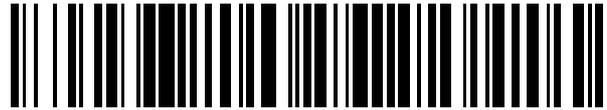


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 215**

51 Int. Cl.:

A61K 31/52 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
C07D 253/06 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
C07D 473/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.03.2008 E 08744513 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015 EP 2139487**

54 Título: **Inhibidores de la tirosina quinasa de Bruton**

30 Prioridad:

28.03.2007 US 692870
26.12.2007 US 964285
27.12.2007 US 17125 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.03.2016

73 Titular/es:

PHARMACYCLICS LLC (100.0%)
995 East Arques Avenue
Sunnyvale, CA 94085, US

72 Inventor/es:

HONIGBERG, LEE;
VERNER, ERIK;
BUGGY, JOSEPH J.;
LOURY, DAVID y
CHEN, WEI

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 562 215 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de la tirosina quinasa de Bruton

Campo de la invención

5 En la presente memoria se describen compuestos inhibidores de quinasa irreversibles, métodos para sintetizar dichos inhibidores irreversibles, y compuestos para uso como inhibidores irreversibles en el tratamiento de enfermedades. En la presente memoria se describen además métodos, ensayos y sistemas para determinar un inhibidor irreversible apropiado de una proteína, incluyendo una quinasa.

Antecedentes de la invención

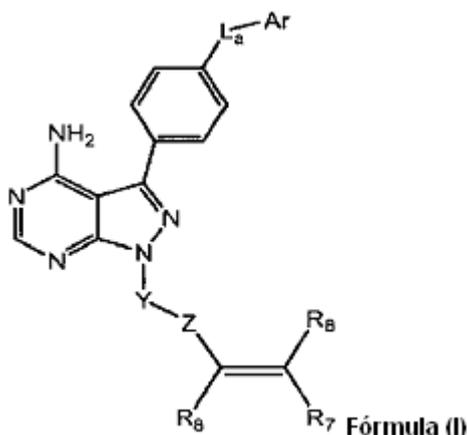
10 Una quinasa, alternativamente conocida como fosfotransferasa, es un tipo de enzima que transfiere grupos fosfato de moléculas donantes de alta energía, tal como ATP, a moléculas diana específicas; el proceso se denomina fosforilación. Las proteínas quinasas, que actúan sobre y modifican la actividad de proteínas específicas, se usan para transmitir señales y controlar procesos complejos en las células. En los seres humanos se han identificado hasta 518 quinasas diferentes. Su enorme diversidad y papel en la señalización las hace dianas atractivas para el diseño de fármacos.

Resumen de la invención

15 En la presente memoria se describen inhibidores de la tirosina quinasa de Bruton (Btk). También se describen en la presente memoria inhibidores irreversibles de Btk. Además se describen inhibidores irreversibles de Btk que forman un enlace covalente con un residuo de cisteína en Btk. Además se describen en la presente memoria inhibidores irreversibles de otras tirosina quinasas, en las que las otras tirosina quinasas comparten homología con Btk al tener un residuo de cisteína (incluyendo un residuo Cys 481) que forma un enlace covalente con el inhibidor irreversible (dichas tirosina quinasas, se refieren en la presente memoria como "homólogos de cisteína de la tirosina quinasa Btk"). También se describen en la presente memoria inhibidores irreversibles de tirosina quinasas que tienen un residuo de cisteína accesible cerca de un sitio activo de la tirosina quinasa (referidas en la presente memoria como "Quinasas con Cisteína Accesible" o ACK). También se describen en la presente memoria inhibidores irreversibles de cualquiera de las tirosina quinasas mencionadas anteriormente, en el que el inhibidor irreversible incluye un resto aceptor de Michael. Además se describen dichos inhibidores irreversibles en los que el resto aceptor de Michael forma preferiblemente un enlace covalente con el residuo de cisteína apropiado en la tirosina quinasa deseada relativa para formar un enlace covalente con otras moléculas biológicas que contienen un resto SH accesible. También se describen en la presente memoria métodos para sintetizar dichos inhibidores irreversibles, métodos para usar dichos inhibidores irreversibles en el tratamiento de enfermedades (incluyendo enfermedades en las que la inhibición irreversible de Btk proporciona un beneficio terapéutico a un paciente que tiene la enfermedad). Además se describen formulaciones farmacéuticas que incluyen un inhibidor irreversible de Btk.

20 Los compuestos descritos en la presente memoria incluyen aquellos que tienen una estructura de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), y sales solvatos, ésteres, ácidos y profármacos farmacéuticamente aceptables de éstos. En determinadas realizaciones, también se describen los isómeros y formas químicamente protegidas de compuestos que tienen una estructura representada por cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII).

En un aspecto, en la presente memoria se describen compuestos de Fórmula (I). La Fórmula (I) es como sigue:



en la que

L_a es CH_2 , O, NH o S;

Ar es un arilo sustituido o no sustituido, o un heteroarilo sustituido o no sustituido; y bien

- 5 (a) Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileno y alquilenheterocicloalquileno;

Z es $C(=O)$, $NHC(=O)$, $NR^aC(=O)$, $NR^aS(=O)_x$, en el que x es 1 ó 2, y R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido; y bien

(i) R_7 y R_8 son H;

- 10 R_6 es H, alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_{1-8} , hidroxialquilaminoalquilo C_{1-8} , alcoxialquilaminoalquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, alquil C_{1-8} cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_{2-8} sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil C_{1-4} (arilo), alquil C_{1-4} (heteroarilo), alquiléteres C_{1-8} , alquilamidas C_{1-8} , o alquil C_{1-4} (heterocicloalquilo C_{2-8});

(ii) R_6 y R_8 son H;

- 15 R_7 es H, alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_{1-8} , hidroxialquilaminoalquilo C_{1-8} , alcoxialquilaminoalquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, alquil C_{1-8} cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_{2-8} sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil C_{1-4} (arilo), alquil C_{1-4} (heteroarilo), alquiléteres C_{1-8} , alquilamidas C_{1-8} , o alquil C_{1-4} (heterocicloalquilo C_{2-8}); o

- 20 (iii) R_7 y R_8 tomados conjuntamente forman un enlace;

R_6 es H, alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_{1-8} , hidroxialquilaminoalquilo C_{1-8} , alcoxialquilaminoalquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, alquil C_{1-8} cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_{2-8} sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil C_{1-4} (arilo), alquil C_{1-4} (heteroarilo), alquiléteres C_{1-8} , alquilamidas C_{1-8} , o alquil C_{1-4} (heterocicloalquilo C_{2-8}); o

- 25

(b) Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de cicloalquileno o heterocicloalquileno;

Z es $C(=O)$, $NHC(=O)$, $NR^aC(=O)$, $NR^aS(=O)_x$, en el que x es 1 ó 2, y R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido; y bien

(i) R_7 y R_8 son H;

- 30 R_6 es heteroalquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, hidroxialquilaminoalquilo C_{1-8} , alcoxialquilaminoalquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, alquil C_{1-8} cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_{2-8} sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil C_{1-4} (arilo), alquil C_{1-4} (heteroarilo), alquiléteres C_{1-8} , alquilamidas C_{1-8} , o alquil C_{1-4} (heterocicloalquilo C_{2-8});

(ii) R_6 y R_8 son H;

- 35 R_7 es heteroalquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, hidroxialquilaminoalquilo C_{1-8} , alcoxialquilaminoalquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, alquil C_{1-8} cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_{2-8} sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil C_{1-4} (arilo), alquil C_{1-4} (heteroarilo), alquiléteres C_{1-8} , alquilamidas C_{1-8} , o alquil C_{1-4} (heterocicloalquilo C_{2-8}); o

(iii) R_7 y R_8 tomados conjuntamente forman un enlace;

- 40 R_6 es alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_{1-8} , hidroxialquilaminoalquilo C_{1-8} , alcoxialquilaminoalquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, alquil C_{1-8} cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_{2-8} sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil C_{1-4} (arilo), alquil C_{1-4} (heteroarilo), alquiléteres C_{1-8} , alquilamidas C_{1-8} , o alquil C_{1-4} (heterocicloalquilo C_{2-8}); y

- 45 sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

Un compuesto según la invención es un compuesto de Fórmula (I), en la que:

L_a es O;

Ar es fenilo;

Y es alquilenheterocicloalquileno;

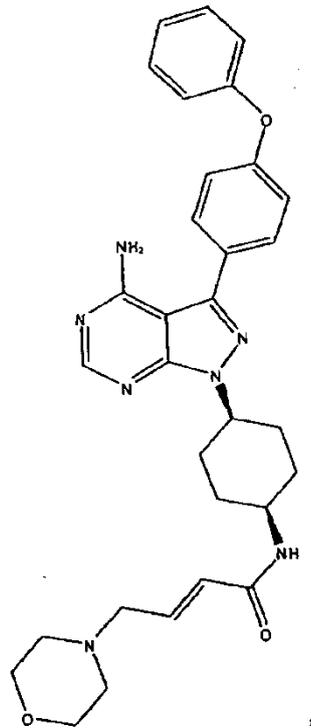
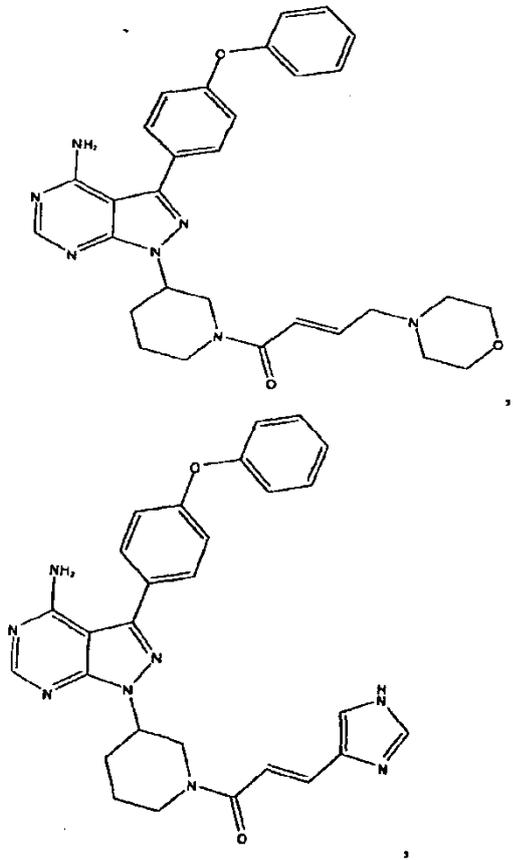
Z es C(=O), NHC(=O), NR^aC(=O), o NR^aS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2, y R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido;

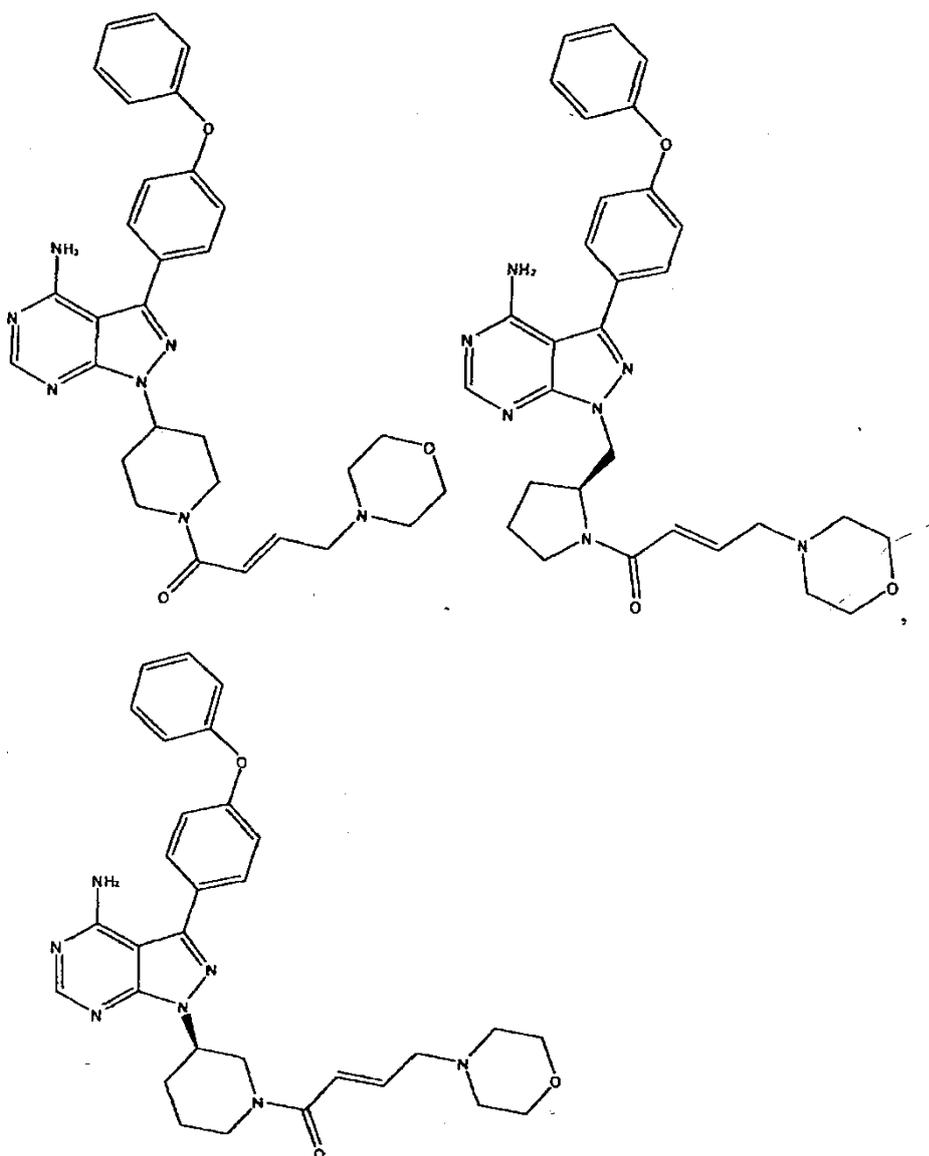
5 y:

R₆ y R₈ son H; y

10 R₇ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); o

un compuesto seleccionado de:





o una sal farmacéuticamente aceptable de éstos.

- 5 En otra realización se describen sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (I). Sólo como ejemplo, son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un anión, tales como adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluensulfonato, undecanoato, y valerato. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión un catión, tal como cationes sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, amonio, y amonio cuaternario (sustituido con al menos un resto orgánico).
- 10
- 15

En otra realización son ésteres farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (I), incluyendo aquellos en los que el grupo éster se selecciona de un formato, acetato, propionato, butirato, acrilato y etilsuccinato.

- 20 En otra realización son carbamatos farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (I). En otra realización son derivados N-acilo farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (I). Los ejemplos de grupos N-acilo incluyen grupos N-acetilo y N-etoxicarbonilo.

Para cualquiera y todas las realizaciones, los sustituyentes se seleccionan opcionalmente de entre un subconjunto de las alternativas listadas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, L_a es CH_2 , O, o NH. En otras realizaciones, L_a es O o NH. En otras realizaciones más, L_a es O.

5 En algunas realizaciones, Ar es un arilo sustituido o no sustituido. En otras realizaciones más, Ar es un arilo de 6 miembros. En algunas otras realizaciones, Ar es fenilo.

En algunas realizaciones, x es 2. En otras realizaciones más, Z es $\text{C}(=\text{O})$, $\text{OC}(=\text{O})$, $\text{NHC}(=\text{O})$, $\text{S}(=\text{O})_x$, $\text{OS}(=\text{O})_x$, o $\text{NHS}(=\text{O})_x$. En algunas otras realizaciones, Z es $\text{C}(=\text{O})$, $\text{NHC}(=\text{O})$, o $\text{NCH}_3\text{C}(=\text{O})$.

En algunas realizaciones Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileo, heteroalquileo, arileno, heteroarileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, y alquilenheterocicloalquileo.

10 En algunas realizaciones, Z es $\text{C}(=\text{O})$, $\text{NHC}(-\text{O})$, $\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})$, $\text{NR}^a\text{S}(=\text{O})_x$, en el que x es 1 ó 2, y R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido.

En algunas realizaciones, R_7 y R_8 son H; y R_6 es H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, hidroxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alcoxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_8$ cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (arilo), alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heteroarilo), alquiléteres $\text{C}_1\text{-C}_8$, alquilamidas $\text{C}_1\text{-C}_8$, o alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$). En otras realizaciones, R_6 y R_8 son H; y R_7 es H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, hidroxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alcoxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_8$ cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (arilo), alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heteroarilo), alquiléteres $\text{C}_1\text{-C}_8$, alquilamidas $\text{C}_1\text{-C}_8$, o alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$). En más realizaciones adicionales, R_7 y R_8 tomados conjuntamente forman un enlace; y R_6 es H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, hidroxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alcoxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_8$ cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (arilo), alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heteroarilo), alquiléteres $\text{C}_1\text{-C}_8$, alquilamidas $\text{C}_1\text{-C}_8$, o alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$).

15
20
25

En algunas realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de cicloalquileo o heterocicloalquileo.

30 En algunas realizaciones, Z es $\text{C}(=\text{O})$, $\text{N-HC}(=\text{O})$, $\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})$, $\text{NR}^a\text{S}(=\text{O})_x$, en el que x es 1 ó 2, y R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido.

En algunas realizaciones, R_7 y R_8 son H; y R_6 es heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, hidroxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alcoxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_8$ cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (arilo), alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heteroarilo), alquiléteres $\text{C}_1\text{-C}_8$, alquilamidas $\text{C}_1\text{-C}_8$, o alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$). En otras realizaciones, R_6 y R_8 son H; y R_7 es heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, hidroxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alcoxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_8$ cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (arilo), alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heteroarilo), alquiléteres $\text{C}_1\text{-C}_8$, alquilamidas $\text{C}_1\text{-C}_8$, o alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$). En realizaciones adicionales, R_7 y R_8 tomados conjuntamente forman un enlace; y R_6 es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, hidroxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alcoxialquilaminoalquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_8$ cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (arilo), alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heteroarilo), alquiléteres $\text{C}_1\text{-C}_8$, alquilamidas $\text{C}_1\text{-C}_8$, o alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$).

35
40
45

Cualquier combinación de los grupos descritos anteriormente para las distintas variables se contempla en la presente memoria.

En un aspecto es un compuesto seleccionado de entre:

50 (E)-4-(N-(2-hidroxietil)-N-metilamino)-1-(3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)but-2-en-1-ona (Compuesto 3); (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)-3-(1H-imidazol-4-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 4); (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 5); (E)-1-(4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto 7); (E)-N-((1s,4s)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)-4-(dimetilamino)but-2-enamida (Compuesto 8); N-((1r,4r)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)acrilamida (Compuesto 10); (E)-1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-

55

pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto **11**); (*E*)-1-((*S*)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto **12**); 1-((*R*)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto **13**); 1-((*S*)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto **14**); 1-((*R*)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)but-2-in-1-ona (Compuesto **15**); 1-((*S*)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)but-2-in-1-ona (Compuesto **16**); 1-((*R*)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)but-2-in-1-ona (Compuesto **17**); (*E*)-*N*-((1*r*,4*r*)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)ciclohexil-4-(dimetilamino)but-2-enamida (Compuesto **18**); *N*-(2-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)etil)-*N*-metilacrilamida (Compuesto **19**); (*E*)-1-(4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto **20**); (*E*)-1-((*S*)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto **21**); *N*-((1*s*,4*s*)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)ciclohexil)but-2-inamida (Compuesto **22**); *N*-(2-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)etil)acrilamida (Compuesto **23**); (*E*)-1-((*R*)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto **24**); (*E*)-*N*-((1*s*,4*s*)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)ciclohexil)-4-morfolinobut-2-enamida (Compuesto **25**).

En un aspecto adicional se proporcionan composiciones farmacéuticas, que incluyen una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos uno de los compuestos reivindicados en la presente memoria, o una sal farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, las composiciones proporcionadas en la presente memoria incluyen además un diluyente, excipiente y/o aglutinante farmacéuticamente aceptable.

Se proporcionan composiciones farmacéuticas formuladas para administración por una ruta y medios apropiados que contienen concentraciones efectivas de uno o más de los compuestos proporcionados en la presente memoria, o derivados farmacéuticamente efectivos de éstos, que administran cantidades efectivas para el tratamiento, prevención, o mejora de uno o más síntomas de enfermedades, trastornos o afecciones que se modulan o afectan de otra forma por la actividad tirosina quinasa, o en las que está implicada la actividad tirosina quinasa. Las cantidades y concentraciones efectivas son efectivas para mejorar cualquiera de los síntomas de cualquiera de las enfermedades, trastornos o afecciones descritos en la presente memoria.

En determinadas realizaciones, en la presente memoria se proporciona una composición farmacéutica que contiene: i) un vehículo, diluyente, y/o excipiente fisiológicamente aceptable; y ii) uno o más compuestos reivindicados en la presente memoria.

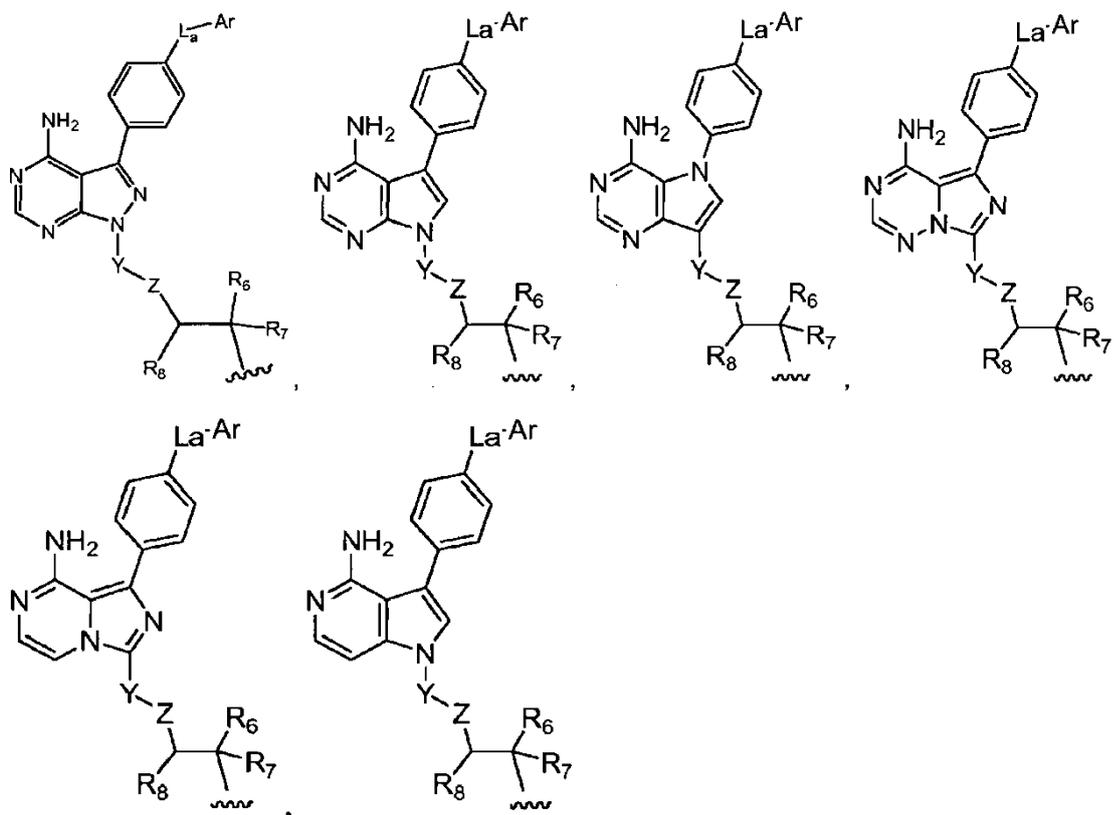
En un aspecto, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en métodos para tratar a un paciente. En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para inhibir la actividad de tirosina quinasa(s), tal como Btk, o para tratar una enfermedad, trastorno, o afección, que se beneficia de la inhibición de tirosina quinasa(s), tal como Btk, en un paciente.

En algunas realizaciones, los compuestos proporcionados en la presente memoria se administran a un ser humano. En algunas realizaciones, los compuestos proporcionados en la presente memoria se administran oralmente. En otras realizaciones, la formulación farmacéutica que se formula para una ruta de administración se selecciona de administración oral, administración parenteral, administración bucal, administración nasal, administración tópica, o administración rectal.

En otras realizaciones, los compuestos proporcionados en la presente memoria se usan para la formulación de un medicamento para la inhibición de actividad tirosina quinasa. En algunas otras realizaciones, los compuestos proporcionados en la presente memoria se usan para la formulación de un medicamento para la inhibición de la actividad de la tirosina quinasa de Bruton (Btk).

Se proporcionan artículos de fabricación que incluyen material de envasado, un compuesto o composición o derivado farmacéuticamente aceptable de éste según se reivindica en la presente memoria, que es efectivo para inhibir la actividad de tirosina quinasa(s), tal como Btk, en el material de envasado, y una etiqueta que indica que el compuesto o composición, o sal farmacéuticamente aceptable de éste, se usa para inhibir la actividad de tirosina quinasa(s), tal como Btk.

En otro aspecto, son tirosina quinasa inhibidas que comprenden una tirosina quinasa de Bruton, un homólogo de la tirosina quinasa de Bruton, o un homólogo de cisteína de tirosina quinasa Btk de éste unido covalentemente a un inhibidor que tiene las estructuras:



en el que ~~~~~ indica el punto de unión entre el inhibidor y la tirosina quinasa. En una realización adicional, el inhibidor está unido covalentemente a un residuo de cisteína en la tirosina quinasa.

- 5 En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar una enfermedad autoinmune mediante la administración a un sujeto que lo necesita de una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un compuesto que tiene la estructura de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). En una realización, la enfermedad autoinmune es artritis. En otra realización, la enfermedad autoinmune es lupus. En algunas realizaciones, la enfermedad autoinmune es enfermedad inflamatoria del intestino (incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), artritis reumatoide, artritis psoriásica, osteoartritis, enfermedad de Still, artritis juvenil, lupus, diabetes, miastenia grave, tiroiditis de Hashimoto, tiroiditis de Ord, enfermedad de Graves, síndrome de Sjögren, esclerosis múltiple, síndrome de Guillain-Barré, encefalomiелitis aguda diseminada, enfermedad de Addison, síndrome de opoclonus-mioclonus, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, anemia aplásica, hepatitis autoinmune, enfermedad celíaca, síndrome de Goodpasture, púrpura trombocitopénica idiopática, neuritis óptica, escleroderma, cirrosis biliar primaria, síndrome de Reiter, arteritis de Takayasu, arteritis temporal, anemia hemolítica caliente autoinmune, granulomatosis de Wegener, psoriasis, alopecia universalis, enfermedad de Behçet, fatiga crónica, disautonomía, endometriosis, cistitis intersticial, neuromiotonía, escleroderma, o vulvodinia.
- 10
- 15
- 20 En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar una afección o enfermedad heteroinmune. En algunas realizaciones, la afección o enfermedad heteroinmune es enfermedad de injerto frente a huésped, trasplante, transfusión, anafilaxis, alergia, hipersensibilidad tipo I, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica, o dermatitis atópica.

- 25 En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar una enfermedad inflamatoria. En algunas realizaciones, la enfermedad inflamatoria es asma, enfermedad inflamatoria del intestino (incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), apendicitis, blefaritis, bronquiolitis, bronquitis, bursitis, cervicitis, colangitis, colecistitis, colitis, conjuntivitis, cistitis, dacrioadenitis, dermatitis, dermatomiositis, encefalitis, endocarditis, endometritis, enteritis, enterocolitis, epicondilitis, epididimitis, fasciitis, fibrositis, gastritis, gastroenteritis, hepatitis, hidradenitis supurativa, laringitis, mastitis, meningitis, mielitis miocarditis, miositis, nefritis, ooforitis, orquitis, osteitis, otitis, pancreatitis, parotitis, pericarditis, peritonitis, faringitis, pleuritis, flebitis, neumonitis, neumonía, proctitis, prostatitis, pielonefritis, rinitis, salpingitis, sinusitis, estomatitis, sinovitis, tendónitis, amigdalitis, uveitis, vaginitis, vasculitis, o vulvitis.
- 30

En otro aspecto más, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar un cáncer. En una realización, el cáncer es un trastorno proliferativo de células B, por ejemplo,

5 linfoma de células B grandes difuso, linfoma folicular, linfoma linfocítico crónico, leucemia linfocítica crónica, leucemia prolinfocítica de células B, linfoma linfoplasmacítico/macroglobulinemia de Waldenström, linfoma de la zona esplénica marginal, mieloma de células plasmáticas, plasmacitoma, linfoma de células B de la zona extranodal marginal, linfoma de células B de la zona nodal marginal, linfoma de células del manto, linfoma de células B grandes del mediastino (tímico), linfoma de células B grandes intravascular, linfoma de efusión primaria, linfoma/leucemia de Burkitt, o granulomatosis linfomatoide. En algunas realizaciones, en las que el sujeto padece un cáncer, se administra un agente anti-cáncer al sujeto además de uno de los compuestos mencionados anteriormente. En una realización, el agente anti-cáncer es un inhibidor de la señalización de la proteína quinasa activada por mitógeno, por ejemplo, U0126, PD98059, PD184352, PD0325901, ARRY-142886, SB239063, SP600125, BAY 43-9006, wortmanina, o LY294002.

10 En otro aspecto, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar un trastorno tromboembólico. En algunas realizaciones, el trastorno tromboembólico es infarto de miocardio, angina de pecho, reoclusión después de angioplastia, restenosis después de angioplastia, reoclusión después de bypass aortocoronario, restenosis después de bypass aortocoronario, ictus, isquemia transitoria, un trastorno oclusivo arterial periférico, embolismo pulmonar, o trombosis venosa profunda.

15 En otro aspecto, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar una mastocitosis.

En otro aspecto más, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar una osteoporosis o trastornos de resorción ósea.

20 En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar lupus. En una realización, el compuesto forma un enlace covalente con la forma activada de la tirosina quinasa de Bruton. En realizaciones adicionales o alternativas, el compuesto inhibe irreversiblemente la tirosina quinasa de Bruton a la que se une covalentemente. En una realización adicional o alternativa, el compuesto forma un enlace covalente con un residuo de cisteína en la tirosina quinasa de Bruton.

25 En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar una afección o enfermedad heteroinmune. En una realización, el compuesto forma un enlace covalente con la forma activada de la tirosina quinasa de Bruton. En realizaciones adicionales o alternativas, el compuesto inhibe irreversiblemente la tirosina quinasa de Bruton a la que se une covalentemente. En una realización adicional o alternativa, el compuesto forma un enlace covalente con un residuo de cisteína en la tirosina quinasa de Bruton.

30 En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar una enfermedad inflamatoria. En una realización, el compuesto forma un enlace covalente con la forma activada de la tirosina quinasa de Bruton. En realizaciones adicionales o alternativas, el compuesto inhibe irreversiblemente la tirosina quinasa de Bruton al que se une covalentemente. En una realización adicional o alternativa, el compuesto forma un enlace covalente con un residuo de cisteína en la tirosina quinasa de Bruton.

35 En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar linfoma de células B grandes difuso, linfoma folicular o leucemia linfocítica crónica. En una realización, el compuesto forma un enlace covalente con la forma activada de la tirosina quinasa de Bruton. En realizaciones adicionales o alternativas, el compuesto inhibe irreversiblemente la tirosina quinasa de Bruton a la que se une covalentemente. En una realización adicional o alternativa, el compuesto forma un enlace covalente con un residuo de cisteína en la tirosina quinasa de Bruton.

40 En otro aspecto más, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar mastocitosis mediante la administración a un sujeto que lo necesita de una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína de una tirosina quinasa de Bruton u homólogo de tirosina de Bruton. En una realización, el compuesto forma un enlace covalente con la forma activada de la tirosina quinasa de Bruton. En realizaciones adicionales o alternativas, el compuesto inhibe irreversiblemente la tirosina quinasa de Bruton a la que se une covalentemente. En una realización adicional o alternativa, el compuesto forma un enlace covalente con un residuo de cisteína en la tirosina quinasa de Bruton.

45 En otro aspecto, en la presente memoria se proporciona un compuesto según se reivindica para uso en un método para tratar una osteoporosis o trastornos de resorción ósea mediante la administración a un sujeto que lo necesita de una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína de una tirosina quinasa de Bruton u homólogo de tirosina de Bruton. En una realización, el compuesto forma un enlace covalente con la forma activada de la tirosina quinasa de Bruton. En realizaciones adicionales o alternativas, el compuesto inhibe irreversiblemente la tirosina quinasa de Bruton a la que se une covalentemente. En una realización adicional o alternativa, el compuesto forma un enlace covalente con un residuo de cisteína en la tirosina quinasa de Bruton.

Además en la presente memoria se describen métodos, ensayos y sistemas para identificar un inhibidor irreversible de una quinasa, incluyendo una proteína quinasa, incluyendo además una tirosina quinasa. Además se describen métodos, ensayos y sistemas para determinar un inhibidor irreversible apropiado de una quinasa, incluyendo una tirosina quinasa, en el que el inhibidor forma un enlace covalente con un residuo de cisteína en la quinasa, además en el que el residuo de cisteína está cerca de un sitio activo de la quinasa. En realizaciones adicionales, el inhibidor también tiene un resto que se une a un sitio activo de la quinasa. En algunas realizaciones, las quinasa comparten homología con Btk al tener un residuo de cisteína (incluyendo un residuo Cys 481) que forma un enlace covalente con el inhibidor irreversible (dichas tirosina quinasa, se refieren en la presente memoria como "homólogos de cisteína de la quinasa Btk"). En algunas realizaciones, el o los homólogos de cisteína de la quinasa Btk se seleccionan de la familia de quinasa Tec, la familia de quinasa EGFR, la familia de quinasa Jak3 y/o la familia de quinasa Btk-Src.

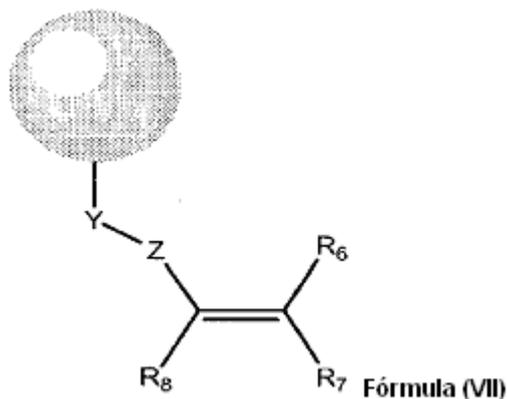
En algunas realizaciones, el inhibidor irreversible es un inhibidor irreversible selectivo, incluyendo selectividad para un homólogo de cisteína de quinasa Btk particular sobre otros homólogos de cisteína de la quinasa Btk. En algunas realizaciones, el inhibidor selectivo e irreversible es un inhibidor efectivo para una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk, pero no es un inhibidor efectivo para al menos una otra quinasa diferente seleccionada de quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk.

En la presente memoria también se describen inhibidores de quinasa que se unen selectivamente e irreversiblemente a una proteína tirosina quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk, en el que el inhibidor de quinasa se une reversiblemente y no selectivamente a una multiplicidad de proteínas tirosina quinasa. En una realización, la vida media plasmática del inhibidor de quinasa es menor de aproximadamente 4 horas. En otra realización, la vida media plasmática del inhibidor de quinasa es menor de aproximadamente 3 horas.

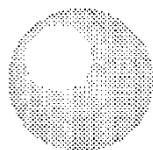
En una realización adicional son inhibidores de quinasa que se unen selectivamente e irreversiblemente al menos a una de Btk, Jak3, Blk, Bmx, Tec, e Itk. En otra realización son inhibidores de quinasa que se unen selectivamente e irreversiblemente a Btk. En otra realización son inhibidores de quinasa que se unen selectivamente e irreversiblemente a Jak3. En otra realización son inhibidores de quinasa que se unen selectivamente e irreversiblemente a Tec. En otra realización son inhibidores de quinasa que se unen selectivamente e irreversiblemente a Itk. En otra realización son inhibidores de quinasa que se unen selectivamente e irreversiblemente a Btk y Tec. En otra realización son inhibidores de quinasa que se unen selectivamente e irreversiblemente a Blk. En aún una realización adicional son inhibidores de quinasa que se unen reversiblemente y no selectivamente a una multiplicidad de inhibidores de proteína quinasa de la familia src.

En la presente memoria también se describen inhibidores irreversibles que se identifican usando dichos métodos, ensayos y sistemas. Dicho inhibidor irreversible comprende un resto de unión a sitio activo que se une a un sitio activo de una quinasa, incluyendo una tirosina quinasa, incluyendo además un homólogo de cisteína de la quinasa Btk; un resto aceptor de Michael; y un resto que une el resto de unión a sitio activo con el resto aceptor de Michael. En algunas realizaciones, el resto aceptor de Michael comprende un resto alqueno y/o alquino. En algunas realizaciones, el inhibidor irreversible es un inhibidor irreversible selectivo, incluyendo selectividad para un homólogo de cisteína de la quinasa Btk particular sobre otros homólogos de cisteína de la quinasa Btk.

Los inhibidores irreversibles podrían tener la estructura de Fórmula (VII):



en la que:



en la que es un resto que se une al sitio activo de una quinasa, incluyendo una tirosina quinasa, incluyendo además un homólogo de cisteína de la quinasa Btk;

5 Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, heterocicloalquileno, cicloalquileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileno, y alquilenheterocicloalquileno;

Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), NCH₃C(=O), C(=S), S(=O)_x, OS(=O)_x, NHS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2;

R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquiloC₁-C₄ no sustituido, alquiloC₁-C₄ sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ no sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₆ no sustituido, y heterocicloalquiloC₂-C₆ sustituido; o

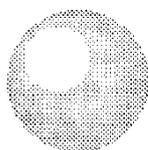
10 R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace;

R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxilquiloC₁-C₆, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxilalquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₁-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquilC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₈), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); y metabolitos farmacéuticamente activos, o solvatos farmacéuticamente aceptables, sales farmacéuticamente aceptables, o profármacos farmacéuticamente aceptables de éstos.

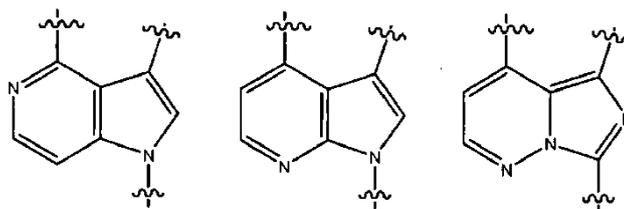
20 En otra realización se describen sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (VII). Sólo como ejemplo, son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un anión, tales como adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluensulfonato, undecanoato, y valerato. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un catión, tales como cationes sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, amonio, y amonio cuaternario (sustituido con al menos un resto orgánico).

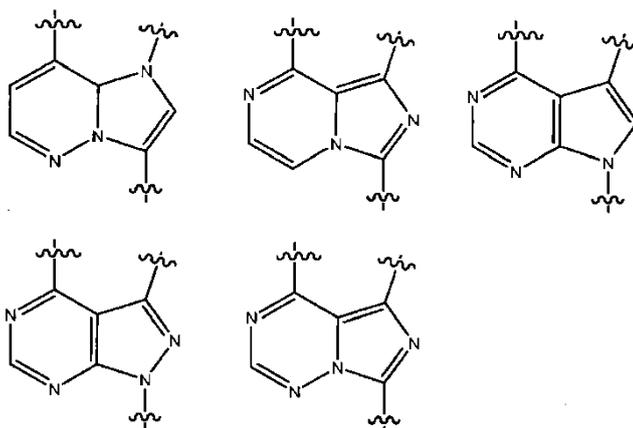
30 En otra realización son ésteres farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (VII), incluyendo aquellos en los que el grupo éster se selecciona de un formato, acetato, propionato, butirato, acrilato y etilsuccinato.

En otra realización son carbamatos farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (VII). En otra realización son derivados N-acilo farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (VII). Los ejemplos de grupos N-acilo incluyen grupos N-acetilo y N-etoxicarbonilo.



35 En algunas realizaciones, es un resto biarilo sustituido fusionado seleccionado de





5 En algunas realizaciones Z es C(=O), NHC(=O), NCH₃C(=O), o S(=O)₂. En otras realizaciones más, Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), S(=O)_x, OS(=O)_x, o NHS(=O)_x. En algunas otras realizaciones, Z es C(=O), NHC(=O), o S(=O)₂.

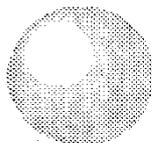
En algunas realizaciones, R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquiloC₁-C₄ no sustituido, alquiloC₁-C₄ sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ no sustituido, y heteroalquiloC₁-C₄ sustituido; o R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace. En otras realizaciones más, cada uno de R₇ y R₈ es H; o R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace.

10 En algunas realizaciones, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxialquiloC₁-C₆, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquilC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₈), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈). En algunas otras realizaciones, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxialquiloC₁-C₆, alquilC₁-C₂-N(alquilC₁-C₃), alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquilC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₈), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈). En otras realizaciones más, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, -CH₂-O-(alquilC₁-C₃), -CH₂-N(alquilC₁-C₃)₂, alquilC₁-C₄(fenilo), o alquilC₁-C₄(heteroaril de 5 ó 6 miembros). En otras realizaciones más, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, -CH₂-O-(alquilC₁-C₃), -CH₂-(alquilaminoC₁-C₆), alquilC₁-C₄(fenilo), o alquilC₁-C₄(heteroarilo de 5 ó 6 miembros). En algunas realizaciones, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, -CH₂-O-(alquilC₁-C₃), -CH₂-N(alquilC₁-C₃)₂, alquilC₁-C₄(fenilo), o alquilC₁-C₄(heteroarilo de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquilo de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N).

25 En algunas realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, cicloalquileno, y heterocicloalquileno. En otras realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquilenoC₁-C₆, heteroalquilenoC₁-C₆, cicloalquileno de 4, 5, 6, ó 7 miembros, y heterocicloalquileno de 4, 5, 6, ó 7 miembros. En otras realizaciones más, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquilenoC₁-C₆, heteroalquilenoC₁-C₆, cicloalquileno de 5 ó 6 miembros, y heterocicloalquileno de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N. En algunas otras realizaciones, Y es un cicloalquileno de 5 ó 6 miembros, o un heterocicloalquileno de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N. En algunas realizaciones, Y es un anillo cicloalquileno de 4, 5, 6, ó 7 miembros; o Y es un anillo heterocicloalquileno de 4, 5, 6, ó 7 miembros.

Cualquier combinación de los grupos descritos anteriormente para las distintas variables se contempla en la presente memoria.

35 En cualquiera de los métodos, ensayos y sistemas mencionados anteriormente: dichos métodos, ensayos y sistemas comprenden una multiplicidad de inhibidores irreversibles de ensayo, en los que los inhibidores irreversibles de ensayo cada uno tiene el mismo



40 resto, pero se diferencian en al menos uno de Y, Z, R₆, R₇, o R₈. En realizaciones adicionales, la multiplicidad de inhibidores irreversibles de ensayo es un panel de inhibidores irreversibles de ensayo. En realizaciones adicionales, se determina la unión del panel de inhibidores irreversibles de ensayo al menos a una quinasa (incluyendo un panel de quinasas, incluyendo además un panel de quinasas seleccionado de Btk, homólogos de Btk, y homólogos de cisteína de la quinasa Btk). En realizaciones adicionales, los datos de unión determinados se usan para seleccionar y/o diseñar adicionalmente un inhibidor irreversible selectivo.

Los inhibidores irreversibles descritos en la presente memoria incluyen aquellos que tienen una estructura de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), y sales, solvatos, ésteres, ácidos farmacéuticamente aceptables de éstos. En determinadas realizaciones, también se describen los isómeros y formas químicamente protegidas de compuestos que tienen una estructura representada por cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII).

En un aspecto, es un compuesto inhibidor irreversible seleccionado de entre: 1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona; (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)but-2-en-1-ona; 1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)sulfonileno; 1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona; 1-(4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona; N-((1s,4s)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)acrilamida; 1-((R)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona; 1-((S)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona; 1-((R)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona; 1-((S)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona; y (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona; (E)-4-(N-(2-hidroxietyl)-N-metilamino)-1-(3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)but-2-en-1-ona (Compuesto 3); (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)-3-(1H-imidazol-4-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 4); (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 5); (E)-1-(4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto 7); (E)-N-((1s,4s)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)-4-(dimetilamino)but-2-enamida (Compuesto 8); N-(1r,4r)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)acrilamida (Compuesto 10); (E)-1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto 11); (E)-1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto 12); 1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 13); 1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 14); 1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)but-2-en-1-ona (Compuesto 15); 1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)but-2-en-1-ona (Compuesto 16); 1-((R)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)but-2-en-1-ona (Compuesto 17); (E)-N-((1r,4r)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)-4-(dimetilamino)but-2-enamida (Compuesto 18); N-(2-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-N-metilacrilamida (Compuesto 19); (E)-1-(4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 20); (E)-1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 21); N-((1s,4s)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)but-2-inamida (Compuesto 22); N-(2-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)acrilamida (Compuesto 23); (E)-1-((R)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 24); (E)-N-((1s,4s)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)-4-morfolinobut-2-enamida (Compuesto 25).

En la presente memoria se describen además formulaciones farmacéuticas que comprenden los inhibidores de quinasa de cualquier compuesto inhibidor de quinasa listado previamente. En una realización la formulación farmacéutica incluye un excipiente farmacéutico aceptable. En algunas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria se administran a un ser humano. En algunas realizaciones, los inhibidores irreversibles y/o selectivos de quinasa proporcionados en la presente memoria se administran oralmente. En otras realizaciones, los inhibidores irreversibles y/o selectivos de quinasa proporcionados en la presente memoria se usan para la formulación de un medicamento para la inhibición de actividad tirosina quinasa. En algunas otras realizaciones, los inhibidores irreversibles y/o selectivos de quinasa proporcionados en la presente memoria se usan para la formulación de un medicamento para la inhibición de una actividad quinasa, incluyendo una actividad tirosina quinasa, incluyendo una actividad Btk, incluyendo una actividad de homólogo de Btk, incluyendo una actividad de homólogo de cisteína de la quinasa Btk.

