Res. 24(1): 45-50; y Kunert y cols., 2001, Invest. Opthalmol. Vis. Sci. 42 (1 1): 2483-2489. Modelos animales apropiados de mastocitosis sistémica se describen en O´Keefe y cols., 1987, J. Vet. Intern. Med. 1 (2): 75-80 y Bean-Knudsen y cols., 1989, Vet. Pathol. 26 (1): 90-92. Modelos animales apropiados de síndrome hiper IgE se describen en Claman y cols., 1990, Clin. Immunol. Immunopathol. 56 (1): 46-53. Modelos animales apropiados de linfoma de células-B se describen en Hough y cols., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 13853-13858 y Hakin y cols., 1996, J. Immunol. 157 (12): 5503-5511. Modelos animales apropiados de trastornos atópicos tales como dermatitis atópica, eczema atópico y asma atópico se describen en Chan y cols., 2001, J. Invest. Dermatol., 117(4): 977-983 y Suto y cols., 1999, Int. Arch. Allergy Immunol. 120 (Suppl 1): 70-75. Los trabajadores expertos pueden adaptar de forma rutinaria dicha información para determinar las dosificaciones apropiadas para administración a seres humanos. Modelos animales apropiados adicionales se describen en la sección de Ejemplos.

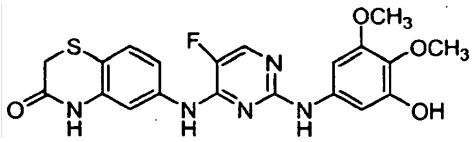
Normalmente, las cantidades de dosificación están dentro del intervalo de aproximadamente 0,0001 o 0,001 o 0,01 mg/kg/día a aproximadamente 100 mg/kg/día, pero pueden ser mayores o menores, dependiendo, entre otros factores, de la actividad del compuesto, su biodisponibilidad, modo de administración y diversos factores comentados con anterioridad. Se puede ajustar la cantidad de dosificación y el intervalo de forma individual para proporcionar niveles en plasma del(de los) compuesto(s) que sean suficientes para mantener el efecto terapéutico o profiláctico. Por ejemplo, se pueden administrar los compuestos una vez por semana, varias veces por semana (por ejemplo, en días alternos), una vez al día o varias veces al día, dependiendo, entre otros, del modo de administración, la indicación específica objeto de tratamiento y el juicio del médico responsable de la prescripción. En los casos de administración local o captación selectiva, tales como administración tópica local, la concentración local efectiva del(de los) compuesto(s) activo(s) puede no estar referida a la concentración en plasma. Los trabajadores expertos serán capaces de optimizar las dosificaciones locales eficaces sin experimentación innecesaria.

Preferentemente, el(los) compuesto(s) proporciona(n) un beneficio terapéutico o profiláctico sin provocar toxicidad sustancial. Se puede determinar la toxicidad del(de los) compuesto(s) usando procedimientos farmacéuticos convencionales. La proporción de dosificación entre el efecto tóxico y terapéutico (o profiláctico) es el índice terapéutico. Se prefiere(n) el(los) compuesto(s) que exhibe(n) índices terapéuticos altos.

Se comprenderán mejor los aspectos anteriores y otros aspectos de la presente invención en relación con los siguientes ejemplos representativos.

Ejemplos

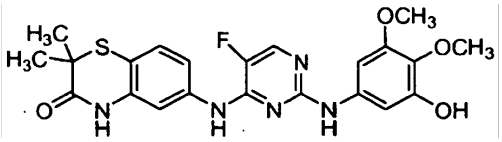
Ejemplo 1. 5-Fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina



Se calentó una mezcla de 40 mg de 2-cloro-5-fluoro-N4-[3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il]-4-pirimidindiamina y 48 mg de sal clorhidrato de 3-hidroxi-4,5-dimetioxianilina en 700 µl de EtOH en el microondas a 180 ºC durante 1 hora. Se recogió el precipitado por medio de filtración de succión, se secó, se suspendió en agua desionizada y se ajustó el pH a 5 con una solución diluida de bicarbonato de sodio, se añadió salmuera y posteriormente se sometió a tratamiento de ultrasonidos la suspensión de manera breve, se recogió el sólido por medio de filtración por succión y se secó dando lugar a un 43% de rendimiento del producto deseado 5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxfenil)-N4-[3-oxo-bezno[1,4]tiazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina. RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,06 (d, 1H, J= 2,7 Hz), 7,58 (s, 1H), 7,40 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, J = 1,5 Hz), 7,19 (s, 1H), 6,92 (s, 1H), 6,76 (d, 1H, J = 1,5 Hz), 3,60 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,43 (s, 2H); pureza 92 %; EM (m/e): 444 (MH^+).

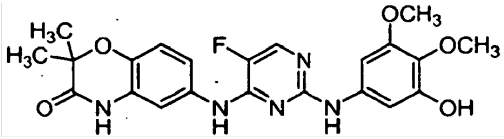
Se prepararon los Ejemplos 2-13 de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1.

Ejemplo 2. N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidina



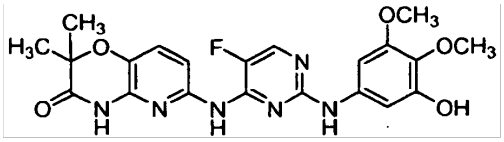
RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,07 (d, 1H, J= 3,3 Hz), 7,67 (s, 1H), 7,46 (dd, 1H, J = 9 Hz, J = 2,1 Hz), 7,18 (d, 1H, J= 9 Hz), 6,92 (s, 1H), 6,78 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 3,62 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 1,35 (s, 6H); pureza 94%; EM (m/e): 472 (MH^+).

Ejemplo 3. N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benz[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina



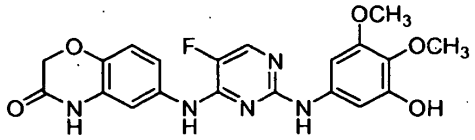
RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,3 (d, 1H, J=3,9 Hz), 7,38 (dd, 1H, J = 9 Hz, J = 2,1 Hz), 7,29 (d, 1H, J= 1,8 Hz), 6,81 (m, 2H), 6,77 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 3,59 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 1,38 (s, 6H); pureza 95%; EM (m/e): 455 (MH^+).

Ejemplo 4. N4-[2,2-dimetil-3-oxo-pirid[1,4]oxazin-6-yl]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina



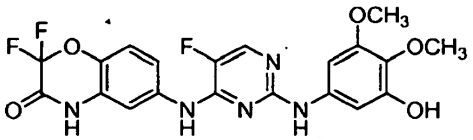
RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,09 (d, 1H, J= 3,6 Hz), 7,72 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,31 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 6,91 (d, 1H, J = 2,7 Hz), 6,75 (d, 1H, J = 2,7Hz), 3,63 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 1,41 (s, 6H); pureza 96%; EM (m/e): 457 (MH^+).

Ejemplo 5. 5-Fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[3-oxo-benz[1,4]oxazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina



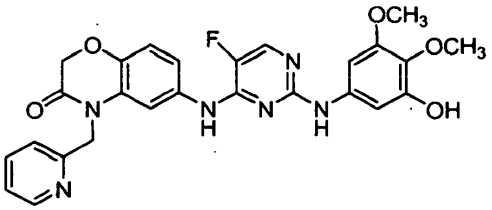
RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,02 (d, 1H, J= 3,9 Hz), 7,34 (dd, 1H, J = 9 Hz, J = 2,1 Hz), 7,25 (d, 1H, J= 1,8 Hz), 6,84 (m, 2H), 6,78 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 4,52 (s, 2H), 3,57 (s, 3H), 3,56 (s, 3H); pureza 97%; EM (m/e): 428 (MH^+).

Ejemplo 6. N4-[2,2-Difluoro-3-oxo-benz[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina



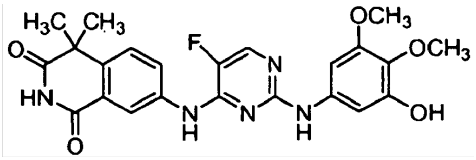
RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,15 (d, 1H, J= 3,6 Hz), 7,68 (dd, 1H, J = 9,3 Hz, J = 2,1 Hz), 7,58 (d, 1H, J= 2,1 Hz), 7,25 (d, 1H, J = 9,3 Hz), 6,93 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 6,84 (d, 1H, J=2,7 Hz), 3,64 (s, 3H), 3,63 (s, 3H); pureza 95%; EM (m/e): 464 (MH^+).

Ejemplo 7. 5-Fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[3-oxo-4-(2-piridilmetil)-benz[1,4]oxazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina



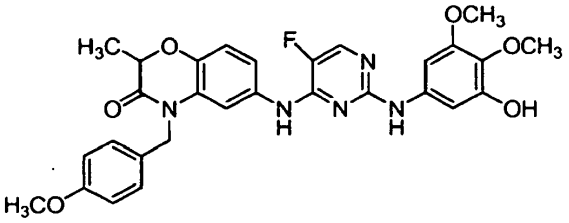
RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,47 (δ, 1H, ϑ = 3,9 Hζ), 8,07 (d, 1H, J= 4,2 Hz), 7,70 (m, 1H), 7,38 (m, 2H), 7,26 (m, 2H), 6,96 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 6,68 (m, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,76 (s, 2H), 3,61 (s, 3H), 3,59 (s, 3H); pureza 95%; EM (m/e): 519 (MH^+).

Ejemplo 8. 5-Fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-(1,3-(2H)-4,4-dimetilisoquinolindione-7-il)-2,4-pirimidindiamina



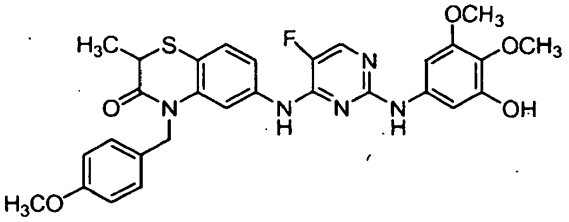
RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,36 (m, 1H), 8,10 (m, 2H), 7,56 (d, 1H, J= 9,0 Hz), 6,86 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 6,745 (d, 1H, J = 2,7 Hz), 3,58 (s, 3H), 3,54 (s, 3H), 1,51 (s, 6H); pureza 93%; EM (m/e): 468 (MH^+).