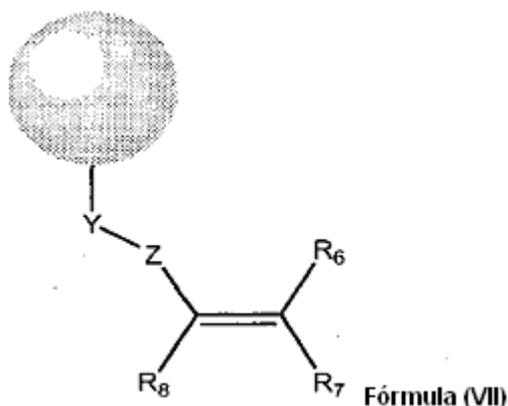
En cualquiera de los aspectos mencionados anteriormente están realizaciones adicionales en las que la administración es entérica, parenteral, o ambas, y en las que (a) la cantidad efectiva del compuesto se administra sistémicamente al mamífero; (b) la cantidad efectiva del compuesto se administra oralmente al mamífero; (c) la cantidad efectiva del compuesto se administra intravenosamente al mamífero; (d) la cantidad efectiva del compuesto se administra por inhalación; (e) la cantidad efectiva del compuesto se administra por administración nasal; o (f) la cantidad efectiva del compuesto se administra por inyección al mamífero; (g) la cantidad efectiva del compuesto se administra tópicamente (dérmica) al mamífero; (h) la cantidad efectiva del compuesto se administra por administración oftálmica; o (i) la cantidad efectiva del compuesto se administra rectalmente al mamífero. En realizaciones adicionales la formulación farmacéutica se formula para una ruta de administración seleccionada de administración oral, administración parenteral, administración bucal, administración nasal, administración tópica, o administración rectal.

5 En cualquiera de los aspectos mencionados anteriormente están realizaciones adicionales que comprenden administraciones únicas de la cantidad efectiva de la formulación farmacéutica, incluyendo realizaciones adicionales en las que (i) las formulaciones farmacéuticas se administran una vez; (ii) las formulaciones farmacéuticas se administran al mamífero una vez al día; (iii) las formulaciones farmacéuticas se administran al mamífero múltiples veces a lo largo de un día; (iv) constantemente; o (v) continuamente.

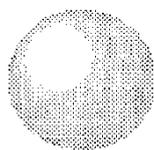
10 En cualquiera de los aspectos mencionados anteriormente están realizaciones adicionales que comprenden administraciones múltiples de la cantidad efectiva de las formulaciones farmacéuticas, incluyendo realizaciones adicionales en las que (i) las formulaciones farmacéuticas se administran en una dosis única; (ii) el tiempo entre múltiples administraciones es cada 6 horas; (iii) las formulaciones farmacéuticas se administran al mamífero cada 8 horas. En realizaciones adicionales o alternativas, el método comprende unas vacaciones del fármaco, en las que la administración de las formulaciones farmacéuticas se suspende temporalmente o la dosis de las formulaciones farmacéuticas que se están administrando se reduce temporalmente; al final de las vacaciones del fármaco, se reinicia la dosificación de las formulaciones farmacéuticas. La duración de las vacaciones del fármaco varía de 2 días a 1 año.

15 En la presente memoria se describe además un compuesto para uso en un método para incrementar la selectividad de un inhibidor de proteína quinasa de ensayo que se une irreversiblemente y selectivamente al menos a un inhibidor de proteína quinasa seleccionado de Btk, un homólogo de a Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En una realización el inhibidor de proteína tirosina quinasa de ensayo se modifica químicamente para disminuir la vida media plasmática a menos de aproximadamente 4 horas. En otra realización el inhibidor de proteína tirosina quinasa de ensayo se modifica químicamente para disminuir la vida media plasmática a aproximadamente 3 horas. En otra realización más el inhibidor de proteína tirosina quinasa de ensayo se une no selectivamente y reversiblemente a una multiplicidad de proteínas tirosina quinasa de la familia src.

En una realización el inhibidor de proteína tirosina quinasa de ensayo tiene la estructura de Fórmula (VII):



25 en la que:



en la que es un resto que se une al sitio activo de una quinasa, incluyendo una tirosina quinasa, incluyendo además un homólogo de cisteína de la quinasa Btk;

30 Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileo, heteroalquileo, arileno, heteroarileno, heterocicloalquileo, cicloalquileo, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileo, y alquilenheterocicloalquileo;

Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), NCH₃C(=O), C(=S), S(=O)_x, OS(=O)_x, NHS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2;

35 R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquiloC₁-C₄ no sustituido, alquiloC₁-C₄sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ no sustituido, cicloalquiloC₃-C₆sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₆ no sustituido, y heterocicloalquiloC₂-C₆ sustituido; o

R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace;

R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxilalquiloC₁-C₆, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxilalquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquilC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₈), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); y metabolitos farmacéuticamente activos, o solvatos farmacéuticamente aceptables, sales farmacéuticamente aceptables, o profármacos farmacéuticamente aceptables de éstos.

En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto para uso en un método para tratar un trastorno proliferativo de células B o un trastorno proliferativo de mastocitos mediante la administración a un sujeto que lo necesita de una composición de inhibidor de proteína quinasa de ensayo que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente (incluyendo un enlace covalente irreversible y/o selectivo) con Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En una realización, el compuesto forma un enlace covalente con la forma activada de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En realizaciones adicionales o alternativas, el compuesto inhibe irreversiblemente Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk al que se une covalentemente. En una realización adicional o alternativa, el compuesto forma un enlace covalente (incluyendo un enlace covalente irreversible y/o selectivo) con un residuo de cisteína en Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk.

En aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto para uso en un método para tratar artritis reumatoide mediante la administración a un sujeto que lo necesita de una composición de inhibidor de proteína quinasa de ensayo que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente (incluyendo un enlace covalente irreversible y/o selectivo) con Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En una realización, el compuesto forma un enlace covalente con la forma activada de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En realizaciones adicionales o alternativas, el compuesto inhibe irreversiblemente Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk al que se une covalentemente. En una realización adicional o alternativa, el compuesto forma un enlace covalente (incluyendo un enlace covalente irreversible y/o selectivo) con un residuo de cisteína en Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk.

En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto para uso en un método para tratar una enfermedad caracterizada por células B hiperactivas o mastocitos hiperactivos o tanto células B hiperactivas como mastocitos hiperactivos mediante la administración a un sujeto que lo necesita de una composición de inhibidor de proteína quinasa de ensayo que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente (incluyendo un enlace covalente irreversible y/o selectivo) con Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En una realización, el compuesto forma un enlace covalente con la forma activada de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En realizaciones adicionales o alternativas, el compuesto inhibe irreversiblemente Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk al que se une covalentemente. En una realización adicional o alternativa, el compuesto forma un enlace covalente (incluyendo un enlace covalente irreversible y/o selectivo) con un residuo de cisteína en Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk.

En cualquiera de los aspectos mencionados anteriormente son realizaciones que comprenden administraciones únicas de la cantidad efectiva de la formulación farmacéutica, incluyendo realizaciones adicionales en las que (i) las formulaciones farmacéuticas se administran una vez; (ii) las formulaciones farmacéuticas se administran al mamífero una vez al día; (iii) las formulaciones farmacéuticas se administran al mamífero múltiples veces a lo largo de un día; (iv) constantemente; o (v) continuamente.

En la presente memoria también se describe un método para identificar un inhibidor irreversible de una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk que comprende:

- (1) poner en contacto una multiplicidad de quinasas seleccionadas de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk con un compuesto que comprende un resto aceptor de Michael;
- (2) poner en contacto al menos una molécula no quinasa que tiene al menos un grupo SH accesible con el compuesto que comprende un resto aceptor de Michael; y
- (3) determinar la unión covalente del compuesto que comprende un aceptor de Michael con la multiplicidad de quinasas y la al menos una molécula no quinasa; y

repetir las etapas (1), (2), y (3) para al menos un otro compuesto que comprende un resto aceptor de Michael.

En la presente memoria se describe además método para identificar un inhibidor irreversible de una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk que comprende:

- (1) poner en contacto una multiplicidad de quinasas seleccionadas de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk con un compuesto que comprende un resto aceptor de Michael;

(2) poner en contacto al menos una molécula no quinasa que tiene al menos un grupo SH accesible con el compuesto que comprende un resto aceptor de Michael; y

(3) determinar la unión covalente del compuesto que comprende el aceptor de Michael con la multiplicidad de quinasas y la al menos una molécula no quinasa; y

5 repetir las etapas (1), (2), y (3) para al menos un otro compuesto que comprende un resto aceptor de Michael; y

(4) comparar la unión covalente del compuesto que comprende un aceptor de Michael con la multiplicidad de quinasas y la al menos una molécula no quinasa; y

repetir las etapas (1), (2), (3) y (4) para al menos un otro compuesto que comprende un resto aceptor de Michael.

10 En una realización la al menos una molécula no quinasa que tiene al menos un grupo SH accesible incluye glutatión y/o hemoglobina. En otra realización el inhibidor irreversible deseado es selectivo para una quinasa particular respecto a otras quinasas, glutatión y hemoglobina.

15 En algunas realizaciones, los métodos, ensayos y sistemas para identificar un inhibidor irreversible de una quinasa comprenden poner en contacto cada quinasa con una Sonda de Actividad. En realizaciones adicionales, los métodos, ensayos y sistemas para identificar un inhibidor irreversible de una quinasa comprenden además un panel de quinasas que comprende al menos dos quinasas seleccionadas de Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En realizaciones adicionales, el panel de quinasas comprende al menos tres de dichas quinasas, al menos cuatro de dichas quinasas, al menos cinco de dichas quinasas, al menos seis de dichas quinasas, al menos siete de dichas quinasas, al menos ocho de dichas quinasas, al menos nueve de dichas quinasas, o al menos diez de dichas quinasas.

20 En una realización las etapas (1) y (2) del método para identificar un inhibidor irreversible de una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk se lleva a cabo *in vivo*. En otra realización la etapa (3) del método para identificar un inhibidor irreversible de una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk se lleva a cabo en parte usando una Sonda de Actividad.

25 En una realización, la puesta en contacto de una multiplicidad de quinasas seleccionadas de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk con un compuesto que comprende un resto aceptor de Michael se lleva a cabo *in vivo*. En otra realización la puesta en contacto de al menos una molécula no quinasa que tiene al menos un grupo SH accesible con el compuesto que comprende un resto aceptor de Michael se lleva a cabo *in vivo*. En una realización adicional la determinación de la unión covalente del compuesto que comprende un aceptor de Michael con la multiplicidad de quinasas y la al menos una molécula no quinasa se lleva a cabo en parte usando una Sonda de Actividad. En una realización adicional la etapa de determinación usa espectrometría de masa. En más realizaciones adicionales la etapa de determinación usa fluorescencia.

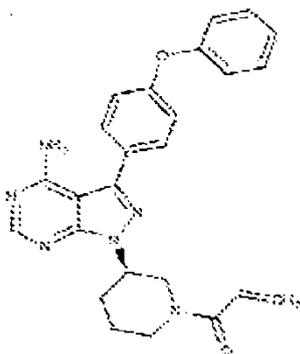
30 En realizaciones adicionales de métodos y ensayos para identificar un inhibidor irreversible de una quinasa, incluyendo una proteína quinasa, incluyendo una tirosina quinasa, un panel de quinasas se pone en contacto con al menos un inhibidor irreversible. En una realización adicional, el panel de quinasas también se pone en contacto con una Sonda de Actividad. En una realización adicional, la unión de un inhibidor irreversible a una quinasa se determina a partir de la unión de la Sonda de Actividad a la quinasa. En una realización adicional, la unión de la Sonda de Actividad a una quinasa se determina usando una técnica de fluorescencia. En métodos y ensayos adicionales o alternativos, la Sonda de Actividad es compatible con citometría de flujo. En realizaciones adicionales, la unión del inhibidor irreversible a una quinasa se compara con la unión del inhibidor irreversible al menos a una otra quinasa. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, el panel de quinasas se selecciona de Btk, homólogos de Btk, y homólogos de cisteína de la quinasa Btk. En una realización adicional o alternativa, la unión de un inhibidor irreversible a una quinasa se determina por espectrometría de masa.

35 En la presente memoria también se describen sondas de actividad de tirosina quinasa de Bruton (Btk), homólogos de Btk, y homólogos de cisteína de la quinasa Btk (colectivamente "Sondas de Actividad"). Se describen además Sondas de Actividad que incluyen un inhibidor irreversible de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk; un resto conector; y un resto informador. Se describen además Sondas de Actividad que incluyen un resto aceptor de adición de Michael en la estructura de la Sonda de Actividad. Se describen además Sondas de Actividad que forman un enlace covalente con un residuo de cisteína en Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En la presente memoria también se describen Sondas de Actividad que forman un enlace no covalente con un residuo de cisteína en Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En la presente memoria también se describen métodos para sintetizar dichas Sondas de Actividad, métodos para usar dichas Sondas de Actividad en el estudio de la actividad de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk, métodos para usar dichas Sondas de Actividad en el estudio de inhibidores (incluyendo el desarrollo de nuevos inhibidores) de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk, y métodos para usar dichas Sondas de Actividad en el estudio de la farmacodinámica de inhibidores de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk.

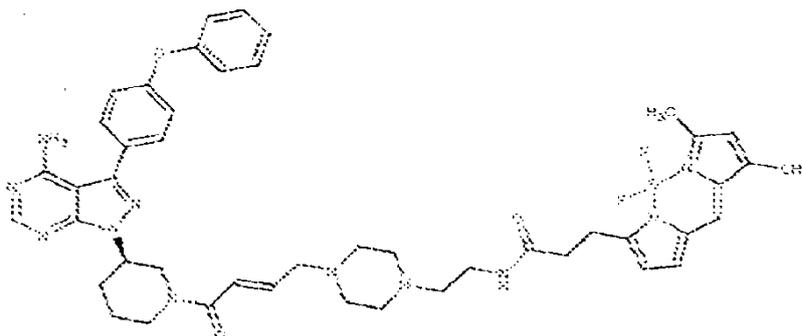
5 En una realización son Sondas de Actividad en las que el resto conector se selecciona de un enlace, un resto alquilo sustituido opcionalmente, un resto heterociclo sustituido opcionalmente, un resto amida sustituido opcionalmente, un resto cetona, un resto carbamato sustituido opcionalmente, un resto éster, o una combinación de éstos. En otra realización son Sondas de Actividad en las que el resto conector comprende un resto heterociclo sustituido opcionalmente. En una realización adicional son Sondas de Actividad en las que el resto heterociclo sustituido opcionalmente comprende un resto basado en piperazinilo.

10 En la presente memoria también se describen Sondas de Actividad en las que el resto informador se selecciona del grupo que consiste en un marcador, un agente de tinción, un fotoentrecruzador, un compuesto citotóxico, un fármaco, un marcador de afinidad, un marcador de fotoafinidad, un compuesto reactivo, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, un biomaterial, una nanopartícula, un marcador de espín, un fluoróforo, un resto que contiene metal, un resto radiactivo, un grupo funcional nuevo, un grupo que interacciona covalentemente o no covalentemente con otras moléculas, un resto enjaulado fotosensible, un resto excitable con radiación actínica, un ligando, un resto fotoisomerizable, biotina, un análogo de biotina, un resto que incorpora un átomo pesado, un grupo químicamente escindible, un grupo fotoescindible, un agente redox activo, un resto marcado isotópicamente, una sonda biofísica, un grupo fosforescente, un grupo quimioluminiscente, un grupo electrónicamente denso, un grupo magnético, un grupo intercalante, un cromóforo, un agente de transferencia de energía, un agente biológicamente activo, un marcador detectable, o una combinación de éstos. En otra realización son Sondas de Actividad en las que el resto informador es un fluoróforo. En otra realización más son Sondas de Actividad en las que el fluoróforo es un fluoróforo Bodipy. En una realización más adicional son Sondas de Actividad en las que el fluoróforo Bodipy es un fluoróforo Bodipy FL.

20 En la presente memoria se presentan Sondas de Actividad en las que el resto inhibidor deriva de un inhibidor irreversible de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En una realización, son Sondas de Actividad en las que el inhibidor irreversible es:



25 En otra realización son Sondas de Actividad que tienen la estructura:



30 En una realización adicional son Sondas de Actividad en las que la sonda marca selectivamente una conformación fosforilada de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En otra realización son Sondas de Actividad en las que la conformación fosforilada de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk es bien una forma activa o inactiva de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En una realización adicional son Sondas de Actividad en las que la conformación fosforilada de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk es una forma activa de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En una realización son Sondas de Actividad en las que la sonda permea a través de células.

35 En un aspecto es un compuesto para uso en un método para evaluar la eficacia de un inhibidor potencial de Btk, homólogo de Btk y/o homólogo de cisteína de la quinasa Btk en un mamífero, que comprende administrar un

inhibidor potencial de Btk, homólogo de Btk y/o homólogo de cisteína de la quinasa Btk al mamífero, administrar la Sonda de Actividad descrita en la presente memoria al mamífero o a células aisladas del mamífero; medir la actividad del resto informador de la Sonda de Actividad, y comparar la actividad del resto informador con un estándar.

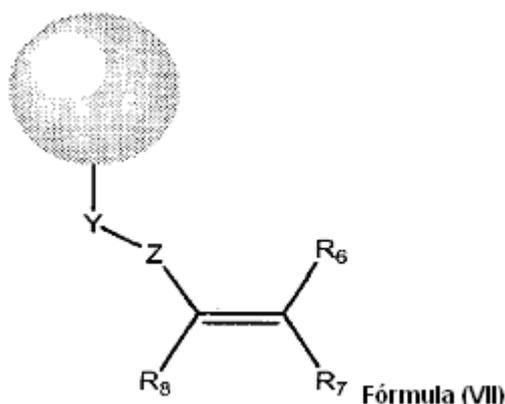
- 5 En otro aspecto es un compuesto para uso en un método para evaluar la farmacodinámica de un inhibidor de Btk, homólogo de Btk y/o homólogo de cisteína de la quinasa Btk en un mamífero, que comprende administrar un inhibidor de Btk, homólogo de Btk y/o homólogo de cisteína de la quinasa Btk al mamífero, administrar la Sonda de Actividad presentada en la presente memoria al mamífero o a células aisladas del mamífero, y medir la actividad del resto informador de la Sonda de Actividad a diferentes puntos de tiempo después de la administración del inhibidor.
- 10 En un aspecto adicional es un compuesto para uso en un método para marcar *in vitro* Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk que comprende poner en contacto Btk, homólogo de Btk y/o homólogo de cisteína de la quinasa Btk activa con la Sonda de Actividad descrita en la presente memoria. En una realización es un método para marcar *in vitro* Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk en el que la etapa de puesta en contacto comprende incubar la Btk, homólogo de Btk y/o homólogo de cisteína de la quinasa Btk activa con la Sonda de Actividad presentada en la presente memoria.
- 15

En otro aspecto es un compuesto para uso en un método para marcar *in vitro* Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk que comprende poner en contacto células o tejidos que expresan Btk, homólogo de Btk y/o homólogo de cisteína de la quinasa Btk con una Sonda de Actividad descrita la presente memoria.

- 20 En un aspecto es un compuesto para uso en un método para detectar una Btk, homólogo de Btk y/o homólogo de cisteína de la quinasa Btk marcado que comprende separar proteínas, las proteínas que comprenden Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk marcadas por una Sonda de Actividad descrita en la presente memoria, por electroforesis y detectar la Sonda de Actividad por fluorescencia.

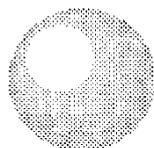
- 25 En realizaciones adicionales el inhibidor irreversible de una quinasa comprende además un resto de unión a sitio activo. En más realizaciones adicionales el inhibidor irreversible de una quinasa comprende además un resto conector que une el resto aceptor de Michael con el resto de unión activo.

En una realización el inhibidor irreversible de una quinasa tiene la estructura de Fórmula (VII):



en la que:

30



en la que es un resto que se une al sitio activo de una quinasa, incluyendo una tirosina quinasa. incluyendo además un homólogo de cisteína de la quinasa Btk;

- 35 Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileo, heteroalquileo, arileno, heteroarileno, heterocicloalquileo, cicloalquileo, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileo, y alquilenheterocicloalquileo;

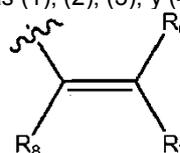
Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), NCH₃C(=O), C(=S), S(=O)_x, OS(=O)_x, NHS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2;

R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquiloC₁-C₄ no sustituido, alquiloC₁-C₄ sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ no sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₆ no sustituido, y heterocicloalquiloC₂-C₆ sustituido; o

R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace;

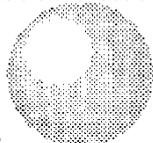
5 R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxialquiloC₁-C₆, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquilC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₈), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); y sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

10 En una realización el método para identificar un inhibidor irreversible de una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk que comprende las etapas (1), (2), (3), y (4) comprende además analizar la relación actividad estructura-función entre la estructura del resto conector y/o el resto aceptor de Michael de cada compuesto, y la unión y/o selectividad de cada compuesto al menos a una quinasa. En otra realización el método para identificar un inhibidor irreversible de una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk que comprende las etapas (1), (2), (3), y (4) comprende además



analizar la relación actividad estructura -función entre la estructura de Y-Z y/o de cada compuesto, y la unión y/o selectividad de cada compuesto para al menos una quinasa.

En una realización la estructura del resto de unión a sitio activo de cada compuesto no varía. En otra realización la



estructura de de cada compuesto no varía.

20 En la presente memoria también se describe un método para mejorar la selectividad de quinasa de un inhibidor que comprende el uso de cualquier método listado previamente.

Un aspecto descrito en la presente memoria es un ensayo que comprende cualquiera de los métodos listados previamente. Otro aspecto descrito en la presente memoria es un sistema que comprende cualquiera de los métodos listados previamente. En un aspecto adicional descrito en la presente memoria es un inhibidor irreversible de una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk, en el que el inhibidor se identifica usando cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria.

En algunos aspectos descritos en la presente memoria el inhibidor irreversible es selectivo para una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk sobre al menos una otra quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En otros aspectos descritos en la presente memoria el inhibidor irreversible es selectivo para al menos una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk sobre al menos una otra molécula no quinasa que tiene un grupo SH accesible.

En determinadas realizaciones, en la presente memoria se proporciona una composición farmacéutica que contiene: i) un vehículo, diluyente, y/o excipiente fisiológicamente aceptable; y ii) uno o más compuestos reivindicados en la presente memoria.

En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto para uso en un método para tratar una enfermedad autoinmune. En una realización la enfermedad autoinmune se selecciona de artritis reumatoide o lupus.

En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto para uso en un método para tratar un trastorno proliferativo de células B. En una realización el trastorno proliferativo de células B es linfoma de células B grandes difuso, linfoma folicular o leucemia linfocítica crónica.

En un aspecto adicional, en la presente memoria se proporciona un compuesto para uso en un método para tratar una enfermedad o afección inflamatoria.

En la presente memoria también se describen métodos para identificar biomarcadores para la selección de pacientes o monitorización de pacientes antes de o durante el tratamiento con cualquier compuesto inhibidor de quinasa descrito en la presente memoria. En una realización, se administra a un paciente que tiene linfoma una composición

5 farmacéutica de cualquier compuesto inhibidor de quinasa descrito en la presente memoria que inhibe la señalización del receptor de las células B (BCR). En otra realización, la inhibición de la señalización de BCR por cualquier compuesto inhibidor de quinasa descrito en la presente memoria se correlaciona con la inducción de apoptosis. En otra realización, un paciente con linfoma se selecciona para tratamiento con una composición farmacéutica de cualquier compuesto inhibidor de quinasa descrito en la presente memoria tomando como base un biomarcador que indica que el linfoma en ese paciente tiene altos niveles de pErk o dianas transcripcionales de Erk.

10 Otros objetos, características y ventajas de los métodos y composiciones descritos en la presente memoria serán evidentes a partir de la descripción detallada siguiente. Debe entenderse, sin embargo, que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indican realizaciones específicas, se proporcionan sólo como ilustración. Los encabezamientos de las secciones usados en la presente memoria son sólo para propósitos organizativos y no deben considerarse como limitantes del contenido descrito.

15 **Determinada Terminología**

Debe entenderse que la descripción general anterior y la descripción detallada siguiente son sólo ejemplares y explicativas y no son restrictivas de ningún contenido reivindicado. En esta solicitud, el uso del singular incluye el plural a no ser que se indique específicamente de otra forma. Debe observarse que, tal y como se usa en la especificación y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un," "una" y "el" incluyen los referentes plurales a no ser que el contexto dicte claramente otra cosa. En esta solicitud, el uso de "o" significa "y/o" a no ser que se indique otra cosa. Además, el uso del término "que incluye" así como otras formas, tales como "incluyen", "incluye," e "incluido," no es limitante.

20 La definición de términos de química estándar se encuentra en trabajos de referencia, incluyendo Carey y Sundberg "ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 4ª ED." Vols. A (2000) y B (2001), Plenum Press, Nueva York. A no ser que se indique otra cosa, se emplean los métodos convencionales de espectroscopía de masa, RMN, HPLC, química de proteínas, bioquímica, técnicas de ADN recombinante y farmacología, dentro de la experiencia en la técnica. A no ser que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura empleada en conexión con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química de síntesis orgánica, y química médica y farmacéutica descritos en la presente memoria son los conocidos en la técnica. Opcionalmente se usan técnicas estándar para síntesis química, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación, y administración, y tratamiento de pacientes. Opcionalmente se usan técnicas estándar para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos, y cultivo tisular y transformación (por ejemplo, electroporación, lipofección). Las reacciones y técnicas de purificación se realizan usando metodologías documentadas o como se describe en la presente memoria.

35 Debe entenderse que los métodos y composiciones descritos en la presente memoria no están limitados a la metodología, protocolos, líneas celulares, construcciones, y reactivos particulares descritos en la presente memoria y como tales varían opcionalmente. También debe entenderse que la terminología usada en la presente memoria es sólo para el propósito de describir realizaciones particulares, y no se pretende que limite el alcance de los métodos y composiciones descritos en la presente memoria, que sólo estarán limitados por las reivindicaciones adjuntas.

40 A no ser que se afirme otra cosa, los términos usados para restos complejos (es decir, múltiples cadenas de restos) deben leerse de forma equivalente bien de izquierda a derecha o de derecha a izquierda. Por ejemplo, el grupo alquilencicloalquileo se refiere a un grupo alquileo seguido de un grupo cicloalquileo o como un grupo cicloalquileo seguido de un grupo alquileo.

45 El sufijo "eno" adjuntado a un grupo indica que dicho grupo es un diradical. Sólo como ejemplo, un metileno es un diradical de un grupo metilo, esto es, es un grupo $-\text{CH}_2-$; y un etileno es un diradical de un grupo etilo, es decir, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$.

50 Un grupo "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado alifático. El resto alquilo incluye un grupo "alquilo saturado", que significa que no contiene ningún resto alqueno o alquino. El resto alquilo también incluye un resto "alquilo insaturado", que significa que contiene al menos un resto alqueno o alquino. Un resto "alqueno" se refiere a un grupo que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono, y un resto "alquino" se refiere a un grupo que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono. El resto alquilo, ya sea saturado o insaturado, incluye restos ramificados, de cadena lineal, o cíclicos. Dependiendo de la estructura, un grupo alquilo incluye un monoradical o un diradical (es decir, un grupo alquileo), y si es un "alquilo inferior" tiene 1 a 6 átomos de carbono.

Tal y como se usa en la presente memoria, $\text{C}_1\text{-C}_x$ incluye $\text{C}_1\text{-C}_2$, $\text{C}_1\text{-C}_3\text{...C}_1\text{-C}_x$.

55 El resto "alquilo" tiene opcionalmente 1 a 10 átomos de carbono (siempre que aparezca en la presente memoria, un intervalo numérico tal como "1 a 10" se refiere a cada número entero en el intervalo dado; por ejemplo, "1 a 10 átomos de carbono" significa que el grupo alquilo se selecciona de un resto que tiene 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta e incluyendo 10 átomos de carbono, aunque la presente definición

también abarca la aparición del término "alquilo" en el que no se designa ningún intervalo numérico). El grupo alquilo de los compuestos descritos en la presente memoria puede designarse como "alquilo_{C1-C4}" o designaciones similares. Sólo como ejemplo, "alquilo_{C1-C4}" indica que hay uno a cuatro átomos de carbono en la cadena alquilo, es decir, la cadena alquilo se selecciona de entre metilo, etilo, propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo, y t-butilo. Así, alquilo _{C1-C4} incluye alquilo _{C1-C2} y alquilo _{C1-C3}. Los grupos alquilo están sustituidos o no sustituidos opcionalmente. Los grupos alquilo típicos incluyen, pero no están limitados de ninguna manera a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, butilo terciario, pentilo, hexilo, etenilo, propenilo, butenilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, y semejantes.

El término "alquenilo" se refiere a un tipo de grupo alquilo en el que los dos primeros átomos del grupo alquilo forman un doble enlace que no es parte de un grupo aromático. Esto es, un grupo alquenilo empieza con los átomos -C(R)=C(R)-R, en los que R se refiere a las partes remanentes del grupo alquenilo, que son bien el mismo o diferente. El resto alquenilo está opcionalmente ramificado, de cadena lineal, o cíclico (en cuyo caso, también es conocido como un grupo "cicloalquenilo"). Dependiendo de la estructura, un grupo alquenilo incluye un monoradical o un diradical (es decir, un grupo alquenileno). Los grupos alquenilo están sustituidos opcionalmente. Los ejemplos no limitativos de un grupo alquenilo incluyen CH=CH₂, -C(CH₃)=CH₂, -CH=CHCH₃, -C(CH₃)=CHCH₃. Los grupos alquenileno incluyen, pero no están limitados a, -CH=CH-, -C(CH₃)=CH-, -CH=CHCH₂-, -CH=CHCH₂CH₂- y -C(CH₃)=CHCH₂-. Los grupos alquenilo tienen opcionalmente 2 a 10 carbonos, y si es un "alquenilo inferior" tiene 2 a 6 átomos de carbono.

El término "alquinilo" se refiere a un tipo de grupo alquilo en el que los dos primeros átomos del grupo alquilo forman un triple enlace. Esto es, un grupo alquinilo empieza con los átomos -C≡C-R, en los que R se refiere a las partes remanentes del grupo alquinilo, que es bien el mismo o diferente. La parte "R" del resto alquinilo puede ser ramificada, de cadena lineal, o cíclica. Dependiendo de la estructura, un grupo alquinilo incluye un monoradical o un diradical (es decir, un grupo alquinileno). Los grupos alquinilo están sustituidos opcionalmente. Los ejemplos no limitativos de un grupo alquinilo incluyen, pero no están limitados a, -C≡CH, -C≡CCH₃, -C≡CCH₂CH₃, -C≡C-, y -C≡CCH₂-. Los grupos alquinilo tienen opcionalmente 2 a 10 carbonos, y si es un "alquinilo inferior" tiene 2 a 6 átomos de carbono.

Un grupo "alcoxi" se refiere a un grupo (alquilo)O-, en el que alquilo es como se define en la presente memoria.

"Hidroxi-alquilo" se refiere a un radical alquilo, como se define en la presente memoria, sustituido con al menos un grupo hidroxilo. Los ejemplos no limitativos de un hidroxi-alquilo incluyen, pero no están limitados a, hidroximetilo, 2-hidroxi-etilo, 2-hidroxi-propilo, 3-hidroxi-propilo, 1-(hidroximetil)-2-metilpropilo, 2-hidroxi-butilo, 3-hidroxi-butilo, 4-hidroxi-butilo, 2,3-dihidroxi-propilo, 1-(hidroximetil)-2-hidroxi-etilo, 2,3-dihidroxi-butilo, 3,4-dihidroxi-butilo y 2-(hidroximetil)-3-hidroxi-propilo.

"Alcoxi-alquilo" se refiere a un radical alquilo, como se define en la presente memoria, sustituido con un grupo alcoxi, como se define en la presente memoria.

El término "alquilamina" se refiere a el grupo -N(alquil)_xH_y, en el que x e y se seleccionan de entre x=1, y=1 y x=2, y=0. Cuando x=2, los grupos alquilo, tomados conjuntamente con el átomo de N al que están unidos, pueden formar opcionalmente un sistema de anillo cíclico.

"Alquilaminoalquilo" se refiere a un radical alquilo, como se define en la presente memoria, sustituido con una alquilamina, como se define en la presente memoria.

"Hidroxi-alquilaminoalquilo" se refiere a un radical alquilo, como se define en la presente memoria, sustituido con una alquilamina, y alquilhidroxilo, como se define en la presente memoria.

"Alcoxi-alquilaminoalquilo" se refiere a un radical alquilo, como se define en la presente memoria, sustituido con una alquilamina y sustituido con un alquilalcoxi, como se define en la presente memoria.

Una "amida" es un resto químico con la fórmula -C(O)NHR o -NHC(O)R, en las que R se selecciona de entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (unido a través de un carbono del anillo) y heteroalíclico (unido a través de un carbono del anillo). En algunas realizaciones, un resto amida forma una unión entre un aminoácido o una molécula de péptido y un compuesto descrito en la presente memoria, formando de esta manera un profármaco. Cualquier amina, o cadena lateral carboxi en los compuestos descritos en la presente memoria puede amidificarse. Los procedimientos y grupos específicos para preparar dichas amidas se encuentran en fuentes tales como Greene y Wuts, Protective Groups in Organic Síntesis, 3^a Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, NY, 1999, que se incorpora en la presente memoria por referencia para esta descripción.

El término "éster" se refiere a un resto químico con la fórmula -COOR, en la que R se selecciona de entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (unido a través de un carbono del anillo) y heteroalíclico (unido a través de un carbono del anillo). Cualquier cadena lateral hidroxilo, o carboxilo en los compuestos descritos en la presente memoria puede esterificarse. Los procedimientos y grupos específicos para preparar dichos ésteres se encuentran en fuentes tales

como Greene y Wuts, *Protective Groups in Organic Síntesis*, 3ª Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, NY, 1999, que se incorpora en la presente memoria por referencia para esta descripción.

5 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "anillo" se refiere a cualquier estructura covalentemente cerrada. Los anillos incluyen, por ejemplo, carbociclos (por ejemplo, arilos y cicloalquilos), heterociclos (por ejemplo, heteroarilos y heterociclos no aromáticos), aromáticos (por ejemplo, arilos y heteroarilos), y no aromáticos (por ejemplo, cicloalquilos y heterociclos no aromáticos). Los anillos pueden estar sustituidos opcionalmente. Los anillos pueden ser monocíclicos o policíclicos.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "sistema de anillo" se refiere a uno, o más de un anillo.

10 El término "anillo con miembros" puede abarcar cualquier estructura cíclica. El término "con miembros" se pretende que indique el número de átomos del esqueleto que constituyen el anillo. Así, por ejemplo, ciclohexilo, piridina, pirano y tiopirano son anillos con 6 miembros y ciclopentilo, pirrol, furano, y tiofeno son anillos con 5 miembros.

El término "fusionado" se refiere a estructuras en las que dos o más anillos comparten uno o más enlaces.

15 El término "carbocíclico" o "carbociclo" se refiere a un anillo en el que cada uno de los átomos que forman el anillo es un átomo de carbono. Carbociclo incluye arilo y cicloalquilo. El término distingue así carbociclo de heterociclo ("heterocíclico") en el que el núcleo del anillo contiene al menos un átomo que es diferente de carbono (es decir, un heteroátomo). Heterociclo incluye heteroarilo y heterocicloalquilo. Los carbociclos y heterociclos pueden estar sustituidos opcionalmente.

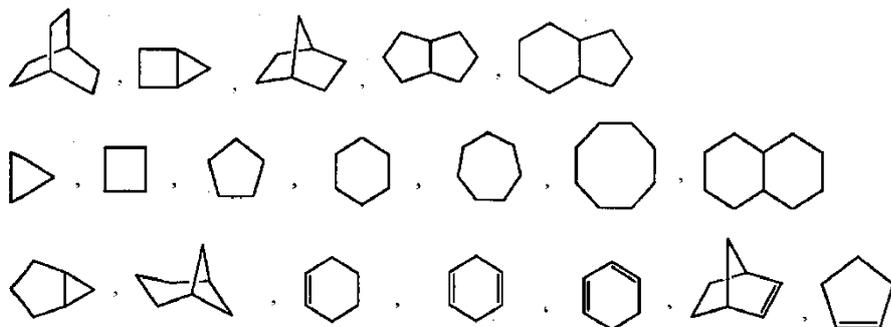
20 El término "aromático" se refiere a un anillo plano que tiene un sistema de electrones π deslocalizado que contiene $4n+2$ π electrones, en el que n es un número entero. Los anillos aromáticos pueden estar formados por cinco, seis, siete, ocho, nueve, o más de nueve átomos. Los aromáticos pueden estar sustituidos opcionalmente. El término "aromático" incluye tanto grupos arilo carbocíclicos (por ejemplo, fenilo) como arilo heterocíclico (o "heteroarilo" o "heteroaromático") (por ejemplo, piridina). El término incluye grupos monocíclicos o policíclicos con anillos fusionados (es decir, anillos que comparten pares adyacentes de átomos de carbono).

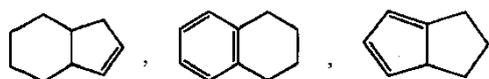
25 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "arilo" se refiere a un anillo aromático en el que cada uno de los átomos que forman el anillo es un átomo de carbono. Los anillos arilo pueden estar formados por cinco, seis, siete, ocho, nueve, o más de nueve átomos de carbono. Los grupos arilo pueden estar sustituidos opcionalmente. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no están limitados a, fenilo, naftalenilo, fenantrenilo, antraceno, fluorenilo, e indenilo. Dependiendo de la estructura, un grupo arilo puede ser un monoradical o un diradical (es decir, un grupo arileno).

30 Un grupo "ariloxi" se refiere a un grupo (arilo)O-, en el que arilo es como se define en la presente memoria.

35 El término "carbonilo" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a un grupo que contiene un resto seleccionado del grupo que consiste en -C(O)-, -S(O)-, -S(O)₂-, y -C(S)-, incluyendo, pero no limitado a, grupos que contienen al menos un grupo cetona, y/o al menos un grupo aldehído, y/o al menos un grupo éster, y/o al menos un grupo ácido carboxílico, y/o al menos un grupo tioéster. Dichos grupos carbonilo incluyen cetonas, aldehídos, ácidos carboxílicos, ésteres, y tioésteres. En algunas realizaciones, dichos grupos son una parte de moléculas lineales, ramificadas, o cíclicas.

40 El término "cicloalquilo" se refiere a un radical monocíclico o policíclico que contiene sólo carbono e hidrógeno, y está opcionalmente saturado, parcialmente insaturado, o completamente insaturado. Los grupos cicloalquilo incluyen grupos que tienen de 3 a 10 átomos en el anillo. Los ejemplos ilustrativos de grupos cicloalquilo incluyen los restos siguientes:





y semejantes. Dependiendo de la estructura, un grupo cicloalquilo es bien un monoradical o un diradical (por ejemplo, un grupo cicloalquilenilo), y si es un "cicloalquilo inferior" tiene 3 a 8 átomos de carbono.

- 5 "Cicloalquilalquilo" significa un radical alquilo, como se define en la presente memoria, sustituido con un grupo cicloalquilo. Los grupos cicloalquilalquilo no limitantes incluyen ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo, y semejantes.

El término "heterociclo" se refiere a grupos heteroaromáticos y heteroalíclicos que contienen uno a cuatro heteroátomos cada uno seleccionado de O, S y N, en el que dicho grupo heterocíclico tiene de 4 a 10 átomos en su sistema de anillo, y con la condición de que el anillo de dicho grupo no contiene dos átomos de O o S adyacentes.

10 En la presente memoria, siempre que se indica el número de átomos de carbono en un heterociclo (por ejemplo, heterociclo C₁-C₆), al menos otro átomo (el heteroátomo) debe estar presente en el anillo. Las designaciones tales como "heterociclo C₁-C₆" se refieren sólo al número de átomos de carbono en el anillo y no se refieren al número total de átomos en el anillo. Se entiende que el anillo heterocíclico puede tener heteroátomos adicionales en el anillo. Las designaciones tales como "heterociclo de 4-6 miembros" se refieren al número total de átomos que están

15 contenidos en el anillo (es decir, un anillo de cuatro, cinco, o seis miembros, en el que al menos un átomo es un átomo de carbono, al menos un átomo es un heteroátomo y los demás dos a cuatro átomos son bien átomos de carbono o heteroátomos). En los heterociclos que tienen dos o más heteroátomos, estos dos o más heteroátomos pueden ser el mismo o diferente uno de otro. Los heterociclos pueden estar sustituidos opcionalmente. La unión a un heterociclo puede ser en un heteroátomo o a través de un átomo de carbono. Los grupos heterocíclicos no aromáticos incluyen grupos que tienen sólo 4 átomos en su sistema de anillo, pero los grupos heterocíclicos aromáticos deben tener al menos 5 átomos en su sistema de anillo. Los grupos heterocíclicos incluyen sistemas de anillo fusionados con benzo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 4 miembros es azetidino (derivado de azetidina). Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 5 miembros es tiazolilo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 6 miembros es piridilo, y un ejemplo de un grupo heterocíclico de 10 miembros es quinolinilo. Los ejemplos de

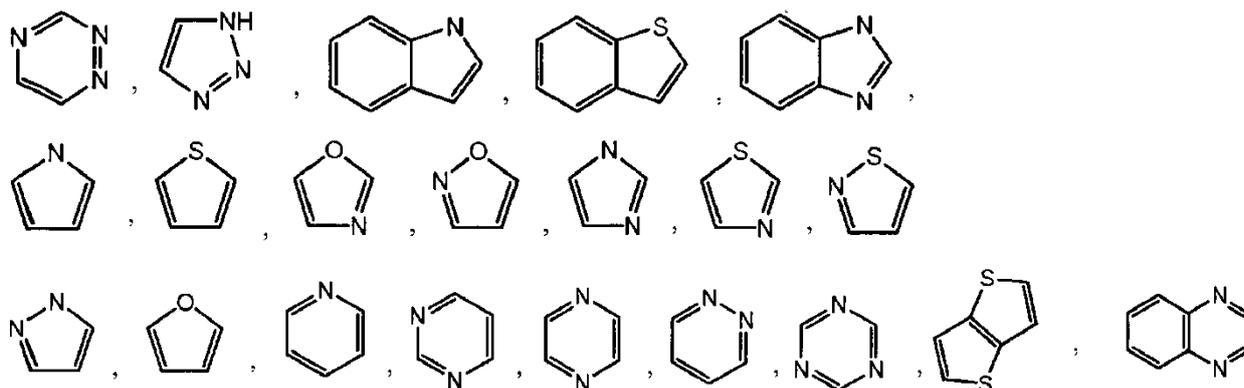
25 grupos heterocíclicos no aromáticos son pirrolidinilo, tetrahidrofurano, dihidrofurano, tetrahidrotienilo, tetrahidropirano, dihidropirano, tetrahidropirano, piperidino, morfolino, tiomorfolino, tiofanilo, piperazinilo, azetidino, oxetanilo, tietanilo, homopiperidinilo, oxepanilo, tiepanilo, oxazepinilo, diazepinilo, tiazepinilo, 1,2,3,6-tetrahidropiridinilo, 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, indolinilo, 2H-pirano, 4H-pirano, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, pirazolinilo, ditanilo, ditiolanilo, dihidropirano, dihidrotienilo, dihidrofurano, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, 3-azabicyclo[3.1.0]hexanilo, 3-azabicyclo[4.1.0]heptanilo, 3H-indolilo y quinolizinilo. Los ejemplos de grupos heterocíclicos aromáticos son piridinilo, imidazolilo, pirimidinilo, pirazolilo, triazolilo, pirazinilo, tetrazolilo, furilo, tienilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, pirrolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, cinolinilo, indazolilo, indolizino, ftalazinilo, triazinilo, isoindolilo, pteridinilo, purinilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, furazanilo, benzofurazanilo, benzotiofenilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, naftiridinilo, y fuopiridinilo. Los grupos anteriores, como se deriva de los grupos listados anteriormente, están

35 opcionalmente unidos por C o unidos por N cuando esto es posible. Por ejemplo, un grupo derivado de pirrol incluye pirrol-1-ilo (unido por N) o pirrol-3-ilo (unido por C). Además, un grupo derivado de imidazol incluye imidazol-1-ilo o imidazol-3-ilo (ambos unidos por N) o imidazol-2-ilo, imidazol-4-ilo o imidazol-5-ilo (todos unidos por C). Los grupos heterocíclicos incluyen sistemas de anillo fusionados con benzo y sistemas de anillo sustituidos con uno o dos restos oxo (=O) tal como pirrolidin-2-ona. Dependiendo de la estructura, un grupo heterociclo puede ser un monoradical o un diradical (es decir, un grupo heterocicleno).

40

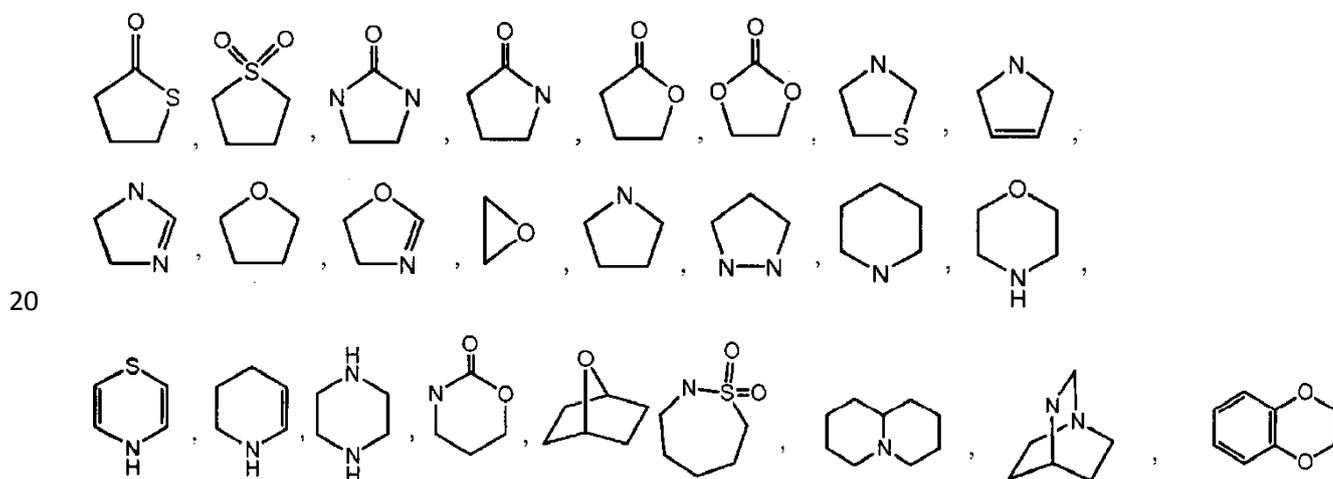
Los términos "heteroarilo" o, alternativamente, "heteroaromático" se refieren a un grupo aromático que incluye uno o más heteroátomos en el anillo seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre. Un resto "heteroaromático" o "heteroarilo" que contiene N se refiere a un grupo aromático en el que al menos uno de los átomos del esqueleto del

45 anillo es un átomo de nitrógeno. Los ejemplos ilustrativos de grupos heteroarilo incluyen los restos siguientes:



y semejantes. Dependiendo de la estructura, un grupo heteroarilo puede ser un monoradical o un diradical (es decir, un grupo heteroarileno).