Ejemplo 9. (R/S)-5-Fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[2-metil-3-oxo-4-(4-metoxibencil)-benz[1,4]oxazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina



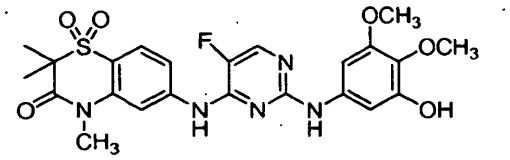
RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,02 (d, 1H, J = 3,2 Hz), 7,44 (m, 2H), 7,06 (m, 2H), 6,92 (m, 2H), 6,76 (m, 3H), 4,86 (s, 2H), 4,79 (c, 1H, J =7,2 Hz), 3,64 (s, 3H), 3,63 (s, 3H), 3,54 (s, 3H), 1,47 (d, 3H, J = 7,2 Hz); pureza 92%; EM (m/e): 562 (MH^+).

Ejemplo 10. (R/S)-5-Fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[2-metil-3-oxo-4-(4-metoxibenzil)-benzo[1,4]tiazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina



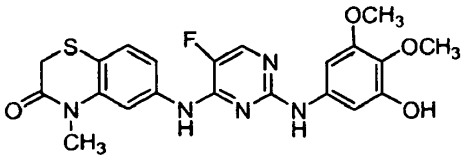
RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,06 (d, 1H, J = 3,3 Hz), 7,59 (m, 2H), 7,26 (d, 1H, J = 10,8 Hz), 6,99 (m, 2H), 6,76 (m, 4H), 4,94 (s, 2H), 3,75 (c, 1H, J =7,2 Hz), 3,63 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,55 (s, 3H), 1,36 (d, 3H, J = 7,2 Hz); pureza 90%; EM (m/e): 578 (MH^+).

Ejemplo 11. 5-Fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-(2,2,4-trimetil-1,1,3-trioxo-benzo[1,4]tiazin-6-il)-2,4-pirimidindiamina



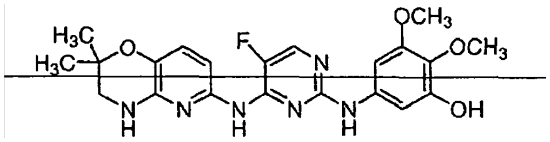
RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,22 (d, 1H, 3,3 Hz), 8,04 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 7,92 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, J = 2,1 Hz), 7,52 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 6,85 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 6,71 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 3,59 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,25 (s, 3H), 1,41 (s, 6H); pureza 98%; EM (m/e): 518 (MH^+).

Ejemplo 12. 5-Fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-(4-metil-3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il)-2,4-pirimidindiamina



RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,09 (d, 1H, 3,6 Hz), 7,71 (d, 1H, J = 1,8 Hz), 7,67 (dd, 1H, J = 8,1 Hz, J = 2,1 Hz), 7,28 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 6,83 (d, 1H, J = 1,8 Hz), 6,75 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 3,58 (s, 3H), 3,57 (s, 3H), 3,47 (s, 2H), 3,18 (s, 3H); pureza 95%; EM (m/e): 458 (MH^+).

Ejemplo 13. N4-(3,4-Dihidro-2H-2,2-dimetil-5-pirido[1,4]oxazin-6-il)-N2-[3,4-dimetoxi-5-hidroxifenil]-5-fluoro-2,4-pirimidindiamina



RMN de ^{1}H (DMSO-d6): δ 8,92 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 8,02 (d, 1H, J = 3,5 Hz), 7,33 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 6,92 (d, 1H, J = 2,3 Hz), 6,88 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 6,78 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 6,56 (s, 1H), 3,63 (s, 3H), 3,59 (s, 3H), 3,12 (d, 1H, J = 2,3 Hz), 1,24 (s, 6H). CLEM: tiempo de retención: 9,36 min.; pureza: 97%; MS (m/e): 443 (MH^+).

Inhibición de desgranulado con mediación de receptor FcεRI

Se demuestra la capacidad de los compuestos de 2,4-pirimidindiamina de la invención inhibiendo el desgranulado inducido por IgE en una variedad de ensayos celulares con mastocitos humanos sometidos a cultivo (CHMC) y/(o células procedentes de médula ósea de ratón (BMMC). Se mide la inhibición del desgranulado a densidad celular tanto elevada como baja por medio de cuantificación de la liberación de triptasa de los factores específicos de gránulo, histamina y hexosaminidasa. La inhibición de la liberación y/o síntesis de mediadores de lípidos se evalúa por medio de medición de la liberación de leucotrieno LTC4 y se controla la inhibición de la liberación y/o síntesis de citocina por medio de la cuantificación de TNF-α, IL-6 e IL-13. Se cuantifican triptasa y hexosaminidas usando sustratos fluorogénicos como se describe en sus respectivos ejemplos. Se cuantifican histamina, TNFa, IL-6, IL-13 y LTC4 usando los siguientes kits comerciales de ELISA: histamina (Immunotech N.º: 2015, Beckman Coulter), TNFα (Biosource N.º: KHC 3011), IL-6 (Biosource N.º: KMC0061), IL-13 (Biosource N.º: KHC0132) y LTC4 (Cayman Chemical N.º: 520211). A continuación se proporcionan los protocolos de diversos ensayos.