- 5 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "heterociclo no aromático", "heterocicloalquilo" o "heteroalquilo" se refiere a un anillo no aromático en el que uno o más átomos que forman el anillo es un heteroátomo. Un grupo "heterociclo no aromático" o "heterocicloalquilo" se refiere a un grupo cicloalquilo que incluye al menos un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre. En algunas realizaciones, los radicales se fusionan con un arilo o heteroarilo. Los anillos heterocicloalquilo pueden estar formados por tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, o más de nueve átomos. Los anillos heterocicloalquilo pueden estar sustituidos opcionalmente. En determinadas realizaciones, los heterociclos no aromáticos contienen uno o más grupos carbonilo o tiocarbonilo tales como, por ejemplo, grupos que contienen oxo y tio. Los ejemplos de heterocicloalquilos incluyen, pero no están limitados a, lactamas, lactonas, imidas cíclicas, tioimidas cíclicas, carbamatos cíclicos, tetrahidropirano, 4H-pirano, tetrahidropirano, piperidina, 1,3-dioxina, 1,4-dioxina, 1,3-dioxano, 1,4-dioxano, piperazina, 1,3-oxatiano, 1,4-oxatiana, 1,4-oxatiano, tetrahidro-1,4-tiazina, 2H-1,2-oxazina, maleimida, succinimida, ácido barbitúrico, ácido tiobarbitúrico, dioxopiperazina, hidantoína, dihidrouracilo, morfolina, trioxano, hexahidro-1,3,5-triazina, tetrahidrotiofeno, tetrahidrofurano, pirrolina, pirrolidina, pirrolidona, pirrolidiona, pirazolina, pirazolidina, imidazolina, imidazolidina, 1,3-dioxol, 1,3-dioxolano, 1,3-ditio, 1,3-ditiolano, isoxazolina, isoxazolidina, oxazolina, oxazolidina, oxazolidinona, tiazolina, tiazolidina, y 1,3-oxatolano. Los ejemplos ilustrativos de grupos heterocicloalquilo, también referidos como heterociclos no aromáticos, incluyen:



y semejantes. El término heteroalquilo también incluye todas las formas de anillo de los carbohidratos, incluyendo pero no limitado a los monosacáridos, los disacáridos y los oligosacáridos. Dependiendo de la estructura, un grupo heterocicloalquilo puede ser un monoradical o un diradical (es decir, un grupo heterocicloalquileno).

- 25 El término "halo" o, alternativamente, "halógeno" o "haluro" significa flúor, cloro, bromo y yodo.

El término "haloalquilo," se refiere a estructuras alquilo en las que al menos un hidrógeno se reemplaza con un átomo de halógeno. En determinadas realizaciones en las que dos o más átomos de hidrógeno se reemplazan con átomos de halógeno, los átomos de halógeno son todos el mismo. En otras realizaciones en las que dos o más átomos de hidrógeno se reemplazan con átomos de halógeno, los átomos de halógeno no son los mismos entre sí.

- 30 El término "fluoroalquilo," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo en el que al menos un hidrógeno se reemplaza con un átomo de flúor. Los ejemplos de grupos fluoroalquilo incluyen, pero no están limitados a, $-CF_3$, $-CH_2CF_3$, $-CF_2CF_3$, $-CH_2CH_2CF_3$ y semejantes.

- 35 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "heteroalquilo" se refiere a radicales alquilo sustituidos opcionalmente en los que uno o más átomos de la cadena del esqueleto es un heteroátomo, por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, azufre, silicio, fósforo o combinaciones de éstos. El o los heteroátomos están situados en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo en la que el grupo heteroalquilo está unido al resto de la molécula. Los ejemplos incluyen, pero no están limitados a, $-CH_2-O-CH_3$, $-CH_2-CH_2-O-CH_3$, $-CH_2-NH-CH_3$, $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$, $-CH_2-N(CH_3)-CH_3$, $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$, $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$, $-CH_2-S-CH_2-CH_3$, $-CH_2-CH_2-S(O)-CH_3$, $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$, $-CH=CH-O-CH_3$, $-Si(CH_3)_3$, $-CH_2-CH=N-OCH_3$, y $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$. Además, en algunas realizaciones, hasta dos heteroátomos son consecutivos, tal como, por ejemplo, $-CH_2-NH-OCH_3$ y $-CH_2-O-Si(CH_3)_3$.
- 40

El término "heteroátomo" se refiere a un átomo distinto de carbono o hidrógeno. Los heteroátomos se seleccionan típicamente independientemente de entre oxígeno, azufre, nitrógeno, silicio y fósforo, pero no están limitados a estos átomos. En realizaciones en las que dos o más heteroátomos están presentes, los dos o más heteroátomos pueden

ser todos los l mismos entre sí, o algunos o todos los dos o más heteroátomos pueden ser cada uno diferente de los otros.

El término "enlace" o "enlace sencillo" se refiere a un enlace químico entre dos átomos, o dos restos cuando los átomos unidos por el enlace se considera que forman parte de una subestructura mayor.

- 5 El término "resto" se refiere a un segmento específico o grupo funcional de una molécula. Los restos químicos son entidades químicas reconocidas frecuentemente incluidas en o adjuntadas a una molécula.

Un grupo "tioalcoxi" o "alquiltio" se refiere a un grupo -S-alquilo.

Un grupo "SH" también se refiere bien como un grupo tiol o un grupo sulfhidrilo.

- 10 El término "sustituido opcionalmente" o "sustituido" significa que el grupo referenciado puede estar sustituido con uno o más grupos adicionales seleccionados individualmente e independientemente de alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, alquilsulfóxido, arilsulfóxido, alquilsulfona, arilsulfona, ciano, halo, acilo, nitro, haloalquilo, fluoroalquilo, amino, incluyendo grupos amino mono- y di-sustituídos, y los derivados protegidos de éstos. Como ejemplo un sustituyente opcional puede ser L_s, en el que cada L_s se selecciona independientemente de un enlace, -O-, -C(=O)-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NH-, -NHC(O)-, -C(O)NH-, S(=O)₂NH -NHS(=O)₂, -OC(O)NH-, -NHC(O)O-, -(alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido), o -(alqueno C₁-C₆ sustituido o no sustituido); y cada R_s se selecciona independientemente de H, (alquilo C₁-C₄ sustituido o no sustituido), (cicloalquilo C₃-C₆ sustituido o no sustituido), heteroarilo, o heteroalquilo. Los grupos protectores que forman los derivados protegidos de los sustituyentes anteriores incluyen aquellos encontrados en fuentes tales como Greene y Wuts, anterior.

- 20 El término "resto aceptor de Michael" se refiere a un grupo funcional que puede participar en una reacción de Michael, en la que se forma un nuevo enlace covalente entre una parte del resto aceptor de Michael y el resto donante. El resto aceptor de Michael es un electrófilo y el "resto donante" es un nucleófilo. Los grupos "G" presentados en cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII) son ejemplos no limitativos de restos aceptores de Michael.

- 25 El término "nucleófilo" o "nucleofílico" se refiere a un compuesto rico en electrones, o resto de éste. Un ejemplo de un nucleófilo incluye, pero no está limitado de ninguna forma a, un residuo de cisteína de una molécula, tal como, por ejemplo Cys 481 de Btk.

- 30 El término "electrófilo", o "electrofílico" se refiere a una molécula pobre en electrones o deficiente en electrones, o resto de ésta. Los ejemplos de electrófilos incluyen, pero no están limitados de ninguna forma a, restos aceptores de Michael.

El término "aceptable" o "farmacéuticamente aceptable", respecto a una formulación, composición o ingrediente, tal y como se usa en la presente memoria, significa que no tiene un efecto perjudicial persistente en la salud general del sujeto que se está tratando o que no suprime la actividad o propiedades biológicas del compuesto, y que es relativamente no tóxico.

- 35 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "agonista" se refiere a un compuesto, cuya presencia resulta en una actividad biológica de una proteína que es la misma que la actividad biológica que resulta de la presencia de un ligando natural para la proteína, tal como, por ejemplo, Btk.

- 40 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "agonista parcial" se refiere a un compuesto cuya presencia resulta en una actividad biológica de una proteína que es del mismo tipo que la que resulta de la presencia de un ligando natural para la proteína, pero de menor magnitud.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "antagonista" se refiere a un compuesto, cuya presencia resulta en una disminución de la magnitud de una actividad biológica de una proteína. En determinadas realizaciones, la presencia de un antagonista resulta en la inhibición completa de una actividad biológica de una proteína, tal como, por ejemplo, Btk. En determinadas realizaciones, un antagonista es un inhibidor.

- 45 Tal y como se usa en la presente memoria, "mejora" de los síntomas de una enfermedad, trastorno o afección particular mediante la administración de un compuesto o composición farmacéutica particular se refiere a cualquier disminución de la gravedad, retraso en el inicio, ralentización de la progresión, o acortamiento de la duración, ya sea permanente o temporal, duradera o transitoria que puede atribuirse a o está asociada con la administración del compuesto o composición.

- 50 "Biodisponibilidad" se refiere al porcentaje del peso de compuestos descritos en la presente memoria, tales como, los compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), dosificado que se administra en la circulación general del animal o ser humano que se está estudiando. La exposición total (AUC_(0-∞)) de un fármaco cuando se administra intravenosamente se define habitualmente como 100% biodisponible (F%). "Biodisponibilidad oral" se refiere al grado al que los compuestos

descritos en la presente memoria, tales como, los compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), se absorben en la circulación general cuando la composición farmacéutica se toma oralmente comparado con la inyección intravenosa.

5 El término "sonda biofísica," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a sondas que detectan o monitorizan los cambios estructurales en moléculas (incluyendo biomoléculas) en sistemas biológicos o en presencia de otras biomoléculas (por ejemplo, ex vivo, in vivo o in vitro). En algunas realizaciones, dichas moléculas incluyen, pero no están limitadas a, proteínas y la "sonda biofísica" se usa para detectar o monitorizar la interacción de proteínas con otras macromoléculas. En otras realizaciones, los ejemplos de sondas biofísicas incluyen, pero no están limitadas a, marcadores de espín, fluoróforos, y grupos fotoactivables.

10 "Concentración en plasma sanguíneo" se refiere a la concentración de compuestos descritos en la presente memoria, tales como, los compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), en el componente plasmático de la sangre de un sujeto. Se entiende que la concentración plasmática de compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), puede variar significativamente entre sujetos, debido a variabilidad respecto al metabolismo y/o posibles interacciones con otros agentes terapéuticos. Según una realización descrita en la presente memoria, la concentración en plasma sanguíneo de los compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), no varía de sujeto a sujeto. Asimismo, los valores tales como concentración plasmática máxima (C_{max}) o tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima (T_{max}), o área total bajo la curva de concentración plasmática tiempo ($AUC_{(0-\infty)}$) pueden variar de sujeto a sujeto. Debido a esta variabilidad, la cantidad necesaria para constituir "una cantidad terapéuticamente efectiva" de un compuesto de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), se espera que varíe de sujeto a sujeto.

25 El término "tirosina quinasa de Bruton," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a tirosina quinasa de Bruton de *Homo sapiens*, como se describe, por ejemplo, en la Patente U.S. No. 6.326.469 (No. de Registro GenBank NP_000052).

30 El término "homólogo de tirosina quinasa de Bruton," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a ortólogos de tirosina quinasa de Bruton, por ejemplo, los ortólogos de ratón (No. de Registro GenBank AAB47246), perro (No. de Registro GenBank XP_549139.), rata ((No. de Registro GenBank NP_001007799), pollo (No. de Registro GenBank NP_989564), o pez cebra (No. de Registro GenBank XP_698117), y proteínas de fusión de cualquiera de las anteriores que presentan actividad quinasa frente a uno o más sustratos de tirosina quinasa de Bruton (por ejemplo, un sustrato peptídico que tiene la secuencia de aminoácidos "AVLESEEEELYSSARQ").

35 El término "grupo quimioluminiscente," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo que emite luz como resultado de una reacción química sin la adición de calor. Sólo como ejemplo, el luminol (5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazindiona) reacciona con oxidantes tales como peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en presencia de una base y un catalizador metálico para producir un producto en estado excitado (3-aminofalato, 3-APA).

El término "cromóforo," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una molécula que absorbe luz de longitudes de onda visibles, longitudes de onda UV o longitudes de onda IR.

40 Los términos "co-administración" o semejantes, tal y como se usan en la presente memoria, se pretende que engloben la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un único paciente, y se pretende que incluyan regímenes de tratamiento en los que los agentes se administran por la misma o diferente ruta de administración o al mismo o diferente tiempo.

45 En otras realizaciones, el término "marcador detectable," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un marcador que es observable usando técnicas analíticas incluyendo, pero no limitado a, fluorescencia, quimioluminiscencia, resonancia de espín electrónico, espectroscopía de absorbancia ultravioleta/visible, espectrometría de masa, resonancia magnética nuclear, resonancia magnética, y métodos electroquímicos.

El término "agente de tinción," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una sustancia colorante soluble que contiene un cromóforo.

50 Los términos "cantidad efectiva" o "cantidad terapéuticamente efectiva," tal y como se usan en la presente memoria, se refieren a una cantidad suficiente de un agente o un compuesto que se está administrando que aliviará en algún grado uno o más de los síntomas de la enfermedad o afección que se está tratando. El resultado puede ser la reducción y/o alivio de los signos, síntomas, o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. Por ejemplo, una "cantidad efectiva" para usos terapéuticos es la cantidad de la composición que incluye un compuesto como se describe en la presente memoria requerida para proporcionar una disminución clínicamente significativa de los síntomas de la enfermedad sin efectos secundarios adversos excesivos. Una "cantidad efectiva" apropiada en cualquier caso individual se determina opcionalmente usando técnicas, tales como un estudio de escalada de la dosis. El término "cantidad terapéuticamente efectiva" incluye, por ejemplo, una cantidad profilácticamente efectiva. Una "cantidad efectiva" de un compuesto descrito en la presente memoria es

- una cantidad efectiva para conseguir un efecto farmacológico deseado o mejora terapéutica sin efectos secundarios adversos excesivos. Se entiende que "una cantidad efectiva" o "una cantidad terapéuticamente efectiva" puede variar de sujeto a sujeto, debido a variación en el metabolismo del compuesto de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), edad, peso, condición general del sujeto, la afección que se está tratando, la gravedad de la afección que se está tratando, y el criterio del médico responsable.
- El término "grupo electrodenso," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo que dispersa electrones cuando se irradia con un haz de electrones. Dichos grupos incluyen, pero no están limitados a, molibdato de amonio, subnitrito de bismuto yoduro de cadmio, 99%, carbohidrazida, cloruro férrico hexahidrato, hexametileno tetramina, 98,5%, tricloruro de indio anhidro, nitrato de lantano, acetato de plomo trihidrato, citrato de plomo trihidrato, nitrato de plomo, ácido peryódico, ácido fosfomolibdico, ácido fosfotungstico, ferrocianuro de potasio, ferrocianuro de potasio, rutenio rojo, nitrato de plata, proteinato de plata (Ensayo Ag: 8,0-8,5%) "Fuerte", tetrafenilporfina de plata (S-TPPS), cloroaurato de sodio, tungstato de sodio, nitrato de talio, tiosemicarbazida (TSC), acetato de uranilo, nitrato de uranilo, y sulfato de vanadilo.
- En otras realizaciones, el término "agente de transferencia de energía," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una molécula que bien dona o acepta energía de otra molécula. Sólo como ejemplo, la transferencia de energía resonante de fluorescencia (FRET) es un proceso de acoplamiento dipolo-dipolo por el que la energía de estado excitado de una molécula donante de fluorescencia se transfiere de forma no radiactiva a una molécula aceptora no excitada que entonces emite de forma fluorescente la energía donada a una longitud de onda mayor.
- Los términos "aumenta" o "que aumenta" significan incrementar o prolongar bien en potencia o duración un efecto deseado. Como ejemplo, "que aumenta" el efecto de agentes terapéuticos se refiere a la capacidad de incrementar o prolongar, bien en potencia o duración, el efecto de agentes terapéuticos durante el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección. Una "cantidad efectiva que aumenta," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una cantidad adecuada para aumentar el efecto de un agente terapéutico en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección. Cuando se usa en un paciente, las cantidades efectivas para este uso dependerán de la gravedad y curso de la enfermedad, trastorno o afección, terapia previa, el estado de salud del paciente y la respuesta a los fármacos, y el criterio del médico responsable del tratamiento.
- El término "fluoróforo," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una molécula que después de excitación emite fotones y por lo tanto es fluorescente.
- El término "cisteína homóloga," tal y como se usa en la presente memoria se refiere a un residuo de cisteína encontrado en una posición de la secuencia que es homólogo a la de la cisteína 481 de la tirosina quinasa de Bruton, como se define en la presente memoria. Por ejemplo, la cisteína 482 es la cisteína homóloga del ortólogo de rata de la tirosina quinasa de Bruton; la cisteína 479 es la cisteína homóloga del ortólogo de pollo; y la cisteína 481 es la cisteína homóloga en el ortólogo de pez cebra. En otro ejemplo, la cisteína homóloga de TXK, un miembro de la familia de quinasas Tec relacionada con la tirosina de Bruton, es Cys 350. Otros ejemplos de quinasas que tienen cisteínas homólogas se muestran en la FIG. 7. Véanse también los alineamientos de secuencia de tirosina quinasas (TK) publicados en la página de internet en kinase.com/human/kinome/phylogeny.html.
- El término "idéntico," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a dos o más secuencias o subsecuencias que son la misma. Además, el término "sustancialmente idéntico," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a dos o más secuencias que tienen un porcentaje de unidades secuenciales que son las mismas cuando se comparan y alinean para máxima correspondencia sobre una ventana de comparación, o región designada según se mide usando algoritmos de comparación o por alineamiento manual e inspección visual. Sólo como ejemplo, dos o más secuencias son "sustancialmente idénticas" si las unidades secuenciales son aproximadamente 60% idénticas, aproximadamente 65% idénticas, aproximadamente 70% idénticas, aproximadamente 75% idénticas, aproximadamente 80% idénticas, aproximadamente 85% idénticas, aproximadamente 90% idénticas, o aproximadamente 95% idénticas sobre una región especificada. Dichos porcentajes para describir el "porcentaje de identidad" de dos o más secuencias. La identidad de una secuencia puede existir sobre una región que tiene al menos aproximadamente 75-100 unidades secuenciales de longitud, sobre una región que tiene aproximadamente 50 unidades secuenciales de longitud, o, cuando no se especifica, a lo largo de la secuencia completa. Esta definición también se refiere al complemento de una secuencia de ensayo. Sólo como ejemplo, dos o más secuencias polipeptídicas son idénticas cuando los residuos de aminoácidos son los mismos, mientras que dos o más secuencias polipeptídicas son "sustancialmente idénticas" si los residuos de aminoácidos son aproximadamente 60% idénticos, aproximadamente 65% idénticos, aproximadamente 70% idénticos, aproximadamente 75% idénticos, aproximadamente 80% idénticos, aproximadamente 85% idénticos, aproximadamente 90% idénticos, o aproximadamente 95% idénticos sobre una región especificada. La identidad puede existir sobre una región que tiene al menos aproximadamente 75-100 aminoácidos de longitud, sobre una región que tiene aproximadamente 50 aminoácidos de longitud, o, cuando no se especifica, a lo largo de la secuencia completa de una secuencia polipeptídica. Además, sólo como ejemplo, dos o más secuencias de polinucleótido son idénticas cuando los residuos de ácido nucleico son los mismos, mientras que dos o más secuencias de polinucleótido son "sustancialmente idénticas" si los residuos de ácido nucleico son aproximadamente 60% idénticos,

aproximadamente 65% idénticos, aproximadamente 70% idénticos, aproximadamente 75% idénticos, aproximadamente 80% idénticos, aproximadamente 85% idénticos, aproximadamente 90% idénticos, o aproximadamente 95% idénticos sobre una región especificada. La identidad puede existir sobre una región que tiene al menos aproximadamente 75-100 ácidos nucleicos de longitud, sobre una región que tiene aproximadamente 50 ácidos nucleicos de longitud, o, cuando no se especifica, a lo largo de la secuencia completa de una secuencia de polinucleótido.

Los términos "inhibe", "que inhibe", o "inhibidor" de una quinasa, tal y como se usan en la presente memoria, se refieren a la inhibición de la actividad enzimática fosfotransferasa.

El término "inhibidor irreversible," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un compuesto que, después de contacto con una proteína diana (por ejemplo, una quinasa) causa la formación de un nuevo enlace covalente con o en la proteína, mediante lo cual una o más de las actividades biológicas de la proteína diana (por ejemplo, actividad fosfotransferasa) se disminuye o suprime a pesar de la presencia o ausencia posterior del inhibidor irreversible.

El término "inhibidor irreversible de Btk," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un inhibidor de Btk que puede formar un enlace covalente con un residuo de aminoácido de Btk. En una realización, el inhibidor irreversible de Btk puede formar un enlace covalente con un residuo de Cys de Btk; en realizaciones particulares, el inhibidor irreversible puede formar un enlace covalente con un residuo de Cys 481 (o un homólogo de éste) de Btk o un residuo de cisteína en la posición homóloga correspondiente de otra tirosina quinasa, como se muestra en la Fig. 7.

El término "aislado," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a separar y retirar un componente de interés de al menos alguna parte de componentes que no son de interés. Las sustancias aisladas pueden estar bien en estado seco o semi-seco, o en disolución, incluyendo pero no limitado a una disolución acuosa. El componente aislado puede estar en estado homogéneo o el componente aislado puede formar parte de una composición farmacéutica que comprende vehículos y/o excipientes adicionales farmacéuticamente aceptables. Sólo como ejemplo, los ácidos nucleicos o proteínas están "aislados" cuando dichos ácidos nucleicos o proteínas carecen de al menos algunos de los componentes celulares con los que están asociados en el estado natural, o el ácido nucleico o proteína se ha concentrado hasta un nivel mayor que la concentración de su producción in vivo o in vitro. También, como ejemplo, un gen está aislado cuando se separa de sus marcos de lectura abiertos que flanquean el gen y codifican una proteína distinta del gen de interés.

En algunas realizaciones, el término "marcador," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una sustancia que se incorpora en un compuesto y se detecta fácilmente, mediante lo cual se detecta y/o monitoriza su distribución física.

El término "unión," tal y como se usa en la presente memoria se refiere a enlaces o un resto químico formado a partir de una reacción química entre el grupo funcional de un conector y otra molécula. En algunas realizaciones, dichos enlaces incluyen, pero no están limitados a, uniones covalentes y enlaces no covalentes, mientras dichos restos químicos incluyen, pero no están limitados a, ésteres, carbonatos, iminas, ésteres de fosfato, hidrazonas, acetales, ortoésteres, uniones peptídicas, y uniones oligonucleotídicas. Uniones hidrolíticamente estables significa que las uniones son sustancialmente estables en agua y no reaccionan con agua a valores de pH útiles, incluyendo pero no limitado a, bajo condiciones fisiológicas durante un periodo de tiempo prolongado, quizá incluso indefinidamente. Uniones hidrolíticamente inestables o degradables significa que las uniones son degradables en agua o en disoluciones acuosas, incluyendo por ejemplo, la sangre. En otras realizaciones, uniones enzimáticamente inestables o degradables significa que la unión se degrada por una o más enzimas. Sólo como ejemplo, PEG y polímeros relacionados incluyen uniones degradables en el núcleo del polímero o en el grupo conector entre el núcleo del polímero y uno o más de los grupos funcionales terminales de la molécula de polímero. Dichas uniones degradables incluyen, pero no están limitadas a, uniones éster formadas por la reacción de ácidos carboxílicos PEG o ácidos carboxílicos PEG activados con grupos alcohol en un agente biológicamente activo, en la que dichos grupos éster generalmente se hidrolizan en condiciones fisiológicas para liberar el agente biológicamente activo. Otras uniones hidrolíticamente degradables incluyen pero no están limitadas a uniones carbonato; uniones imina que resultan de la reacción de una amina y un aldehído; uniones éster fosfato formadas por la reacción de un alcohol con un grupo fosfato; uniones hidrazona que son el producto de la reacción de una hidrazida y un aldehído; uniones acetal que son el producto de la reacción de un aldehído y un alcohol; uniones ortoéster que son el producto de la reacción de un formato y un alcohol; uniones peptídicas formadas por un grupo amino, incluyendo pero no limitado a, en un extremo de un polímero tal como PEG, y un grupo carboxilo de un péptido; y uniones oligonucleotídicas formadas por un grupo fosforamidita, incluyendo pero no limitado a, en el extremo de un polímero, y un grupo hidroxilo 5' de un oligonucleótido.

La expresión "medir la actividad del resto informador" (o una expresión con palabras similares) se refiere a métodos para cuantificar (en términos absolutos, aproximados o relativos) el resto informador en un sistema en estudio. En algunas realizaciones, dichos métodos incluyen cualesquiera métodos que cuantifican un resto informador que es un agente de tinción; un fotoentrecruzador; un compuesto citotóxico; un fármaco; un marcador de afinidad; un marcador

- de fotoafinidad; un compuesto reactivo; un anticuerpo o fragmento de anticuerpo; un biomaterial; una nanopartícula; un marcador de espín; un fluoróforo, un resto que contiene metal; un resto radiactivo; un grupo funcional nuevo; un grupo que interacciona covalentemente o no covalentemente con otras moléculas; un resto enjaulado fotosensible; un resto excitable con radiación actínica; un ligando; un resto fotoisomerizable; biotina; un análogo de biotina; un resto que incorpora un átomo pesado; un grupo escindible químicamente; un grupo fotoescindible; un agente activo redox; un resto marcado isotópicamente; una sonda biofísica; un grupo fosforescente; un grupo quimioluminiscente; un grupo electrodensito; un grupo magnético; un grupo intercalante; un cromóforo; un agente de transferencia de energía; un agente biológicamente activo; un marcador detectable; y cualquier combinación de los anteriores.
- Un "metabolito" de un compuesto descrito en la presente memoria es un derivado de ese compuesto que se forma cuando el compuesto se metaboliza. El término "metabolito activo" se refiere a un derivado biológicamente activo de un compuesto que se forma cuando el compuesto se metaboliza. El término "metabolizado," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a la suma de los procesos (incluyendo, pero no limitado a, reacciones de hidrólisis y reacciones catalizadas por enzimas, tales como, reacciones de oxidación) mediante los cuales una sustancia particular es cambiada por un organismo. Así, las enzimas producen alteraciones estructurales específicas a un compuesto. Por ejemplo, el citocromo P450 cataliza una variedad de reacciones oxidativas y reductoras mientras uridina difosfato glucuronil transferasas catalizan la transferencia de una molécula de ácido glucurónico activada a alcoholes aromáticos, alcoholes alifáticos, ácidos carboxílicos, aminas y grupos sulfhidrido libres. La información adicional sobre metabolismo se obtiene de *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9ª Edición, McGraw-Hill (1996). Los metabolitos de los compuestos descritos en la presente memoria se identifican opcionalmente bien por administración de los compuestos a un huésped y análisis de muestras de tejido del huésped, o por incubación de compuestos con células hepáticas *in vitro* y análisis de los compuestos resultantes. En algunas realizaciones, los metabolitos de un compuesto se forman por procesos oxidativos y corresponden al compuesto que contiene hidroxilo correspondiente. En algunas realizaciones, un compuesto se metaboliza a metabolitos farmacológicamente activos.
- El término "modular," tal y como se usa en la presente memoria, significa interactuar con una diana bien directamente o indirectamente de manera que se altera la actividad de la diana, incluyendo, sólo como ejemplo, aumentar la actividad de la diana, inhibir la actividad de la diana, limitar la actividad de la diana, o prolongar la actividad de la diana.
- Tal y como se usa en la presente memoria, el término "modulador" se refiere a un compuesto que altera una actividad de una molécula. Por ejemplo, un modulador puede causar un incremento o disminución en la magnitud de una determinada actividad de una molécula comparado con la magnitud de la actividad en ausencia del modulador. En determinadas realizaciones, un modulador es un inhibidor, que disminuye la magnitud de una o más actividades de una molécula. En determinadas realizaciones, un inhibidor previene completamente una o más actividades de una molécula. En determinadas realizaciones, un modulador es un activador, que incrementa la magnitud de al menos una actividad de una molécula. En determinadas realizaciones la presencia de un modulador resulta en una actividad que no ocurre en ausencia del modulador.
- El término "resto que incorpora un átomo pesado," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo que incorpora un ión de un átomo que habitualmente es más pesado que el carbono. En algunas realizaciones, dichos iones o átomos incluyen, pero no están limitados a, silicio, tungsteno, oro, plomo, y uranio.
- El término "nanopartícula," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una partícula que tiene un tamaño de partícula entre aproximadamente 500 nm a aproximadamente 1 nm.
- Tal y como se usa en la presente memoria, el término "pERK" se refiere ERK1 y ERK2 fosforilados en Thr202/Tyr 204 según se detecta por anticuerpos fosfo-específicos disponibles comercialmente (por ejemplo, Cell Signaling Technologies #4377).
- El término "marcador de fotoafinidad," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un marcador con un grupo, que, después de exposición a luz, forma una unión con una molécula para la que el marcador tiene una afinidad. Sólo como ejemplo, en algunas realizaciones, dicha unión es covalente o no covalente.
- El término "resto enjaulado fotosensible," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo que, después de iluminación a determinadas longitudes de onda, se une covalentemente o no covalentemente a otros iones o moléculas.
- El término "resto fotoisomerizable," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo en el que después de iluminación con luz cambia de una forma isomérica a otra.
- El término "vida media plasmática," tal y como se usa en la presente memoria se refiere a vida media en rata, perro o ser humano según se determina por la medida de la concentración de fármaco con el tiempo en el plasma después de una dosis única y ajuste de los datos a modelos farmacocinéticos estándar usando software tal como WinNonLin para determinar el tiempo en el que se ha eliminado el 50% del fármaco del plasma.

El término "cantidad profilácticamente efectiva," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a la cantidad de una composición aplicada a un paciente que aliviará en algún grado uno o más de los síntomas de una enfermedad, afección o trastorno que se está tratando. En dichas aplicaciones profilácticas, dichas cantidades pueden depender del estado de salud del paciente, peso, y semejantes.

- 5 El término "resto radiactivo," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo cuyos núcleos liberan espontáneamente radiación nuclear, tal como partículas alfa, beta, o gamma; en el que las partículas alfa son núcleos de helio, las partículas beta son electrones, y las partículas gamma son fotones de alta energía.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "compuesto que se une selectivamente" se refiere a un compuesto que se une selectivamente a cualquier parte de una o más proteínas diana.

- 10 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "se une selectivamente" se refiere a la capacidad de un compuesto que se une selectivamente de unirse a una proteína diana, tal como, por ejemplo, Btk, con mayor afinidad de la que se une a una proteína no diana. En determinadas realizaciones, la unión específica se refiere a la unión a una diana con una afinidad que es al menos 10, 50, 100, 250, 500, 1.000 o más veces mayor que la afinidad para una no diana.

- 15 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "modulador selectivo" se refiere a un compuesto que modula selectivamente una actividad diana respecto a una actividad no diana. En determinadas realizaciones, modulador específico se refiere a modular una actividad diana al menos 10, 50, 100, 250, 500, 1.000 veces más que una actividad no diana.

- 20 El término "marcador de espín," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a moléculas que contienen un átomo o un grupo de átomos que presentan un espín electrónico desemparejado (es decir, un grupo paramagnético estable) que en algunas realizaciones se detectan por espectroscopía de resonancia de espín electrónico y en otras realizaciones se unen a otra molécula. Dichas moléculas marcadas con espín incluyen, pero no están limitadas a, radicales nitrilo y nitróxidos, y en algunas realizaciones son marcadores de espín único o marcadores de espín doble.

- 25 El término "sustancialmente purificado," tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un componente de interés que puede carecer sustancialmente o esencialmente de otros componentes que normalmente acompañan o interactúan con el componente de interés antes de la purificación. Sólo como ejemplo, un componente de interés puede estar "sustancialmente purificado" cuando la preparación del componente de interés contiene menos de aproximadamente 30%, menos de aproximadamente 25%, menos de aproximadamente 20%, menos de aproximadamente 15%, menos de aproximadamente 10%, menos de aproximadamente 5%, menos de aproximadamente 4%, menos de aproximadamente 3%, menos de aproximadamente 2%, o menos de aproximadamente 1% (en peso seco) de componentes contaminantes. Así, un componente de interés "sustancialmente purificado" puede tener un nivel de pureza de aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o mayor.

El término "sujeto" tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un animal que es el objeto de tratamiento, observación o experimento. Sólo como ejemplo, un sujeto puede ser, pero no está limitado a, un mamífero incluyendo, pero no limitado a, un ser humano.

- 40 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "actividad diana" se refiere a una actividad biológica que puede ser modulada por un modulador selectivo. Determinadas actividades diana ejemplares incluyen, pero no están limitadas a, afinidad de unión, transducción de señales, actividad enzimática, crecimiento tumoral, inflamación o procesos relacionados con la inflamación, y mejora de uno o más síntomas asociados con una enfermedad o afección.

- 45 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "proteína diana" se refiere a una molécula o una parte de una proteína que puede ser unida por un compuesto de unión selectivo. En determinadas realizaciones, una proteína diana es Btk.

- 50 Los términos "tratar," "tratando" o "tratamiento", tal y como se usan en la presente memoria, incluyen aliviar, suprimir o mejorar los síntomas de una enfermedad o afección, prevenir síntomas adicionales, mejorar o prevenir las causas metabólicas subyacentes de los síntomas, inhibir la enfermedad o afección, por ejemplo, parar el desarrollo de la enfermedad o afección, aliviar la enfermedad o afección, causar la regresión de la enfermedad o afección, aliviar una afección causada por la enfermedad o afección, o parar los síntomas de la enfermedad o afección. Los términos "tratar," "tratando" o "tratamiento", incluyen, pero no están limitados a, tratamientos profilácticos y/o terapéuticos.

- 55 Tal y como se usa en la presente memoria, la CI_{50} se refiere a una cantidad, concentración o dosificación de un compuesto de ensayo particular que consigue un 50% de inhibición de una respuesta máxima, tal como inhibición de Btk, en un ensayo que mide dicha respuesta.

Tal y como se usa en la presente memoria, CE_{50} se refiere a una dosificación, concentración o cantidad de un compuesto de ensayo particular que incita una respuesta dependiente de la dosis al 50% de expresión máxima de una respuesta particular que es inducida, provocada o potenciada por el compuesto de ensayo particular.

Descripción breve de las figuras

5 La **FIG. 1(A)** presenta una tabla ilustrativa de concentraciones GI_{50} del Compuesto **1** que resulta en una disminución del 50% en la proliferación celular. Se incubó una variedad de líneas celulares de linfoma con un intervalo de concentraciones del Compuesto **1**. **(B)** presenta un gráfico de líneas ilustrativo que muestra la inhibición del crecimiento tumoral en modelos de xenoinjerto DLCL2. **(C)** presenta un gráfico de líneas ilustrativo que muestra la inhibición del crecimiento tumoral en modelos de xenoinjerto DOHH2. Para los estudios de xenoinjerto de linfoma in vivo, se implantaron células 5E6 DOHH2 o DLCL2 en 50% matrigel subcutáneamente en ratones SCID y se dosificaron oralmente con el Compuesto **1** empezando cuando el tamaño tumoral alcanzó 100 mm².

15 La **FIG. 2** presenta un gráfico de líneas ilustrativo que muestra la inhibición de artritis inducida por colágeno en ratones DBA/101aHsd macho. El Compuesto **1** o el vehículo se dosificaron oralmente una vez al día empezando el día 1. Se incluyó dexametasona como un control positivo. Se puntuó la inflamación de la pata de 0-5 y se promedió para todas las patas de todos los animales para grupo en el estudio. El Compuesto **1** a 12,5 mg/kg y 50 mg/kg produjo la regresión de la inflamación hasta el final del estudio (día 11) mientras 3,125 mg/kg redujo significativamente el incremento en la inflamación de la pata.

20 La **FIG. 3** presenta un gráfico de líneas ilustrativo que muestra la inhibición de la progresión de la enfermedad en un modelo de ratón MRL/lpr de lupus. Se dosificaron los ratones MRL/lpr (Jax cepa 000485) oralmente una vez al día desde las 8 semanas de edad hasta las 20 semanas de edad y se midieron semanalmente los niveles de proteína en orina. El Compuesto **1** a 3,125 mg/kg, 12,5 mg/kg, y 50 mg/kg redujo significativamente la proteinuria, indicando mejora del fallo renal progresivo autoinmune observado en esta cepa de ratón.

25 La **FIG. 4** presenta un gráfico de barras ilustrativo que muestra la inhibición de la desgranulación de mastocitos en un modelo de anafilaxis cutánea pasiva en ratón. 23 horas después de sensibilizar a los ratones con una inyección intradérmica de anti-DNP-IgE monoclonal en la espalda, recibieron una única dosis oral del Compuesto **1** o vehículo. Después de una hora, los animales se pulsaron con una inyección intravenosa de DNP-BSA y agente de tinción Evans Azul y se midió el área de extravasación. Las dosis crecientes del Compuesto **1** disminuyeron significativamente la cantidad de liberación de Evans Azul, indicando una activación de mastocitos y permeabilización vascular disminuidas.

30 La **FIG. 5** presenta un gráfico de líneas ilustrativo que muestra las concentraciones plasmáticas in vivo después de dosificación de ratas macho canuladas en la vena yugular con los Compuestos **1**, **7**, **8**, y **12**. Se recogieron muestras de sangre a las 0,0833 (5 minutos), 0,333 (20 minutos), 1, 3, 6, 9, y 24 horas después de la dosificación de ratas dosificadas oralmente. El Compuesto **1** y Compuesto **12** tienen una vida media corta in vivo. Por el contrario, el Compuesto **7** y Compuesto **8** tienen una vida media in vivo significativamente más larga. Se predice que los Compuestos como **1** y **12** tienen una selectividad para quinasa aumentada in vivo ya que la inhibición sólo se mantendrá para aquellas quinazinas que se inhiben irreversiblemente.

35 La **FIG. 6** presenta un gráfico de barras ilustrativo que muestra que una exposición breve al Compuesto **1** in vitro es suficiente para inhibir la activación de células B en células B humanas normales. Las células B se purificaron de sangre de donantes sanos por selección negativa usando la mezcla de enriquecimiento de células B humanas RosetteSep. Las células se sembraron en placas en medio de crecimiento y se añadieron las concentraciones indicadas del Compuesto **1**. Después de incubar durante 1 hora a 37°C, las células se lavaron tres veces usando una dilución de 8 veces en medio de crecimiento para cada lavado. Las células se estimularon con IgM F(ab')₂ durante 18 horas a 37°C, se tiñeron con anticuerpo anti-CD69-PE y se analizaron por citometría de flujo. Este protocolo mimetiza la exposición predicha de células al Compuesto **1** in vivo y demuestra que la inhibición de células B se mantiene a pesar de eliminar por lavado el Compuesto **1**.

La **FIG. 7** presenta ACK ilustrativas, incluyendo Btk y homólogos de cisteína de Btk.

Descripción detallada de la invención

Compuestos inhibidores Irreversibles

50 En la descripción siguiente de compuestos inhibidores irreversibles de quinasa adecuados para uso en los métodos descritos en la presente memoria, las definiciones de términos de química estándar a los que se hace referencia pueden encontrarse en trabajos de referencia (si no se definen de otra forma en la presente memoria), incluyendo Carey y Sundberg "Advanced Organic Chemistry 4^a Ed." Vols. A (2000) y B (2001), Plenum Press, Nueva York. Además, las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos para Btk (por ejemplo, Btk humana) se describen, por ejemplo, en la Patente U.S. No. 6.326.469. A no ser que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura empleada en conexión con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química de síntesis orgánica, y química médica y farmacéutica descritos en la presente memoria son los conocidos en la técnica.

Pueden usarse técnicas estándar para la síntesis química, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación, y administración, y tratamiento de pacientes

5 Los compuestos inhibidores descritos en la presente memoria son selectivos para quinasas que tienen un residuo de cisteína accesible (dichas quinasas también se conocen como Quinasas con Cisteína Accesible, o ACK) que puede formar un enlace covalente con un resto aceptor de Michael en el compuesto inhibidor. En algunas realizaciones, el residuo de cisteína es accesible o se vuelve accesible cuando el resto de sitio de unión del inhibidor irreversible se une a la quinasa. Esto es, el resto de sitio de unión del inhibidor irreversible se une a un sitio activo de la ACK y el resto aceptor de Michael del inhibidor irreversible obtiene acceso (en una realización la etapa de unión da lugar a un cambio conformacional en la ACK, exponiendo así la cisteína) o se expone de otra manera al residuo de cisteína de la ACK; como resultado se forma un enlace covalente entre el "S" del residuo de cisteína y el aceptor de Michael del inhibidor irreversible. Consecuentemente, el resto de sitio de unión del inhibidor irreversible permanece unido o bloquea de otra forma el sitio activo de la ACK.

15 En una realización, la ACK es Btk, un homólogo Btk o una tirosina quinasa que tiene un residuo de cisteína en una posición en la secuencia de aminoácidos que es homóloga a la posición en la secuencia de aminoácidos de la cisteína 481 en Btk. Véanse, por ejemplo, las quinasas en la FIG. 7. Los compuestos inhibidores descritos en la presente memoria incluyen un resto aceptor de Michael, un resto de sitio de unión y un conector que une el resto de sitio de unión y el resto aceptor de Michael (y en algunas realizaciones, la estructura del conector proporciona una conformación, o dirige de otra forma el resto aceptor de Michael, de manera que se mejora la selectividad del inhibidor irreversible para una ACK particular).

20 Generalmente, un compuesto inhibidor irreversible usado en los métodos descritos en la presente memoria se identifica o caracteriza en un ensayo *in vitro*, por ejemplo, un ensayo bioquímico acelular o un ensayo funcional celular. Dichos ensayos son útiles para determinar una CI_{50} *in vitro* para un compuesto inhibidor irreversible.

25 Por ejemplo, un ensayo de quinasa acelular puede usarse para determinar la actividad quinasa después de incubación de la quinasa en ausencia o presencia de un intervalo de concentraciones de un compuesto inhibidor irreversible candidato. Si el compuesto candidato es de hecho un inhibidor irreversible, la actividad quinasa no se recuperará por lavado repetido con medio sin inhibidor. Véase, por ejemplo, J. B. Smalls, *et al.* (1999), *J. Med. Chem.* 42(10):1803-1815. Además, la formación de complejo covalente entre una Quinasa y un inhibidor irreversible candidato es un indicador útil de inhibición irreversible de la Quinasa que puede determinarse fácilmente por varios métodos (por ejemplo, espectrometría de masa). Por ejemplo, algunos compuestos inhibidores irreversibles de Quinasas pueden formar un enlace covalente con el residuo de cisteína mencionado anteriormente (por ejemplo, a través de una reacción de Michael).

35 Los ensayos de alto rendimiento para muchos ensayos bioquímicos acelulares (por ejemplo, ensayos de quinasa) y ensayos funcionales celulares (por ejemplo, flujo de calcio) son metodologías documentadas. Además, los sistemas de cribado de alto rendimiento están disponibles comercialmente (véase, por ejemplo, Zymark Corp., Hopkinton, MA; Air Technical Industries, Mentor, OH; Beckman Instruments, Inc. Fullerton, CA; Precision Systems, Inc., Natick, MA, etc.). Estos sistemas automatizan típicamente procedimientos completos incluyendo todo el pipeteo de la muestra y reactivos, dispensación de líquidos, incubaciones temporizadas, y lecturas finales de la microplaca en el o los detectores apropiados para el ensayo. Los sistemas automatizados permiten de esta manera la identificación y caracterización de un gran número de compuestos irreversibles.

40 Los compuestos inhibidores irreversibles pueden usarse para la fabricación de un medicamento para tratar cualquiera de las afecciones anteriores (por ejemplo, enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, trastornos alérgicos, trastornos proliferativos de células B, o trastornos tromboembólicos).

45 En algunas realizaciones, el compuesto inhibidor irreversible usado para los métodos descritos en la presente memoria inhibe una actividad Quinasa con una CI_{50} *in vitro* de menos de 10 μ M. (por ejemplo, menos de 1 μ M, menos de 0,5 μ M, menos de 0,4 μ M, menos de 0,3 μ M, menos de 0,1, menos de 0,08 μ M, menos de 0,06 μ M, menos de 0,05 μ M, menos de 0,04 μ M, menos de 0,03 μ M, menos de 0,02 μ M, menos de 0,01, menos de 0,008 μ M, menos de 0,006 μ M, menos de 0,005 μ M, menos de 0,004 μ M, menos de 0,003 μ M, menos de 0,002 μ M, menos de 0,001, menos de 0,00099 μ M, menos de 0,00098 μ M, menos de 0,00097 μ M, menos de 0,00096 μ M, menos de 0,00095 μ M, menos de 0,00094 μ M, menos de 0,00093 μ M, menos de 0,00092, o menos de 0,00090 μ M).

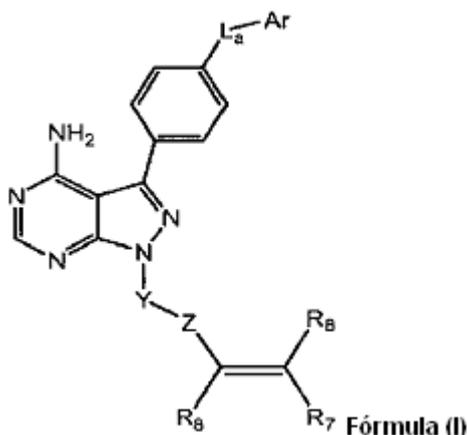
50 En una realización, el compuesto inhibidor irreversible inhibe selectivamente e irreversiblemente una forma activada de su tirosina quinasa diana (por ejemplo, una forma fosforilada de la tirosina quinasa). Por ejemplo, Btk activada está transfosforilada en la tirosina 551. Así, en estas realizaciones el inhibidor irreversible de Btk inhibe la quinasa diana en células sólo una vez la quinasa diana se activa por los eventos de señalización.

Compuestos inhibidores Irreversibles particulares para ACK

55 En la presente memoria se describen compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). También se describen en la presente memoria sales farmacéuticamente aceptables, solvatos farmacéuticamente aceptables, metabolitos farmacéuticamente activos, y

profármacos farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos. Se proporcionan composiciones farmacéuticas que incluyen al menos uno de dichos compuestos o una sal farmacéuticamente aceptable, solvatos farmacéuticamente aceptables, metabolito farmacéuticamente activo o profármaco farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto. En algunas realizaciones, cuando los compuestos descritos en la presente memoria contienen un átomo de nitrógeno oxidable, el átomo de nitrógeno se convierte opcionalmente en un N-óxido. En determinadas realizaciones, también se proporcionan isómeros y formas químicamente protegidas de los compuestos que tienen una estructura representada por cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII).

En un aspecto son compuestos (incluyendo inhibidores irreversibles de ACK, incluyendo Btk y sus homólogos de cisteína) que tienen la estructura de Fórmula (I):



en la que

L_a es CH_2 , O, NH o S;

Ar es un arilo sustituido o no sustituido, o un heteroarilo sustituido o no sustituido; y bien

15 (a) Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileo, heteroalquileo, arileno, heteroarileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileo y alquilenheterocicloalquileo;

Z es $C(=O)$, $NHC(=O)$, $NR^aC(=O)$, $NR^aS(=O)_x$, en el que x es 1 ó 2, y R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido; y bien

(i) R_7 y R_8 son H;

20 R_6 es H, alquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_1 - C_8 , hidroxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , alcoxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_8 cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_2 - C_8 sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_4 (arilo), alquilo C_1 - C_4 (heteroarilo), alquiléteres C_1 - C_8 , alquilamidas C_1 - C_8 , o alquilo C_1 - C_4 (heterocicloalquilo C_2 - C_8);

25 (ii) R_6 y R_8 son H;

R_7 es H, alquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_1 - C_8 , hidroxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , alcoxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_8 cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_2 - C_8 sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_4 (arilo), alquilo C_1 - C_4 (heteroarilo), alquiléteres C_1 - C_8 , alquilamidas C_1 - C_8 , o alquilo C_1 - C_4 (heterocicloalquilo C_2 - C_8); o

30 (iii) R_7 y R_8 tomados conjuntamente forman un enlace;

R_6 es H, alquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_1 - C_8 , hidroxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , alcoxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_8 cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_2 - C_8 sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_4 (arilo), alquilo C_1 - C_4 (heteroarilo), alquiléteres C_1 - C_8 , alquilamidas C_1 - C_8 , o alquilo C_1 - C_4 (heterocicloalquilo C_2 - C_8); o

35 (b) Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de cicloalquileo o heterocicloalquileo;

Z es C(=O), NHC(=O), NR^aC(=O), NR^aS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2, y R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido; y bien

(i) R₇ y R₈ son H;

5 R₆ es heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈);

(ii) R₆ y R₈ son H;

10 R₇ es heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); o

(iii) R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace;

15 R₆ es alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); y

sales farmacéuticamente aceptables, de éstos.

20 En otra realización se describen sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (I). Sólo como ejemplo, son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un anión, tales como adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilopropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluensulfonato, undecanoato, y valerato. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un catión, tal como cationes sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, amonio, y amonio cuaternario (sustituido con al menos un resto orgánico)

En otra realización son ésteres farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (I), incluyendo aquellos en los que el grupo éster se selecciona de un formato, acetato, propionato, butirato, acrilato y etilsuccinato.

35 En otra realización son carbamatos farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (I). En otra realización son derivados N-acilo farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (I). Los ejemplos de grupos N-acilo incluyen grupos N-acetilo y N-etoxicarbonilo.

40 Para cualquiera y todas las realizaciones, los sustituyentes pueden seleccionarse de entre un subconjunto de las alternativas listadas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, L_a es CH₂, O, o NH. En otras realizaciones, L_a es O o NH. En otras realizaciones más, L_a es O.

En algunas realizaciones, Ar es un arilo sustituido o no sustituido. En otras realizaciones más, Ar es un arilo de 6 miembros. En algunas otras realizaciones, Ar es fenilo.

En algunas realizaciones, x es 2. En otras realizaciones más, Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), S(=O)_x, OS(=O)_x, o NHS(=O)_x. En algunas otras realizaciones, Z es C(=O), NHC(=O), o NCH₃C(=O).

45 En algunas realizaciones Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquilenos, heteroalquilenos, arilenos, heteroarilenos, alquilenarilenos, alquilenheteroarilenos, y alquilenheterocicloalquilenos.

En algunas realizaciones, Z es C(=O), NHC(=O), NR^aC(=O), NR^aS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2, y R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido.

50 En algunas realizaciones, R₇ y R₈ son H; y R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo),

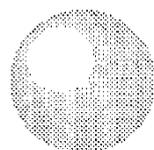
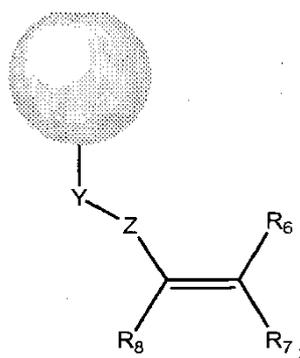
alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈). En otras realizaciones, R₆ y R₈ son H; y R₇ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈). En más realizaciones adicionales, R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace; y R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈).

En algunas realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de cicloalquileno o heterocicloalquileno.

En algunas realizaciones, Z es C(=O), N-HC(=O), NR^aC(=O), NR^aS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2, y R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido.

En algunas realizaciones, R₇ y R₈ son H; y R₆ es heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈). En otras realizaciones, R₆ y R₈ son H; y R₇ es heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈). En realizaciones adicionales, R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace; y R₆ es alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈).

En un aspecto son compuestos (incluyendo inhibidores irreversibles de ACK, incluyendo Btk y sus homólogos de cisteína) que tienen la estructura de Fórmula (VII):



en la que es un resto que se une al sitio activo de una quinasa, incluyendo una tirosina quinasa, incluyendo además un homólogo de cisteína de la quinasa Btk;

Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, heterocicloalquileno, cicloalquileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileno, y alquilenheterocicloalquileno;

Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), NCH₃C(=O), C(=S), S(=O)_x, OS(=O)_x, NHS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2;

R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquiloC₁-C₄ no sustituido, alquiloC₁-C₄ sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ no sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₆ no sustituido, y heterocicloalquiloC₂-C₆ sustituido; o

R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace; y

5 R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxilalquiloC₁-C₆, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxilalquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiloC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₈), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); y sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

10 En otra realización se describen sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (VII). Sólo como ejemplo, son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un anión, tales como adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluensulfonato, undecanoato, y valerato. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un catión, tales como cationes sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, amonio, y amonio cuaternario (sustituido con al menos un resto orgánico).

En otra realización son ésteres farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (VII), incluyendo aquellos en los que el grupo éster se selecciona de un formato, acetato, propionato, butirato, acrilato y etilsuccinato.

25 En otra realización son carbamatos farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (VII). En otra realización son derivados N-acilo farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (VII). Los ejemplos de grupos N-acilo incluyen grupos N-acetilo y N-etoxicarbonilo.

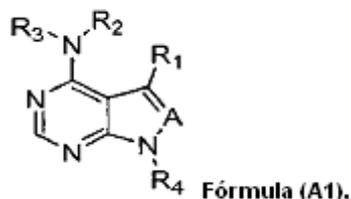
En algunas realizaciones, x es 2. En otras realizaciones más, Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), S(=O)_x, OS(=O)_x, o NHS(=O)_x. En algunas otras realizaciones, Z es C(=O), NHC(=O), o S(=O)₂.

30 En algunas realizaciones, R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquiloC₁-C₄ no sustituido, alquiloC₁-C₄ sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ no sustituido y heteroalquiloC₁-C₄ sustituido; o R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace. En otras realizaciones más, cada uno de R₇ y R₈ es H; o R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace.

35 En algunas realizaciones, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxilalquiloC₁-C₆, alquilaminoalquiloC₁-C₈, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), C₁-C₄alquil(cicloalquiloC₃-C₈), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈). En algunas otras realizaciones, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxilalquiloC₁-C₆, alquilC₁-C₂-N(alquilC₁-C₃)₂, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquilC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₈), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈). En otras realizaciones más, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, -CH₂-O-(alquilC₁-C₃), -CH₂-N(alquilC₁-C₃)₂, alquilC₁-C₄(fenilo), o alquilC₁-C₄(heteroarilo de 5 ó 6 miembros). En otras realizaciones más, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, -CH₂-O-(alquilC₁-C₃), -CH₂-(alquilaminoC₁-C₆), alquilC₁-C₄(fenilo), o alquilC₁-C₄(heteroarilo de 5 ó 6 miembros). En algunas realizaciones, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, -CH₂-O-(alquilC₁-C₃), -CH₂-N(alquilC₁-C₃)₂, alquilC₁-C₄(fenilo), o alquilC₁-C₄(heteroarilo de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquilo de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N).

45 En algunas realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquilenilo, heteroalquilenilo, arilenilo, heteroarilenilo, heterocicloalquilenilo, cicloalquilenilo, alquilenarilenilo, alquilenheteroarilenilo, alquilencicloalquilenilo, y alquilenheterocicloalquilenilo. En otras realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileniloC₁-C₆, heteroalquileniloC₁-C₆, cicloalquilenilo de 4, 5, 6, ó 7 miembros, y heterocicloalquilenilo de 4, 5, 6, ó 7 miembros. En otras realizaciones más, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileniloC₁-C₆, heteroalquileniloC₁-C₆, cicloalquilenilo de 5 ó 6 miembros, y heterocicloalquilenilo de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N. En algunas otras realizaciones, Y es un cicloalquilenilo de 5 ó 6 miembros, o un heterocicloalquilenilo de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N. En algunas realizaciones, Y es un anillo cicloalquilenilo de 4, 5, 6, ó 7 miembros; o Y es un anillo heterocicloalquilenilo de 4, 5, 6, ó 7 miembros.

55 En un aspecto son compuestos (incluyendo inhibidores irreversibles de ACK, incluyendo Btk y sus homólogos de cisteína) que tienen la estructura de Fórmula (A1):



en la que

A se selecciona independientemente de N o CR₅;

- 5 R₁ es H, L₂-(alquilo sustituido o no sustituido), L₂-(cicloalquilo sustituido o no sustituido), L₂-(alquenilo sustituido o no sustituido), L₂-(cicloalquenilo sustituido o no sustituido), L₂-(heterociclo sustituido o no sustituido), L₂-(heteroarilo sustituido o no sustituido), o L₂-(arilo sustituido o no sustituido), en el que L₂ es un enlace, O, S, -S(=O), -S(=O)₂, C(=O), -(alquiloC₁-C₆ sustituido o no sustituido), o -(alqueniloC₂-C₆ sustituido o no sustituido);

R₂ y R₃ se seleccionan independientemente de H, alquilo inferior y alquilo inferior sustituido;

R₄ es L₃-X-L₄-G, en el que,

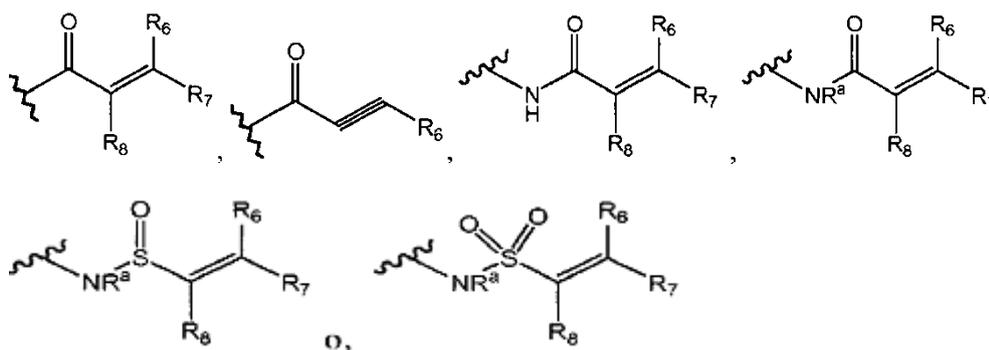
- 10 L₃ es opcional, y cuando está presente es un enlace, o un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de alquilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, o alquilheterocicloalquilo;

- 15 X es opcional, y cuando está presente es un enlace, O, -C(=O), S, -S(=O), -S(=O)₂, -NH, -NR₉, -NHC(O), -C(O)NH, -NR₉C(O), -C(O)NR₉, -S(=O)₂NH, -NHS(=O)₂, -S(=O)₂NR₉, -NR₉S(=O)₂, -OC(O)NH-, -NH(O)O-, -OC(O)NR₉, -NR₉C(O)O-, -CH=NO-, -ON=CH-, -NR₁₀C(O)NR₁₀, heteroarilo, arilo, -NR₁₀C(=NR₁₁)NR₁₀, -NR₁₀C(=NR₁₁)-, -C(=NR₁₁)NR₁₀, -OC(=NR₁₁)-, o -C(=NR₁₁)O-;

L₄ es opcional, y cuando está presente es un enlace, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquenilo sustituido o no sustituido, alquinilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclo sustituido o no sustituido;

- 20 o L₃, X y L₄ tomados conjuntamente forman un anillo heterocíclico que contiene nitrógeno, o un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de alquilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, o alquilheterocicloalquilo;

G es



- 25 en el que R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido; y bien

R₇ y R₈ son H;

- 30 R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈);

R₆ y R₈ son H;

R₇ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-

C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); o

R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace;

5 R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); o

10 R₅ es H, halógeno, -L₆-(alquiloC₁-C₃ sustituido o no sustituido), -L₆-(alquenoC₂-C₄ sustituido o no sustituido), -L₆-(heteroarilo sustituido o no sustituido), o -L₆-(arilo sustituido o no sustituido), en el que L₆ es un enlace, O, S, -S(=O), S(=O)₂, NH, C(O), -NHC(O)O, -OC(O)NH, -NHC(O), o -C(O)NH;

cada R₉ se selecciona independientemente de entre H, alquilo inferior sustituido o no sustituido, y cicloalquilo inferior sustituido o no sustituido;

15 cada R₁₀ es independientemente H, alquilo inferior sustituido o no sustituido o cicloalquilo inferior sustituido o no sustituido; o

dos grupos R₁₀ tomados conjuntamente forman un anillo heterocíclico de 5, 6, 7, u 8 miembros; o

R₉ y R₁₀ pueden formar conjuntamente un anillo heterocíclico de 5, 6, 7, u 8 miembros; o

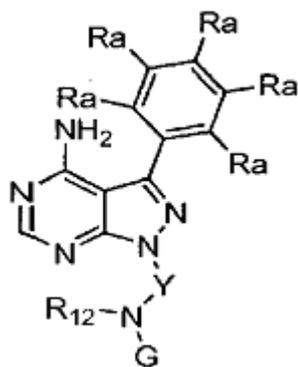
20 cada R₁₁ se selecciona independientemente de H, -S(=O)₂R₈, -S(=O)₂NH₂, -C(O)R₈, -CN, -NO₂, heteroarilo, o heteroalquilo; y sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

En otra realización se proporcionan sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (A1). Sólo como ejemplo, son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un anión, tales como adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilopropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluensulfonato, undecanoato, y valerato. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un catión, tales como cationes sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, amonio, y amonio cuaternario (sustituido con al menos un resto orgánico).

35 En otra realización son ésteres farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (A1), incluyendo aquellos en los que el grupo éster se selecciona de un formato, acetato, propionato, butirato, acrilato y etilsuccinato.

En otra realización son carbamatos farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (A1). En otra realización son derivados N-acilo farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (A1). Los ejemplos de grupos N-acilo incluyen grupos N-acetilo y N-etoxicarbonilo.

40 En una realización adicional o alternativa, el compuesto de Fórmula (A1) tiene la estructura siguiente de Fórmula (B1):



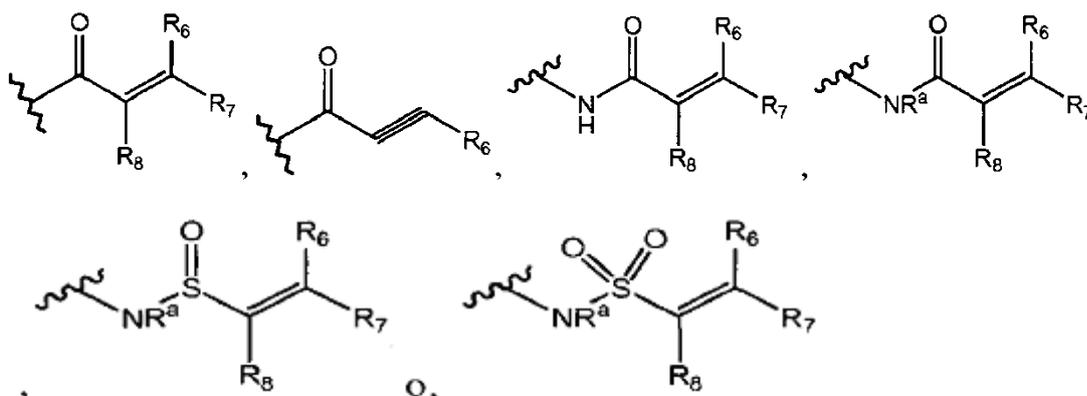
Fórmula (B1),

en la que:

Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileo, heteroalquileo, arileno, heteroarileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, y alquilenheterocicloalquileo;

- 5 cada R_a es independientemente H, halógeno, $-CF_3$, $-CN$, $-NO_2$, OH, NH_2 , $-L_a$ -(alquilo sustituido o no sustituido), $-L_a$ -(alquilenilo sustituido o no sustituido), $-L_a$ -(heteroarilo sustituido o no sustituido), o $-L_a$ -(arilo sustituido o no sustituido), en el que L_a es un enlace, O, S, $-S(=O)$, $-S(=O)_2$, NH, C(O), CH_2 , $-NHC(O)O$, $-NHC(O)$, o $-C(O)NH$;

G es



10

en el que R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido; y bien

R_7 y R_8 son H;

- 15 R_6 es H, alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_{1-8} , hidroxialquilaminoalquilo C_{1-8} , alcoxialquilaminoalquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, alquil C_{1-8} cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_{2-8} sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil C_{1-4} (arilo), alquil C_{1-4} (heteroarilo), alquiléteres C_{1-8} , alquilamidas C_{1-8} , o alquil C_{1-4} (heterocicloalquilo C_{2-8});

R_6 y R_8 son H;

- 20 R_7 es H, alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_{1-8} , hidroxialquilaminoalquilo C_{1-8} , alcoxialquilaminoalquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, alquil C_{1-8} cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_{2-8} sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil C_{1-4} (arilo), alquil C_{1-4} (heteroarilo), alquiléteres C_{1-8} , alquilamidas C_{1-8} , o alquil C_{1-4} (heterocicloalquilo C_{2-8}); o

R_7 y R_8 tomados conjuntamente forman un enlace;

- 25 R_6 es H, alquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_{1-4} sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_{1-8} , hidroxialquilaminoalquilo C_{1-8} , alcoxialquilaminoalquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, alquil C_{1-8} cicloalquilo C_{3-6} sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_{2-8} sustituido o no

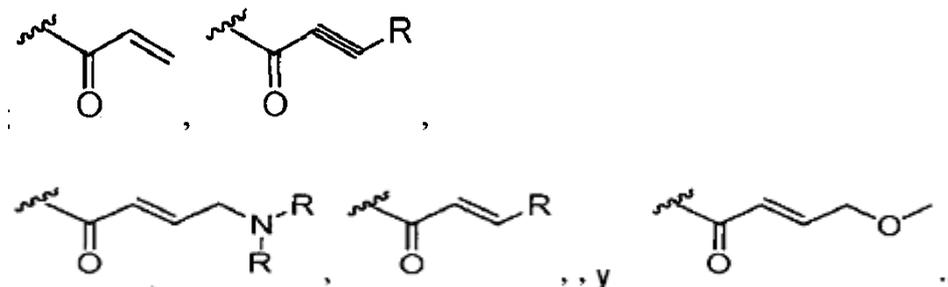
sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈);

R₁₂ es H o alquilo inferior; o

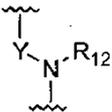
Y y R₁₂ tomados conjuntamente forman un anillo heterocíclico de 4, 5, ó 6 miembros; y

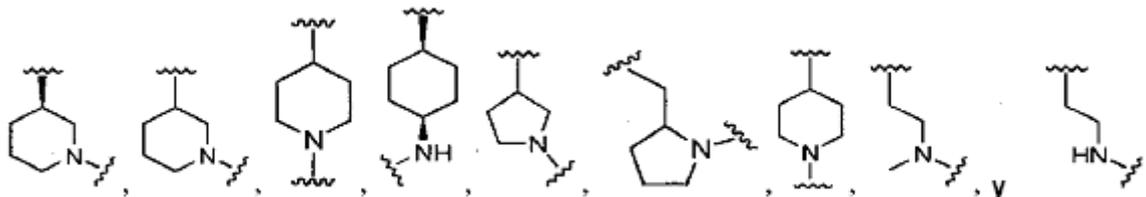
5 sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

En realizaciones adicionales o alternativas, G se selecciona de entre

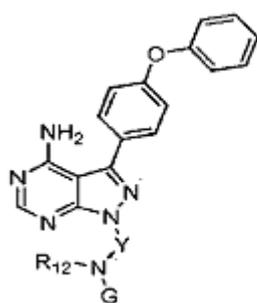


en el que R es H, alquilo, alquilhidroxi, heterocicloalquilo, heteroarilo, alquilalcoxi, alquilalcoxialquilo.

10 En realizaciones adicionales o alternativas,  se selecciona de entre



En una realización adicional o alternativa, el compuesto de Fórmula (B1) tiene la estructura siguiente de Fórmula (C1):



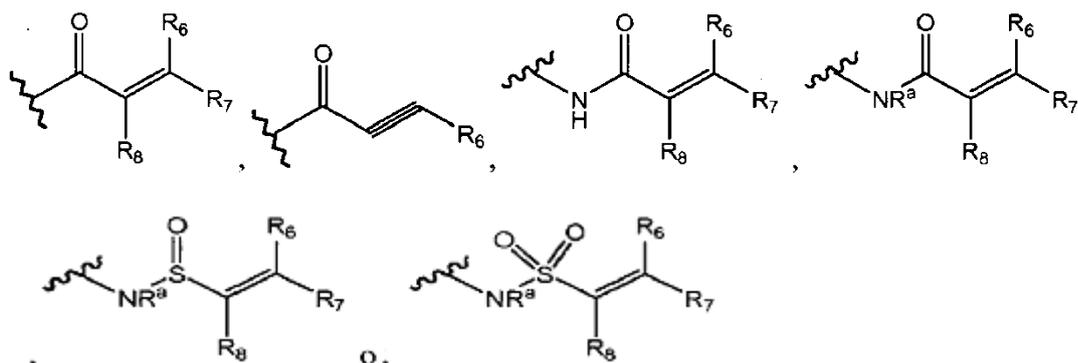
Fórmula (C1),

15 Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, y alquilheterocicloalquilo;

R₁₂ es H o alquilo inferior; o

Y y R₁₂ tomados conjuntamente forman un anillo heterocíclico de 4, 5, ó 6 miembros;

G es



en el que R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido; y bien

R₇ y R₈ son H;

- 5 R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈);

- 10 R₆ y R₈ son H;

R₇ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); o

- 15

R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace;

R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); y

- 20

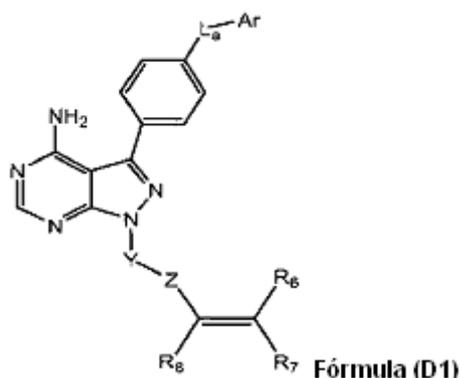
sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

En una realización adicional o alternativa, el grupo "G" de cualquiera de Fórmula (A1), Fórmula (B1), o Fórmula (C1) es cualquier grupo que se usa para personalizar las propiedades físicas y biológicas de la molécula. Dicha personalización/modificaciones se consiguen usando grupos que modulan la reactividad química del aceptor de Michael, acidez, basicidad, lipofilidad, solubilidad y otras propiedades físicas de la molécula. Las propiedades físicas y biológicas moduladas por dichas modificaciones en G incluyen, sólo como ejemplo, aumentar la reactividad química del grupo aceptor de Michael, solubilidad, absorción *in vivo*, y metabolismo *in vivo*. Además, el metabolismo *in vivo* incluye, sólo como ejemplo, controlar las propiedades de PK *in vivo*, actividades fuera de la diana, toxicidades potenciales asociadas con las interacciones de cypP450, interacciones fármaco-fármaco, y semejantes. Además, las modificaciones en G permiten la personalización de la eficacia *in vivo* del compuesto a través de la modulación, como ejemplo, de la unión específica y no específica de proteínas a las proteínas y lípidos plasmáticos y la distribución tisular *in vivo*.

- 25
- 30

En un aspecto son compuestos (incluyendo inhibidores irreversibles de ACK, incluyendo Btk y sus homólogos de cisteína) que tienen la estructura de Fórmula (D1):

- 35



en la que

L_a es CH_2 , O, NH o S;

Ar es un carbociclo aromático o un heterociclo aromático sustituido opcionalmente;

- 5 Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, y alquilenheterocicloalquileno, o combinación de éstos;

Z es $C(=O)$, $NHC(=O)$, $NR^aC(=O)$, $NR^aS(=O)_x$, en el que x es 1 ó 2, y R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido; y bien

R_7 y R_8 son H;

- 10 R_6 es H, alquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_1 - C_8 , hidroxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , alcoxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_8 cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_2 - C_8 sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_4 (arilo), alquilo C_1 - C_4 (heteroarilo), alquiléteres C_1 - C_8 , alquilamidas C_1 - C_8 , o alquilo C_1 - C_4 (heterocicloalquilo C_2 - C_8);

- 15 R_6 y R_8 son H;

R_7 es H, alquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_1 - C_8 , hidroxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , alcoxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_8 cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_2 - C_8 sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_4 (arilo), alquilo C_1 - C_4 (heteroarilo), alquiléteres C_1 - C_8 , alquilamidas C_1 - C_8 , o alquilo C_1 - C_4 (heterocicloalquilo C_2 - C_8); o

- 20 alquilamidas C_1 - C_8 , o alquilo C_1 - C_4 (heterocicloalquilo C_2 - C_8); o

R_7 y R_8 tomados conjuntamente forman un enlace;

R_6 es H, alquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, heteroalquilo C_1 - C_4 sustituido o no sustituido, alquilaminoalquilo C_1 - C_8 , hidroxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , alcoxialquilaminoalquilo C_1 - C_8 , cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_8 cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C_2 - C_8 sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilo C_1 - C_4 (arilo), alquilo C_1 - C_4 (heteroarilo), alquiléteres C_1 - C_8 , alquilamidas C_1 - C_8 , o alquilo C_1 - C_4 (heterocicloalquilo C_2 - C_8);

- 25 alquilamidas C_1 - C_8 , o alquilo C_1 - C_4 (heterocicloalquilo C_2 - C_8);

o combinaciones de éstos; y

sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

- 30 En otra realización se describen sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D1). Sólo como ejemplo, son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un anión, tales como adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluensulfonato, undecanoato, y valerato. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un
- 35

cación, tales como cationes sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, amonio, y amonio cuaternario (sustituido con al menos un resto orgánico).

En otra realización son ésteres farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D1), incluyendo aquellos en los que el grupo éster se selecciona de un formato, acetato, propionato, butirato, acrilato y etilsuccinato.

- 5 En otra realización son carbamatos farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D1). En otra realización son derivados N-acilo farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D1). Los ejemplos de grupos N-acilo incluyen grupos N-acetilo y N-etoxicarbonilo.

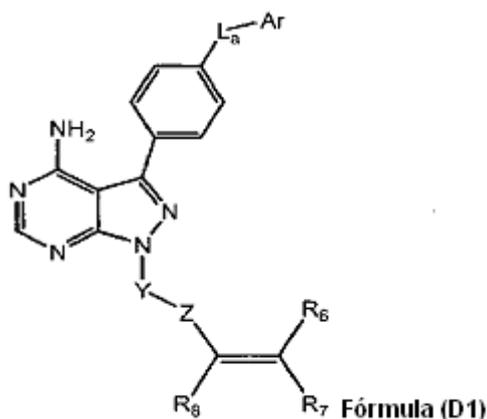
En una realización adicional o alternativa, L_a es O.

En una realización adicional o alternativa, Ar es fenilo.

- 10 En una realización adicional o alternativa, Z es C(=O), NHC(=O), o NCH₃C(=O).

En una realización adicional o alternativa, cada uno de R₁, R₂, y R₃ es H.

En un aspecto son compuestos (incluyendo inhibidores irreversibles de ACK, incluyendo Btk y sus homólogos de cisteína) que tienen la estructura de Fórmula (D1):



- 15 en la que:

L_a es CH₂, O, NH o S;

Ar es un arilo sustituido o no sustituido, o un heteroarilo sustituido o no sustituido;

Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileo, heteroalquileo, arileno, heteroarileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileo y alquilenheterocicloalquileo;

- 20 Z es C(=O), NHC(=O), NR^aC(=O), NR^aS(=O), en el que x es 1 ó 2, y R^a es alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido; y bien

R₇ y R₈ son H;

- 25 R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈);

R₆ y R₈ son H;

- 30 R₇ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); o

R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace;

R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); y

sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

En otra realización se describen sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D1). Sólo como ejemplo, son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un anión, tales como adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluensulfonato, undecanoato, y valerato. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un catión, tales como cationes sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, amonio, y amonio cuaternario (sustituido con al menos un resto orgánico).

En otra realización son ésteres farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D1), incluyendo aquellos en los que el grupo éster se selecciona de un formato, acetato, propionato, butirato, acrilato y etilsuccinato.

En otra realización son carbamatos farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D1). En otra realización son derivados N-acilo farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D1). Los ejemplos de grupos N-acilo incluyen grupos N-acetilo y N-etoxicarbonilo.

Para cualquiera y todas las realizaciones, los sustituyentes pueden seleccionarse de entre un subconjunto de las alternativas listadas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, L_a es CH₂, O, o NH. En otras realizaciones, L_a es O o NH. En otras realizaciones más, L_a es O.

En algunas realizaciones, Ar es un arilo sustituido o no sustituido. En otras realizaciones más, Ar es a un arilo de 6 miembros. En algunas otras realizaciones, Ar es fenilo.

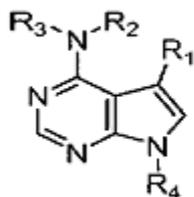
En algunas realizaciones, x es 2. En otras realizaciones más, Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), S(=O)_x, OS(=O)_x, o NHS(=O)_x. En algunas otras realizaciones, Z es C(=O), NHC(=O), o S(=O)₂.

En algunas realizaciones, R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquiloC₁-C₄ no sustituido, alquiloC₁-C₄ sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ no sustituido, y heteroalquiloC₁-C₄ sustituido; o R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace. En otras realizaciones más, cada uno de R₇ y R₈ es H; o R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace.

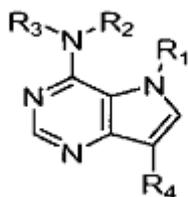
En algunas realizaciones, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxialquiloC₁-C₆, alquilC₁-C₂-N(alquilC₁-C₃)₂, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquilC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₆), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈). En algunas otras realizaciones, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxialquiloC₁-C₆, alquilC₁-C₂-N(alquiloC₁-C₃)₂, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquilC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₆), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈). En otras realizaciones más, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, -CH₂O-(alquilC₁-C₃), -CH₂-N(alquilC₁-C₃)₂, alquilC₁-C₄(fenilo), o alquilC₁-C₄(heteroarilo de 5 ó 6 miembros). En algunas realizaciones, R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, -CH₂O-(alquilC₁-C₃), -CH₂-N(alquilC₁-C₃)₂, alquilC₁-C₄(fenilo), o alquilC₁-C₄(heteroarilo de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquilo de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N).

En algunas realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, cicloalquileno, y heterocicloalquileno. En otras realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquilenoC₁-C₆, heteroalquilenoC₁-C₆, cicloalquileno de 4, 5, 6 ó 7 miembros, y heterocicloalquileno de 4, 5, 6 ó 7 miembros. En otras realizaciones más, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquilenoC₁-C₆, heteroalquilenoC₁-C₆, cicloalquileno de 5 ó 6 miembros, y heterocicloalquileno de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N. En algunas otras realizaciones, Y es un cicloalquileno de 5 ó 6 miembros, o un heterocicloalquileno de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N.

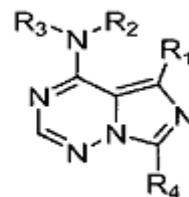
En un aspecto son compuestos (incluyendo inhibidores irreversibles de ACK, incluyendo Btk y sus homólogos de cisteína) que tienen la estructura de Fórmula (A2-A6):



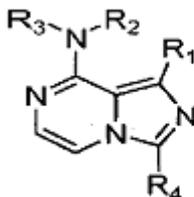
Fórmula (A2),



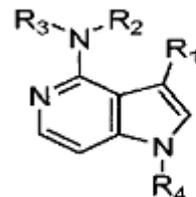
Fórmula (A3),



Fórmula (A4),



Fórmula (A5),



Fórmula (A6)

en las que

A se selecciona independientemente de N o CR₅;

- 5 R₁ es H, L₂-(alquilo sustituido o no sustituido), L₂-(cicloalquilo sustituido o no sustituido), L₂-(alqueno sustituido o no sustituido), L₂-(cicloalqueno sustituido o no sustituido), L₂-(heterociclo sustituido o no sustituido), L₂-(heteroarilo sustituido o no sustituido), o L₂-(arilo sustituido o no sustituido), en el que L₂ es un enlace, O, S, -S(=O), -S(=O)₂, C(=O), -(alquiloC₁-C₆ sustituido o no sustituido), o -(alquenoC₂-C₆ sustituido o no sustituido);

R₂ y R₃ se seleccionan independientemente de H, alquilo inferior y alquilo inferior sustituido;

- 10 R₄ es L₃-X-L₄-G, en el que,

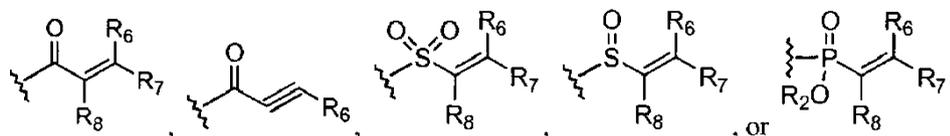
L₃ es opcional, y cuando está presente es un enlace, alquilo opcionalmente sustituido o no sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido o no sustituido, alqueno opcionalmente sustituido o no sustituido, alquino opcionalmente sustituido o no sustituido;

- 15 X es opcional, y cuando está presente es un enlace, O, -C(=O), S, -S(=O), -S(=O)₂, -NH, -NR₉, -NHC(O), -C(O)NH, -NR₉C(O), -C(O)NR₉, -S(=O)₂NH, -NHS(=O)₂, -S(=O)₂NR₉, -NR₉S(=O)₂, -OC(O)NH-, -NHC(O)O-, -OC(O)NR₉, -NR₉C(O)O-, -CH=NO-, -ON=CH-, -NR₁₀C(O)NR₁₀, heteroarilo, arilo, -NR₁₀C(=NR₁₁)NR₁₀, -NR₁₀C(=NR₁₁)-, -C(=NR₁₁)NR₁₀, -OC(=NR₁₁)-, o -C(=NR₁₁)O-;

- 20 L₄ es opcional, y cuando está presente es un enlace, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alqueno sustituido o no sustituido, alquino sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclo sustituido o no sustituido;

o L₃, X y L₄ tomados conjuntamente forman un anillo heterocíclico que contiene nitrógeno;

G es



en el que,

- 25 R₆, R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior o alquilo inferior sustituido, heteroalquilo inferior o heteroalquilo inferior sustituido, cicloalquilo inferior sustituido o no sustituido, y heterocicloalquilo inferior sustituido o no sustituido;

- 30 R₅ es H, halógeno, -L₆-(alquiloC₁-C₃ sustituido o no sustituido), -L₆-(alquenoC₂-C₄ sustituido o no sustituido), -L₆-(heteroarilo sustituido o no sustituido), o -L₆-(arilo sustituido o no sustituido), en el que L₆ es un enlace, O, S, -S(=O), S(=O)₂, NH, C(O), -NHC(O)O, -OC(O)NH, -NHC(O), o -C(O)NH;

cada R₉ se selecciona independientemente de entre H, alquilo inferior sustituido o no sustituido, y cicloalquilo inferior sustituido o no sustituido;

cada R₁₀ es independientemente H, alquilo inferior sustituido o no sustituido, o cicloalquilo inferior sustituido o no sustituido; o

dos grupos R₁₀ pueden formar conjuntamente un anillo heterocíclico de 5, 6, 7, u 8 miembros; o

R₉ y R₁₀ pueden formar conjuntamente un anillo heterocíclico de 5, 6, 7, u 8 miembros; o

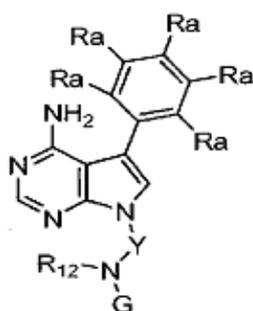
- 5 cada R₁₁ se selecciona independientemente de H, -S(=O)₂R₈, -S(=O)₂NH₂, -C(O)R₈, -CN, -NO₂, heteroarilo, o heteroalquilo; y sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

10 En otra realización se describen sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (A2-A6). Sólo como ejemplo, son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico. Las sales adicionales incluyen aquellas en los que el contraión es un anión, tales como adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilopropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluensulfonato, undecanoato, y valerato. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un catión, tales como cationes sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, amonio, y amonio cuaternario (sustituido con al menos un resto orgánico).

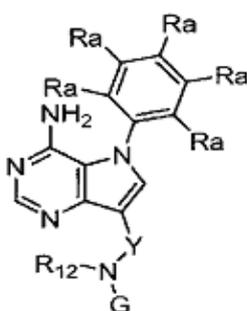
- 20 En otra realización son ésteres farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (A2-A6), incluyendo aquellos en los que el grupo éster se selecciona de un formato, acetato, propionato, butirato, acrilato y etilsuccinato.

En otra realización son carbamatos farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (A2-A6). En otra realización son derivados N-acilo farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (A2-A6). Los ejemplos de grupos N-acilo incluyen grupos N-acetilo y N-etoxicarbonilo.

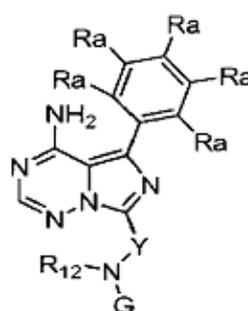
- 25 En una realización adicional o alternativa, el compuesto de Fórmula (A2-A6) tiene la estructura siguiente de Fórmula (B2-B6):



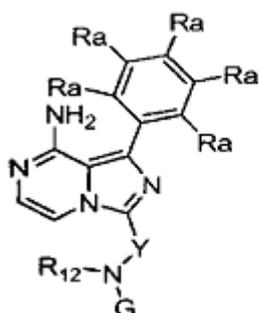
Fórmula (B2),



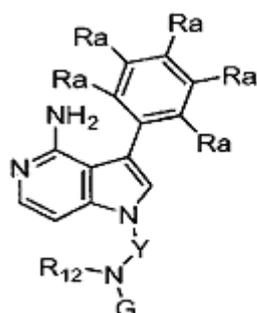
Fórmula (B3),



Fórmula (B4),



Fórmula (B5),



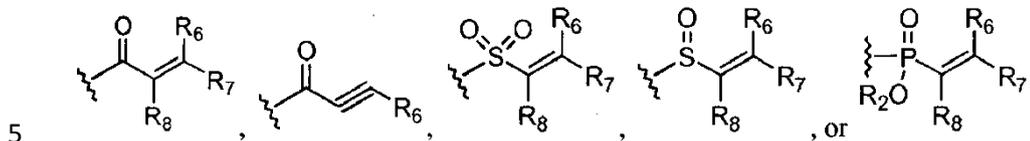
Fórmula (B6)

en la que:

- 30 Y es alquileno o alquileno sustituido, o un anillo cicloalquileno de 4, 5, ó 6 miembros;

cada R_a es independientemente H, halógeno, $-CF_3$, $-CN$, $-NO_2$, OH, NH_2 , $-L_a$ -(alquilo sustituido o no sustituido), $-L_a$ -(alqueno sustituido o no sustituido), $-L_a$ -(heteroarilo sustituido o no sustituido), o $-L_a$ -(arilo sustituido o no sustituido), en el que L_a es un enlace, O, S, $-S(=O)$, $-S(=O)_2$, NH, C(O), CH_2 , $-NHC(O)O$, $-NHC(O)$, o $-C(O)NH$;

G es



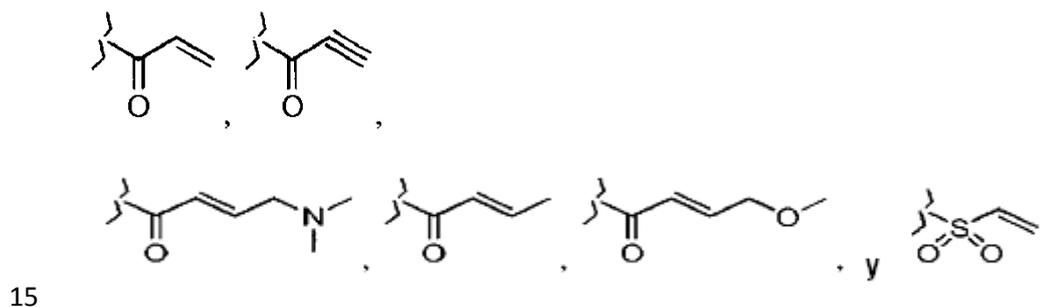
en el que,

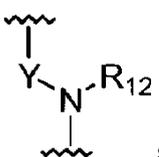
R_6 , R_7 y R_8 se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior o alquilo inferior sustituido, heteroalquilo inferior o heteroalquilo inferior sustituido, cicloalquilo inferior sustituido o no sustituido, y heterocicloalquilo inferior sustituido o no sustituido;

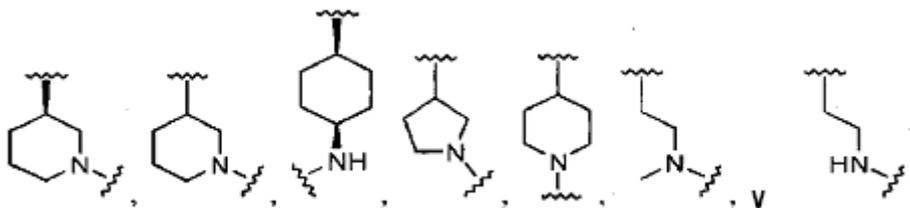
10 R_{12} es H o alquilo inferior; o

Y y R_{12} tomados conjuntamente forman un anillo heterocíclico de 4, 5, ó 6 miembros; y sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

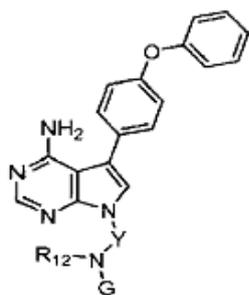
En realizaciones adicionales o alternativas, G se selecciona de entre



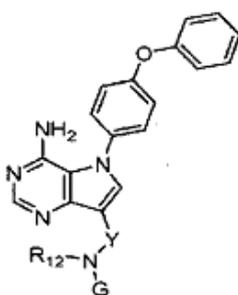
En realizaciones adicionales o alternativas,  se selecciona de entre



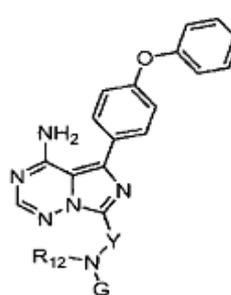
En una realización adicional o alternativa, el compuesto de Fórmula (B2-B6) tiene la estructura siguiente de Fórmula (C2-C6):



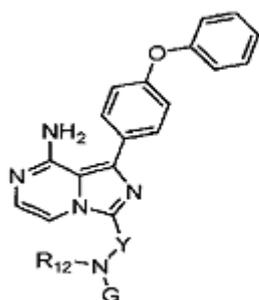
Fórmula (C2),



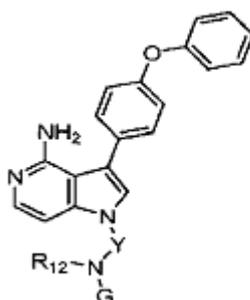
Fórmula (C3),



Fórmula (C4),



Fórmula (C5),



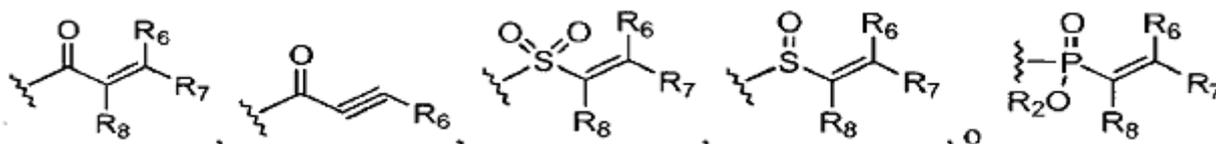
Fórmula (C6)

Y es alqueno o alqueno sustituido, o un anillo cicloalqueno de 4, 5, ó 6 miembros;

R₁₂ es H o alquilo inferior; o

5 Y y R₁₂ tomados conjuntamente forman un anillo heterocíclico de 4, 5, ó 6 miembros;

G es



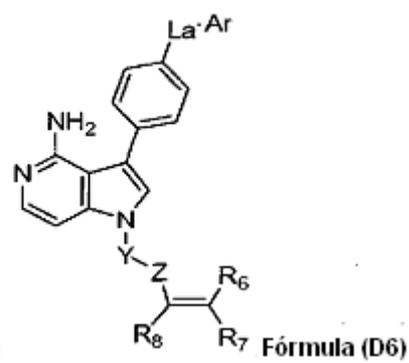
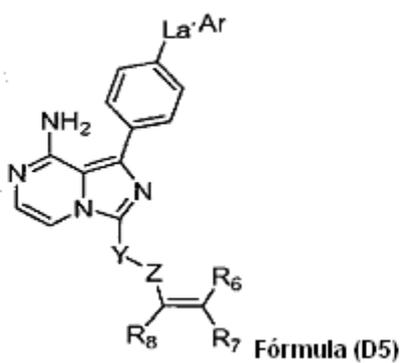
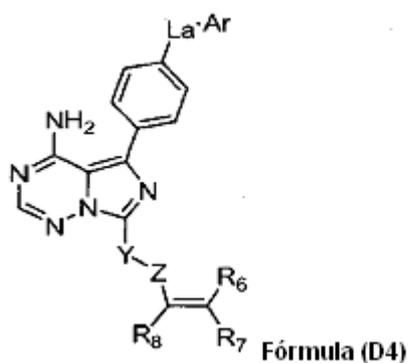
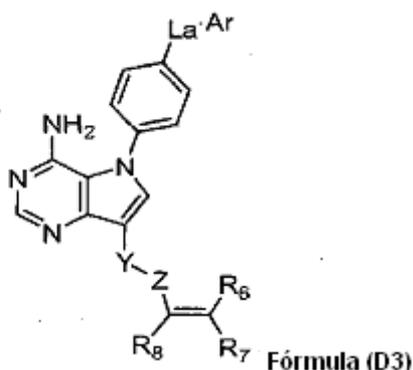
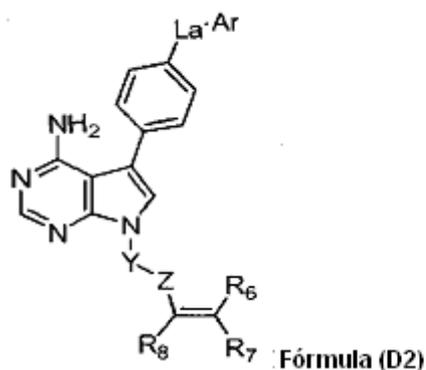
en el que,

10 R₆, R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior o alquilo inferior sustituido, heteroalquilo inferior o heteroalquilo inferior sustituido, cicloalquilo inferior sustituido o no sustituido, y heterocicloalquilo inferior sustituido o no sustituido; y

sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

15 En una realización adicional o alternativa, el grupo "G" de cualquiera de Fórmula (A2-A6), Fórmula (B2-B6), o Fórmula (C2-C6) es cualquier grupo que se usa para personalizar las propiedades físicas y biológicas de la molécula. Dicha personalización/modificaciones se consiguen usando grupos que modulan la reactividad química del aceptor de Michael, acidez, basicidad, lipofilicidad, solubilidad y otras propiedades físicas de la molécula. Las propiedades físicas y biológicas moduladas por dichas modificaciones en G incluyen, sólo como ejemplo, aumentar la reactividad química del grupo aceptor de Michael, solubilidad, absorción *in vivo*, y metabolismo *in vivo*. Además, el metabolismo *in vivo* incluye, sólo como ejemplo, controlar las propiedades de PK *in vivo*, actividades fuera de la diana, toxicidades potenciales asociadas con las interacciones de cypP450, interacciones fármaco-fármaco, y semejantes. Además, las modificaciones en G permiten la personalización de la eficacia *in vivo* del compuesto a través de la modulación, como ejemplo, de la unión específica y no específica de proteínas a las proteínas y lípidos plasmáticos y la distribución tisular *in vivo*.