Cultivo de mastocitos y células basófilas

Se someten a cultivo los mastocitos y células basófilas de células progenitoras CD34-negativas como se describe a continuación (véanse también los métodos descritos en la solicitud relacionad de EE.UU. N.º serie 10/053.355, presentada el 8 de noviembre de 2001, cuya descripción se incorpora por referencia en la presente memoria).

Preparación de medio completo STEMPRO-34

Preparando medio completo STEMPRO-34 ("CM"), se añadieron 250 ml de medio libre de suero STEMPRO-34™ ("SFM";GibcoBRL, N.º de Catálogo 10640) a un matraz con filtro. A esto, se añadieron 13 ml de Complemento de Nutrientes STEMPRO-34 ("NS"; GibcoBRL, N.º de Catálogo 10641) (preparado como se describe con más detalle, a continuación). Se lavó el recipiente NS con aproximadamente 10 ml de SFM y el lavado se añadió al matraz con filtro. Tras la adición de 5 ml de L-glutamina (200 mM; Mediatech, N.º de Catálogo MT 25-005-CI) y 5 ml de penicilina 100X/estreptomicina ("pen-strep"; HyClone, N.º de Catálogo SV30010), se llevó el volumen hasta 500 ml con SFM y se filtró la solución.

El aspecto más variable de la preparación de CM es el método por medio del que se descongela NS y se mezcla antes de la adición de SFM. Se debería descongelar NS en un baño de agua a 37 ºC y generar remolinos, sin agitación o movimiento vorticial, hasta que lograr la solución completa. Al tiempo que se generan remolinos, hay que apreciar si existen lípidos que todavía no están en la solución. Si están presentes lípidos y NS carece de aspecto uniforme, hay que volver al baño de agua y repetir el proceso de formación de remolinos, hasta lograr un aspecto uniforme. En ocasiones, el componente pasa a la solución de forma inmediata, en ocasiones tras un par de ciclos de formación de remolinos y a veces nada en absoluto. Si trascurridas un par de horas NS no está todavía en la solución, se descarta y se descongela una unidad nueva. NS que parece no uniforme tras la descongelación no se debería usar.

Expansión de células CD34+

Se expandió una población de partida de células CD34-positiva (CD34+)de un número relativamente pequeño (1-5 x 10^6 células) hasta un número relativamente grande de células progenitoras CD34-negativas (aproximadamente 2-4 x 10^9 células) usando el medio de cultivo y los métodos descritos a continuación. Se obtuvieron las células CD34+ (a partir de un donante individual) a partir de Allcells (Berkeley, CA). Debido a que existe un grado de variación en la calidad y número de células CD34+ que normalmente proporciona Allcells, se transfirieron las células nuevamente suministradas a un tubo cónico de 15 ml y se llevaron hasta 10 ml en CM antes de usar.

En el día 0, se llevó a cabo una cuenta celular de las células viables (fase-brillante) y se centrifugaron las células a 1200 rpm hasta sedimentar. Se resuspendieron las células hasta una densidad de 275.000 células/ml, contiendo CM 200 ng/ml de Factor de Células Madre Humanas recombinantes ("SCF"; Peprotech, N.º de Catálogo N.º: 300-07) y 20 ng/ml de ligando flt-3 humano (Peptrotech, N.º de Catálogo 300-19) ("medio CSM/SCF/flt-3"). Aproximadamente en el día 4 o 5, se comprobó la densidad del cultivo llevando a cabo una cuenta de células y se diluyó el cultivo hasta una densidad de 275.000 células/ml con medio CM/SCF/flt-3 nuevo. Aproximadamente en el día 7, se transfirió el cultivo a un tubo estéril y se llevó a cabo una cuenta de células. Se centrifugaron las células a 1200 rpm y se resuspendieron hasta una densidad de 275.000 células/ml con medio CM/SCF/flt-3 nuevo.

Se repitió este ciclo, comenzando en el día 0, un total de 3-5 veces durante el período de expansión.

Cuando el cultivo es grande y se mantiene en matraces múltiples y se tiene que someter a resuspensión, se combinan los contenidos de todos los matraces en un recipiente individual antes de llevar a cabo una cuenta de células. Esto garantiza que se consigue una cuenta de células precisa y se proporciona un grado de uniformidad del tratamiento de toda la población. Se comprueba por separado la contaminación de cada matraz al microscopio antes de combinar evitando la contaminación de toda la población.

Entre los días 17-24, el cultivo puede comenzar a decaer (es decir, aproximadamente 5-10% del número total de células muere) y se produce el fallo en cuanto a la expansión de forma rápida como sucede anteriormente. Posteriormente, se controlan las células en base diaria durante este tiempo, a medida que tiene lugar el fallo completo del cultivo en un período tan corto como 24 horas. Una vez que ha comenzado la decadencia, se cuentan las células, se centrifugan a 850 rpm durante 15 minutos y se resuspenden a una densidad de 350.000 células/ml en medio CM/SCF/flt-3 induciendo una o más divisiones del cultivo. Se controlan las células diariamente evitando el fallo del cultivo.

Cuando más del 15% de muerte celular resulta evidente en el cultivo de células progenitoras y se encuentran presentes algunos residuos en el cultivo, las células progenitoras CD34-negativas se encuentran listas para diferenciarse.