25 En un aspecto son compuestos (incluyendo inhibidores irreversibles de ACK, incluyendo Btk y sus homólogos de cisteína) que tienen la estructura de Fórmula (D2-D6):



en la que

L_a es CH_2 , O, NH o S;

5 Ar es un carbociclo aromático sustituido o un heterociclo aromático sustituido opcionalmente;

Y es un alquileo sustituido opcionalmente, heteroalquileo, carbocicloalquileo, heterocicloalquileo, o combinación de éstos;

Z es C(O), OC(O), NHC(O), C(S), S(O)_x, OS(O)_x, NHS(O)_x, en el que x es 1 ó 2; y

10 R_6 , R_7 , y R_8 se seleccionan independientemente de H, alquilo, heteroalquilo, carbociclo, heterociclo, o combinaciones de éstos; y

sales farmacéuticamente aceptables o profármacos farmacéuticamente aceptables de éstos.

15 En otra realización se describen sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D2-D6). Sólo como ejemplo, son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un anión, tales como adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilopropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluensulfonato, undecanoato, y valerato. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un catión, tal como cationes sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, amonio, y amonio cuaternario (sustituido con al menos un resto orgánico)

25 En otra realización son ésteres farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D2-D6), incluyendo aquellos en los que el grupo éster se selecciona de un formato, acetato, propionato, butirato, acrilato y etilsuccinato.

En otra realización son carbamatos farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D2-D6). En otra realización son derivados N-acilo farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D2-D6). Los ejemplos de grupos N-acilo incluyen grupos N-acetilo y N-etoxicarbonilo.

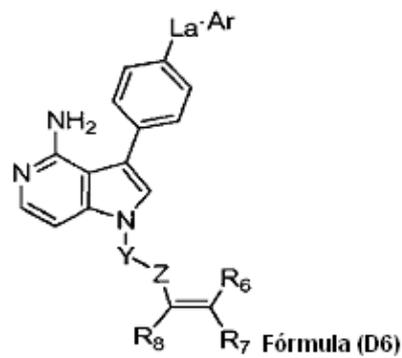
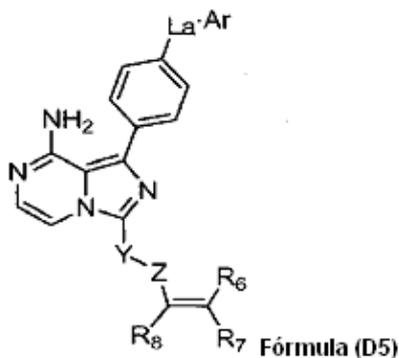
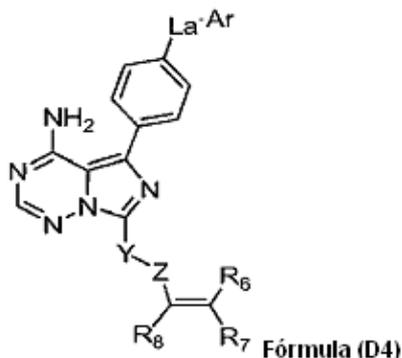
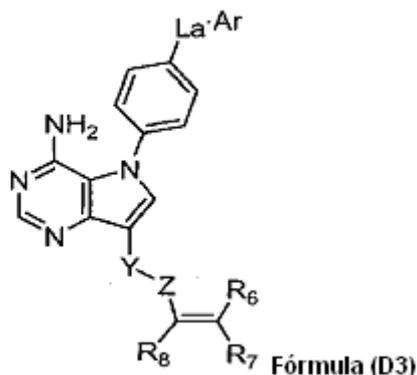
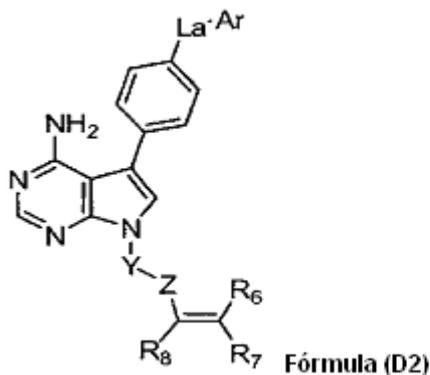
En una realización adicional o alternativa, L_a es O.

En una realización adicional o alternativa, Ar es fenilo.

En una realización adicional o alternativa, Z es C(O).

En una realización adicional o alternativa, cada uno de R_1 , R_2 , y R_3 es H.

- 5 En un aspecto son compuestos (incluyendo inhibidores irreversibles de ACK, incluyendo Btk y sus homólogos de cisteína) que tienen la estructura de Fórmula (D2-D6):



en la que:

- 10 L_a es CH_2 , O, NH o S;

Ar es un arilo sustituido o no sustituido, o un heteroarilo sustituido o no sustituido;

Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileo, heteroalquileo, cicloalquileo, heterocicloalquileo, arileno, y heteroarileno;

Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), C(=S), S(=O)_x, OS(=O)_x, NHS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2;

- 15 R_7 y R_8 se seleccionan independientemente de entre H, alquilo_{C1-C4} no sustituido, alquilo_{C1-C4} sustituido, heteroalquilo_{C1-C4} no sustituido, heteroalquilo_{C1-C4} sustituido, cicloalquilo_{C3-C6} no sustituido, cicloalquilo_{C3-C6} sustituido, heterocicloalquilo_{C2-C6} no sustituido, y heterocicloalquilo_{C2-C6} sustituido; o

R_7 y R_8 tomados conjuntamente forman un enlace;

- 20 R_6 es H, alquilo_{C1-C4} sustituido o no sustituido, heteroalquilo_{C1-C4} sustituido o no sustituido, alcoxilquilo_{C1-C6}, alquilaminoalquilo_{C1-C8}, cicloalquilo_{C3-C6} sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo_{C2-C8} sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil_{C1-C4}(arilo), alquil_{C1-C4}(heteroarilo), alquil_{C1-C4}(cicloalquilo_{C3-C8}), o alquil_{C1-C4}(heterocicloalquilo_{C2-C8}); y

sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

- 25 En otra realización se describen sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D2-D6). Sólo como ejemplo, son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido

bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un anión, tales como adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilopropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluensulfonato, undecanoato, y valerato. Las sales adicionales incluyen aquellas en las que el contraión es un catión, tal como cationes sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, amonio, y amonio cuaternario (sustituido con al menos un resto orgánico)

En otra realización son ésteres farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D2-D6), incluyendo aquellos en los que el grupo éster se selecciona de un formato, acetato, propionato, butirato, acrilato y etilsuccinato.

En otra realización son carbamatos farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D2-D6). En otra realización son derivados N-acilo farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (D2-D6).

Para cualquiera y todas las realizaciones, los sustituyentes pueden seleccionarse de entre un subconjunto de las alternativas listadas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, L_a es CH_2 , O, o NH. En otras realizaciones, L_a es O o NH. En otras realizaciones más, L_a es O.

En algunas realizaciones, Ar es un arilo sustituido o no sustituido. En otras realizaciones más, Ar es un arilo de 6 miembros. En algunas otras realizaciones, Ar es fenilo.

En algunas realizaciones, x es 2. En otras realizaciones más, Z es $\text{C}(=\text{O})$, $\text{OC}(=\text{O})$, $\text{NHC}(=\text{O})$, $\text{S}(=\text{O})$, $\text{OS}(=\text{O})_x$, o $\text{NHS}(=\text{O})_x$. En algunas otras realizaciones, Z es $\text{C}(=\text{O})$, $\text{NHC}(=\text{O})$, o $\text{S}(=\text{O})_2$.

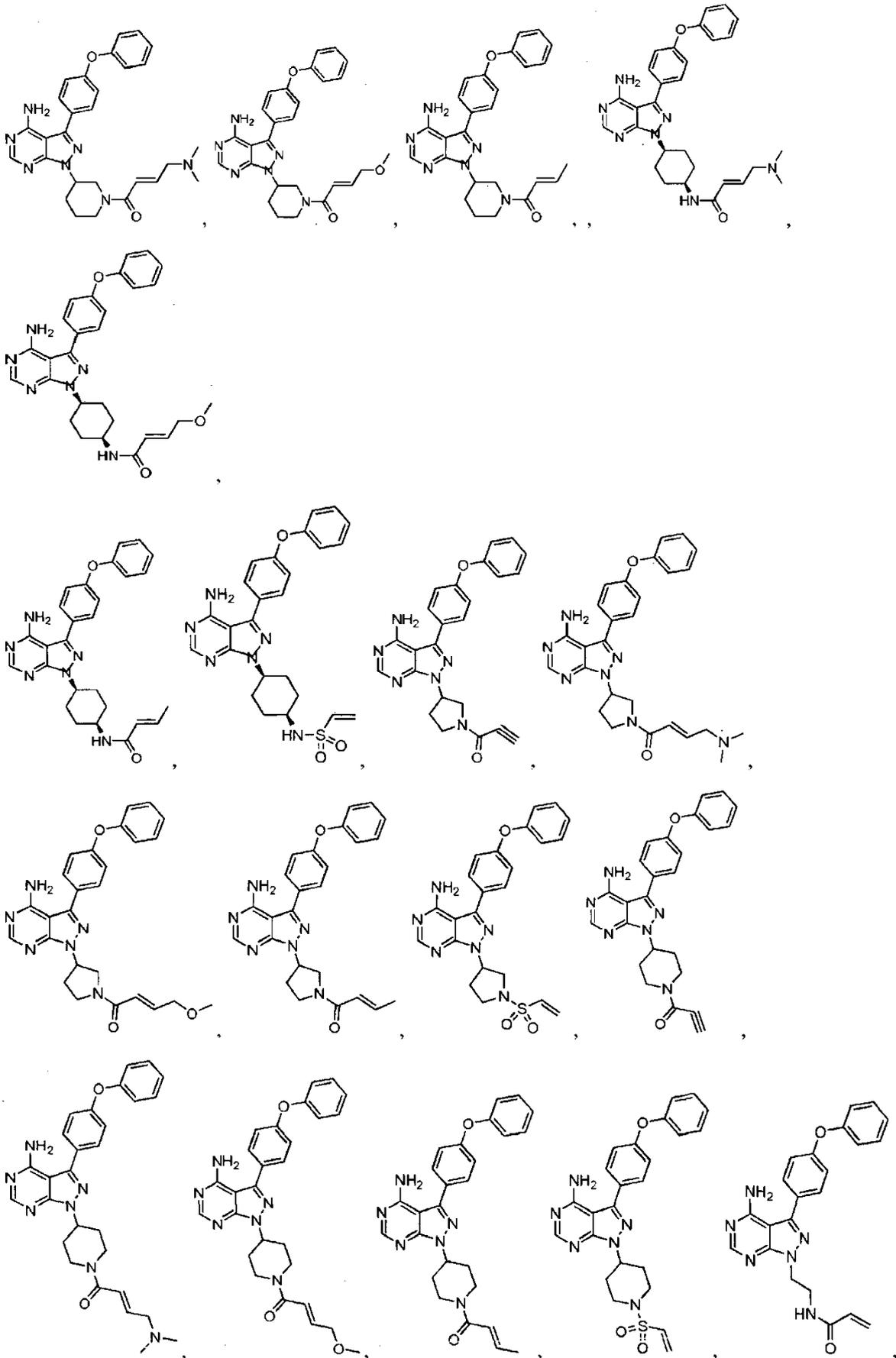
En algunas realizaciones, R_7 y R_8 se seleccionan independientemente de entre H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ no sustituido, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido, heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ no sustituido, y heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido; o R_7 y R_8 tomados conjuntamente forman un enlace. En otras realizaciones más, cada uno de R_7 y R_8 es H; o R_7 y R_8 tomados conjuntamente forman un enlace.

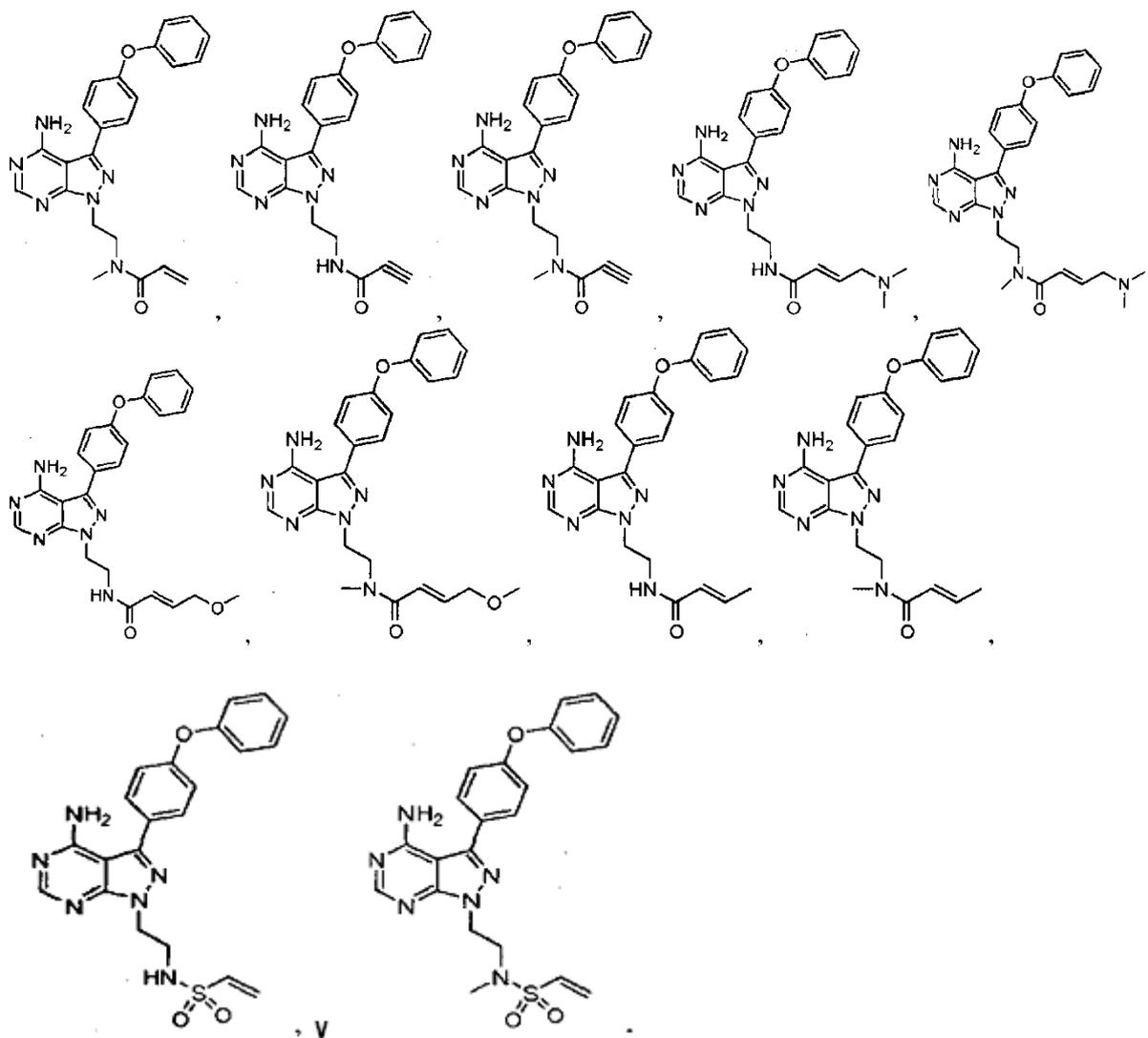
En algunas realizaciones, R_6 es H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, alcoxilalquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, alquil $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-N}(\text{alquil}\text{C}_1\text{-C}_3)_2$, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (arilo), alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heteroarilo), alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_8$), o alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$). En algunas otras realizaciones, R_6 es H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, alcoxilalquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, alquil $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-N}(\text{alquilo}\text{C}_1\text{-C}_3)_2$, alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (arilo), alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heteroarilo), alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_8$), o alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heterocicloalquilo $\text{C}_2\text{-C}_8$). En otras realizaciones más, R_6 es H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, $-\text{CH}_2\text{O}(\text{alquil}\text{C}_1\text{-C}_3)$, $-\text{CH}_2\text{N}(\text{alquil}\text{C}_1\text{-C}_3)_2$, alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (fenilo), o alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heteroarilo de 5 ó 6 miembros). En algunas realizaciones, R_6 es H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ sustituido o no sustituido, $-\text{CH}_2\text{O}(\text{alquil}\text{C}_1\text{-C}_3)$, $-\text{CH}_2\text{N}(\text{alquil}\text{C}_1\text{-C}_3)_2$, alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (fenilo), o alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heteroarilo de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N), o alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$ (heterocicloalquilo de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N).

En algunas realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, cicloalquileno, y heterocicloalquileno. En otras realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno $\text{C}_1\text{-C}_6$, heteroalquileno $\text{C}_1\text{-C}_6$, cicloalquileno de 4, 5, 6 ó 7 miembros, y heterocicloalquileno de 4, 5, 6 ó 7 miembros. En otras realizaciones más, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno $\text{C}_1\text{-C}_6$, heteroalquileno $\text{C}_1\text{-C}_6$, cicloalquileno de 5, ó 6 miembros, y heterocicloalquileno de 5, ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N. En algunas otras realizaciones, Y es un cicloalquileno de 5, ó 6 miembros, o un heterocicloalquileno de 5, ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N.

Cualquier combinación de los grupos descritos anteriormente para las distintas variables se contempla en la presente memoria.

En aspectos adicionales son compuestos (incluyendo inhibidores irreversibles de ACK, incluyendo Btk y sus homólogos de cisteína) que tienen la estructura de compuestos de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6) seleccionados del grupo que consiste en:





5 En un aspecto son compuestos (incluyendo inhibidores irreversibles de ACK, incluyendo Btk y sus homólogos de cisteína) seleccionados de entre:

- 10 (E)-4-(N-(2-hidroxietil)-N-metilamino)-1-(3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)but-2-en-1-ona (Compuesto 3); (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)-3-(1H-imidazol-4-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 4); (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 5); (E)-1-(4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto 7); (E)-N-((1s,4s)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)-4-(dimetilamino)but-2-enamida (Compuesto 8); N-((1r,4r)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)acrilamida (Compuesto 10); (E)-1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto 11); (E)-1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto 12); 1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 13); 1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 14); 1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)but-2-in-1-ona (Compuesto 15); 1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)but-2-in-1-ona (Compuesto 16); 1-((R)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)but-2-in-1-ona (Compuesto 17); (E)-N-((1r,4r)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)-4-(dimetilamino)but-2-enamida (Compuesto 18); N-(2-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-N-metilacrilamida (Compuesto 19); (E)-1-(4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 20); (E)-1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 21); N-((1s,4s)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)but-2-inamida (Compuesto 22); N-(2-(4-amino-3-(4-

fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)etil)acrilamida (Compuesto **23**); (*E*)-1-(*R*)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto **24**); (*E*)-*N*-((1*s*,4*s*)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)ciclohexil)-4-morfolinobut-2-enamida (Compuesto **25**).

- 5 Los compuestos de cualquiera de Fórmula (I), Fórmula (VII), Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), o Fórmula (D1-D6) inhiben irreversiblemente Btk y se usan opcionalmente para tratar a pacientes que padecen afecciones o enfermedades dependientes de la tirosina quinasa de Bruton o mediadas por la tirosina quinasa de Bruton, incluyendo, pero no limitado a, cáncer, enfermedades autoinmunes y otras enfermedades inflamatorias.

Preparación de Compuestos

- 10 Los compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII) se sintetizan opcionalmente usando técnicas sintéticas estándar o usando dichos métodos conocidos en combinación con métodos descritos en la presente memoria. Además, los disolventes, temperaturas y otras condiciones de reacción se presentan en la presente memoria sólo para ilustración, y no para limitar el alcance de los métodos y composiciones descritas en la presente memoria. Como una guía adicional también pueden utilizarse los métodos sintéticos siguientes.
- 15 Las reacciones se emplean opcionalmente en una secuencia lineal para proporcionar los compuestos descritos en la presente memoria o se usan para sintetizar fragmentos que se unen posteriormente por los métodos descritos en la presente memoria y/o documentados en otro lugar.

Formación de Uniones Covalentes por Reacción de un Electrófilo con un Nucleófilo

- 20 Los compuestos descritos en la presente memoria pueden modificarse usando varios electrófilos o nucleófilos para formar nuevos grupos funcionales o sustituyentes. La Tabla 1 titulada "Ejemplos de Uniones Covalentes y Precursores de Éstos" lista ejemplos seleccionados de uniones covalentes y grupos funcionales precursores que rinden y pueden usarse como una guía para la variedad de combinaciones de electrófilos y nucleófilos disponibles. Los grupos funcionales precursores se muestran como grupos electrofílicos y grupos nucleofílicos.

Tabla 1: Ejemplos de Uniones Covalentes y Precursores de Éstos

Producto de Unión Covalente	Electrófilo	Nucleófilo
Carboxamidas	Ésteres activados	aminas/anilinas
Carboxamidas	azidas de acilo	aminas/anilinas
Carboxamidas	haluros de acilo	aminas/anilinas
Ésteres	haluros de acilo	alcoholes/fenoles
Ésteres	nitrilos de acilo	alcoholes/fenoles
Carboxamidas	nitrilos de acilo	aminas/anilinas
Iminas	Aldehídos	aminas/anilinas
Hidrazonas	aldehídos o cetonas	Hidrazinas
Oximas	aldehídos o cetonas	Hidroxilaminas
Alquil aminas	haluros de alquilo	aminas/anilinas
Ésteres	haluros de alquilo	ácidos carboxílicos
Tioéteres	haluros de alquilo	Tioles
Éteres	haluros de alquilo	alcoholes/fenoles

ES 2 562 215 T3

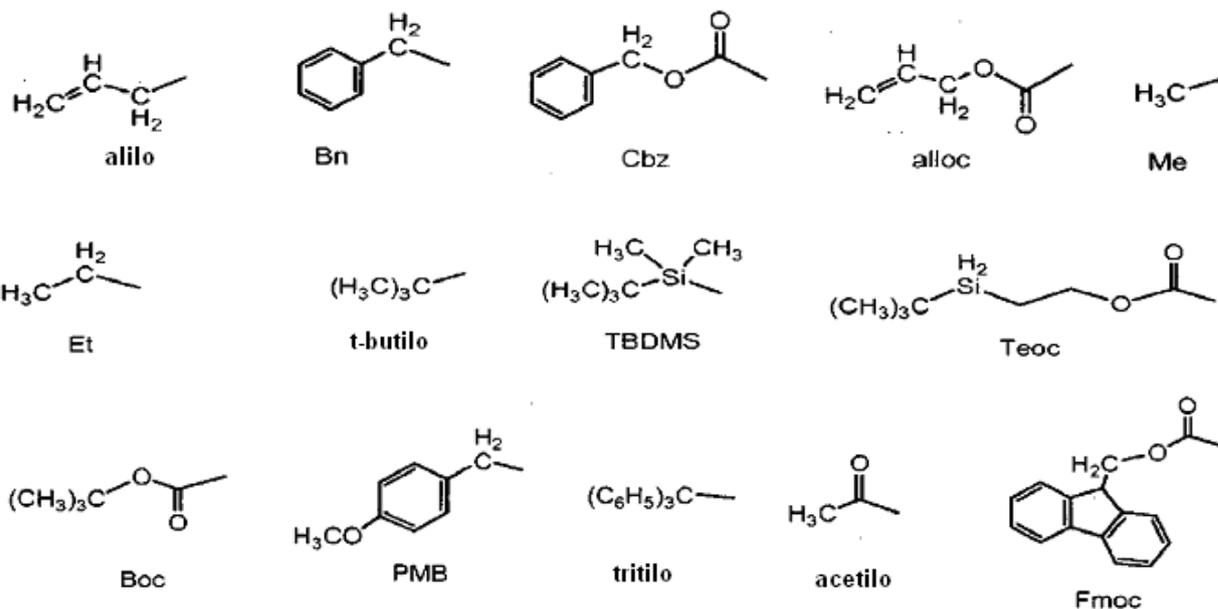
Producto de Unión Covalente	Electrófilo	Nucleófilo
Tioéteres	sulfonatos de alquilo	Tioles
Ésteres	sulfonatos de alquilo	ácidos carboxílicos
Éteres	sulfonatos de alquilo	alcoholes/fenoles
Ésteres	Anhídridos	alcoholes/fenoles
Carboxamidas	Anhídridos	aminas/anilinas
Tiofenoles	haluros de arilo	Tioles
Aril aminas	haluros de arilo	Aminas
Tioéteres	Azindinas	Tioles
Ésteres boronato	Boronatos	Glicoles
Carboxamidas	ácidos carboxílicos	aminas/anilinas
Ésteres	ácidos carboxílicos	Alcoholes
hidrazinas	Hidrazidas	ácidos carboxílicos
N-acilureas o Anhídridos	carbodiimidas	ácidos carboxílicos
Ésteres	diazoalcanos	ácidos carboxílicos
Tioéteres	Epóxidos	Tioles
Tioéteres	haloacetamidas	Tioles
Amotriazinas	halotriazinas	aminas/anilinas
Éteres de triazinilo	halotriazinas	alcoholes/fenoles
Amidinas	imido ésteres	aminas/anilinas
Ureas	Isocianatos	aminas/anilinas
Uretanos	Isocianatos	alcoholes/fenoles
Tioureas	isotiocianatos	aminas/anilinas
Tioéteres	Maleimidas	Tioles
Ésteres de fosfito	fosforamiditas	Alcoholes
Éteres de sililo	haluros de sililo	Alcoholes
Alquil aminas	ésteres sulfonato	aminas/anilinas

Producto de Unión Covalente	Electrófilo	Nucleófilo
Tioéteres	ésteres sulfonato	Tioles
Ésteres	ésteres sulfonato	ácidos carboxílicos
Éteres	ésteres sulfonato	Alcoholes
Sulfonamidas	haluros de sulfonilo	aminas/anilinas
Ésteres sulfonato	haluros de sulfonilo	fenoles/alcoholes
Alquil tiol	éster α,β -insaturado	tioles
Alquil éteres	éster α,β -insaturado	alcoholes
Alquil aminas	éster α,β -insaturado	aminas
Alquil tiol	Vinil sulfona	tioles
Alquil éteres	Vinil sulfona	alcoholes
Alquil aminas	Vinil sulfona	aminas
Sulfuro de vinilo	Propargil amida	tiol

Uso de Grupos Protectores

- 5 En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger grupos funcionales reactivos, por ejemplo grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxi, en los que éstos se desean en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Los grupos protectores se usan para bloquear algunos o todos los restos reactivos y evitar que dichos grupos participen en reacciones químicas hasta que se elimine el grupo protector. En una realización, cada grupo protector puede eliminarse por un medio diferente. Los grupos protectores que se escinden bajo condiciones totalmente distintas cumplen con el requerimiento de eliminación diferencial. Los grupos protectores pueden eliminarse por ácido, base, e hidrogenolisis. Los grupos tales como tritilo, dimetoxitritilo, acetal y t-butildimetilsililo son ácido lábiles y pueden usarse para proteger restos reactivos carboxi e hidroxilo en presencia de grupos aminos protegidos con grupos Cbz, que se pueden eliminar por hidrogenolisis, y grupos Fmoc, que son base lábiles. Los restos reactivos ácido carboxílico e hidroxilo pueden bloquearse con grupos base lábiles tales como, pero no limitados a, metilo, etilo, y acetilo en presencia de aminos bloqueadas con grupos ácido lábiles tales como carbamato de t-butilo o con carbamatos que son tanto ácido como base lábiles pero que se pueden eliminar hidrolíticamente.
- 10
- 15 Los restos reactivos ácido carboxílico e hidroxilo también pueden bloquearse con grupos protectores que se pueden eliminar hidrolíticamente tales como el grupo bencilo, mientras los grupos amina que pueden formar enlace de hidrógeno con ácidos pueden bloquearse con grupos base lábiles tales como Fmoc. Los restos reactivos ácido carboxílico pueden protegerse por conversión a compuestos éster simple como se ejemplifica en la presente memoria, o pueden bloquearse con grupos protectores que se pueden eliminar oxidativamente tales como 2,4-dimetoxibencilo, mientras los grupos amino co-existentes pueden bloquearse con carbamatos de sililo fluoruro lábiles.
- 20
- 25 Los grupos bloqueantes de alilo son útiles en presencia de grupos protectores ácido y base ya que el primero es estable y puede eliminarse posteriormente por catalizadores metálicos o pi-ácido. Por ejemplo, un ácido carboxílico bloqueado con alilo puede desprotegerse con una reacción catalizada por Pd⁰ en presencia de grupos protectores de carbamato de t-butilo ácido lábil o amina acetato base lábil. Otra forma más de grupo protector es una resina a la que puede unirse un compuesto o intermedio. Siempre que el residuo se une a la resina, ese grupo funcional se bloquea y no puede reaccionar. Una vez liberado de la resina, el grupo funcional está disponible para reaccionar.

Típicamente, los grupos bloqueantes/protectores pueden seleccionarse de:



5 Otros grupos protectores, más una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su eliminación se describen en Greene y Wuts, *Protective Groups in Organic Síntesis*, 3ª Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, NY, 1999, y Kocienski, *Protective Groups*, Thieme Verlag, Nueva York, NY, 1994, que se incorporan en la presente memoria por referencia para dicha descripción.

Síntesis de Compuestos

10 En determinadas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan métodos para preparar compuestos inhibidores de tirosina quinasa descritos en la presente memoria. En determinadas realizaciones, los compuestos descritos en la presente memoria pueden sintetizarse usando los esquemas sintéticos siguientes. Los compuestos pueden sintetizarse usando metodologías análogas a las descritas a continuación por el uso de materiales de partida alternativos apropiados.

15 En la presente memoria se describen compuestos que inhiben la actividad de tirosina quinasa(s), tal como Btk, y procesos para su preparación. También se describen en la presente memoria sales farmacéuticamente aceptables, solvatos farmacéuticamente aceptables, metabolitos farmacéuticamente activos y profármacos farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos. Se proporcionan composiciones farmacéuticas que incluyen al menos uno de dichos compuestos o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato farmacéuticamente aceptable, metabolito farmacéuticamente activo o profármaco farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto.

20 El material de partida usado para la síntesis de los compuestos descritos en la presente memoria bien se sintetiza o se obtiene de fuentes comerciales, tales como, pero no limitadas a, Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin), Bachem (Torrance, California), o Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo.). Los compuestos descritos en la presente memoria, y otros compuestos relacionados que tienen diferentes sustituyentes se sintetizan opcionalmente usando técnicas y materiales, tales como los descritos, por ejemplo, en March, *ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY* 4ª Ed., (Wiley 1992); Carey y Sundberg, *ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY* 4ª Ed., Vols. A y B (Plenum 2000, 2001); Green y Wuts, *PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS* 3ª Ed., (Wiley 1999); Fieser y Fieser's Reagents for Organic Síntesis, Volúmenes 1-17 (John Wiley and Sons, 1991); Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Volúmenes 1-5 y Suplementos (Elsevier Science Publishers, 1989); Organic Reactions, Volúmenes 1-40 (John Wiley and Sons, 1991); y Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989).

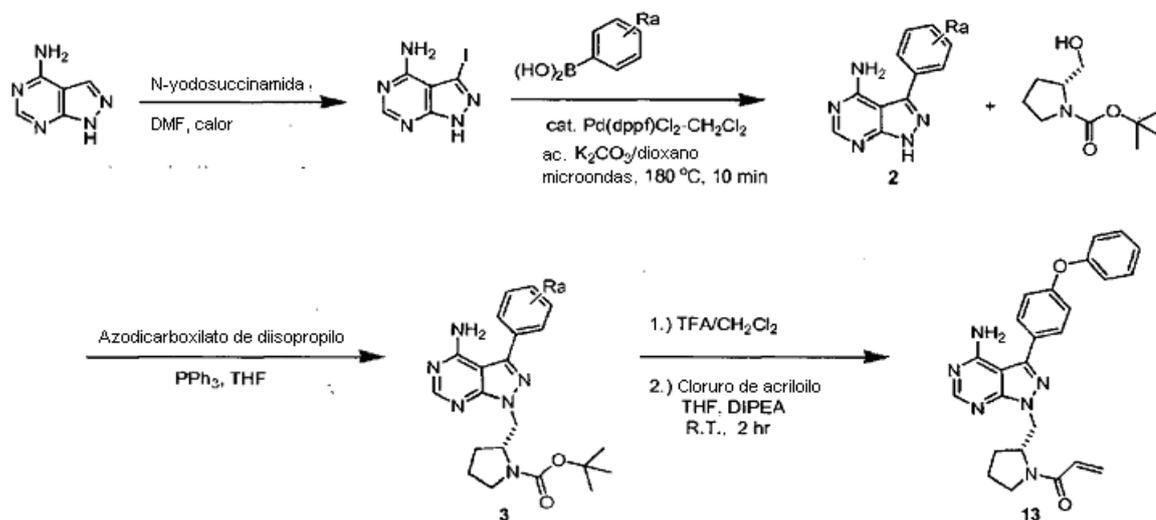
25 Otros métodos para la síntesis de compuestos descritos en la presente memoria pueden encontrarse en la Publicación de Patente Internacional No. WO 01/01982901, Arnold *et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 10 (2000) 2167-2170; Burchat *et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12 (2002) 1687-1690. Como una guía pueden utilizarse los métodos sintéticos siguientes.

35 Los productos de las reacciones se aíslan y purifican opcionalmente, si se desea, usando técnicas convencionales, incluyendo, pero no limitado a, filtración, destilación, cristalización, cromatografía y semejantes. Dichos materiales se caracterizan opcionalmente usando medios convencionales, incluyendo constantes físicas y datos espectrales.

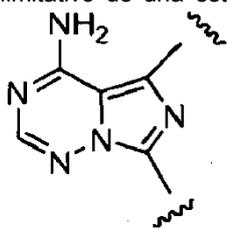
Los compuestos descritos en la presente memoria se preparan opcionalmente usando los métodos sintéticos descritos en la presente memoria como un único isómero o una mezcla de isómeros.

Un ejemplo no limitativo de una estrategia sintética hacia a preparación de compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII) se muestra en el Esquema I.

Esquema I.



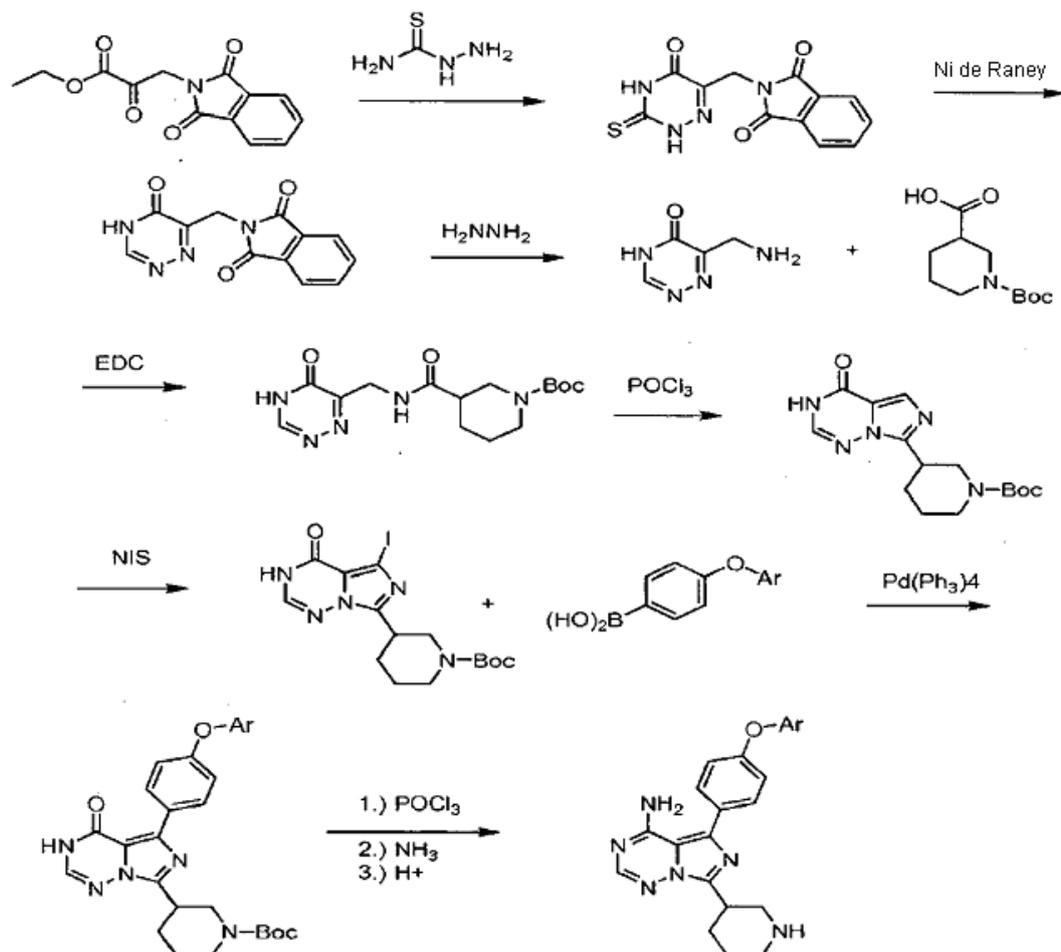
- 5 La halogenación de 1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina disponible comercialmente proporciona una entrada en la síntesis de compuestos de Fórmula (A1-A6), (B1-B6), (C1-C6) y/o (D1-D6). En una realización, se trata 1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina con N-yodosuccinamida para proporcionar 3-yodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina. Las reacciones de acoplamiento cruzado catalizadas por metal se llevan a cabo en 3-yodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina. En una realización, el acoplamiento cruzado mediado por paladio de un ácido borónico sustituido adecuadamente con fenilo en condiciones básicas construye el intermedio 2. El intermedio 2 se acopla con *N*-Boc-3-hidroxipiperidina (como ejemplo no limitativo) mediante una reacción de Mitsunobu para proporcionar el intermedio 3 protegido con Boc (terc-butiloxicarbonilo). Después de desprotección con ácido, el acoplamiento con, pero no limitado a, un cloruro de ácido, tal como, pero no limitado a, cloruro de acrililo, completa la síntesis para proporcionar el Compuesto 13.
- 10
- 15 Un ejemplo no limitativo de una estrategia sintética hacia la preparación de compuestos que contienen el resto



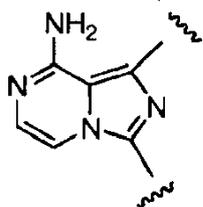
imidazotriazina,

se muestra en el Esquema II.

Esquema II.



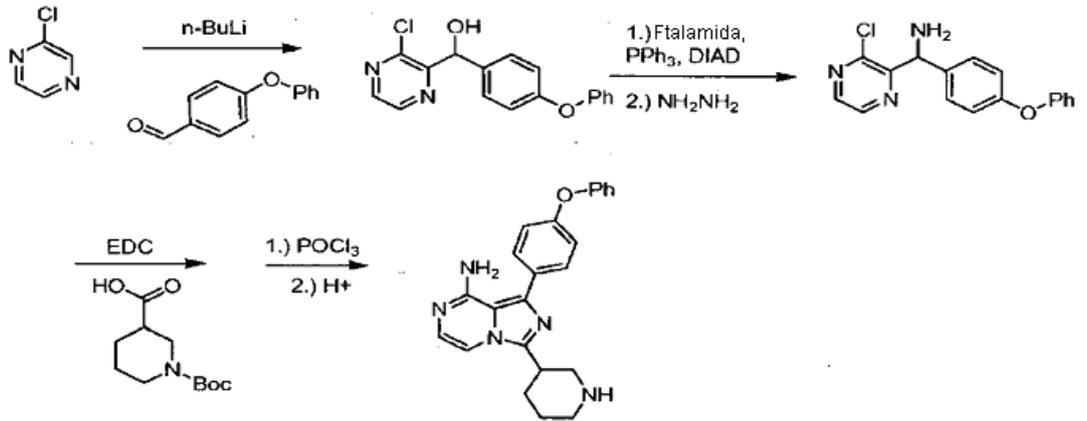
Un ejemplo no limitativo de una estrategia sintética hacia la preparación de compuestos que contienen cualquier



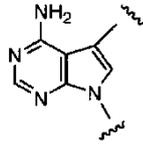
resto imidazopirazina,

'se muestra en el Esquema III.

Esquema III

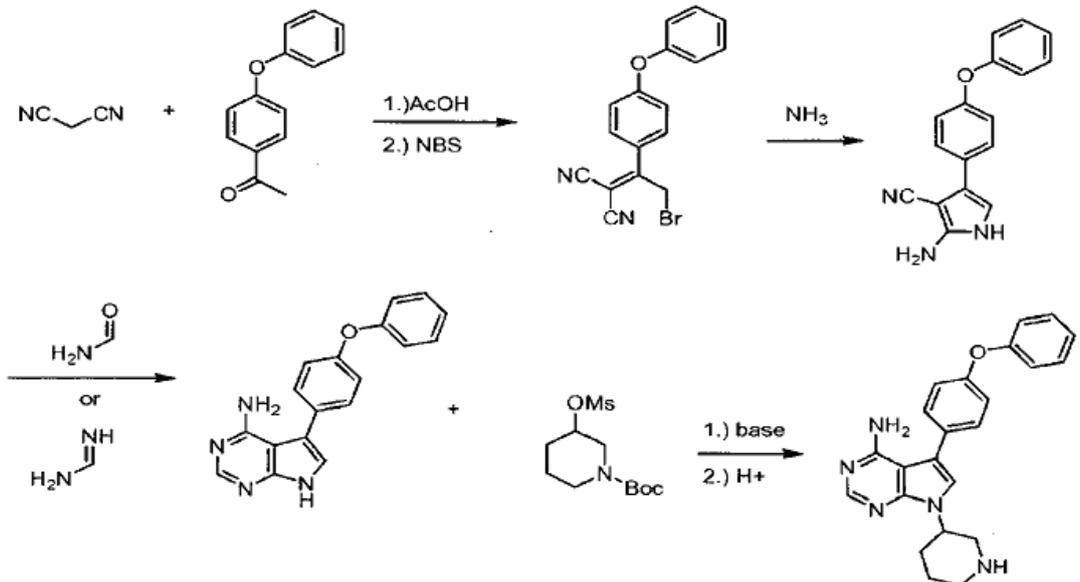


Un ejemplo no limitativo de una estrategia sintética hacia la preparación de compuestos que contienen el resto

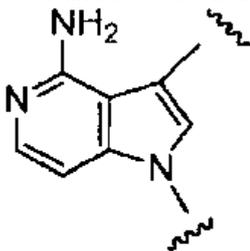


pirrolopirimidina, se muestra en el Esquema IV.

Esquema IV.