Diferenciación de células progenitoras CD34-negativas en mastocitos mucosales

Se lleva a cabo una segunda fase convirtiendo las células progenitoras CD34-negativas expandidas en mastocitos mucosales diferenciados. Estos mastocitos humanos cultivados mucosales ("CHMC") proceden de células CD34+ aisladas a partir de sangre procedente del cordón umbilical y se tratan formando una población proliferada de células progenitoras CD34-negativas, como se ha descrito anteriormente. Produciendo células progenitoras CD34-negativas, el ciclo de resuspensión del cultivo fue el mismo que se ha descrito anteriormente, exceptuando que se sembró el cultivo a una densidad de 425.000 células/ml y se añadió medio adicional al 15% aproximadamente el día cuatro o cinco sin llevar a cabo una cuenta de células. De igual forma, se modificó la composición de citocina del medio de manera que contuviera SCF (200 ng/ml) y IL-6 humana recombinante (200 ng/ml; Peprotech, N.º de

Catálogo 200-06 reconstituido hasta 100 µg/ml en ácido acético estéril 10 mM) ("medio CM/SCF/IL-6").

Se centrifugaron las fases I y II juntas aproximadamente 5 semanas. Durante las semanas 1-3 fueron evidentes algunos casos de muerte y residuos en el cultivo y existe un período durante las semanas 2-5, a lo largo del que un pequeño porcentaje del cultivo ya no se encuentra más en suspensión, sino que se une a la superficie del recipiente de cultivo.

Igual que durante la Fase I, cuando se tiene que resuspender el cultivo el día siete de cada ciclo, se combinan todos los contenidos de los matraces en un recipiente individual antes de llevar a cabo un cuenta de células con el fin de garantizar la uniformidad de toda la población. Se comprueba la contaminación de cada matraz por separado al microscopio antes de la combinación con el fin de evitar la contaminación de toda la población.

Cuando se combinan los matraces, se transfiere aproximadamente 75% del volumen al recipiente comunal, dejando aproximadamente 10 ml o similar en el matraz. Se sacudió de forma repentina y lateral el matraz que contenía el volumen que quedaba despegando las células unidas. Se repitió la sacudida con el ángulo correcto con respecto a la primera sacudida despegando completamente las células.

Se inclinó el matraz un ángulo de 45 grados durante un par de minutos antes de transferir el volumen que quedaba al recipiente de conteo. Se centrifugaron las células a 950 rpm durante 15 min antes de la siembra a 35-50 ml por matraz (a una densidad de 425.000 células/ml).

Diferenciación de células progenitoras CD34-negativas en mastocitos de tipo de tejido conectivo

Se prepara una población proliferada de células progenitoras CD34-negativas como se ha comentado anteriormente y se tratan formando un fenotipo triptasa/quimasa positivo (tejido conectivo). Se llevan a cabo los métodos como se describieron anteriormente para mastocitos mucosales, pero con la sustitución de IL-6 por IL-4 en el medio de cultivo. Las células obtenidas son típicas de mastocitos de tejido conectivo.

Diferenciación de células progenitoras CD34-negativas en células basófilas

Se prepara una población diferenciada de células progenitoras CD34-negativas como se ha descrito anteriormente y se usan formando una población proliferada de células basófilas. Se tratan las células CD34-negativas como se describió para los mastocitos mucosales, pero con la sustitución de IL-3 (a 20-50 ng/ml) por IL-6 en el medio de cultivo.

Activación de IgE de densidad celular baja de CHMC: ensayos de triptasa y LTC4

Duplicando placas de fondo con forma de U de 96 pocillos (Costar 3799) añadir 65 µl de diluciones de compuesto o muestras de control que se han preparado en MT [NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, $CaCl_2$ 1,8 mM, $MgCl_2$ 1,0 mM, Glucosa 5,6 mM, Hepes 20 mM (pH 7,4), seroalbúmina bovina al 0,1%, (Sigma A4503)] que contenía MeOH al 2% y DMSO al 1%. Se sedimentan células CHMC (980 rpm, 10 min.) y se resuspendieron en MT precalentado. Añadir 65 µl de células a cada placa de 96 pocillos. Dependiendo de la actividad de desgranulado para cada donante de CHMC particular, cargar 1000-1500 células/pocillo. Mezclar cuatro veces seguidas de incubación durante 1 hora a 37 ºC. Durante la incubación de 1 hora, preparar una solución de anti-IgE 6X [IgE anti-humano de conejo (1 mg/ml, Bethyl Laboratories A80-109A) diluido 1:167 en tampón de MT]. Estimular las células por medio de adición de 25 µl de solución anti-IgE 6X a las placas apropiadas. Añadir 25 µl de MT a los pocillos de control no estimulados. Mezclar dos veces tras la adición del anti-IgE. Incubar a 37 ºC durante 30 minutos. Durante la incubación de 30 minutos, diluir la solución madre de sustrato de triptasa de 20 mM [(Z-Ala-Lys-Arg-AMC2TFA; Enzyme Systems Products, N.º: AMC-246)] 1:2000 en tampón de ensayo de triptasa [Hepes 0,1 M (pH 7,5), glicerol al 10% peso/volumen, heparina 10 µM (Sigma H-4898) NaN_3 al 0,01 %]. Centrifugar las placas a 1000 rpm durante 10 minutos hasta sedimentar células. Transferir 25 µl de sobrenadante a un placa de 96 pocillos con fondo negro y añadir 100 µl de solución de sustrato de triptasa diluida de nuevo a cada pocillo. Incubar las placas a temperatura ambiente durante 30 minutos. Leer la densidad óptica de las placas a 355 nm/460 nm en un lector espectrométrico de placas.

También se cuantifica leucotrieno C4 (LTC4) usando un kit de ELISA sobre muestras de sobrenadante apropiadamente diluidas (determinadas empíricamente para cada población de células donantes de manera que la medición de la muestra caiga dentro de la curva estándar) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Activación de IgE de densidad célular alta de CHMC: ensayos de desgranulado (triptasa, histamina), leucotrieno (LTC4) y citocina (TNFalfa, IL-13)

Se sensibilizaron mastocitos humanos sometidos a cultivo (CHMC) durante 5 días con IL-4 (20 ng/ml), SCF (200 ng/ml), IL-6 (200 ng/ml) e IgE humana (CP 1035K de Cortx Biochem, 100-500 ng/ml dependiendo de la generación) en medio CM. Tras la sensibilización, se cuentan las células, se sedimentan (1000 rpm, 5-10 minutos) y se resuspenden a 1-2 x 10^6 células/ml en tampón MT. Añadir 100 µl de suspensión de células a cada pocillo y 100 µl de

diluciones de compuesto. La concentración final de vehículo es de 0,5 % de DMSO. Incubar a 37ºC (CO_2 al 5%) durante 1 hora. Tras 1 hora de tratamiento del compuesto, estimular las células con anti-IgE 6X. Mezclar los pocillos con las células y dejar incubar las placas a 37ºC (CO_2 al 5%) durante una hora. Tras 1 hora de incubación, sedimentar las células (10 minutos, 1000 rpm) y recoger 200 µl por pocillo del sobrenadante, teniendo precaución de no alterar el sedimento. Colocar la placa de sobrenadante en hielo. Durante la etapa de 7 horas (véase a continuación) llevar a cabo el ensayo de triptasa sobre el sobrenadante que se había diluido 1:500. Resuspender el sedimento de células en 240 µl de medio CM que contenía DMSO al 0,5% y la concentración de producto correspondiente. Incubar las células CHMC durante 7 horas a 37ºC (CO_2 al 5%). Tras la incubación, sedimentar las células (1000 rpm, 10 minutos) y recoger 225 µl por pocillo y se colocar a -80ºC hasta que se encuentren listas para llevar a cabo ELISA. Se llevan a cabo ELISA en muestras apropiadamente diluidas (determinadas empíricamente para cada población de células donantes de manera que la medición de muestra caiga dentro de la curva estándar) siguiendo las instrucciones del suministrador.

Inhibición de la cascada de receptor de IgE aguas arriba

Se llevan a cabo ensayos para el desgranulado de mastocitos inducido por ionomicina como se describe en los ensayos de Activación de IgE de Baja Densidad de CHMC, con la excepción de que durante 1 hora de incubación, se preparó una solución de ionomicina 6X [ionomicina 5 nM (Sigma 1-0634) en MeOH (reserva) diluida 1:416.7 en tampón TM (2 µM final)] y se estimularon las células por medio de la adición de 25 µl de solución de ionomicina 6X a las placas apropiadas.

Inhibición de cinasa Syks en los ensayos bioquímicos

Se somete a ensayo la capacidad de los compuestos inhibiendo la fosforilación de un sustrato de péptido catalizada por cinasa Syk en un ensayo bioquímico de polarización sometida a fluorescencia con cinasa Syk aislada. En este experimento, se diluyen los compuestos a DMSO al 1% en tampón de cinasa (HEPES 20 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 5 mM, $MnCl_2$ 2 mM, DTT 1 mM, 0,1 mg/ml de gamma globulina bovina acetilada). Se mezcla el compuesto en DMSO al 1% (DMSO al 0,2% final) con solución de ATP/sustrato a temperatura ambiente. Se añade cinasa Syk (Upstate, Lake Placid NY) hasta un volumen final de reacción de 20 µl y se incuba la reacción durante 30 minutos a temperatura ambiente. Las condiciones finales de la reacción de enzima fueron HEPES 20 mM, pH 7,4, MgCl2 5 mM, MnCl2 2 mM, DTT 1 mM, 0,1 mg/ml de gamma globulina bovina acetilada, 0,125 ng de Syk, ATP 4 µM, sustrato de péptido 2,5 µM (biotina-EQEDEPEGDYEEVLE-CONH2, SynPep Corporation). Se añade EDTA (10 nM finales)/anticuerpo anti-fosfotirosina (1X final)/trazador de fosfopéptido fluorescente (0,5X final) en Tampón de Dilución FP deteniendo la reacción para un volumen total de 40 µl de acuerdo con las instrucciones del fabricante (PanVera Corporation). Se incuba esta placa durante 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Se leen las placas en un lector de placas de polarización de fluorescencia Polarion (Tecan). Se convierten los datos a la cantidad de fosfopéptido presente usando una curva de calibración generada por medio de competición con el competidor de fosfopéptido proporcionado en el Kit de Ensayo de Tirosina Cinasa, Green (PanVera Corporation).