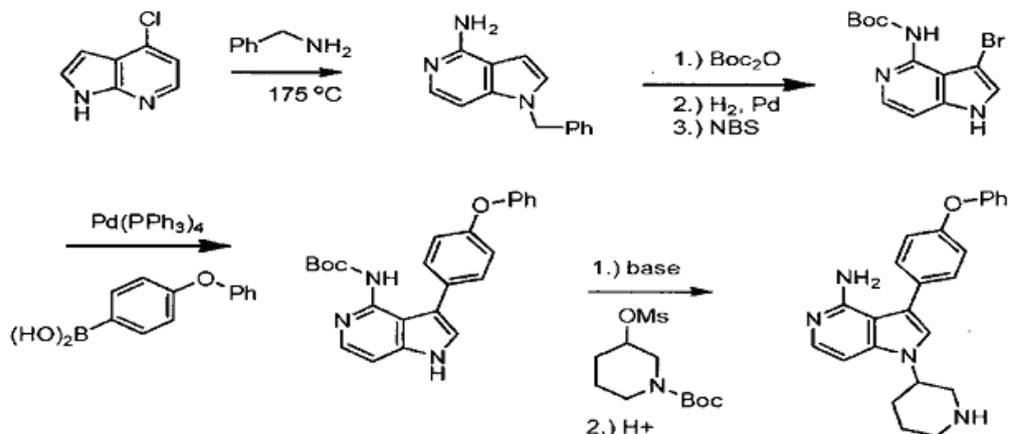


5 Un ejemplo no limitativo de una estrategia sintética hacia la preparación de compuestos que contienen el resto

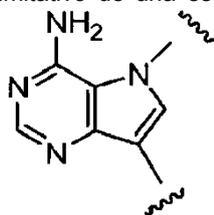


Azaindol, se muestra en el Esquema V.

Esquema V.



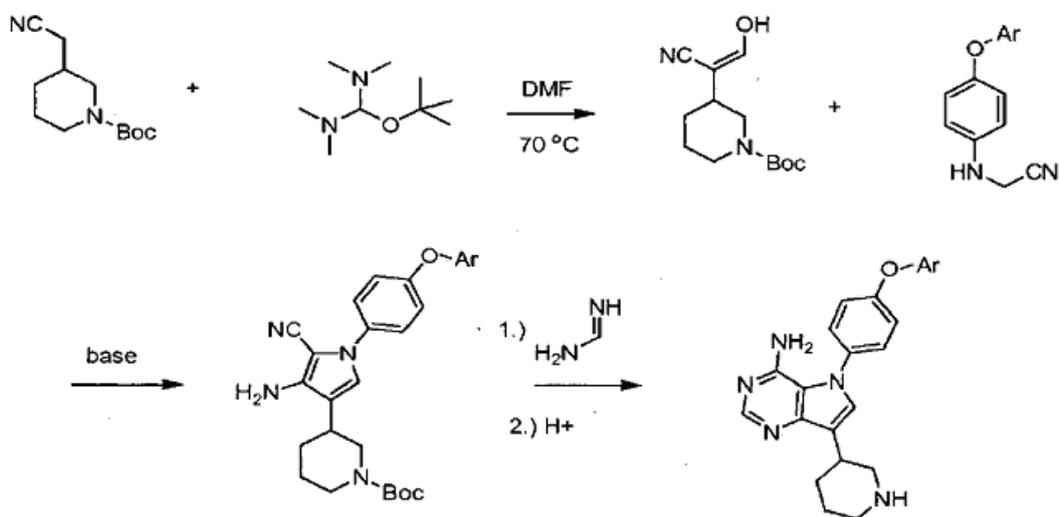
Un ejemplo no limitativo de una estrategia sintética hacia la preparación de compuestos que contienen el resto



pirrolopirimidina,

se muestra en el Esquema VI.

Esquema VI.



5 Usando los métodos sintéticos descritos en la presente memoria, se obtienen inhibidores de tirosina quinasa como se describe en la presente memoria con buenos rendimientos y pureza. Los compuestos preparados por los métodos descritos en la presente memoria se purifican por edios convencionales, tales como, por ejemplo, filtración, recristalización, cromatografía, destilación, y combinaciones de éstos.

10 Cualquier combinación de los grupos descritos anteriormente para las distintas variables se contempla en la presente memoria.

Formas Adicionales de Compuestos

15 Los compuestos descritos en la presente memoria tienen una estructura de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). Se entiende que cuando se hace referencia a compuestos descritos en la presente memoria, se pretende incluir los compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), así como todos

los compuestos específicos que se encuentran en el alcance de estas fórmulas genéricas, a no ser que se indique otra cosa.

5 Los compuestos descritos en la presente memoria pueden poseer uno o más estereocentros y cada centro puede existir en la configuración R o S. Los compuestos presentados en la presente memoria incluyen todas las formas diastereoméricas, enantioméricas, y epiméricas así como las mezclas apropiadas de éstas. Los estereoisómeros pueden obtenerse, si se desea, por métodos tales como, por ejemplo, la separación de estereoisómeros por columnas de cromatografía quiral.

10 Las mezclas diastereoméricas pueden separarse en sus diastereómeros individuales tomando como base sus diferencias físico-químicas por métodos conocidos, por ejemplo, por cromatografía y/o cristalización fraccionada. En una realización, los enantiómeros pueden separarse por columnas cromatográficas quirales. En otras realizaciones, los enantiómeros pueden separarse convirtiendo la mezcla enantiomérica en una mezcla diastereomérica por reacción con un compuesto ópticamente activo apropiado (por ejemplo, alcohol), separando los diastereómeros y convirtiendo (por ejemplo, hidrolizando) los diastereómeros individuales en los enantiómeros puros correspondientes. Todos dichos isómeros, incluyendo diastereómeros, enantiómeros, y mezclas de éstos se consideran como parte de las composiciones descritas en la presente memoria.

15 Los métodos y formulaciones descritos en la presente memoria incluyen el uso de *N*-óxidos, formas cristalinas (también conocidas como polimorfos), o sales farmacéuticamente aceptables de compuestos descritos en la presente memoria, así como metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad. En algunas situaciones, los compuestos existen como tautómeros. Todos los tautómeros se incluyen en el alcance de los compuestos presentados en la presente memoria. Además, los compuestos descritos en la presente memoria pueden existir en formas no solvatadas así como solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y semejantes. Las formas solvatadas de los compuestos presentados en la presente memoria también se considera que están descritas en la presente memoria.

20 Los compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII) en forma no oxidada pueden prepararse a partir de *N*-óxidos de compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII) tratando con un agente reductor, tal como, pero no limitado a, azufre, dióxido de azufre, trifenil fosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro, o semejantes en un disolvente orgánico inerte adecuado, tal como, pero no limitado a, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso, o semejantes a 0 a 80°C.

30 En algunas realizaciones, los compuestos descritos en la presente memoria se preparan como profármacos. Un "profármaco" se refiere a un agente que se convierte en el fármaco parental *in vivo*. Los profármacos frecuentemente son útiles porque, en algunas situaciones, pueden ser más fáciles de administrar que el fármaco parental. Pueden, por ejemplo, ser biodisponibles por administración oral mientras el parental no lo es. El profármaco también puede tener una solubilidad mejorada en composiciones farmacéuticas sobre el fármaco parental. Un ejemplo, sin limitación, de un profármaco es un compuesto descrito en la presente memoria, que se administra como un éster (el "profármaco") para facilitar el transporte a través de una membrana celular donde la solubilidad en agua es perjudicial para la movilidad pero que entonces se hidroliza metabólicamente al ácido carboxílico, la entidad activa, una vez dentro de la célula donde la solubilidad en agua es beneficiosa. Un ejemplo adicional de un profármaco es un péptido corto (poliaminoácido) unido a un grupo ácido en el que el péptido se metaboliza para revelar el resto activo. En determinadas realizaciones, después de la administración *in vivo*, un profármaco se convierte químicamente en la forma biológicamente, farmacéuticamente o terapéuticamente activa del compuesto. En determinadas realizaciones, un profármaco se metaboliza enzimáticamente por una o más etapas o procesos a la forma biológicamente, farmacéuticamente o terapéuticamente activa del compuesto. Para producir un profármaco, un compuesto farmacéuticamente activo se modifica de manera que el compuesto activo se regenerará después de la administración *in vivo*. El profármaco puede diseñarse para alterar la estabilidad metabólica o las características de transporte de un fármaco, para enmascarar efectos secundarios o toxicidad, para mejorar el sabor de un fármaco o para alterar otras características o propiedades de un fármaco. Gracias al conocimiento de los procesos farmacodinámicos y el metabolismo de fármacos *in vivo*, una vez se conoce el compuesto farmacéuticamente activo, pueden diseñarse profármacos de los compuestos (si se desea) (para ejemplos de este procedimiento aplicado a otros compuestos, véanse, por ejemplo, Nogrady (1985) *Medicinal Chemistry A Biochemical Approach*, Oxford University Press, Nueva York, páginas 388-392; Silverman (1992), *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, Academic Press, Inc., San Diego, páginas 352-401, Saulnier *et al.*, (1994), *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 4, p. 1985).

55 Las formas de profármaco de los compuestos descritos en presente memoria, en las que el profármaco se metaboliza *in vivo* para producir un derivado como se muestra en la presente memoria están incluidas en el alcance de las reivindicaciones. En algunos casos, algunos de los compuestos descritos en la presente memoria son profármacos para otro derivado o compuesto activo.

Los profármacos son útiles frecuentemente porque, en algunas situaciones, son más fáciles de administrar que el fármaco parental. Son, por ejemplo, biodisponibles por administración oral mientras el parental no. El profármaco

- tiene opcionalmente una solubilidad mejorada en composiciones farmacéuticas sobre el fármaco parental. Los profármacos pueden diseñarse como derivados de fármaco reversibles, para uso como modificadores para aumentar el transporte del fármaco a tejidos específicos de sitio. En algunas realizaciones, el diseño de un profármaco incrementa la solubilidad efectiva en agua. Véanse, por ejemplo, Fedorak et al., *Am. J. Physiol.*, 269:G210-218 (1995); McLoed et al., *Gastroenterol.*, 106:405-413 (1994); Hochhaus et al., *Biomed. Chrom.*, 6:283-286 (1992); J. Larsen y H. Bundgaard, *Int. J. Pharmaceutics*, 37, 87 (1987); J. Larsen et al., *Int. J. Pharmaceutics*, 47, 103 (1988); Sinkula et al., *J. Pharm. Sci.*, 64:181-210 (1975); T. Higuchi y V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, Vol. 14 de la A.C.S. Symposium Series; y Edward B. Roche, *Bioreversible Carriers in Drug Design*, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, 1987, todos incorporados por referencia para dicha descripción.
- Los sitios en la parte de anillo aromático de compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII) pueden ser susceptibles a varias reacciones metabólicas, por lo tanto la incorporación de sustituyentes apropiados en las estructuras de anillo aromático, tales como, sólo como ejemplo, halógenos puede reducir, minimizar o eliminar esta ruta metabólica.
- Los compuestos descritos en la presente memoria incluyen compuestos marcados isotópicamente, que son idénticos a los recitados en las distintas fórmulas y estructuras presentadas en la presente memoria, excepto por el hecho de que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico encontrado habitualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los presentes compuestos incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , respectivamente. Determinados compuestos marcados isotópicamente descritos en la presente memoria, por ejemplo aquellos en los que se incorporan isótopos radiactivos tales como ^3H y ^{14}C , son útiles en ensayos de la distribución tisular de fármaco y/o sustrato. Además, la sustitución con isótopos tales como deuterio, es decir, ^2H , puede rendir determinadas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo vida media in vivo incrementada o requerimientos reducidos de dosificación.
- En realizaciones adicionales o añadidas, los compuestos descritos en la presente memoria se metabolizan después de la administración a un organismo que necesita producir un metabolito que se usa entonces para producir un efecto deseado, incluyendo un efecto terapéutico deseado.
- Los compuestos descritos en la presente memoria (por ejemplo, compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII)) están opcionalmente en la forma de, y/o se usan como, sales farmacéuticamente aceptables. El tipo de sales farmacéuticamente aceptables, incluyen, pero no están limitadas a: (1) sales de adición a ácido, formadas) haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un farmacéuticamente aceptable: ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido metafosfórico, y semejantes; o con un ácido orgánico tal como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido trifluoroacético, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-metilbicyclo-[2.2.2]oct-2-en-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 4,4'-metilenebis-(3-hidroxi-2-en-1-carboxílico), ácido 3-fenilopropiónico, ácido trimetilacético, ácido t-butilacético, ácido lauril sulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico, y semejantes; (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto parental se reemplaza bien por un ión metálico, por ejemplo, por ejemplo, un ión de metal alcalino (por ejemplo, litio, sodio, potasio), un ión de metal alcalinotérreo (por ejemplo, magnesio, o calcio), o ión de aluminio; o coordinados con una base orgánica. Las bases orgánicas aceptables incluyen etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina, y semejantes. Las bases inorgánicas aceptables incluyen hidróxido de aluminio, hidróxido de calcio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio, hidróxido de sodio, y semejantes.
- Los contraiones correspondientes de las sales farmacéuticamente aceptables se analizan e identifican opcionalmente usando varios métodos incluyendo, pero no limitado a, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía iónica, electroforesis capilar, plasma de acoplamiento inductivo, espectroscopía de absorción atómica, espectrometría de masa, o cualquier combinación de éstas.
- Las sales se recuperan usando al menos una de las técnicas siguientes: filtración, precipitación con un no disolvente seguido de filtración, evaporación del disolvente, o, en el caso de disoluciones acuosas, liofilización.
- Debe entenderse que una referencia a una sal farmacéuticamente aceptable incluye las formas de adición de disolvente o formas cristalinas de ésta, particularmente solvatos o polimorfos. Los solvatos contienen bien cantidades estequiométricas o no estequiométricas de un disolvente, y se forman opcionalmente durante el proceso de cristalización con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y semejantes. Los hidratos se forman cuando el disolvente es agua, o se forman alcoholatos cuando el disolvente es alcohol. Los solvatos de los compuestos descritos en la presente memoria pueden prepararse o formarse convenientemente durante los procesos descritos en la presente memoria. Además, los compuestos proporcionados en la presente memoria

pueden existir en formas no solvatadas así como solvatadas. En general, las formas solvatadas se consideran equivalentes a las formas no solvatadas para los propósitos de los compuestos y métodos proporcionados en la presente memoria.

5 Debe entenderse que una referencia a una sal incluye las formas de adición de disolvente o formas cristalinas de ésta, particularmente solvatos o polimorfos. Los solvatos contienen bien cantidades estequiométricas o no estequiométricas de un disolvente, y se forman frecuentemente durante el proceso de cristalización con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y semejantes. Los hidratos se forman cuando el disolvente es agua, o se forman alcoholatos cuando el disolvente es alcohol. Los polimorfos incluyen las diferentes disposiciones de empaquetamiento de cristal de la misma composición elemental de un compuesto. Los polimorfos 10 tienen habitualmente diferentes patrones de difracción de rayos X, espectros de infrarrojos, puntos de fusión, densidad, dureza, forma cristalina, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad, y solubilidad. Varios factores tales como el disolvente de recristalización, velocidad de cristalización, y temperatura de almacenamiento pueden causar que domine una única forma de cristal.

15 Los compuestos descritos en la presente memoria están opcionalmente en varias formas, incluyendo pero no limitado a, formas amorfas, formas molidas y formas en nanopartículas. Además, los compuestos descritos en la presente memoria incluyen formas cristalinas, también conocidas como polimorfos. Los polimorfos incluyen las diferentes disposiciones de empaquetamiento de cristal de la misma composición elemental de un compuesto. Los polimorfos tienen habitualmente diferentes patrones de difracción de rayos X, espectros de infrarrojos, puntos de fusión, densidad, dureza, forma cristalina, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad, y solubilidad. Varios factores 20 tales como el disolvente de recristalización, velocidad de cristalización, y temperatura de almacenamiento pueden causar que domine una única forma de cristal.

El cribado y caracterización de las sales farmacéuticamente aceptables, polimorfos y/o solvatos pueden conseguirse usando una variedad de técnicas incluyendo, pero no limitado a, análisis termal, difracción de rayos x, espectroscopía, absorción de vapor, y microscopía. Los métodos de análisis termal abordan la degradación termo- 25 química o procesos termo-físicos incluyendo, pero no limitado a, transiciones polimórficas, y dichos métodos se usan para analizar las relaciones entre formas polimórficas, determinar la pérdida de peso, encontrar la temperatura de transición vítrea, o para estudios de compatibilidad de excipiente. Dichos métodos incluyen, pero no están limitados a, Calorimetría diferencial de barrido (DSC), Calorimetría Diferencial de Barrido Modulada (MDCS), análisis termogravimétrico (TGA), y análisis termogravimétrico e infrarrojo (TG/IR). Los métodos de difracción de rayos X incluyen, pero no están limitados a, difractómetros de único cristal y de polvo y fuentes sincrotrón. Las diferentes técnicas espectroscópicas usadas incluyen, pero no están limitadas a, Raman, FTIR, UVIS, y RMN (estado líquido y sólido). Las diferentes técnicas de microscopía incluyen, pero no están limitadas a, microscopía de luz polarizada, Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) con Análisis de Dispersión de Energía de Rayos X (EDX), Microscopía Electrónica de Barrido Ambiental con EDX (en atmósfera de gas o vapor de agua), microscopía IR, y microscopía 35 Raman.

Plataforma de Descubrimiento de Inhibidores de Quinasa Dirigidos a Cisteína

Estrategia SAR Quinasas/Inhibidores

Las proteínas quinasas, que actúan sobre y modifican la actividad de proteínas específicas, se usan para transmitir señales y controlar procesos complejos en las células. En los seres humanos se han identificado hasta 518 quinasas 40 diferentes. Muchos compuestos inhibidores de quinasa se unen no selectivamente y/o inhiben estas quinasas porque los sitios activos de algunas de estas quinasas tienen una estructura similar. Dicha reactividad cruzada no es una característica deseada de un compuesto inhibidor de quinasa debido al potencial de efectos secundarios indeseados cuando dicho compuesto se administra para tratar una enfermedad o afección.

45 Hemos observado que pequeñas diferencias en la estructura de compuestos inhibidores de quinasa tienen efectos profundos en la selectividad de quinasas con una estructura similar (por ejemplo, ACK, incluyendo, Btk y los homólogos de cisteína de la quinasa Btk).

Como resultado, hemos desarrollado ensayos, métodos, y sistemas para convertir un compuesto inhibidor no selectivo en un compuesto inhibidor altamente selectivo. Brevemente, el compuesto inhibidor no selectivo se proporciona con un resto aceptor de Michael y un resto conector que une el resto aceptor de Michael al resto del 50 compuesto inhibidor no selectivo. Una serie de restos de conector y aceptor de Michael proporciona una pequeña biblioteca/panel de compuestos inhibidores de ensayo. La biblioteca/panel de inhibidores se pone en contacto con un panel de quinasas relacionadas estructuralmente (por ejemplo, Btk y los homólogos de cisteína de la quinasa Btk). La unión se determina por una variedad de medios, incluyendo detección de fluorescencia (o mediante cualquier otro marcador detectable), espectrometría de masa, o una combinación de estrategias. Una Sonda de Actividad se usa 55 opcionalmente para detectar la unión de miembros de la biblioteca/panel de inhibidores a la biblioteca/panel de quinasas. Los datos de unión se recogen opcionalmente y se analizan para proporcionar una relación estructura-actividad (SAR) entre la estructura de los miembros de la biblioteca/panel de inhibidores (por ejemplo, aceptor de Michael y/o restos conectores) y la actividad de unión a y/o inhibición de miembros del panel de quinasas. Tomando como base esta información, se sugieren, si es necesario, modificaciones adicionales. Hemos usado con éxito esta

estrategia para mejorar la unión y selectividad de compuestos inhibidores de Btk (véanse los Ejemplos en la presente memoria, incluyendo la sección de ejemplo "Plataforma de Descubrimiento de Inhibidores de Quinasa").

Una estrategia similar puede usarse para convertir un compuesto inhibidor selectivo para un grupo de ACK con una estructura similar (incluyendo, Btk y los homólogos de cisteína de la quinasa Btk) en un compuesto inhibidor más altamente selectivo (por ejemplo, más selectivo para una ACK particular sobre ACK estructuralmente similares), o para convertir un compuesto inhibidor selectivo para una ACK particular (por ejemplo, Btk) en un inhibidor incluso más selectivo de esa ACK particular. Por ejemplo, brevemente, el compuesto inhibidor selectivo (que, por ejemplo, contiene un resto de unión a sitio activo, un resto conector y un resto aceptor de Michael) se modifica. En una realización, una serie de restos de conector y de aceptor de Michael proporciona una pequeña biblioteca/panel de compuestos inhibidores de ensayo. La biblioteca/panel de inhibidores se pone en contacto con un panel de quinasas relacionadas estructuralmente (por ejemplo, Btk y los homólogos de cisteína de la quinasa Btk). La unión se determina por una variedad de medios, incluyendo detección de fluorescencia (o mediante cualquier otro marcador detectable), espectrometría de masa, o una combinación de estrategias. Una Sonda de Actividad se usa opcionalmente para detectar la unión de miembros de la biblioteca/panel de inhibidores a la biblioteca/panel de quinasas. Los datos de unión se recogen opcionalmente y se analizan para proporcionar una relación estructura-actividad (SAR) entre la estructura de los miembros de la biblioteca/panel de inhibidores (por ejemplo, aceptor de Michael y/o restos conectores) y la actividad de unión a y/o inhibición de miembros del panel de quinasas. Tomando como base esta información, se sugieren, si es necesario, modificaciones adicionales. Hemos usado también con éxito esta estrategia para mejorar la unión y selectividad de compuestos inhibidores de Btk (véanse los Ejemplos en la presente memoria, incluyendo la sección de ejemplo "Plataforma de Descubrimiento de Inhibidores de Quinasa").

Así, para nuestro inhibidor de Btk altamente selectivo, Compuesto 1, preparamos por ingeniería un centro electrofílico capaz de inactivar irreversiblemente la enzima diana, BTK. Esto es, a un resto de unión a sitio activo de un inhibidor reversible se añadió un resto conector y un resto aceptor de Michael que consiguieron un alto grado de potencia y selectividad (1) ajustando el soporte del núcleo en el bolsillo de unión de ATP del sitio activo de enzimas quinasa, y (2) formando un enlace covalente con la Cisteína-481 localizada en BTK. La química requerida para la formación del enlace covalente implica un resto electrofílico que actúa como un aceptor de Michael, que se une con un nucleófilo (tal como Cys-481) presente en una localización precisa en el sitio activo.

En otro ejemplo, el resto conector y aceptor de Michael del Compuesto 1 se modificaron para proporcionar el Compuesto 9 que tiene un patrón de selectividad diferente. La Tabla 1 es una tabla que muestra el grado de inhibición de un panel de quinasas para dos compuestos de ejemplo. Las CI_{50} se determinaron usando el ensayo quinasa in vitro HotSpot (enzimas purificadas, 33P-ATP, un sustrato apropiado y 1 μ M ATP.) Comparado con el Compuesto 1, el Compuesto 9 tiene una potencia similar frente a Btk, pero significativamente menos potencia frente a JAK-3, ITK, y EGFR y significativamente más potencia frente a la familia de quinasas src lck, c-src, FGR, Fyn, Hck, y Lyn y Yes. Así, las modificaciones ligeras en el resto conector y el resto aceptor de Michael son importantes para el diseño de inhibidores selectivos de ACK.

Tabla 1.

Quinasa	Compuesto 1 CI_{50} (nM)	Compuesto 9 CI_{50} (nM)
BTK	0,5	1,0
ITK	11,7	909,9
Bmx/ETK	0,8	1,1
TEC	77,8	108,0
EFGR	0,5	20,6
HER2	9,4	1.536,0
HER4	0,1	3,2
LCK	2,0	1,0
BLK	0,5	0,2

Quinasa	Compuesto 1 CI50 (nM)	Compuesto 9 CI50 (nM)
C-src	262,6	14,3
FGR	2,3	0,4
Fyn	95,6	7,1
HCK	3,7	1,0
Lyn	16,2	1,2
YES	6,5	0,8
ABL	86,1	32,3
Brk	3,3	3,3
CSK	2,2	2,4
FER	8.070,0	3.346,0
JAK3	10,4	8.278,0
SYK	> 10.000	>10.000

La Tabla 2 del Ejemplo 1c en la sección "Plataforma de Descubrimiento de Quinasas y Dosificación por Pulsos" de la sección de los ejemplos proporciona modificaciones adicionales del resto conector y/o el resto aceptor de Michael y el impacto de dichos cambios de la selectividad del inhibidor.

- 5 Así, en un aspecto descrito en la presente memoria son métodos para identificar un inhibidor irreversible de una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk (o de hecho, cualquier ACK) que comprende:
- 10 (1) poner en contacto una multiplicidad de quinasas seleccionadas de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk (o de hecho cualquier ACK) con un compuesto que comprende un resto aceptor de Michael;
- 15 (2) poner en contacto al menos una molécula no quinasa que tiene al menos un grupo SH accesible con el compuesto que comprende un resto aceptor de Michael (esta etapa permite la selección de inhibidores que tienen baja selectividad para moléculas biológicas de mayor abundancia que tienen restos que reaccionan irreversiblemente con el inhibidor; evitando así que el inhibidor se una a la ACK deseada cuando se administra como un fármaco a un paciente); y
- (3) determinar la unión covalente del compuesto que comprende un aceptor de Michael con la multiplicidad de quinasas y la al menos una molécula no quinasa; y
- repetir las etapas (1), (2), y (3) para al menos un otro compuesto que comprende un resto aceptor de Michael.
- 20 En un aspecto adicional, se añaden las etapas siguientes: (4) comparar la unión covalente del compuesto que comprende un aceptor de Michael con la multiplicidad de quinasas y la al menos una molécula no quinasa; y repetir las etapas (1), (2), (3) y (4) para al menos un otro compuesto que comprende un resto aceptor de Michael.
- En un aspecto adicional los compuestos inhibidores irreversibles también se ponen en contacto con al menos una quinasa no ACK con el fin de determinar la selectividad del compuesto inhibidor irreversible para la ACK respecto a la no ACK.
- 25 Como determinados ejemplos relevantes de moléculas no quinasa con al menos un grupo SH accesible están glutatión y/o hemoglobina. Debido a la gran abundancia de estas moléculas en sistemas biológicos típicos (por

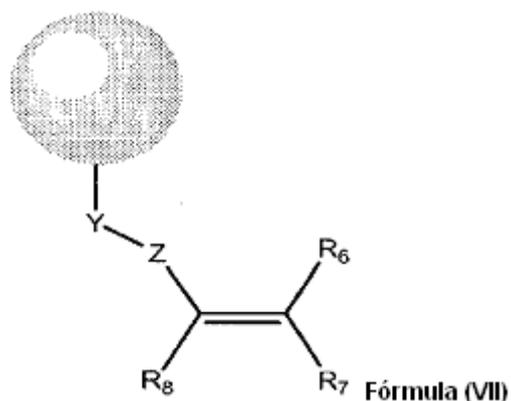
ejemplo, en un paciente), los compuestos inhibidores irreversibles deseados tienen una baja selectividad/reactividad con estas moléculas no quinasa.

5 En determinadas realizaciones de la Plataforma de Descubrimiento de Inhibidores de Quinasa, una Sonda de Actividad (descrita con más detalle en la presente memoria) se usa como un método de diagnóstico rápido para determinar si un compuesto inhibidor de ensayo ha inhibido irreversiblemente una ACK. En una realización, la Sonda de Actividad es en sí misma un inhibidor irreversible de una ACK, y además, tiene un resto informador (por ejemplo, un resto fluorescente) como parte de su estructura. Cuando se usa en competición con un inhibidor irreversible de ensayo, la ausencia de una señal 'informadora' en una ACK es una indicación de que el inhibidor irreversible de ensayo ha evitado que la Sonda de Actividad se una a la ACK (y que el inhibidor irreversible de ensayo tiene una mayor afinidad de unión para la ACK que la Sonda de Actividad).

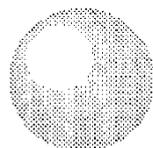
10 En determinadas realizaciones, la Plataforma de Descubrimiento de Inhibidores de Quinasa, etapas (1) y (2) se llevan a cabo in vivo y la etapa (3) se lleva a cabo en parte usando una Sonda de Actividad. Además, en determinadas realizaciones, la etapa de determinación usa espectrometría de masa, fluorescencia, o una combinación de éstas.

15 Como se describe en la presente memoria, en una realización, el inhibidor ensayado con la Plataforma de Descubrimiento de Inhibidores de Quinasa comprende un resto de unión a sitio activo, un resto aceptor de Michael, y un resto conector que une el resto aceptor de Michael al resto de unión a sitio activo. Por ejemplo, en dicho esquema, la información siguiente se recoge y analiza: la relación estructura-función actividad entre la estructura del resto conector y/o el resto aceptor de Michael de cada compuesto, y la unión y/o selectividad de cada compuesto al menos a una quinasa. Además, en determinadas realizaciones, la estructura del resto de unión a sitio activo de cada compuesto no varía, mientras la estructura del resto conector y/o el resto aceptor de Michael varía.

En un ejemplo, los inhibidores tienen la estructura de Fórmula (VII):



25 en la que:



en la que es un resto que se une al sitio activo de una quinasa, incluyendo una tirosina quinasa, incluyendo además un homólogo de cisteína de la quinasa Btk;

30 Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, heterocicloalquileno, cicloalquileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileno, y alquilenheterocicloalquileno;

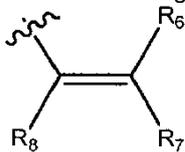
Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), NCH₃C(=O), C(=S), S(=O)_x, OS(=O)_x, NHS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2;

R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquiloC₁-C₄ no sustituido, alquiloC₁-C₄ sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ no sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₆ no sustituido, y heterocicloalquiloC₂-C₆ sustituido; o

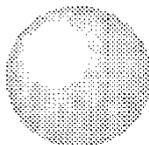
35 R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace; y

R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxilquiloC₁-C₆, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxilalquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiloC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₈), o alquiloC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈).

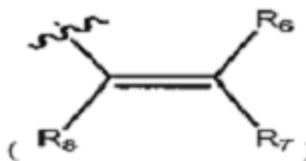
En dicho esquema, la información siguiente se recoge y analiza: la relación estructura-función actividad entre la



estructura de Y-Z y/o de cada compuesto, y la unión y/o selectividad de cada compuesto al menos



para una quinasa. Además, la estructura de de cada compuesto no varía, mientras la estructura del



resto conector (Y-Z) y/o el resto aceptor de Michael

varía.

- 10 En determinadas realizaciones de la Plataforma de Descubrimiento de Inhibidores de Quinasa, el inhibidor resultante es selectivo para una quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk sobre al menos una otra quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En algunas realizaciones, esta selectividad es al menos 5x, al menos 10x, al menos 20x, al menos 50x, o al menos 100x. En realizaciones adicionales, el inhibidor resultante es selectivo para al menos una quinasa
- 15 seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk sobre al menos una otra molécula no quinasa que tiene un grupo SH accesible. En algunas realizaciones, esta selectividad es al menos 5x, al menos 10x al menos 20x, al menos 50x, o al menos 100x.

En realizaciones adicionales, el inhibidor resultante se usa en métodos terapéuticos descritos en la presente memoria, o en las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria.

20 **Compuestos de Sonda de Actividad**

Como la Plataforma de Descubrimiento de Inhibidores de Quinasa descrita en la presente memoria utiliza opcionalmente una Sonda de Actividad, la sección siguiente describe el diseño, estructura y uso de ejemplos no limitantes de Sondas de Actividad.

- 25 Los compuestos de Sonda de Actividad descritos en la presente memoria están compuestos por un resto que comprende un inhibidor de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk (de aquí en adelante en la presente memoria, un "Inhibidor de Quinasa"), un resto conector, y un resto informador. En una realización, el Inhibidor de Quinasa es un inhibidor irreversible. En otra realización, el Inhibidor de Quinasa irreversible se une a un residuo no catalítico en el bolsillo de unión de ATP de Btk, un homólogo de Btk y/o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk (de aquí en adelante en la presente memoria, una "Quinasa"); en
- 30 realizaciones adicionales, el residuo no catalítico es un residuo de cisteína. En algunas realizaciones, la Sonda de Actividad forma un enlace covalente con al menos un residuo no catalítico de una Quinasa. En otras realizaciones, la Sonda de Actividad forma un enlace no covalente con al menos un residuo no catalítico de una Quinasa. En una realización adicional, la Sonda de Actividad forma un enlace de hidrógeno en el bolsillo de unión de ATP de una Quinasa. En una realización más adicional, la Sonda de Actividad tiene atracciones de Van der Waals con la
- 35 Quinasa.

- En algunas otras realizaciones, las Sondas de Actividad descritas en la presente memoria son dependientes de actividad de manera que la sonda sólo se une a una Quinasa activa. En realizaciones adicionales, la Sonda de Actividad se une a una Quinasa que se ha activado por fosforilación por quinasa aguas arriba. En una realización más adicional, las Sondas de Actividad descritas en la presente memoria son independiente de actividad de manera que la sonda se une a Quinasas que no se han activado por fosforilación por quinasa aguas arriba. En algunas
- 40 realizaciones, la Sonda de Actividad marca una conformación fosforilada de una Quinasa. En otras realizaciones, la Sonda de Actividad marca una Quinasa en una conformación no fosforilada.

En algunas realizaciones, la Sonda de Actividad es permeable para las células.

En realizaciones adicionales, el resto conector se selecciona de un enlace, un resto alquilo sustituido, un resto heterociclo sustituido, un resto amida sustituido, un resto cetona, un resto carbamato sustituido, un resto éster, o cualquier combinación de éstos. En realizaciones adicionales, el resto informador es un resto que se detecta usando equipo de laboratorio estándar o modificado.

- 5 En un aspecto es una Sonda de Actividad de Fórmula (I) que comprende:

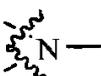


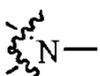
Fórmula (I);

en la que:

A es un resto Inhibidor de Quinasa;

X e Y se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: un enlace, $-O(C=O)-$, $-NR^a(C=O)-$, $-NR^a-$,

- 10  $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-O-NR^a-$, $-O(C=O)O-$, $-O(C=O)NR^a$, $-NR^a(C=O)NR^a-$, $-N=CR^a-$, $-S(C=O)-$, $-S(O)-$, y $-S(O)_2-$;

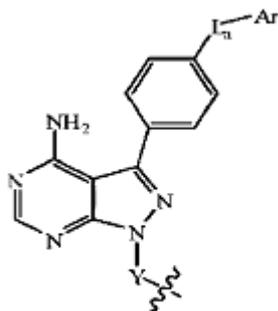
en el que  forma un heterociclo que contiene N;

B es un resto conector;

C es un resto informador; y

R^a es hidrógeno o alquilo.

- 15 En una realización, el resto que comprende un Inhibidor de Quinasa irreversible deriva de un inhibidor irreversible de una Quinasa. En algunas realizaciones, dichos Inhibidores de Quinasa irreversibles deben poseer al menos una de las características siguientes: potencia, selectividad y permeabilidad celular. En realizaciones adicionales, dichos Inhibidores de Quinasa irreversibles poseen al menos dos de las características mencionadas anteriormente, y en realizaciones adicionales, al menos todas las características mencionadas anteriormente.
- 20 En otra realización, el resto Inhibidor de Quinasa deriva de un inhibidor de Btk que tiene la estructura de Fórmula (II):



Fórmula (II)

en la que:

L_a es CH_2 , O, NH o S;

Ar es un arilo sustituido o no sustituido, o un heteroarilo sustituido o no sustituido; y

- 25 Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, heterocicloalquileno, cicloalquileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileno, y alquilenheterocicloalquileno.

En algunas realizaciones, L_a es CH_2 , O, o NH. En otras realizaciones, L_a es O o NH. En otras realizaciones más, L_a es O.

En otras realizaciones, Ar es un arilo sustituido o no sustituido. En otras realizaciones más, Ar es un arilo de 6 miembros. En algunas otras realizaciones, Ar es fenilo.

En algunas realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, heterocicloalquileno, cicloalquileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileno, y alquilenheterocicloalquileno. En otras realizaciones, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquilenoC₁-C₆, heteroalquilenoC₁-C₆, cicloalquileno de 4, 5, 6 ó 7 miembros, y heterocicloalquileno de 4, 5, 6 ó 7 miembros. En otras realizaciones más, Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquilenoC₁-C₆, heteroalquilenoC₁-C₆, cicloalquileno de 5 ó 6 miembros, y heterocicloalquileno de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N. En algunas otras realizaciones, Y es un cicloalquileno de 5 ó 6 miembros, o un heterocicloalquileno de 5 ó 6 miembros que contiene 1 ó 2 átomos de N. En algunas realizaciones, Y es un anillo cicloalquileno de 4, 5, 6, ó 7 miembros; o Y es un anillo heterocicloalquileno de 4, 5, 6, ó 7 miembros.

En algunas realizaciones, el resto Inhibidor de Quinasa deriva de un compuesto seleccionado de entre: 1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona; (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)but-2-en-1-ona; 1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)sulfonileno; 1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona; 1-(4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona; N-((1s,4s)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)acrilamida; 1-((R)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona; 1-((S)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona; 1-((R)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona; 1-((S)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona; y (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona; (E)-4-(N-(2-hidroxietil)-N-metilamino)-1-(3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)but-2-en-1-ona (Compuesto 3); (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)-3-(1H-imidazol-4-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 4); (E)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 5); (E)-1-(4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto 7); (E)-N-((1s,4s)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)-4-(dimetilamino)but-2-enamida (Compuesto 8); N-((1r,4r)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)acrilamida (Compuesto 10); (E)-1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto 11); (E)-1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto 12); 1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 13); 1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 14); 1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)but-2-en-1-ona (Compuesto 15); 1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)but-2-en-1-ona (Compuesto 16); 1-((R)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)but-2-en-1-ona (Compuesto 17); (E)-N-((1r,4r)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)-4-(dimetilamino)but-2-enamida (Compuesto 18); N-(2-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-N-metilacrilamida (Compuesto 19); (E)-1-(4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 20); (E)-1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 21); N-((1s,4s)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)but-2-inamida (Compuesto 22); N-(2-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)acrilamida (Compuesto 23); (E)-1-((R)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)-4-morfolinobut-2-en-1-ona (Compuesto 24); (E)-N-((1s,4s)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)-4-morfolinobut-2-enamida (Compuesto 25).

En otra realización, el resto conector se selecciona de un enlace, un polímero, un polímero soluble en agua, alquilo sustituido opcionalmente, heteroalquilo sustituido opcionalmente, heterocicloalquilo sustituido opcionalmente, cicloalquilo sustituido opcionalmente, heterocicloalquilalquilo sustituido opcionalmente, heterocicloalquilalquilenilo sustituido opcionalmente, arilo sustituido opcionalmente, heteroarilo sustituido opcionalmente, y heterocicloalquilalquilenalquilo sustituido opcionalmente. En algunas realizaciones, el resto conector es un heterociclo sustituido opcionalmente. En otras realizaciones, el heterociclo se selecciona de aziridina, oxirano, episulfuro, azetidina, oxetano, pirrolina, tetrahidrofurano, tetrahidrotiofeno, pirrolidina, pirazol, pirrol, imidazol, triazol, tetrazol, oxazol, isoxazol, oxireno, tiazol, isotiazol, ditiolano, furano, tiofeno, piperidina, tetrahidropirano, tiano, piridina, pirano, tiapirano, piridazina, pirimidina, pirazina, piperazina, oxazina, tiazina, ditiano, y dioxano. En algunas realizaciones, el heterociclo es piperazina. En realizaciones adicionales, el resto conector está sustituido opcionalmente con halógeno, CN, OH, NO₂, alquilo, S(O), y S(O)₂. En otras realizaciones, el polímero soluble en agua es un grupo PEG.

En otras realizaciones, el resto conector proporciona una separación espacial suficiente entre el resto informador y el resto Inhibidor de Quinasa. En realizaciones adicionales, el resto conector es estable. En una realización más adicional, el resto conector no afecta sustancialmente la respuesta del resto informador. En otras realizaciones el resto conector proporciona estabilidad química a la Sonda de Actividad. En realizaciones adicionales, el resto conector proporciona una solubilidad suficiente a la Sonda de Actividad.

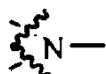
En algunas realizaciones, las uniones tales como polímeros solubles en agua se acoplan en un extremo de un resto Inhibidor de Quinasa y a un resto informador en el otro extremo. En otras realizaciones, los polímeros solubles en agua se acoplan a través de un grupo funcional o sustituyente del resto Inhibidor de Quinasa. En realizaciones adicionales, los polímeros solubles en agua se acoplan a través de un grupo funcional o sustituyente del resto informador. En otras realizaciones, la unión covalente de polímeros hidrofílicos a un resto Inhibidor de Quinasa y a un resto informador representa una estrategia para incrementar la solubilidad en agua (tal como en un entorno fisiológico), biodisponibilidad, vida media sérica incrementada, parámetros farmacodinámicos incrementados, o tiempo de circulación prolongado de la Sonda de Actividad, incluyendo proteínas, péptidos, y particularmente moléculas hidrofóbicas. En realizaciones adicionales, las características importantes adicionales de dichos polímeros hidrofílicos incluyen biocompatibilidad y ausencia de toxicidad. En otras realizaciones, para uso terapéutico de la preparación de producto final, el polímero es farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, los ejemplos de polímeros hidrofílicos incluyen, pero no están limitados a: polialquil éteres y análogos con caperuza alcoxi de éstos (por ejemplo, polioxietilén glicol, polioxietilén/propilén glicol, y análogos con caperuza metoxi o etoxi de éstos, polioxietilén glicol, el último también es conocido como polietilén glicol o PEG); polivinilpirrolidonas; polivinilalquil éteres; polioxazolinás, polialquil oxazolinás y polihidroalquil oxazolinás; poliácridamidas, polialquil acrilamidas, y polihidroalquil acrilamidas (por ejemplo, polihidroxi propilmetacrilamida y derivados de éstos); polihidroalquil acrilatos; ácidos polisialílicos y análogos de éstos; secuencias peptídicas hidrofílicas; polisacáridos y sus derivados, incluyendo dextrano y derivados de dextrano, por ejemplo, carboximetildextrano, sulfatos de dextrano, aminodextrano; celulosa y sus derivados, por ejemplo, carboximetil celulosa, hidroxialquil celulosas; quitina y sus derivados, por ejemplo, quitosán, succinil quitosán, carboximetilquitina, carboximetilquitosán; ácido hialurónico y sus derivados; almidones; alginatos; sulfato de condroitina; albúmina; pululan y carboximetil pululan; poliaminoácidos y derivados de éstos, por ejemplo, ácidos poliglutámicos, polilisinas, ácidos poliaspárticos, poliaspartamidas; copolímeros de anhídrido maleico tales como: copolímero de estireno anhídrido maleico, copolímero diviniletil éter anhídrido maleico; polivinil alcoholes; copolímeros de éstos; terpolímeros de éstos; mezclas de éstos; y derivados de los anteriores. En otras realizaciones, el polímero soluble en agua es cualquier forma estructural incluyendo pero no limitado a lineal, en horquilla o ramificado. En algunas realizaciones, los núcleos de polímero que son solubles en agua, con de 2 a aproximadamente 300 extremos, son particularmente útiles. En realizaciones adicionales, los derivados de polímeros multifuncionales incluyen, pero no están limitados a, polímeros lineales que tienen dos extremos, estando unido cada extremo a un grupo funcional que es el mismo o diferente. En algunas realizaciones, el polímero soluble en agua comprende un resto poli(etilén glicol). En realizaciones adicionales, el peso molecular del polímero tiene un amplio intervalo, incluyendo pero no limitado a, entre aproximadamente 100 Da y aproximadamente 100.000 Da o más. En más realizaciones adicionales, el peso molecular del polímero es entre aproximadamente 100 Da y aproximadamente 100.000 Da, incluyendo pero no limitado a, aproximadamente 100.000 Da, aproximadamente 95.000 Da, aproximadamente 90.000 Da, aproximadamente 85.000 Da, aproximadamente 80.000 Da, aproximadamente 75.000 Da, aproximadamente 70.000 Da, aproximadamente 65.000 Da, aproximadamente 60.000 Da, aproximadamente 55.000 Da, aproximadamente 50.000 Da, aproximadamente 45.000 Da, aproximadamente 40.000 Da, aproximadamente 35.000 Da, 30.000 Da, aproximadamente 25.000 Da, aproximadamente 20.000 Da, aproximadamente 15.000 Da, aproximadamente 10.000 Da, aproximadamente 9.000 Da, aproximadamente 8.000 Da, aproximadamente 7.000 Da, aproximadamente 6.000 Da, aproximadamente 5.000 Da, aproximadamente 4.000 Da, aproximadamente 3.000 Da, aproximadamente 2.000 Da, aproximadamente 1.000 Da, aproximadamente 900 Da, aproximadamente 800 Da, aproximadamente 700 Da, aproximadamente 600 Da, aproximadamente 500 Da, aproximadamente 400 Da, aproximadamente 300 Da, aproximadamente 200 Da, y aproximadamente 100 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del polímero es entre aproximadamente 100 Da y 50.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del polímero es entre aproximadamente 100 Da y 40.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del polímero es entre aproximadamente 1.000 Da y 40.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del polímero es entre aproximadamente 5.000 Da y 40.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del polímero es entre aproximadamente 10.000 Da y 40.000 Da. En algunas realizaciones, la molécula de poli(etilén glicol) es un polímero ramificado. En realizaciones adicionales, el peso molecular de la cadena de PEG ramificada es entre aproximadamente 1.000 Da y aproximadamente 100.000 Da, incluyendo pero no limitado a, aproximadamente 100.000 Da, aproximadamente 95.000 Da, aproximadamente 90.000 Da, aproximadamente 85.000 Da, aproximadamente 80.000 Da, aproximadamente 75.000 Da, aproximadamente 70.000 Da, aproximadamente 65.000 Da, aproximadamente 60.000 Da, aproximadamente 55.000 Da, aproximadamente 50.000 Da, aproximadamente 45.000 Da, aproximadamente 40.000 Da, aproximadamente 35.000 Da, aproximadamente 30.000 Da, aproximadamente 25.000 Da, aproximadamente 20.000 Da, aproximadamente 15.000 Da, aproximadamente 10.000 Da, aproximadamente 9.000 Da, aproximadamente 8.000 Da, aproximadamente 7.000 Da, aproximadamente 6.000 Da, aproximadamente 5.000 Da, aproximadamente 4.000 Da, aproximadamente 3.000 Da, aproximadamente 2.000 Da, y aproximadamente 1.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular de la cadena de PEG ramificada es entre aproximadamente 1.000 Da y aproximadamente 50.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular de la cadena de PEG ramificada es entre aproximadamente 1.000 Da y aproximadamente 40.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular de la cadena de PEG ramificada es entre aproximadamente 5.000 Da y aproximadamente 40.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular de la cadena de PEG ramificada es entre aproximadamente 5.000 Da y aproximadamente 20.000 Da. La lista anterior para núcleos sustancialmente solubles en agua no es de ninguna manera exhaustiva y es meramente ilustrativa, y en algunas realizaciones, los materiales

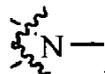
poliméricos tienen las cualidades descritas anteriormente adecuadas para uso en métodos y composiciones descritos en la presente memoria.

En realizaciones adicionales, el número de polímeros solubles en agua unidos a un resto Inhibidor de Quinasa y un resto informador descrito en la presente memoria se ajusta para proporcionar una característica farmacológica, farmacocinética o farmacodinámica alterada (incluyendo pero no limitado a, incrementada o disminuida) tal como vida media *in vivo*. En algunas realizaciones, la vida media de la Sonda de Actividad se incrementa al menos aproximadamente 10, aproximadamente 20, aproximadamente 30, aproximadamente 40, aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80, aproximadamente 90 por ciento, aproximadamente dos veces, aproximadamente cinco veces, aproximadamente 10 veces, aproximadamente 50 veces, o al menos aproximadamente 100 veces sobre una Sonda de Actividad sin un conector soluble en agua.

En otra realización, X se selecciona del grupo que consiste en: un enlace, -O(C=O)-, -NR^a(C=O)-, -NR^a-.



^a-O-, -S-, -S-S-, -O-NR^a-, -O(C=O)O-, -O(C=O)NR^a-, -NR^a(C=O)NR^a-, -N=CR^a-, -S(C=O)-, -S(O)-, y -S(O)₂-;



en el que forma un heterociclo que contiene N. En una realización, X es NR^a(C=O). En otra realización, X es un enlace. En otra realización, X es -O(C=O)-. En una realización adicional, Y se selecciona del grupo que

consiste en: un enlace, -O(C=O)-, -NR^a(C=O)-, -NR^a-,  ^a-O-, -S-, -S-S-, -O-NR^a-, -O(C=O)O-, -O(C=O)NR^a-,

-NR^a(C=O)NR^a-, -N=CR^a-, -S(C=O)-, -S(O)-, y -S(O)₂-; en el que  forma un heterociclo que contiene N. En una realización más adicional, Y es un enlace. En una realización, Y es NR^a(C=O)-. En otra realización más, R^a es hidrógeno. En una realización más adicional, R^a es alquilo.

En una realización adicional, el resto informador se selecciona del grupo que consiste en un marcador, un agente de tinción, un fotoentrecruzador, un compuesto citotóxico, un fármaco, un marcador de afinidad, un marcador de foto afinidad, un compuesto reactivo, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, un biomaterial, una nanopartícula, un marcador de espín, un fluoróforo, un resto que contiene metal, un resto radiactivo, un grupo funcional nuevo, un grupo que interacciona covalentemente o no covalentemente con otras moléculas, un resto enjaulado fotosensible, un resto excitable con radiación actínica, un ligando, un resto fotoisomerizable, biotina, un análogo de biotina, un resto que incorpora un átomo pesado, un grupo químicamente escindible, un grupo fotoescindible, un agente redox activo, un resto marcado isotópicamente, una sonda biofísica, un grupo fosforescente, un grupo quimioluminiscente, un grupo electrodenso, un grupo magnético, un grupo intercalante, un cromóforo, un agente de transferencia de energía, un agente biológicamente activo, un marcador detectable, o una combinación de éstos.

En otra realización, el resto informador es un fluoróforo. En una realización adicional, el fluoróforo se selecciona del grupo que consiste en: BODIPY 493/503, BODIPY FL, BODIPY R6G, BODIPY 530/550, BODIPY TMR, BODIPY 558/568, BODIPY 564/570, BODIPY 576/589, BODIPY 581/591, BODIPY TR, Fluoresceína, 5(6)-Carboxifluoresceína, 2,7-Diclorofluoresceína, N,N-Bis(2,4,6-trimetilfenilo)-3,4:9,10-perilénbis(dicarboximida), HPTS, Etil Eosina, DY-490XL MegaStokes, DY-485XL MegaStokes, Adirondack Verde 520, ATTO 465, ATTO 488, ATTO 495, YOYO-1, 5-FAM, BCECF, BCECF, diclorofluoresceína, rodamina 110, rodamina 123, Rodamina Verde, YO-PRO-1, SYTOX Verde, Sodio Verde, SYBR Verde I, Alexa Flúor 500, FITC, Fluo-3, Fluo-4, fluoro-esmeralda, YoYo-1 ADNss, YoYo-1 ADNds, YoYo-1, SYTO RNASelect, Diversa Verde-FP, Dragon Verde, Evaverde, Surf Verde EX, Spectrum Verde, Oregon Verde 488, NeuroTrace 500525, NBD-X, MitoTracker Verde FM, LysoTracker Verde DND-26, CBQCA, PA-GFP (post-activación), WEGFP (post-activación), FIASH-CCXXCC, Azami Verde monomérico, Azami Verde, EGFP (Campbell Tsien 2003), EGFP (Patterson 2001), Fluoresceína, Kaede Verde, 7-Bencillamino-4-Nitrobenz-2-Oxa-1,3-Diazol, Bex1, Doxorubicina, Lumio Verde, y SuperGlo GFP.

En una realización adicional, el fluoróforo se selecciona del grupo que consiste en: BODIPY 493/503, BODIPY FL, BODIPY R6G, BODIPY 530/550, BODIPY TMR, BODIPY 558/568, BODIPY 564/570, BODIPY 576/589, BODIPY 581/591, y BODIPY TR. En una realización más adicional, el fluoróforo es BODIPY FL. En determinadas realizaciones, el fluoróforo no es BODIPY 530. En algunas realizaciones, el fluoróforo tiene un máximo de excitación de entre aproximadamente 500 y aproximadamente 600 nm. En algunas otras realizaciones, el fluoróforo tiene un máximo de excitación de entre aproximadamente 500 y aproximadamente 550 nm. En otras realizaciones, el fluoróforo tiene un máximo de excitación de entre aproximadamente 550 y aproximadamente 600 nm. En una realización más adicional, el fluoróforo tiene un máximo de excitación de entre aproximadamente 525 y aproximadamente 575 nm. En otras realizaciones, el fluoróforo tiene un máximo de emisión de entre aproximadamente 510 y aproximadamente 670 nm. En otra realización, el fluoróforo tiene un máximo de emisión de

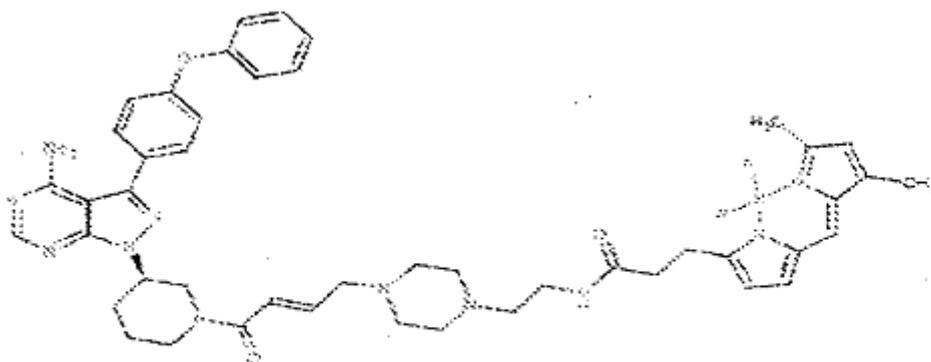
entre aproximadamente 510 y aproximadamente 600 nm. En una realización adicional, el fluoróforo tiene un máximo de emisión de entre aproximadamente 600 y aproximadamente 670 nm. En otra realización, el fluoróforo tiene un máximo de emisión de entre aproximadamente 575 y aproximadamente 625 nm.

5 Sólo como ejemplo y en algunas realizaciones, la potencia, selectividad, y permeabilidad celular observadas de compuestos tales como el Compuesto 2 son apropiadas para incorporar estas moléculas en una sonda basada en actividad dirigida a Quinasa que permite la visualización directa de la actividad Quinasa en células intactas. El perfilado *in vitro* frente a un panel de más de 100 quinasas mostró que el Compuesto 2 es un inhibidor altamente potente y selectivo de la familia de quinasas Tec, incluyendo, Btk, así como la familia de quinasas Src. Sin limitar el alcance de las composiciones y métodos descritos en la presente memoria, se postula que la base estructural para la selectividad es la modificación covalente de un residuo de cisteína no catalítico (Cys 481 en Btk) que está conservado en el bolsillo de unión de ATP de la familia Tec y varias otras quinasas.

10 Sin embargo, en otras realizaciones, cualquier Inhibidor de Quinasa irreversible que se une al residuo de cisteína no catalítico en el bolsillo de unión de ATP de una Quinasa se usa en los compuestos y métodos descritos en la presente memoria.

15 **Síntesis General y Caracterización de una Sonda de Actividad Ilustrativa**

Sin limitar el alcance de las composiciones descritas en la presente memoria, se sintetizó una sonda ilustrativa uniendo un fluoróforo bodipy FL a un inhibidor irreversible a través de un conector piperazina. El conector piperazina sirvió para mantener la solubilidad de la sonda y proporcionó una separación espacial entre el fluoróforo y el núcleo de pirazolopirimidina.



20 **Sonda Ilustrativa**

En algunas realizaciones, la unión formada es una unión estable. En otras realizaciones, en el caso en el que el conjugado comprende dos componentes, el resto conector forma una unión, en algunas realizaciones, una unión estable, entre el resto Inhibidor de Quinasa y el resto informador. En algunas realizaciones, el resto conector es estable y proporciona el medio para controlar y determinar la distancia entre el resto Inhibidor de Quinasa y el resto informador. Además, en algunas realizaciones, el resto conector se selecciona de manera que la solubilidad de la sonda se mantiene. En algunas realizaciones, el resto conector es un resto piperazinilo. En realizaciones adicionales, se forma una unión basada en a piperazinilo usando un compuesto que contiene piperazina. En otras realizaciones, el número y orden de las unidades que comprenden el resto conector se selecciona de manera que se controlan la longitud entre el primer componente y el segundo componente, así como las características hidrofóbicas e hidrofílicas del conector.

En el presente contexto, la separación espacial significa un grupo que posibilita una distancia termoquímicamente y fotoquímicamente no activo y en algunas realizaciones se usa para unir dos o más restos diferentes de los tipos definidos anteriormente. En otras realizaciones, los espaciadores se seleccionan tomando como base una variedad de características incluyendo su hidrofobicidad, hidrofiliidad, flexibilidad molecular y longitud. El espaciador, así, en algunas realizaciones, comprende una cadena átomos de carbono interrumpida o terminada opcionalmente con uno o más heteroátomos, tales como átomos de oxígeno, átomos nitrógeno, y/o átomos de azufre. Así, en algunas realizaciones, el espaciador comprende una o más de funcionalidades amida, éster, amino, éter, y/o tioéter, y opcionalmente, hidrocarburos aromáticos o mono/poliinsaturados, polioxietileno tal como polietilén glicol, oligo/poliamidas tales como poli- α -alanina, poliglicina, polilisina, y péptidos en general, oligosacáridos, oligo/polifosfatos. Además, en otras realizaciones, el espaciador consiste en unidades combinadas de éstos. En realizaciones adicionales, la longitud del espaciador varía, teniendo en consideración el posicionamiento y orientación espacial deseados o necesarios de la parte activa/funcional de la Sonda de Actividad.

Sin limitar el alcance de las composiciones descritas en la presente memoria, en algunas realizaciones el resto informador es Bodipy. En el presente contexto, el término resto informador significa un grupo que es detectable bien por sí mismo o como una parte de una serie de detección.

- 5 En algunas realizaciones, las Sondas de Actividad marcadas descritas en la presente memoria se purifican por uno o más procedimientos incluyendo, pero no están limitados a, cromatografía de afinidad; cromatografía de intercambio aniónico o catiónico (usando, incluyendo pero no limitado a, DEAE SEPHAROSE); cromatografía en sílice; HPLC en fase reversa; filtración en gel (usando, incluyendo pero no limitado a, SEPHADEX G-75); cromatografía de interacción hidrofóbica; cromatografía de exclusión por tamaño, cromatografía con quelato metálico; ultrafiltración/diafiltración; precipitación con etanol; precipitación con sulfato de amonio; cromatoenfoque; 10 cromatografía de desplazamiento; procedimientos electroforéticos (incluyendo pero no limitado a enfoque isoelectrico preparativo), solubilidad diferencial (incluyendo pero no limitado a precipitación con sulfato de amonio), o extracción. En otras realizaciones, el peso molecular aparente se estima por GPC por comparación con estándares de proteína globular (PROTEIN PURIFICATION METHODS, A PRACTICAL APPROACH (Harris & Angal, Eds.) IRL Press 1989, 293-306).
- 15 En un aspecto, se ensaya la potencia inhibidora *in vitro* de una sonda frente a un panel de Quinasas seleccionadas como un medio rápido de confirmar accesibilidad del resto reactivo al sitio activo de la Quinasa. Sólo como ejemplo, aunque menos potente que el Compuesto 2 parental, la sonda ilustrativa del Compuesto 3 retiene la potencia frente a Btk (CI₅₀ ~ 90 nM). Así, el conector piperazina y el fluoróforo bodipy no comprometen seriamente la accesibilidad de la sonda ilustrativa al sitio activo de la enzima.
- 20 Las Sondas de Actividad descritas en la presente memoria marcan quinasas en la Cys 481 no catalítica (o una cisteína homóloga) y que en algunas realizaciones, el marcaje con la sonda no requiere la maquinaria catalítica *per se*. Como tal se diferencia de las sondas basadas en actividad canónica que tienen como diana la maquinaria catalítica de la enzima directamente. En algunas realizaciones, la Quinasa experimenta un cambio conformacional dependiente de fosforilación que está acoplado firmemente a la unión de ATP y activación de la quinasa. En algunas 25 realizaciones, el marcaje efectivo por una sonda requiere que la Quinasa esté en su conformación activa con el fin de detectar directamente la actividad de la Quinasa en las células. En otras realizaciones, el marcaje efectivo por una Sonda de Actividad no requiere que la Quinasa esté en su conformación activa con el fin de detectar directamente la actividad de la Quinasa en las células.

Usos Terapéuticos de los Compuestos Inhibidores Irreversibles

- 30 En la presente memoria se describen composiciones, usos y medicamentos para el tratamiento de trastornos que comprenden administrar a un paciente que lo necesita un inhibidor irreversible de una ACK. En algunas realizaciones, la ACK es Btk o un homólogo de Btk. En realizaciones adicionales, la ACK es Blk o un homólogo de Blk. En más realizaciones adicionales, la ACK es tirosina quinasas que comparten homología con Btk al tener un residuo de cisteína (incluyendo un residuo de Cys 481) que puede formar un enlace covalente con el inhibidor 35 irreversible. Véanse, por ejemplo, las proteínas quinasas en la FIG. 7.

- Los métodos descritos en la presente memoria (que incluyen usos de una composición farmacéutica para tratar una enfermedad o trastorno, o usos de un compuesto para formar un medicamento para tratar una enfermedad o 40 trastorno) incluyen administrar a un sujeto que lo necesita una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más compuestos inhibidores irreversibles de Btk descritos en la presente memoria. Sin estar vinculado a ninguna teoría, los diversos papeles jugados por la señalización de Btk en varias funciones celulares hematopoyéticas, por ejemplo, activación del receptor de células B, muestran que los inhibidores que son moléculas pequeñas de Btk son útiles para reducir el riesgo de o para tratar una variedad de enfermedades 45 afectadas por o que afectan muchos tipos celulares del linaje hematopoyético incluyendo, por ejemplo, enfermedades autoinmunes, afecciones o enfermedades heteroimunes, enfermedades inflamatorias, cáncer (por ejemplo, trastornos proliferativos de células B), y trastornos tromboembólicos.

- En algunas realizaciones, son compuestos para uso en métodos para tratar una enfermedad o afección autoinmune que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una formulación farmacéutica de cualquier inhibidor irreversible de Btk (o un homólogo de Btk) de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). Dicha enfermedad o afección autoinmune incluye, pero no está limitada a, artritis reumatoide, artritis psoriásica, osteoartritis, enfermedad de Still, artritis juvenil, lupus, diabetes, miastenia grave, 50 tiroiditis de Hashimoto, tiroiditis de Ord, enfermedad de Graves, síndrome de Sjögren, esclerosis múltiple, síndrome de Guillain-Barré, encefalomiелitis aguda diseminada, enfermedad de Addison, síndrome de opsoclonus-mioclonus, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, anemia aplásica, hepatitis autoinmune, enfermedad celíaca, síndrome de Goodpasture, púrpura trombocitopénica idiopática, neuritis óptica, escleroderma, cirrosis biliar primaria, síndrome de Reiter, arteritis de Takayasu, arteritis temporal, anemia hemolítica caliente autoinmune, granulomatosis de Wegener, psoriasis, alopecia universalis, enfermedad de Behçet, fatiga crónica, disautonomía, endometriosis, cistitis intersticial, neuromiotonía, escleroderma, y vulvodinia. En algunas 55 realizaciones, cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 2 del Ejemplo 1c en la sección "Plataforma de

Descubrimiento de Quinasa y Dosificación por Pulsos" de los Ejemplos es el inhibidor irreversible mencionado anteriormente. En algunas realizaciones, la enfermedad autoinmune se selecciona de artritis reumatoide o lupus.

5 En algunas realizaciones, son compuestos para uso en métodos para tratar una enfermedad o afección heteroinmune que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una formulación farmacéutica de cualquier inhibidor irreversible de Btk (o un homólogo de Btk) de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). Dicha afección o enfermedad heteroinmune incluye pero no está limitada a enfermedad de injerto frente a huésped, trasplante, transfusión, anafilaxis, alergias (por ejemplo, alergias a pólenes de plantas, látex, fármacos, alimentos, venenos de insectos, pelo animal, caspa animal, ácaros del polvo, o cáliz de cucaracha), hipersensibilidad de tipo I, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica, y dermatitis atópica. En algunas realizaciones, cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 2 del Ejemplo 1c en la sección "Plataforma de Descubrimiento de Quinasa y Dosificación por Pulsos" de los Ejemplos es el inhibidor irreversible mencionado anteriormente.

15 En algunas realizaciones, son compuestos para uso en métodos para tratar un cáncer que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una formulación farmacéutica de cualquier inhibidor irreversible de Btk (o un homólogo de Btk) de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). Dicho cáncer, por ejemplo, trastornos proliferativos de células B, incluye pero no está limitado a linfoma de células B grandes difuso, linfoma folicular, linfoma linfocítico crónico, leucemia linfocítica crónica, leucemia prolinfocítica de células B, linfoma linfoplasmacítico/macroglobulinemia de Waldenström, linfoma de la zona esplénica marginal, mieloma de células plasmáticas, plasmacitoma, linfoma de células B de la zona extranodal marginal, linfoma de células B de la zona nodal marginal, linfoma de células del manto, linfoma de células B grandes del mediastino (tímico), linfoma de células B grandes intravascular, linfoma de efusión primaria, linfoma/leucemia de Burkitt, o granulomatosis linfomatoide. En algunas realizaciones, cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 2 del Ejemplo 1c en la sección "Plataforma de Descubrimiento de Quinasa y Dosificación por Pulsos" de los Ejemplos es el inhibidor irreversible mencionado anteriormente. En algunas realizaciones, el cáncer es un trastorno proliferativo de células B. En realizaciones adicionales, el trastorno proliferativo de las células B es linfoma de células B grandes difuso, linfoma folicular o leucemia linfocítica crónica.

25 En algunas realizaciones, son compuestos para uso en métodos para tratar mastocitosis que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una formulación farmacéutica de cualquier inhibidor irreversible de Btk (o un homólogo de Btk) de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). La mastocitosis incluye pero no está limitada a enfermedades caracterizadas por mastocitos hiperactivos. En algunas realizaciones, cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 2 del Ejemplo 1c en la sección "Plataforma de Descubrimiento de Quinasa y Dosificación por Pulsos" de los Ejemplos es el inhibidor irreversible mencionado anteriormente.

30 En algunas realizaciones, son compuestos para uso en métodos para tratar osteoporosis o trastornos de resorción ósea que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una formulación farmacéutica de cualquier inhibidor irreversible de Btk (o un homólogo de Btk) de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). Los trastornos de resorción ósea incluyen pero no están limitados a enfermedad ósea de Paget, osteoporosis, y cambios óseos secundarios a cáncer, tales como ocurren en mieloma y metástasis de cáncer de mama. En algunas realizaciones, cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 2 del Ejemplo 1c en la sección "Plataforma de Descubrimiento de Quinasa y Dosificación por Pulsos" de los Ejemplos es el inhibidor irreversible mencionado anteriormente.

35 En algunas realizaciones, son compuestos para uso en métodos para tratar enfermedades inflamatorias que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una formulación farmacéutica de cualquier inhibidor irreversible de Btk (o un homólogo de Btk) de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). Las enfermedades inflamatorias incluyen pero no están limitadas a asma, enfermedad inflamatoria del intestino, apendicitis, blefaritis, bronquiolitis, bronquitis, bursitis, cervicitis, colangitis, enfermedad inflamatoria del intestino, apendicitis, blefaritis, bronquiolitis, bronquitis, bursitis, cervicitis, colangitis, colecistitis, colitis, conjuntivitis, cistitis, dacrioadenitis, dermatitis, dermatomiositis, encefalitis, endocarditis, endometritis, enteritis, enterocolitis, epicondilitis, epididimitis, fasciitis, fibrositis, gastritis, gastroenteritis, hepatitis, hidradenitis supurosa, laringitis, mastitis, meningitis, mielitis miocarditis, miositis, nefritis, ooforitis, orquitis, osteitis, otitis, pancreatitis, parotitis, pericarditis, peritonitis, faringitis, pleuritis, flebitis, neumonitis, neumonía, proctitis, prostatitis, pielonefritis, rinitis, salpingitis, sinusitis, estomatitis, sinovitis, tendónitis, amigdalitis, uveitis, vaginitis, vasculitis, y vulvitis. En algunas realizaciones, cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 2 del Ejemplo 1c en la sección "Plataforma de Descubrimiento de Quinasa y Dosificación por Pulsos" de los Ejemplos es el inhibidor irreversible mencionado anteriormente.

50 En algunas realizaciones, cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 2 del Ejemplo 1c en la sección "Plataforma de Descubrimiento de Quinasa y Dosificación por Pulsos" de los Ejemplos es el inhibidor irreversible mencionado anteriormente.

55 En realizaciones adicionales son compuestos para uso en métodos para tratar lupus que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína de una tirosina quinasa de Bruton o un homólogo de la tirosina quinasa de Bruton.

- 5 En más realizaciones adicionales son métodos para tratar una enfermedad o afección heteroimmune que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína de una tirosina quinasa de Bruton o un homólogo de una tirosina quinasa de Bruton. Dicha afección o enfermedad heteroimmune incluye pero no está limitada a enfermedad de injerto frente a huésped, trasplante, transfusión, anafilaxis, alergias (por ejemplo, alergias a pólenes de plantas, látex, fármacos, alimentos, venenos de insectos, pelo animal, caspa animal, ácaros del polvo, o cáliz de cucaracha), hipersensibilidad de tipo I, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica, y dermatitis atópica.
- 10 En más realizaciones adicionales son compuestos para uso en métodos para tratar linfoma de células B grandes difuso, linfoma folicular o leucemia linfocítica crónica que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína de una tirosina quinasa de Bruton o un homólogo de la tirosina quinasa de Bruton.
- 15 En más realizaciones adicionales son compuestos para uso en métodos para tratar mastocitosis, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína de una tirosina quinasa de Bruton o un homólogo de la tirosina quinasa de Bruton.
- 20 En más realizaciones adicionales son compuestos para uso en métodos para tratar osteoporosis o trastornos de resorción ósea que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína de una tirosina quinasa de Bruton o un homólogo de la tirosina quinasa de Bruton.
- 25 En más realizaciones adicionales son compuestos para uso en métodos para tratar una enfermedad o afección inflamatoria que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína de una tirosina quinasa de Bruton o un homólogo de la tirosina quinasa de Bruton.
- 30 En realizaciones adicionales son compuestos para uso en métodos para tratar una enfermedad o afección autoinmune que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína de una Blk o un homólogo de Blk. Los compuestos adecuados incluyen compuestos de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). Dicha enfermedad o afección autoinmune incluye, pero no está limitada a, artritis reumatoide, artritis psoriásica, osteoartritis, enfermedad de Still, artritis juvenil, lupus, diabetes, miastenia grave, tiroiditis de Hashimoto, tiroiditis de Ord, enfermedad de Graves, síndrome de Sjögren, esclerosis múltiple, síndrome de Guillain-Barré, encefalomiелitis aguda diseminada, enfermedad de Addison, síndrome de opsoclonus-mioclonus, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, anemia aplásica, hepatitis autoinmune, enfermedad celíaca, síndrome de Goodpasture, púrpura trombocitopénica idiopática, neuritis óptica, escleroderma, cirrosis biliar primaria, síndrome de Reiter, arteritis de Takayasu', arteritis temporal, anemia hemolítica caliente autoinmune, granulomatosis de Wegener, psoriasis, alopecia universalis, enfermedad de Behçet, fatiga crónica, disautonomía, endometriosis, cistitis intersticial, neuromiotonía, escleroderma, y vulvodinia.
- 35 En algunas realizaciones, cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 2 del Ejemplo 1c en la sección "Plataforma de Descubrimiento de Quinasa y Dosificación por Pulsos" de los Ejemplos es el inhibidor irreversible mencionado anteriormente. En algunas realizaciones, la enfermedad autoinmune se selecciona de artritis reumatoide o lupus.
- 40 En realizaciones adicionales son compuestos para uso en métodos para tratar un trastorno proliferativo de las células B que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína de una Blk o un homólogo de Blk. Los compuestos adecuados incluyen compuestos de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). Dicho trastorno proliferativo de las células B incluye linfoma de células B grandes difuso, linfoma folicular o leucemia linfocítica crónica. En algunas realizaciones, cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 2 del Ejemplo 1c en la sección "Plataforma de Descubrimiento de Quinasa y Dosificación por Pulsos" de los Ejemplos es el inhibidor irreversible mencionado anteriormente.
- 45 En realizaciones adicionales son compuestos para uso en métodos para tratar una enfermedad o afección inflamatoria que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una composición que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que forma un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína de una Blk o un homólogo de Blk. Los compuestos adecuados incluyen compuestos de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). Las enfermedades inflamatorias incluyen pero no están limitadas a asma, enfermedad inflamatoria del intestino, apendicitis, blefaritis, bronquiolitis, bronquitis, bursitis, cervicitis, colangitis, colecistitis, colitis, conjuntivitis, cistitis, dacrioadenitis, dermatitis, dermatomiositis, encefalitis, endocarditis, endometritis, enteritis, enterocolitis, epicondilitis, epididimitis, fasciitis, fibrositis, gastritis, gastroenteritis, hepatitis, hidradenitis supurosa, laringitis, mastitis, meningitis, mielitis miocarditis, miositis, nefritis,
- 50
- 55

ooforitis, orquitis, osteitis, otitis, pancreatitis, parotitis, pericarditis, peritonitis, faringitis, pleuritis, flebitis, neumonitis, neumonía, proctitis, prostatitis, pielonefritis, rinitis, salpingitis, sinusitis, estomatitis, sinovitis, tendonitis, amigdalitis, uveitis, vaginitis, vasculitis, y vulvitis. En algunas realizaciones, cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 2 del Ejemplo 1c en la sección "Plataforma de Descubrimiento de Quinasa y Dosificación por Pulsos" de los Ejemplos es el inhibidor irreversible mencionado anteriormente.

Además, los compuestos inhibidores irreversibles de Btk descritos en la presente memoria pueden usarse para inhibir un pequeño subconjunto de otras tirosina quinastas que comparten homología con Btk al tener un residuo de cisteína (incluyendo un residuo de Cys 481) que puede formar un enlace covalente con el inhibidor irreversible. Véanse, por ejemplo, las proteínas quinastas en la FIG. 7. Así, también se espera que un subconjunto de tirosina quinastas distintas de Btk sean útiles como dianas terapéuticas en varias afecciones de la salud, incluyendo:

- enfermedades autoinmunes, que incluyen, pero no están limitadas a, artritis reumatoide, artritis psoriásica, osteoartritis, enfermedad de Still, artritis juvenil, lupus, diabetes, miastenia grave, tiroiditis de Hashimoto, tiroiditis de Ord, enfermedad de Graves, síndrome de Sjögren, esclerosis múltiple, síndrome de Guillain-Barré, encefalomiелitis aguda diseminada, enfermedad de Addison, síndrome de opsoclonus-mioclonus, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, anemia aplásica, hepatitis autoinmune, enfermedad celíaca, síndrome de Goodpasture, púrpura trombocitopénica idiopática, neuritis óptica, escleroderma, cirrosis biliar primaria, síndrome de Reiter, arteritis de Takayasu, arteritis temporal, anemia hemolítica caliente autoinmune, granulomatosis de Wegener, psoriasis, alopecia universalis, enfermedad de Behçet, fatiga crónica, disautonomía, endometriosis, cistitis intersticial, neuromiotonía, escleroderma, y vulvodinia.

- afecciones o enfermedades heteroimunes, que incluyen, pero no están limitadas a enfermedad de injerto frente a huésped, trasplante, transfusión, anafilaxis, alergias (por ejemplo, alergias a pólenes de plantas, látex, fármacos, alimentos, venenos de insectos, pelo animal, caspa animal, ácaros del polvo, o cáliz de cucaracha), hipersensibilidad de tipo I, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica, y dermatitis atópica.

- enfermedades inflamatorias, que incluyen, pero no están limitadas a asma, enfermedad inflamatoria del intestino, apendicitis, blefaritis, bronquiolitis, bronquitis, bursitis, cervicitis, colangitis, colecistitis, colitis, conjuntivitis, cistitis, dacrioadenitis, dermatitis, dermatomiositis, encefalitis, endocarditis, endometritis, enteritis, enterocolitis, epicondilitis, epididimitis, fasciitis, fibrositis, gastritis, gastroenteritis, hepatitis, hidradenitis supurosa, laringitis, mastitis, meningitis, mielitis miocarditis, miositis, nefritis, ooforitis, orquitis, osteitis, otitis, pancreatitis, parotitis, pericarditis, peritonitis, faringitis, pleuritis, flebitis, neumonitis, neumonía, proctitis, prostatitis, pielonefritis, rinitis, salpingitis, sinusitis, estomatitis, sinovitis, tendonitis, amigdalitis, uveitis, vaginitis, vasculitis, y vulvitis.

- un cáncer, por ejemplo, trastorno proliferativo de las células B, que incluye, pero no están limitado a linfoma de células B grandes difuso, linfoma folicular, linfoma linfocítico crónico, leucemia linfocítica crónica, leucemia prolinfocítica de células B, linfoma linfoplasmacítico/macroglobulinemia de Waldenström, linfoma de la zona esplénica marginal, mieloma de células plasmáticas, plasmacitoma, linfoma de células B de la zona extranodal marginal, linfoma de células B de la zona nodal marginal, linfoma de células del manto, linfoma de células B grandes del mediastino (tímico), linfoma de células B grandes intravascular, linfoma de efusión primaria, linfoma/leucemia de Burkitt, y granulomatosis linfomatoide.

- trastornos tromboembólicos, que incluyen, pero no están limitados a infarto de miocardio, angina de pecho (incluyendo angina inestable), reoclusiones o restenosis después de angioplastia o bypass aortocoronario, ictus, isquemia transitoria, trastornos oclusivos arteriales periféricos, embolismos pulmonares, y trombosis venosa profunda.

- mastocitosis, que incluye pero no están limitado a enfermedades caracterizadas por mastocitos hiperactivos.

- trastornos de resorción ósea, que incluyen pero no están limitados a enfermedad ósea de Paget, osteoporosis, y los cambios óseos secundarios a cáncer, tal como ocurre en mieloma y metástasis de cáncer de mama.

Los síntomas, ensayos de diagnóstico, y ensayos de pronóstico para cada una de las afecciones mencionadas anteriormente incluyen, por ejemplo, *Harrison's Principle of Internal Medicine*[®], 16^a ed., 2004, The McGraw-Hill Companies, Inc. Dey et al. (2006), *Cytojournal* 3(24), y el sistema de clasificación "Revised European American Lymphoma" (REAL) (véase, por ejemplo, el sitio de internet mantenido por el National Cancer Institute).

Varios modelos animales son útiles para establecer un intervalo de dosis terapéuticamente efectivas de inhibidores irreversibles, incluyendo compuestos inhibidores irreversibles de Btk para tratar cualquiera de las enfermedades anteriores. Por ejemplo, referirse a los Ejemplos 1-4 de la sección "Usos Terapéuticos" de los Ejemplos incluidos en la presente memoria. También, por ejemplo, la dosificación de los compuestos inhibidores irreversibles para tratar una enfermedad autoinmune puede evaluarse en un modelo de ratón de artritis reumatoide. En este modelo la artritis reumatoide se induce en ratones Balb/c mediante la administración de anticuerpos anti-colágeno y lipopolisacárido.

Véase Nandakumar *et al.* (2003), *Am. J. Pathol* 163:1827-1837. En otro ejemplo, la dosificación de los inhibidores irreversibles para el tratamiento de trastornos proliferativos de las células B puede examinarse, por ejemplo, en un modelo de xenoinjerto humano-a-ratón en el que células de linfoma de células B humanas (por ejemplo, células Ramos) se implantan en ratones inmunodeficientes (por ejemplo, ratones "desnudos") como se describe, por ejemplo, en Pagel *et al.* (2005), *Clin Cancer Res* 11(13):4857-4866. Los modelos animales para el tratamiento de trastornos tromboembólicos también son conocidos.

En una realización, la eficacia terapéutica del compuesto para una de las enfermedades anteriores se optimiza durante un curso de tratamiento. Por ejemplo, un sujeto que se está tratando experimenta opcionalmente una evaluación de diagnóstico para correlacionar el alivio de los síntomas o patologías de la enfermedad con la inhibición de actividad Btk *in vivo* conseguida mediante la administración de una dosis dada de un inhibidor irreversible de Btk. Los ensayos celulares se usan para determinar la actividad de Btk *in vivo* en presencia o ausencia de un inhibidor irreversible de Btk. Por ejemplo, como la Btk activada está fosforilada en la tirosina 223 (Y223) y tirosina 551 (Y551), la tinción inmunocitoquímica fosfo-específica de células positivas para P-Y223 o P-Y551 se usa para detectar o cuantificar la activación de Btk en una población de células (por ejemplo, por análisis FACS de células teñidas frente a no teñidas). Véase, por ejemplo, Nisitani *et al.* (1999), *Proc. Natl. Acad. Sci, USA* 96:2221-2226. Así, la cantidad del compuesto inhibidor de Btk que se administra a un sujeto se incrementa o disminuye opcionalmente según se necesita para mantener un nivel de inhibición de Btk óptimo para tratar el estado patológico del sujeto.

En una realización son biomarcadores adecuados para determinar la respuesta de un paciente a un inhibidor irreversible de ACK (incluyendo, por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I)) que comprende administrar a un sujeto de ensayo una composición que contiene una cantidad del inhibidor irreversible de ACK (incluyendo, por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I)) suficiente para inhibir la señalización del receptor de células B y correlacionar la señalización del receptor de células B con apoptosis. En otra realización o una adicional son métodos para seleccionar a un paciente para tratamiento de linfoma con un inhibidor irreversible de ACK (incluyendo, por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I)) que comprenden medir los niveles de pErk o diana transcripcional de Erk en una muestra del paciente, y correlacionar un alto nivel de dianas transcripcionales con una respuesta positiva al tratamiento. En otras realizaciones o adicionales son métodos para medir la respuesta de un paciente a tratamiento que comprenden administrar al paciente un inhibidor irreversible de ACK (incluyendo, por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I)), medir los niveles de pErk o diana transcripcional de Erk en una muestra del paciente, y correlacionar un nivel reducido de las dianas transcripcionales con una respuesta positiva a la administración del inhibidor irreversible de ACK (incluyendo, por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I)).

Tratamientos de Combinación

Las composiciones del inhibidor irreversible de Btk descritas en la presente memoria también pueden usarse en combinación con otros reactivos terapéuticos muy conocidos que se seleccionan por su valor terapéutico para la afección que se va a tratar. En general, las composiciones descritas en la presente memoria y, en realizaciones en las que se emplea la terapia combinatoria, no tienen que administrarse otros agentes en la misma composición farmacéutica, y tienen que administrarse opcionalmente, debido a las diferentes características físicas y químicas, por rutas diferentes. La administración inicial se hace, por ejemplo, según protocolos establecidos, y después, tomando como base los efectos observados, se modifican la dosificación, los modos de administración y tiempos de administración.

En determinados casos, es apropiado administrar al menos un compuesto inhibidor irreversible de Btk descrito en la presente memoria en combinación con otro agente terapéutico. Sólo como ejemplo, si uno de los efectos secundarios experimentados por un paciente después de recibir uno de los compuestos inhibidores irreversibles de Btk descritos en la presente memoria es náusea, entonces es apropiado administrar un agente anti-náusea en combinación con el agente terapéutico inicial. O, sólo como ejemplo, la eficacia terapéutica de uno de los compuestos descritos en la presente memoria se aumenta mediante la administración de un adyuvante (es decir, por sí mismo el adyuvante tiene un beneficio terapéutico mínimo, pero en combinación con otro agente terapéutico, se aumenta el beneficio terapéutico global para el paciente). O, sólo como ejemplo, el beneficio experimentado por un paciente se incrementa mediante la administración de los compuestos descritos en la presente memoria con otro agente terapéutico (que también incluye un régimen terapéutico) que también tiene beneficio terapéutico. En cualquier caso, independientemente de la enfermedad, trastorno o afección que se está tratando, el beneficio global experimentado por el paciente es en algunas realizaciones simplemente aditivo de los dos agentes terapéuticos o en otras realizaciones, el paciente experimenta un beneficio sinérgico.

La elección particular de compuestos usados dependerá del diagnóstico de los médicos responsables y de su juicio de la condición del paciente y el protocolo de tratamiento apropiado. Los compuestos se administran opcionalmente concurrentemente (por ejemplo, simultáneamente, esencialmente simultáneamente o en el mismo protocolo de tratamiento) o secuencialmente, dependiendo de la naturaleza de la enfermedad, trastorno, o afección, la condición del paciente, y la elección presente de los compuestos usados. La determinación del orden de administración, y el número de repeticiones de administración de cada agente terapéutico durante un protocolo de tratamiento, se basa en una evaluación de la enfermedad que se está tratando y la condición del paciente.

- Las dosificaciones terapéuticamente efectivas pueden variar cuando los fármacos se usan en combinaciones de tratamientos. Los métodos para determinar experimentalmente las dosificaciones terapéuticamente efectivas de fármacos y otros agentes para uso en regímenes de tratamientos de combinación se describen en la bibliografía. Por ejemplo, el uso de dosificación metronómica, es decir, proporcionar dosis más bajas, más frecuentes con el fin de minimizar los efectos secundarios tóxicos, se ha descrito extensamente en la bibliografía. El tratamiento de combinación incluye además tratamientos periódicos que empiezan y paran a varios tiempos para ayudar a la gestión clínica del paciente.
- Para las terapias de combinación descritas en la presente memoria, las dosificaciones de los compuestos co-administrados variará por supuesto dependiendo del tipo de co-fármaco empleado, del fármaco específico empleado, de la enfermedad o afección que se está tratando, etc. Además, cuando se co-administra con uno o más agentes biológicamente activos, el compuesto proporcionado en la presente memoria puede administrarse bien simultáneamente con el o los agentes biológicamente activos, o secuencialmente. Si se administra secuencialmente, el médico responsable decidirá sobre la secuencia apropiada de administrar proteína en combinación con el o los agentes biológicamente activos.
- En cualquier caso, los múltiples agentes terapéuticos (uno de los cuales es un compuesto de Fórmula (A1-A6), (B1-B6), (C1-C6), o (D1-D6) descrito en la presente memoria) se administran opcionalmente en cualquier orden o incluso simultáneamente. Si es simultáneamente, los múltiples agentes terapéuticos se proporcionan opcionalmente en una única forma unificada, o en múltiples formas (sólo como ejemplo, bien como una única píldora o como dos píldoras separadas). Uno de los agentes terapéuticos puede proporcionarse en múltiples dosis, o ambos pueden proporcionarse como múltiples dosis. Si no es simultáneamente, el esquema de tiempo entre las múltiples dosis puede variar de más de cero semanas a menos de cuatro semanas. Además, los métodos, composiciones y formulaciones de combinación no están limitados al uso sólo de dos agentes; también se considera el uso de múltiples combinaciones terapéuticas.
- Se entiende que el régimen de dosificación para tratar, prevenir, o mejorar la o las afecciones para las que se busca alivio, puede modificarse según una variedad de factores. Estos factores incluyen el trastorno que padece el sujeto, así como la edad, peso, sexo, dieta, y condición médica del sujeto. Así, el régimen de dosificación empleado puede variar ampliamente y por lo tanto puede desviarse de los regímenes de dosificación mostrados en la presente memoria.
- Los agentes farmacéuticos que constituyen la terapia de combinación descrita en la presente memoria pueden estar en una forma de dosificación combinada o en formas de dosificación separadas pretendidas para administración sustancialmente simultánea. Los agentes farmacéuticos que constituyen la terapia de combinación también pueden administrarse secuencialmente, bien con el compuesto terapéutico que se está administrando por un régimen que requiere una administración en dos etapas. El régimen de administración en dos etapas puede requerir la administración secuencial de los agentes activos o la administración separada de los agentes activos separados. El periodo de tiempo entre las múltiples etapas de administración puede variar de, unos pocos minutos a varias horas, dependiendo de las propiedades de cada agente farmacéutico, tales como potencia, solubilidad, biodisponibilidad, vida media plasmática y perfil cinético del agente farmacéutico. La variación circadiana de la concentración de la molécula diana también puede determinar el intervalo óptimo de dosis.
- Además, los compuestos descritos en la presente memoria también se usan opcionalmente en combinación con procedimientos que proporcionan un beneficio adicional o sinérgico al paciente. Sólo como ejemplo, se espera que los pacientes encuentren un beneficio terapéutico y/o profiláctico en los métodos descritos en la presente memoria, en los que la composición farmacéutica de un compuesto descrito en la presente memoria y/o combinaciones con otros terapéuticos se combinan con ensayo genético para determinar si ese individuo es un portador de un gen mutante que se sabe que está correlacionado con determinadas enfermedades o afecciones.
- Los compuestos y terapias de combinación descritos en la presente memoria pueden administrarse antes, durante o después de la aparición de una enfermedad o afección, y el esquema de tiempo de la administración de la composición que contiene un compuesto puede variar. Así, por ejemplo, los compuestos pueden usarse como un profiláctico y pueden administrarse continuamente a sujetos con una propensión a desarrollar afecciones o enfermedades con el fin de prevenir la aparición de la enfermedad o afección. Los compuestos y composiciones pueden administrarse a un sujeto durante o tan pronto como sea posible después del inicio de los síntomas. La administración de los compuestos puede iniciarse en las primeras 48 horas desde el inicio de los síntomas, en las primeras 6 horas desde el inicio de los síntomas, o en las 3 horas desde el inicio de los síntomas. La administración inicial puede ser por cualquier ruta práctica, tal como, por ejemplo, una inyección intravenosa, una inyección en bolo, infusión durante 5 minutos a aproximadamente 5 horas, una píldora, una cápsula, parche transdérmico, administración bucal, y semejantes, o combinación de éstos. Un compuesto debe administrarse tan pronto como sea practicable después de que el inicio de una enfermedad o afección se detecte o sospeche, y durante una duración de tiempo necesaria para el tratamiento de la enfermedad, tal como, por ejemplo, de aproximadamente 1 mes a aproximadamente 3 meses. La duración del tratamiento puede variar para cada sujeto, y la duración puede determinarse usando los criterios conocidos. Por ejemplo, el compuesto o una formulación que contiene el

compuesto puede administrarse durante al menos 2 semanas, entre aproximadamente 1 mes a aproximadamente 5 años, o de aproximadamente 1 mes a aproximadamente 3 años.

Agentes Terapéuticos Ejemplares para Uso en Combinación con un Compuesto Inhibidor Irreversible

5 Cuando el sujeto padece o está en riesgo de padecer una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria, o una enfermedad alérgica, puede usarse un compuesto inhibidor irreversible de Btk con uno o más de los agentes terapéuticos siguientes en cualquier combinación: inmunosupresores (por ejemplo, tacrolimus, ciclosporina, rapamicina, metotrexato, ciclofosfamida, azatioprina, mercaptopurina, micofenolato, o FTY720), glucocorticoides (por ejemplo, prednisona, acetato de cortisona, prednisolona, metilprednisolona, dexametasona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, acetato de fludrocortisona, acetato de desoxicorticosterona, aldosterona), fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (por ejemplo, salicilatos, ácidos arilalcanoico, ácidos 2-arilpropiónico, ácidos N-arilnitrílicos, oxicams, coxibs, o sulfonanilidas), inhibidores específicos de Cox-2 (por ejemplo, valdecoxib, celecoxib, o rofecoxib), leflunomida, tioglucosa de oro, tiomalato de oro, aurofina, sulfasalazina, hidroxycloquinina, minociclina, proteínas de unión a TNF- α (por ejemplo, infliximab, etanercept, o adalimumab), abatacept, anakinra, interferón- β , interferón- γ , interleuquina-2, vacunas de alergia, antihistamínicos, antileucotrienos, beta-agonistas, teofilina, anticolinérgicos u otros inhibidores selectivos de quinasa (por ejemplo, inhibidores de p38, inhibidores de Syk, inhibidores de PKC).

20 Cuando el sujeto padece o está en riesgo de padecer un trastorno proliferativo de las células B (por ejemplo, mieloma de células plasmáticas), el sujeto puede tratarse con un compuesto inhibidor irreversible de Btk en cualquier combinación con uno o más agentes anti-cáncer adicionales. En algunas realizaciones, uno o más de los agentes anti-cáncer son agentes proapoptóticos. Los ejemplos de agentes anti-cáncer incluyen, pero no están limitados a, cualquiera de los siguientes: gopipol, genasensa, polifenol E, Clorofusina, ácido retinoico todo trans (ATRA), briostatina, ligando que induce apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral (TRAIL), 5-aza-2'-deoxicitidina, ácido retinoico todo trans, doxorubicina, vincristina, etopósido, gemcitabina, imatinib (Gleevec®), geldanamycin, 17-N-Alilamino-17-Demetoxigeldanamycin (17-AAG), flavopiridol, LY294002, bortezomib, trastuzumab, BAY 11-7082, PKC412, o PD184352, Taxol™, también referido como "paclitaxel", que es un fármaco anti-cáncer muy conocido que actúa aumentando y estabilizando la formación de microtúbulos, y análogos de Taxol™, tal como Taxotere™. También se ha mostrado que los compuestos que tienen el esqueleto básico de taxano como una característica estructural común, tienen la capacidad de parar las células en las fases G2-M debido a los microtúbulos estabilizados y pueden ser útiles para tratar cáncer en combinación con los compuestos descritos en la presente memoria.