Cuando se sometió a ensayo LD Triptasa, se encontró que todos los compuestos de 3-hidroxifenil-2,4-pirimidindiamina de los Ejemplos 1-13 tenían una actividad menor que 5 µM en el ensayo, como se muestra en la Tabla 1 siguiente, en la que A indica una actividad menor que 1 µM y B indica una actividad menor que 5 µM. Además, los compuestos de 2-hidroxifenilo que se sometieron a ensayo con respecto a sus homólogos de 3,4,5-trimetoxifenilo mostraron entre aproximadamente 10 % y 500 % de potencia mejorada.

Tabla 1

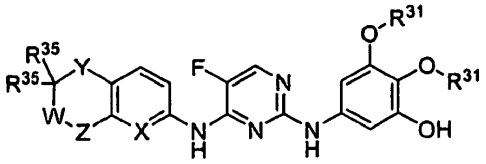
Ejemplo de Compuesto N.º	LD Triptasa, CHMC, IgE, 8 pt
1	A
2	A
3	A
4	A
5	A
6	A
7	B
8	A
9	B
10	B
11	A

12	A
13	A

Aunque la invención anterior se ha descrito con cierto detalle para facilitar la compresión, resulta evidente que se pueden poner en práctica determinados cambios y modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Por consiguiente, se considera que las realizaciones descritas son ilustrativas y no restrictivas y la invención no está limitada a los detalles dados en la presente memoria, sino que se puede modificar dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de acuerdo con la fórmula I:



I

o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos, N-óxidos, en la que:

Y está seleccionado entre el grupo que consiste en S, O, SO, SO_2 y $C(R^7)_2$;

cada R^{35} está seleccionado de forma independiente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo(C_1-C_4) y halo, o ambos R^{35} junto con el carbono al que están unidos forman un grupo carbonilo;

W está seleccionado entre el grupo que consiste en C=O, C=S, C=NH, $C(R^7)_2$ y NR^{37};

Z es C=O o NR^{37}, con la condición de que Z y W no sean ambos NR^{37} y con la condición de que cuando Z es C=O, entonces W es $(CR^7)_2$ o NR^{37};

X es CH o N;

cada R^{31} es de manera independiente alquilo (C_1-C_4) o ambos R^{31} juntos forman un grupo alquileno (C_1-C_2) opcionalmente sustituido con uno a dos grupos alquilo (C_1-C_4) o sustituido con un grupo espirocicloalquilo (C_3-C_7);

cada R^7 es de manera independiente hidrógeno o alquilo (C_1-C_4); y

R^{37} es hidrógeno o metilo opcionalmente sustituido con fenilo o piridilo,

en el que dicho fenilo o piridilo está opcionalmente sustituido con alcoxi (C_1-C_4).

2.- Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que Y es O o S; o en el que Y es O.

3.- Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que ambos R^{35} son iguales; o en el que ambos R^{35} son metilo.

4.- Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que W es C=O o C=S; o en el que W es C=O.

5.- Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que Z es NR^{37} y R^{37} es hidrógeno, metilo, 2-piridilmetilo o 4-metoxi-bencilo.

6.- Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que X es N; o en el que R^{31} es metilo.

7.- El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado entre el grupo que consiste en

5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[3-oxo-benzo[1,4]tiazin-b-il]-2,4-pirimidindiamina;

N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina;

N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benz[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina;

N4-[2,2-dimetil-3-oxo-pirid[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina;

5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[3-oxi-benz[1,4]oxazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina;

N4-[2,2-difluoro-3-oxo-benz[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina;

5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[3-oxo-4-(2-piridilmetil)-benz[1,4]oxazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina;

N4-(3,4-dihidro-2H-2,2-dimetil-5-pirido[1,4]oxazin-6-il)-N2-[3,4-dimetoxi-5-hidroxifenil]-5-fluoro-2,4-pirimidindiamina

5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-(1,3-(2H)-4,4-dimetilisoquinolindiona-7-il)-2,4-pirimidindiamina;

(R/S)-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[2-metil-3-oxo-4-(4-metoxibencil)-benz[1,4]oxazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina;

(R/S)-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-[2-metil-3-oxo-4-(4-metoxibencil)-benzo[1,4]tiazin-6-il]-2,4-pirimidindiamina;

5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-(2,2,4-trimetil-1,1,3-trioxi-benzo[1,4]tiazin-6-il)-2,4-pirimidindiamina; y

5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-N4-(4-metil-3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il)-2,4-pirimidindiamina; o

uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos.

8.- Un compuesto que es N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos.

9.- Un compuesto que es N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benzo[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos.

10.-Un compuesto que es N4-[2,2-dimetil-3-oxo-pirid[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos.

11.- Una composición que comprende un compuesto, uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y un vehículo, excipiente o diluyente.

12.- Un derivado de 2,4-pirimidindiamina que es un compuesto, uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en un método para inhibir la cascada de señalización de IgE de una célula que expresa un receptor de IgE; o

para su uso en un método para inhibir una cascada de transducción de señal de receptor de Fc en un sujeto, opcionalmente en el que el receptor de Fc está seleccionado entre FcαRI, FcγRI, FcγRIII y FcεRI; o

para su uso en un método para tratar una enfermedad que se caracteriza por desgranulado de mastocitos o células basófilas, que comprende administrar a un sujeto que sufre de una enfermedad tal una cantidad del derivado de 2,4-pirimidindiamina eficaz para tratar la enfermedad.

13.- N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos para su uso en un método para inhibir la cascada de señalización de IgE de una célula que expresa un receptor de IgE; o

para su uso en un método para inhibir una cascada de transducción de señal de receptor de Fc en un sujeto, opcionalmente en el que el receptor de Fc está seleccionado entre FcαRI, FcγRI, FcγRIII y FcεRI; o

para su uso en un método para tratar una enfermedad que se caracteriza por desgranulado de mastocitos o células basófilas, que comprende administrar a un sujeto que sufre de una enfermedad tal una cantidad del derivado de 2,4-pirimidindiamina eficaz para tratar la enfermedad.

14.- N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benzo[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos para su uso en un método de inhibir la cascada de señalización de IgE de una célula que expresa un receptor de IgE; o

para su uso en un método para inhibir una cascada de transducción de señal de receptor de Fc en un sujeto, opcionalmente en el que el receptor de Fc está seleccionado entre FcαRI, FcγRI, FcγRIII y FcεRI; o

para su uso en un método para tratar una enfermedad que se caracteriza por desgranulado de mastocitos o células basófilas, que comprende administrar a un sujeto que sufre de una enfermedad tal una cantidad del derivado de 2,4-pirimidindiamina eficaz para tratar la enfermedad.

15.- N4-[2,2-dimetil-3-oxo-pirid[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos para su uso en un método para inhibir la cascada de señalización de IgE de una célula que expresa un receptor de IgE; o

para su uso en un método para inhibir una cascada de transducción de señal de receptor de Fc en un sujeto, opcionalmente en el que el receptor de Fc está seleccionado entre FcαRI, FcγRI, FcγRIII y FcεRI; o

para su uso en un método para tratar una enfermedad que se caracteriza por desgranulado de mastocitos o células basófilas, que comprende administrar a un sujeto que sufre de una enfermedad tal una cantidad del derivado de 2,4-pirimidindiamina eficaz para tratar la enfermedad.

16.- Un derivado de 2,4-pirimidindiamina de acuerdo con la reivindicación 12, en el que la enfermedad es una enfermedad asociada a inflamación tisular, o en el que la enfermedad está mediada por cinasa Syk.

17.- Una 2,4-pirimidindiamina de acuerdo con la reivindicación 16, en la que la enfermedad asociada a inflamación tisular es síndrome del intestino irritable, colon espasmódico o enfermedad inflamatoria del intestino.

18.- Un derivado de 2,4-pirimidindiamina que es un compuesto, uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para su uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad autoinmunitaria en un sujeto, y/o de uno o más síntomas asociados a la misma, que comprende administrar al sujeto una cantidad del derivado de 2,4-pirimidindiamina eficaz para tratar o prevenir la enfermedad autoinmunitaria, opcionalmente en el que la enfermedad autoinmunitaria está seleccionada entre enfermedades autoinmunitarias que están designadas frecuentemente como trastornos autoinmunitarios de tipo órgano individual o de tipo célula individual y una enfermedad autoinmunitaria que está designada frecuentemente como implicando un trastorno autoinmunitario sistémico.

19.- N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benzo[1,4]tiazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos para su uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad autoinmunitaria en un sujeto, y/o de uno o más síntomas asociados a la misma, que comprende administrar al sujeto una cantidad del derivado 2,4-pirimidindiamina eficaz para tratar o prevenir la enfermedad autoinmunitaria, opcionalmente en el que la enfermedad autoinmunitaria está seleccionada entre enfermedades autoinmunitarias que están designadas frecuentemente como trastornos autoinmunitarios de tipo órgano individual o de tipo célula individual y una enfermedad autoinmunitaria que está designada frecuentemente como implicando un trastorno autoinmunitario sistémico.

20.- N4-[2,2-dimetil-3-oxo-benz[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos para su uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad autoinmunitaria en un sujeto, y/o de uno o más síntomas asociados a la misma, que comprende administrar al sujeto una cantidad del derivado 2,4-pirimidindiamina eficaz para tratar o prevenir la enfermedad autoinmunitaria, opcionalmente en el que la enfermedad autoinmunitaria está seleccionada entre enfermedades autoinmunitarias que están designadas frecuentemente como trastornos autoinmunitarios de tipo órgano individual o de tipo célula individual y una enfermedad autoinmunitaria que está designada frecuentemente como implicando un trastorno autoinmunitario sistémico.

21.- N4-[2,2-dimetil-3-oxo-pirid[1,4]oxazin-6-il]-5-fluoro-N2-(3-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-2,4-pirimidindiamina o uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos para su uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad autoinmunitaria en un sujeto, y/o de uno o más síntomas asociados a la misma, que comprende administrar al sujeto una cantidad del derivado 2,4-pirimidindiamina eficaz para tratar o prevenir la enfermedad autoinmunitaria, opcionalmente en el que la enfermedad autoinmunitaria está seleccionada entre enfermedades autoinmunitarias que están designadas frecuentemente como trastornos autoinmunitarios de tipo órgano individual o de tipo célula individual y una enfermedad autoinmunitaria que está designada frecuentemente como implicando un trastorno autoinmunitario sistémico.

22.- El uso de un derivado de 2,4-pirimidindiamina que es un compuesto, uno de sus estereoisómeros, sales, hidratos, solvatos o N-óxidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para la fabricación de un medicamento para su uso en un método según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 21.