30 Los ejemplos adicionales de agentes anti-cáncer para uso en combinación con un compuesto inhibidor irreversible de Btk incluyen inhibidores de la señalización de la proteína quinasa activada por mitógeno, por ejemplo, U0126, PD98059, PD184352, PD0325901, ARRY-142886, SB239063, SP600125, BAY 43-9006, wortmanina, o LY294002; inhibidores de Syk; inhibidores de mTOR; y anticuerpos (por ejemplo, rituxán).

35 Otros agentes anti-cáncer que pueden emplearse en combinación con un compuesto inhibidor irreversible de Btk incluyen Adriamicina, Dactinomicina, Bleomicina, Vinblastina, Cisplatino, acivicina; aclarrubicina; hidrocloreto de acodazol; acronina; adozelesina; aldesleuquina; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; aminoglutetimida; amsacrina; anastrozol; antramicina; asparaginasa; asperlina; azacitidina; azetepa; azotomicina; batimastat; benzodepa; bicalutamida; hidrocloreto de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar sodio; bropirimina; busulfán; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetimer; carboplatino; carmustina; hidrocloreto de carrubicina; carzelesina; cedefingol; clorambucilo; cirolemicina; cladribina; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; citarabina; dacarbazina; hidrocloreto de daunorrubicina; decitabina; dexormaplatino; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diazicuona; doxorubicina; hidrocloreto de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexato; hidrocloreto de eflornitina; elsamitrucina; enloplatino; enpromato; epipropidina; hidrocloreto de epirubicina; erbulozol; hidrocloreto de esorubicina; estramustina; fosfato de estramustina sodio; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; hidrocloreto de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracilo; flurocitabina; fosquidona; fostriecina sodio; gemcitabina; hidrocloreto de gemcitabina; hidroxurea; hidrocloreto de idarrubicina; ifosfamida; iimofosina; interleuquina II (incluyendo interleuquina II recombinante, o rIL2), interferón alfa-2a; interferón alfa-2b; interferón alfa-n1; interferón alfa-n3; interferón beta-1 a; interferón gamma-1b; iproplatino; hidrocloreto de irinotecán; acetato de lanreótido; letrozol; acetato de leuprolida; hidrocloreto de liarozol; lometrexol sodio; lomustina; hidrocloreto de losoxantrona; masoprocol; maitansina; hidrocloreto de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalán; menogaril; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato sodio; metoprina; meturedepa; mitindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogillina; mitomalcina; mitomicina; mitosper; mitotano; hidrocloreto de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamina; ormaplatino; oxisurán; pegaspargasa; peliomicina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfamida; pipobromán; pipsulfán; hidrocloreto de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfimer sodio; porfirimicina; prednimustina; hidrocloreto de procarbazona; puomicina; hidrocloreto de puomicina; pirazofurina; riboprina; roglitimida; safingol; hidrocloreto de safingol; semustina; simtrazeno; esparfosato de sodio; esparomicina; hidrocloreto de espirogermanio; espiromustina; espiroplatino; estreptonigrina; estreptozocina; sulofenur; talisomicina; tecogalán sodio; tegafur; hidrocloreto de teloxantrona; temporfina; tenipósido; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofurina; tirapazamina; citrato de

toremifeno; acetato de trestolona; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; hidrocloreto de tubulozol; mostaza de uracilo; uredepa; vapreótido; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; zeniplatino; zinostatina; hidrocloreto de zorrubicina.

5
 Otros agentes anti-cáncer que pueden emplearse en combinación con un compuesto inhibidor irreversible de Btk incluyen: 20-epi-1, 25 dihidroxivitamina D3; 5-etiniluracilo; abiraterona; aclarubicina; acilfulveno; adecipenol; adozelesina; aldesleuquina; antagonistas de ALL-TK; altretamina; ambamustina; amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrubicina; amsacrina; anagrelida; anastrozol; andrografólido; inhibidores de la angiogénesis; antagonista D; antagonista G; antarelix; proteína 1 morfogenética anti-dorsalizante; antiandrógeno, carcinoma prostático; antiestrógeno; antineoplastona; oligonucleótidos antisentido; glicinato de afidicolina; moduladores de genes de apoptosis; reguladores de apoptosis; ácido apurínico; ara-CDP-DL-PTBA; arginina desaminasa; asulacrina; atamestano; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2; axinastatina 3; azasetrón; azatoxina; azatirosina; derivados de bacatina III; balanol; batimastat; antagonistas de BCR/ABL; benzoclorinas; benzoilstaurosporina; derivados de beta lactama; beta-aletina; betaclamicina B; ácido betulínico; inhibidor de bFGF; bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilespermina; bisnafida; bistrateno A; bizelesina; breflato; propirimina; budotitanio; sulfoximina de butionina; calcipotriol; calfofina C; derivados de camptotecina; IL-2 de canarypox; capecitabina; carboxamida-amino-triazol; carboxiamidotriazol; CaRest M3; CARN 700; inhibidor derivado de cartilago; carzelesina; inhibidores caseína de quinasa (ICOS); castanospermina; cecropina B; cetorelix; clorinas; sulfonamida de cloroquinolaxina; cicaprost; cisporfirina; cladribina; análogos de clomifeno; clotrimazol; colismicina A; colismicina B; combretastatina A4; análogo de combretastatina; conagenina; crambescidina 816; crisnatol; criptoficina 8; derivados de criptoficina A; curacina A; ciclopentantraquinonas; cicloplatam; cipemicina; ocfosfato de citarabina; factor citolítico; citostatina; dacliximab; decitabina; dehidrodidemina B; deslorelina; dexametasona; dexifosfamida; dexrazoxano; dexverapamil; diazicuona; didemina B; didox; dietilnoespermina; dihidro-5-azacitidina; 9-dioxamicina; difenilo espiromustina; docosanol; dolasetrón; doxifluridina; droloxifeno; dronabinol; duocarmicina SA; ebseleno; ecomustina; edelfosina; edrecolomab; eflornitina; elemeno; emitefur; epirubicina; epistérico; análogo de estramustina; agonistas de estrógeno; antagonistas de estrógeno; etanidazol; fosfato de etopósido; exemestano; fadrozol; fazarabina; fenretinido; filgrastim; finastérico; flavopiridol; flezelastina; fluasterona; fludarabina; hidrocloreto de fluorodaunomicina; forfenimex; formestano; fostriecina; fotemustina; gadolinio texafirina; nitrato de galio; galocitabina; ganirelix; inhibidores de gelatinasa; gemcitabina; inhibidores de glutatión; hepsulfam; heregulina; hexamílen bisacetamida; hipericina; ácido ibandrónico; idarrubicina; idoxifeno; idramantona; ilmofosina; ilomastat; imidazoacridonas; imiquimod; péptidos inmunoestimuladores; inhibidor del receptor del factor de crecimiento semejante a insulina 1; agonistas de interferón; interferones; interleuquinas; iobenguano; iododoxorubicina; ipomeanol, 4-; iroplact; irsogladina; isobengazol; isohomohalcondrina B; itasetrón; jasplaquinólido; cahalaliro F; triacetato de lamellarina-N; lanreótido; leinamicina; lenograstim; sulfato de lentinano; leptostatina; letrozol; factor inhibidor de leucemia; interferón alfa de leucocitos; leuprólido+estrógeno+progesterona; leuprorelina; levamisol; liarozol; análogo de poliamina lineal; péptido disacárido lipofílico; compuestos de platino lipofílicos; lissoclinamida 7; lobaplatino; lombricina; lometrexol; lonidamina; losoxantrona; lovastatina; loxoribina; lurtotecán; texafirina de lutelio; lisofilina; péptidos lífticos; maitansina; manostatina A; marimastat; masoprocol; maspina; inhibidores de matrilisina; inhibidores de la metaloproteína de matriz; menogaril; merbarona; meterelina; metioninasa; metoclopramida; inhibidor de MIF; mifepristona; miltefosina; mirimostim; ARN bicatenario con emparejamiento erróneo; mitoguazona; mitolactol; análogos de mitomicina; mitonafida; factor de crecimiento de fibroblastos mitotóxica-saporina; mitoxantrona; mofaroteno; molgramostim; anticuerpo monoclonal, gonadotrofina coriónica humana; monofosforil lípido A+sk de pared celular de miobacteria; mopidamol; inhibidor del gen de resistencia a múltiples fármacos; terapia basada en supresor 1 de múltiples tumores; agente anticáncer mostaza; micaperóxido B; extracto de pared celular micobacteriana; miriaporona; N-acetilidinalina; benzamidas N-sustituidas; nafarelina; nagrestip; naloxona+pentazocina; napavina; nafterpina; nartograstim; nedaplatino; nemorubicina; ácido neridrónico; endopeptidasa neutra; nilutamida; nisamicina; moduladores de óxido nítrico; antioxidante nítrógeno; nitrullina; O6-bencilguanina; octeótido; oquicenona; oligonucleótidos; onapristona; ondansetrón; ondansetrón; oracina; inductor oral de citoquina; ormaplatino; osaterona; oxaliplatino; oxaunomicina; palauamina; palmitoilrizoxina; ácido pamidrónico; panaxitriol; panomifeno; parabactina; pazeliptina; pegaspargasa; peldesina; polisulfato de pentosán sodio; pentostatina; pentrozol; perflubrón; perfosfamida; alcohol perílico; fenazinomicina; fenilacetato; inhibidores de fosfatasa; picibanil; hidrocloreto de pilocarpina; pirarrubicina; piritrexim; placetina A; placetina B; inhibidor del activados de plasminógeno; complejo de platino; compuestos de platino; complejo platino-triamina; porfimer sodio; porfiromicina; prednisona; propil bisacridona; prostaglandina J2; inhibidores de proteasoma; modulador inmune basado en proteína A; inhibidor de proteína quinasa C; inhibidores de proteína quinasa C, microalgal; inhibidores de fosfatasa de tirosina quinasa; inhibidores de fosforilasa de nucleósido de purina; purpurinas; pirazoloacridina; conjugado hemoglobina piridoxilada polioxieterio; antagonistas de raf; raltitrexed; ramosetrón; inhibidores de la proteína transferasa de farnesilo ras; inhibidores de ras; inhibidor ras-GAP; reteliptina desmetilada; etidronato de renio Re 186; rizoxina; ribozimas; RII retinamida; rogletimida; rohituquina; romurtida; roquinimex; rubiginona B1; ruboxilo; safingol; saintopina; SarCNU; sarcositol A; sargramostim; miméticos de Sdi 1; semustina; inhibidor derivado de senescencia 1; oligonucleótidos con sentido; inhibidores de la transducción de la señal; moduladores de la transducción de la señal; proteína de unión a antígeno de cadena única; sizofirán; sobuzoxano; borocaptato de sodio; feniloacetato de sodio; solverol; proteína de unión a somatomedina; sonermina; ácido esparfósico; espicamicina D; espiromustina; esplenopentina;

espongistatina 1; escualamina; inhibidor de células madre; inhibidores de la división de las células madre; estipiámina; inhibidores de estromelina; sulfinosina; antagonista del péptido intestinal vasoactivo superactivo; suradista; suramina; swainsonina; glicosaminoglicanos sintéticos; talimustina; metioduro de tamoxifén; taumustina; tazaroteno; tecogalano sodio; tegafur; telurapirilio; inhibidores de telomerasa; temoporfina; temozolomida; tenipósido; 5 tetraclorodecaóxido; tetrazomina; taliblastina; tiocoralina; trombopoyetina; mimético de trombopoyetina; timalfasina; agonista del receptor de timopoyetina; timotrinán; hormona estimuladora del tiroides; estaño etil etiopurpurina; tirapazamina; bicloruro de titanoceno; topsentina; toremifeno; factor de células madre totipotente; inhibidores de la traducción; tretinoína; triacetiluridina; triciribina; trimetrexato; triptorelina; tropisetón; turostérico; inhibidores de tirosina quinasa; tirfostinas; inhibidores de UBC; ubenimex; factor inhibidor del crecimiento derivado del seno 10 urogenital; antagonistas del receptor de uroquinasa; vaporeótido; variolina B; sistema de vector, terapia génica por eritrocitos; velaresol; veramina; verdinas; verteporfina; vinorelbina; vinxaltina; vitaxina; vorozol; zanoterona; zeniplatino; zilascorb; y zinostatina estimalamer.

Otros agentes anticáncer adicionales que pueden emplearse en combinación con un compuesto inhibidor irreversible de Btk incluyen agentes alquilantes, antimetabolitos, productos naturales, u hormonas, por ejemplo, mostazas de 15 nitrógeno (por ejemplo, mecloroetamina, ciclofosfamida, clorambucilo, etc.), alquil sulfonatos (por ejemplo, busulfán), nitrosoureas (por ejemplo, carmustina, lomusitna, etc.), o triazenos (decarbазina, etc.). Los ejemplos de antimetabolitos incluyen pero no están limitados a análogo del ácido fólico (por ejemplo, metotrexato), o análogos de pirimidina (por ejemplo, Citarabina), análogos de purina (por ejemplo, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina).

Los ejemplos de productos naturales útiles en combinación con un compuesto inhibidor irreversible de Btk incluyen pero no están limitados a alcaloides de vinca (por ejemplo, vinblastina, vincristina), epipodofilotoxinas (por ejemplo, 20 etopósido), antibióticos (por ejemplo, daunorrubicina, doxorubicina, bleomicina), enzimas (por ejemplo, L-asparaginasa), o modificadores de la respuesta biológica (por ejemplo, interferón alfa).

Los ejemplos de agentes alquilantes que pueden emplearse en combinación con un compuesto inhibidor irreversible de Btk incluyen, pero no están limitados a, mostazas de nitrógeno (por ejemplo, mecloroetamina, ciclofosfamida, 25 clorambucilo, melfalán, etc.), etilenimina y metilmelaminas (por ejemplo, hexametilmelamina, tiotepa), alquil sulfonatos (por ejemplo, busulfán), nitrosoureas (por ejemplo, carmustina, lomusitna, semustina, estreptozocina, etc.), o triazenos (decarbазina, etc.). Los ejemplos de antimetabolitos incluyen, pero no están limitados a análogo de ácido fólico (por ejemplo, metotrexato), o análogos de pirimidina (por ejemplo, fluorouracilo, floxouridina, Citarabina), análogos de purina (por ejemplo, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina).

Los ejemplos de hormonas y antagonistas útiles en combinación con un compuesto inhibidor irreversible de Btk incluyen, pero no están limitados a, adrenocorticosteroides (por ejemplo, prednisona), progestinas (por ejemplo, 30 caproato de hidroxiprogesterona, acetato de megestrol, acetato de medroxiprogesterona), estrógenos (por ejemplo, dietilestilbestrol, etinil estradiol), antiestrógeno (por ejemplo, tamoxifeno), andrógenos (por ejemplo, propionato de testosterona, fluoximesterona), antiandrógeno (por ejemplo, flutamida), análogo de la hormona liberadora de gonadotropina (por ejemplo, leuprólido). Otros agentes que pueden usarse en los métodos y composiciones 35 descritos en la presente memoria para el tratamiento o prevención de cáncer incluyen complejos de coordinación de platino (por ejemplo, cisplatino, carboblatino), antracenediona (por ejemplo, mitoxantrona), urea sustituida (por ejemplo, hidroxiiurea), derivado de metil hidrazina (por ejemplo, procarbазina), supresor adrenocortical (por ejemplo, mitotano, aminoglutetimida).

Los ejemplos de agentes anti-cáncer que actúan parando las células en las fases G2-M debido a microtúbulos estabilizados y que pueden usarse en combinación con un compuesto inhibidor irreversible de Btk incluyen sin 40 limitación fármacos comercializados y fármacos en desarrollo.

Cuando el sujeto padece o está en riesgo de padecer un trastorno tromboembólico (por ejemplo, ictus), el sujeto puede tratarse con un compuesto inhibidor irreversible de Btk en cualquier combinación con uno o más agentes anti-tromboembólicos diferentes. Los ejemplos de agentes anti-tromboembólicos incluyen, pero no están limitados a 45 cualquiera de los siguientes: agentes trombolíticos (por ejemplo, alteplasa, anistreplasa, estreptoquinasa, uroquinasa, o activador de plasminógeno tisular), heparina, tinzaparina, warfarina, dabigatrán (por ejemplo, etexilato de dabigatrán), inhibidores del factor Xa (por ejemplo, fondaparinux, draparinux, rivaroxabán, DX-9065a, otamixabán, LY517717, o YM150), inhibidores del factor VIIa, ticlopidina, clopidogrel, CS-747 (prasugrel, LY640315), 50 ximelagatrán, o B1BR 1048.

Composición/Formulación Farmacéutica

Las composiciones farmacéuticas se formulan de una manera convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables incluyendo excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos 55 activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la ruta de administración elegida. Un resumen de composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria se encuentra, por ejemplo, en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Decimonovena Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania 1975; Liberman, H.A. y Lachman, L., Eds., *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Decker,

Nueva York, N.Y., 1980; y *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Séptima Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999).

Una composición farmacéutica, tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una mezcla de un compuesto descrito en la presente memoria, tal como, por ejemplo, compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), con otros componentes químicos, tales como vehículos, estabilizadores, diluyentes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, y/o excipientes. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. En la práctica de los métodos de tratamiento o uso proporcionados en la presente memoria, se administran cantidades terapéuticamente efectivas de los compuestos descritos en la presente memoria en una composición farmacéutica a un mamífero que tiene una enfermedad, trastorno, o afección que se quiere tratar. Preferiblemente, el mamífero es un ser humano. Los compuestos pueden usarse únicamente o en combinación con uno o más agentes terapéuticos como componentes de mezclas.

Las formulaciones farmacéuticas descritas en la presente memoria pueden administrarse a un sujeto por múltiples rutas de administración, incluyendo pero no limitado a, rutas de administración oral, parenteral (por ejemplo, intravenosa, subcutánea, intramuscular), intranasal, bucal, tópica, rectal, o transdérmica. Las formulaciones farmacéuticas descritas en la presente memoria incluyen, pero no están limitadas a, dispersiones líquidas acuosas, dispersiones auto-emulsionantes, disoluciones sólidas, dispersiones liposomales, aerosoles, formas de dosificación líquidas, polvos, formulaciones de liberación inmediata, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de fusión rápida, comprimidos, cápsulas, píldoras, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación prolongada, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones multiparticuladas, y formulaciones de liberación inmediata y controlada mixtas.

Las composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto descrito en la presente memoria se fabrican opcionalmente de una manera convencional, tal como, sólo como ejemplo, mediante procesos convencionales de mezclado, disolución, granulado, preparación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o compresión.

Las composiciones farmacéuticas incluirán al menos un compuesto descrito en la presente memoria, tal como, por ejemplo, un compuesto de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), como un ingrediente activo en forma de ácido libre o base libre, o en forma de sal farmacéuticamente aceptable. Además, los métodos y composiciones farmacéuticas descritos en la presente memoria incluyen el uso de *N*-óxidos, formas cristalinas (también conocidas como polimorfos), así como metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad. En algunas situaciones, los compuestos pueden existir como tautómeros. Todos los tautómeros están incluidos en el alcance de los compuestos presentados en la presente memoria. Además, los compuestos descritos en la presente memoria pueden existir en formas no solvatadas así como solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y semejantes. Las formas solvatadas de los compuestos presentados en la presente memoria también se consideran como descritas en la presente memoria.

Un "vehículo" o "materiales vehiculares" incluye excipientes en farmacéuticos y se selecciona sobre la base de compatibilidad con compuestos descritos en la presente memoria, tales como, compuestos de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), y las propiedades del perfil de liberación de la forma de dosificación deseada. Los materiales vehiculares ejemplares incluyen, por ejemplo, aglutinantes, agentes de suspensión, agentes de disgregación, agentes de relleno, tensioactivos, solubilizantes, estabilizantes, lubricantes, agentes humectantes, diluyentes, y semejantes. Véanse, por ejemplo, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Decimonovena Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania 1975; Liberman, H.A. y Lachman, L., Eds., *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Decker, Nueva York, N.Y., 1980; y *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Séptima Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999).

Una "concentración sérica mensurable" o "concentración plasmática mensurable" describe la concentración en suero sanguíneo o plasma sanguíneo, medida típicamente en mg, µg, o ng del agente terapéutico por ml, dl, o l de suero sanguíneo, absorbida en la corriente sanguínea después de la administración. Tal y como se usa en la presente memoria, las concentraciones plasmáticas mensurables se miden típicamente en ng/ml o µg/ml.

"Farmacodinámica" se refiere a los factores que determinan la respuesta biológica observada respecto a la concentración de fármaco en un sitio de acción. "Farmacocinética" se refiere a los factores que determinan la consecución y mantenimiento de la concentración apropiada del fármaco en un sitio de acción.

"Estado estacionario," tal y como se usa en la presente memoria, es cuando la cantidad de fármaco administrado es igual a la cantidad de fármaco eliminado en un intervalo de dosificación que resulta en un plató o exposición del fármaco en plasma constante.

Formas de Dosificación

Además, las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria, que incluyen un compuesto de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII) pueden formularse en cualquier forma de dosificación adecuada, incluyendo pero no limitado a, dispersiones acuosas orales, líquidos, geles, jarabes, elixires, suspensiones de sólidos, suspensiones y semejantes, para ingestión oral por un pacientes que se va a tratar, formas de dosificación sólida, aerosoles, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de fusión rápida, formulaciones efervescentes, formulaciones liofilizadas, comprimidos, polvos, píldoras, grageas, cápsulas, formulaciones de liberación retardada, formulación de liberación prolongada, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones multiparticuladas, y formulaciones de liberación inmediata y liberación controlada mixtas.

Las formas farmacéuticas de dosificación sólidas descritas en la presente memoria incluyen opcionalmente un compuesto descrito en la presente memoria y uno o más aditivos farmacéuticamente aceptables tales como un vehículo compatible, aglutinante, agente de relleno, agente de suspensión, agente saporífero, agente edulcorante, agente disgregante, agente dispersante, tensioactivo, lubricante, colorante, diluyente, solubilizante, agente humectante, plastificante, estabilizante, potenciador de la penetración, agente humectante, agente anti-espuma, antioxidante, conservante, o una o más combinaciones de éstos. En otros aspectos más, usando procedimientos de recubrimiento estándar, tales como los descritos en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 20ª Edición (2000), se proporciona un recubrimiento de película alrededor de la formulación del compuesto de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII). En una realización, algunas o todas las partículas del compuesto de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), están recubiertas. En otra realización, algunas o todas las partículas del compuesto de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), están microencapsuladas. En otra realización más, las partículas del compuesto de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), no están microencapsuladas y no están recubiertas.

Ejemplos de Métodos de Dosificación y Regímenes de Tratamiento

Los compuestos descritos en la presente memoria pueden usarse en la preparación de medicamentos para la inhibición de Btk o un homólogo de ésta, o para el tratamiento de enfermedades o afecciones se que beneficien, al menos en parte, de la inhibición de Btk o un homólogo de ésta. Además, un método para tratar cualquiera de las enfermedades o afecciones descritas en la presente memoria en un sujeto que necesite dicho tratamiento, implica la administración de composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de cualquiera de Fórmula (A1-A6), Fórmula (B1-B6), Fórmula (C1-C6), Fórmula (D1-D6), Fórmula (I), o Fórmula (VII), descrito en la presente memoria, o una sal farmacéuticamente aceptable, N-óxido farmacéuticamente aceptable, metabolito farmacéuticamente activo, profármaco farmacéuticamente aceptable, o solvato farmacéuticamente aceptable de éste, en cantidades terapéuticamente efectivas a dicho sujeto.

Las composiciones que contienen el o los compuestos descritos en la presente memoria pueden administrarse para tratamientos profilácticos y/o terapéuticos. En las aplicaciones terapéuticas, las composiciones se administran a un paciente que ya padece una enfermedad o afección, en una cantidad suficiente para curar o parar al menos parcialmente los síntomas de la enfermedad o afección. Las cantidades efectivas para este uso dependerán de la gravedad y curso de tratamiento de la enfermedad o afección, terapia previa, el estado de salud del paciente, peso, y respuesta a los fármacos, y el criterio del médico responsable.

En las aplicaciones profilácticas, las composiciones que contienen los compuestos descritos en la presente memoria se administran a un paciente susceptible o en riesgo de otra forma de una enfermedad, trastorno o afección particular. Dicha cantidad se define como una "cantidad o dosis profilácticamente efectiva." En este uso, las cantidades precisas también dependen del estado de salud del paciente, peso, y semejantes. Cuando se usan en un paciente, las cantidades efectivas para este uso dependerán de la gravedad y curso de la enfermedad, trastorno o afección, terapia previa, el estado de salud del paciente y respuesta a los fármacos, y el criterio del médico responsable.

En algunas realizaciones, el inhibidor irreversible de quinasa se administra al paciente de una manera regular, por ejemplo, tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, en días alternos o cada 3 días. En otras realizaciones, el inhibidor irreversible de quinasa se administra al paciente de una manera intermitente, por ejemplo, dos veces al día seguido de una vez al día seguido de tres veces al día; o los dos primeros días de cada semana; o el primer, segundo y tercer día de una semana. En algunas realizaciones, la dosificación intermitente es tan efectiva como la dosificación regular. En realizaciones adicionales o alternativas, el inhibidor irreversible de quinasa se administra sólo cuando el paciente presenta un síntoma particular, por ejemplo, el inicio de dolor, o el inicio de fiebre, o el inicio de una inflamación, o el inicio de un trastorno cutáneo.

En el caso en el que la afección del paciente no mejora, según el criterio del médico, la administración de los compuestos puede administrarse crónicamente, esto es, durante un periodo de tiempo prolongado, incluyendo a lo

largo de la duración de la vida del paciente con el fin de mejorar o controlar o limitar de otra manera los síntomas de la enfermedad o afección del paciente.

5 En el caso en el que el estado del paciente no mejora, según el criterio del médico, la administración de los compuestos puede proporcionarse continuamente; alternativamente, la dosis del fármaco que se está administrando puede reducirse temporalmente o suspenderse temporalmente durante una duración determinada de tiempo (es decir, una "vacación de fármaco"). La duración de la vacación de fármaco puede variar entre 2 días y 1 año, incluyendo, sólo como ejemplo, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 10 días, 12 días, 15 días, 20 días, 28 días, 35 días, 50 días, 70 días, 100 días, 120 días, 150 días, 180 días, 200 días, 250 días, 280 días, 300 días, 320 días, 350 días, ó 365 días. La reducción de la dosis durante una vacación de fármaco puede ser de 10%-100%,
10 incluyendo, sólo como ejemplo, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, ó 100%.

15 Una vez se ha producido la mejora de las afecciones del paciente, se administra una dosis de mantenimiento si es necesario. Posteriormente, la dosificación o frecuencia de administración, o ambas, pueden reducirse, como una función de los síntomas, hasta un nivel en el que se retiene la enfermedad, trastorno o afección mejorada. Los pacientes pueden requerir, sin embargo, tratamiento intermitente a largo plazo después de cualquier recurrencia de los síntomas.

20 La cantidad de un agente dado que corresponderá a dicha cantidad variará dependiendo de factores tales como el compuesto particular, la enfermedad o afección y su gravedad, la identidad (por ejemplo, peso) del sujeto o huésped que necesita tratamiento, y se determina según las circunstancias particulares que rodean el caso, incluyendo, por ejemplo, el agente específico que se está administrando, la ruta de administración, la afección que se está tratando, y el sujeto o huésped que se está tratando. En general, sin embargo, las dosis empleadas para el tratamiento de adultos humanos estarán típicamente en el intervalo de 0,02-5.000 mg al día, o de aproximadamente 1-1.500 mg al día. La dosis deseada puede presentarse convenientemente en una única dosis o como dosis divididas administradas simultáneamente (o sobre un periodo de tiempo corto) o a intervalos apropiados, por ejemplo como dos, tres, cuatro o más sub-dosis al día.
25

30 La composición farmacéutica descrita en la presente memoria puede estar en formas de dosificación unitarias adecuadas para la administración única de dosificaciones precisas. En la forma de dosificación unitaria, la formulación se divide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas de uno o más compuestos. La dosificación unitaria puede estar en la forma de un envase que contiene cantidades discretas de la formulación. Los ejemplos no limitativos son comprimidos o cápsulas envasados, y polvos en viales o ampollas. Las composiciones en suspensión acuosa pueden envasarse en contenedores de dosis única no resellable. Alternativamente, pueden usarse contenedores de múltiples dosis resellables, en cuyo caso es típico incluir un conservante en la composición. Sólo como ejemplo, las formulaciones para inyección parenteral pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, que incluye, pero no está limitado a ampollas, o en contenedores de múltiples dosis, con un conservante añadido.
35

40 Los intervalos anteriores son meramente sugestivos, ya que el número de variables respecto a un régimen de tratamiento individual es grande, y las excursiones considerables a partir de estos valores recomendados no son infrecuentes. Dichas dosificaciones pueden alterarse dependiendo de un número de variables, no limitadas a la actividad del compuesto usado, la enfermedad o afección que se va a tratar, el modo de administración, los requerimientos del sujeto individual, la gravedad de la enfermedad o afección que se está tratando, y el criterio del médico.

45 La toxicidad y eficacia terapéutica de dichos regímenes terapéuticos pueden determinarse por procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, incluyendo, pero no limitado a, la determinación de la DL₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE₅₀ (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La proporción de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la proporción entre DL₅₀ y DE₅₀. Se prefieren los compuestos que presentan altos índices terapéuticos. Los datos obtenidos de ensayos de cultivo celular y estudios en animales pueden usarse para formular un intervalo de dosificación para uso en el ser humano. La dosificación de dichos compuestos se encuentra preferiblemente en un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la DE₅₀ con toxicidad mínima. La dosificación puede variar en este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la ruta de administración utilizada.
50

Estrategias de Dosificación para Incrementar la Selectividad

55 En la presente memoria se describen inhibidores irreversibles de quinasa que son selectivos para una o más ACK, incluyendo una Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk. En algunas realizaciones, los inhibidores irreversibles descritos en la presente memoria también se unen reversiblemente a otras quinasas (algunas de las cuales, en algunas realizaciones, también son ACK). Como medio para aumentar el perfil de selectividad, dichos inhibidores se formulan (la formulación incluye modificaciones químicas del inhibidor, uso de excipientes en una composición farmacéutica, y combinaciones de éstos) de manera que el perfil farmacocinético favorezca una selectividad aumentada de los inhibidores para una ACK sobre una no ACK. Sólo como ejemplo, una

ACK se formula para tener una vida media plasmática corta. En otras realizaciones, una ACK se formula para tener una vida media plasmática prolongada.

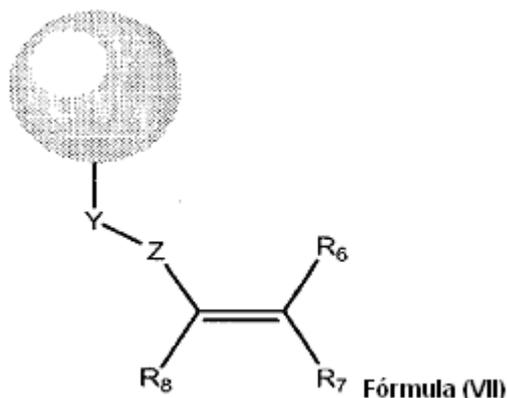
Por ejemplo, como se muestra en los Ejemplos, el Compuesto **1** y Compuesto **12** tienen una vida media corta in vivo. Por el contrario, el Compuesto **7** y Compuesto **8** tienen una vida media significativamente mayor in vivo (Figura 5).

5 Se predice que los compuestos como **1** y **12** tienen una selectividad de quinasa aumentada in vivo debido a que la inhibición se mantendrá sólo para aquellas quinastas que se inhiben irreversiblemente. Además, dado que los inhibidores irreversibles de quinasa descritos en la presente memoria tienen tanto actividades reversibles (en general para no ACK) como irreversibles (generalmente, para ACK), las propiedades in vivo de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) se seleccionan con el fin de optimizar el índice terapéutico. Específicamente, en algunas realizaciones, los compuestos que se aclaran rápidamente causan sólo una inhibición breve de dianas inhibidas reversiblemente mientras se mantiene la inhibición sostenida de las dianas inhibidas irreversiblemente. Dependiendo del grado en el que la inhibición sostenida de dianas particulares resulta en efectos terapéuticos o toxicidades, identificamos compuestos con una combinación óptima de perfiles de selectividad in vitro y propiedades ADME in vivo.

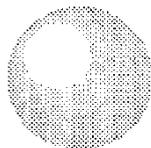
15 En una realización son inhibidores de quinasa que se unen selectivamente e irreversiblemente a una proteína tirosina quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk, en el que el inhibidor de quinasa se une reversiblemente y no selectivamente a una multiplicidad de proteínas tirosina quinastas, y además en el que la vida media plasmática del inhibidor de quinasa es menor de aproximadamente 4 horas. En dicha realización, el inhibidor de quinasa se une selectivamente e irreversiblemente al menos a una de Btk, Jak3, Blk, Bmx, Tec, e Itk. En una realización adicional, el inhibidor de quinasa se une selectivamente e irreversiblemente a Btk. En una realización adicional, el inhibidor de quinasa se une selectivamente e irreversiblemente a Jak3. En una realización adicional, el inhibidor de quinasa se une selectivamente e irreversiblemente a Tec. En una realización adicional, el inhibidor de quinasa se une selectivamente e irreversiblemente a Btk y Tec. En una realización adicional, el inhibidor de quinasa se une selectivamente e irreversiblemente a Blk. En una realización adicional, el inhibidor de quinasa se une reversiblemente y no selectivamente a una multiplicidad de inhibidores de proteína quinasa de la familia src. En una realización adicional, la vida media plasmática del inhibidor de quinasa es menor de aproximadamente 3 horas. En una realización adicional, la vida media plasmática del inhibidor de quinasa es menor de aproximadamente 2 horas.

30 En una realización son inhibidores de quinasa que se unen selectivamente e irreversiblemente a una proteína tirosina quinasa seleccionada de Btk, un homólogo de Btk, y un homólogo de cisteína de la quinasa Btk, en el que el inhibidor de quinasa se une reversiblemente y no selectivamente a una multiplicidad de proteínas tirosina quinastas, y además en el que la vida media plasmática del inhibidor de quinasa es mayor de aproximadamente 12 horas. En dicha realización, el inhibidor de quinasa se une selectivamente e irreversiblemente al menos a una de Btk, Jak3, Blk, Bmx, Tec, e Itk. En una realización adicional, el inhibidor de quinasa se une selectivamente e irreversiblemente a Btk. En una realización adicional, el inhibidor de quinasa se une selectivamente e irreversiblemente a Jak3. En una realización adicional, el inhibidor de quinasa se une selectivamente e irreversiblemente a Btk y Tec. En una realización adicional, el inhibidor de quinasa se une selectivamente e irreversiblemente a Blk. En una realización adicional, el inhibidor de quinasa se une reversiblemente y no selectivamente a una multiplicidad de inhibidores de proteína quinasa de la familia src. En una realización adicional, la vida media plasmática del inhibidor de quinasa del inhibidor de quinasa es mayor de aproximadamente 16 horas.

En una realización particular de cualquiera de los inhibidores de quinasa mencionados anteriormente, dichos inhibidores de quinasa tienen la estructura de Fórmula (VII):



45 en la que:



en la que es un resto que se une al sitio activo de una quinasa, incluyendo una tirosina quinasa, incluyendo además un homólogo de cisteína de la quinasa Btk;

5 Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, heterocicloalquileno, cicloalquileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileno, y alquilenheterocicloalquileno;

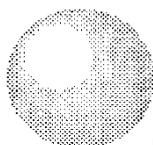
Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), NCH₃C(=O), C(=S), S(=O)_x, OS(=O)_x, NHS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2;

R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquiloC₁-C₄ no sustituido, alquiloC₁-C₄ sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ no sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₆ no sustituido, y heterocicloalquiloC₂-C₆ sustituido; o

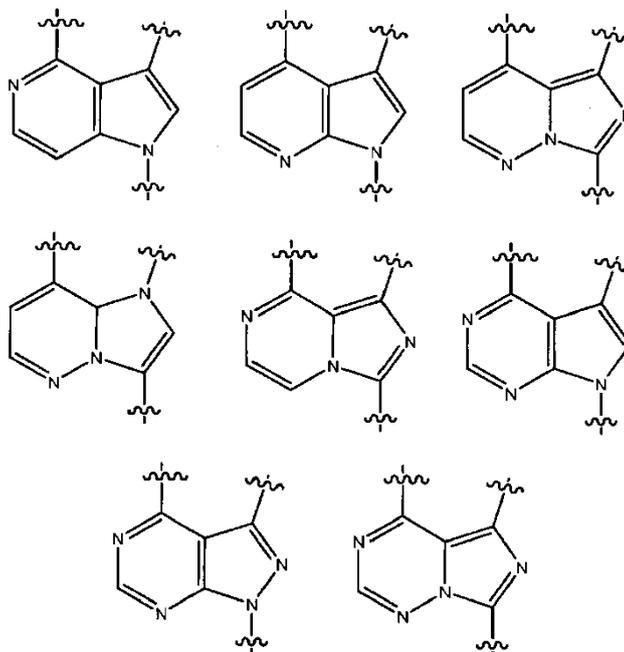
10 R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace;

R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxilquiloC₁-C₆, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquiloC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₈), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); y

15 sales farmacéuticamente aceptables de éste.



En una realización adicional, en el inhibidor de quinasa es un resto biarilo fusionado sustituido seleccionado de



20

En una realización adicional de dichas quinazinas:

Z es C(=O), NHC(=O), NCH₃C(=O), o S(=O)₂.

El inhibidor de quinasa de la reivindicación 49, en el que:

cada uno de R₇ y R₈ es H; o

R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace.

En una realización adicional de dichas quinasas:

5 R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxilquiloC₁-C₆, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxilalquilaminoalquiloC₁-C₈, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquilC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₈), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈).

En una realización adicional de dichas quinasas:

Y es un anillo cicloalquileno de 4, 5, 6, ó 7 miembros; o

Y es un anillo heterocicloalquileno de 4, 5, 6, ó 7 miembros; o

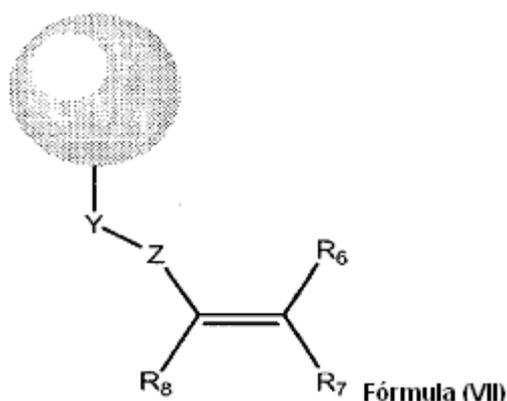
Y es un alquilenoC₁-C₄, o un anillo heterocicloalquileno de 4, 5, 6, ó 7 miembros.

10 En otro aspecto de dichos métodos de dosificación son formulaciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los inhibidores de ACK mencionados anteriormente y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, dichas formulaciones farmacéuticas se formulan para una ruta de administración seleccionada de administración oral, administración parenteral, administración bucal, administración nasal, administración tópica, o administración rectal. En determinadas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas se formulan para administración oral.

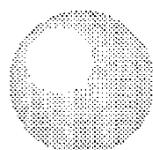
En otro aspecto de dichos compuestos para uso en métodos de dosificación son compuestos para uso en métodos para tratar artritis reumatoide que comprenden administrar a un sujeto cualquiera de los inhibidores de ACK mencionados anteriormente que se unen selectivamente e irreversiblemente a Btk y Tec.

20 En otro aspecto más de dichos compuestos para uso en estrategias de dosificación son compuestos para uso en métodos para incrementar la selectividad de un inhibidor de proteína tirosina quinasa de ensayo que se une irreversiblemente y selectivamente al menos a un inhibidor de proteína quinasa seleccionado de Btk, un homólogo de Btk, o un homólogo de cisteína de la quinasa Btk, en el que el inhibidor de la proteína tirosina quinasa de ensayo está modificado químicamente para disminuir la vida media plasmática a menos de aproximadamente 4 horas. En algunas realizaciones, el inhibidor de proteína tirosina quinasa de ensayo está modificado químicamente para disminuir la vida media plasmática a menos de aproximadamente 3 horas.

En realizaciones adicionales, el inhibidor de la proteína tirosina quinasa de ensayo tiene la estructura de Fórmula (VII):



30 en la que:



en la que es un resto que se une al sitio activo de una quinasa, incluyendo una tirosina quinasa, incluyendo además un homólogo de cisteína de la quinasa Btk;

Y es un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de entre alquileno, heteroalquileno, arileno, heteroarileno, heterocicloalquileno, cicloalquileno, alquilenarileno, alquilenheteroarileno, alquilencicloalquileno, y alquilenheterocicloalquileno;

Z es C(=O), OC(=O), NHC(=O), NCH₃C(=O), C(=S), S(=O)_x, OS(=O)_x, NHS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2;

- 5 R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de entre H, alquiloC₁-C₄ no sustituido, alquiloC₁-C₄ sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ no sustituido, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₆ no sustituido, y heterocicloalquiloC₂-C₆ sustituido; o

R₇ y R₈ tomados conjuntamente forman un enlace; y

- 10 R₆ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alcoxilquiloC₁-C₆, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxilalquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquiloC₂-C₈ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), alquilC₁-C₄(cicloalquiloC₃-C₈), o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈).

- 15 En una realización adicional, el inhibidor de la proteína tirosina quinasa de ensayo se une no selectivamente y reversiblemente a una multiplicidad de proteínas tirosina quinasa de la familia src.

- 20 En un aspecto adicional de dichos compuestos para uso en estrategias de dosificación son compuestos para uso en métodos para tratar un trastorno proliferativo de las células B o un trastorno proliferativo de mastocitos que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una composición farmacéutica de cualquiera de los inhibidores de ACK mencionados anteriormente. Por ejemplo, como se presenta en los Ejemplos, la exposición breve al Compuesto **1** in vitro es suficiente para inhibir la activación de las células B en células B humanas normales. Este protocolo mimetiza la exposición predicha de las células al Compuesto **1** in vivo y demuestra que la inhibición de las células B se mantiene a pesar de eliminar por lavado el Compuesto **1**.

- 25 En un aspecto adicional de dichos compuestos para uso en estrategias de dosificación son compuestos para uso en métodos para tratar una artritis reumatoide o afección reumatoide que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una composición farmacéutica de cualquiera de los inhibidores de ACK mencionados anteriormente. En un aspecto adicional de dichos compuestos para uso en estrategias de dosificación son compuestos para uso en métodos para tratar una enfermedad caracterizada por células B hiperactivas que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una composición farmacéutica de cualquiera de los inhibidores de ACK mencionados anteriormente. En un aspecto adicional de dichos compuestos para uso en estrategias de dosificación son compuestos para uso en métodos para tratar una enfermedad caracterizada por mastocitos hiperactivos que comprenden administrar a un paciente que lo necesita una composición farmacéutica de cualquiera de los inhibidores de ACK mencionados anteriormente. En un aspecto adicional de dichos compuestos para uso en estrategias de dosificación son compuestos para uso en métodos para tratar una enfermedad caracterizada tanto por células B hiperactivas como por mastocitos hiperactivos que comprenden administrar a un paciente que lo necesita composiciones farmacéuticas de cualquiera de los inhibidores de ACK mencionados anteriormente. En cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente para uso en métodos de tratamiento usando dichos compuestos para uso en estrategias de dosificación, la composición farmacéutica se administra una vez al día o menos frecuentemente de una vez al día.

Kits/Artículos de Fabricación

- 40 Para uso en las aplicaciones terapéuticas descritas en la presente memoria, también se describen kits y artículos de fabricación en la presente memoria. Dichos kits pueden incluir un vehículo, envase, o contenedor que está compartimentalizado para contener uno o más contenedores tales como viales, tubos, y semejantes, incluyendo cada uno del o de los contenedores uno de los elementos separados para ser usado en un método descrito en la presente memoria. Los contenedores adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, y tubos de ensayo. Los contenedores pueden estar formados por una variedad de materiales tales como vidrio o plástico.

- 50 Los artículos de fabricación proporcionados en la presente memoria contienen materiales de envasado. Los materiales de envasado para uso en el envasado de productos farmacéuticos incluyen, por ejemplo, las Patentes U.S. Nos. 5.323.907, 5.052.558 y 5.033.252. Los ejemplos de materiales de envasado farmacéutico incluyen, pero no están limitados a, envases blíster, botellas, tubos, inhaladores, bombas, bolsas, viales, contenedores, jeringas, botellas, y cualquier material de envasado adecuado para una formulación seleccionada y modo pretendido de administración y tratamiento. Una amplia matriz de formulaciones de los compuestos y composiciones proporcionados en la presente memoria se contempla como lo es una variedad de tratamientos para cualquier enfermedad, trastorno, o afección que se beneficie por la inhibición de Btk, o en el que Btk es un mediador o contribuyente para los síntomas o causa.

- 55 Por ejemplo, el o los contenedores pueden incluir uno o más compuestos descritos en la presente memoria, opcionalmente en una composición o en combinación con otro agente como se describe en la presente memoria. El

o los contenedores tienen opcionalmente un puerto de acceso estéril (por ejemplo el contenedor puede ser una bolsa de disolución intravenosa o vial que tiene un tapón que se puede traspasar por una aguja de inyección hipodérmica). Dichos kits comprenden opcionalmente un compuesto con una descripción o etiqueta o instrucciones identificativa respecto a su uso en los métodos descritos en la presente memoria.

5 Un kit incluirá típicamente uno o más contenedores adicionales, cada uno con uno o más de los varios materiales (tales como reactivos, opcionalmente en forma concentrada, y/o dispositivos) deseables desde un punto de vista final comercial y de usuario para uso de un compuesto descrito en la presente memoria. Los ejemplos no limitativos de dichos materiales incluyen, pero no están limitados a, tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringas; etiquetas de vehículo, envase, contenedor, vial y/o tubo listando los contenidos y/o instrucciones para uso, y prospectos con instrucciones para uso. También se incluirá típicamente un conjunto de instrucciones.

10 Una etiqueta puede estar en o asociada con el contenedor. Una etiqueta puede estar en un contenedor cuando las letras, números u otros caracteres que forman la etiqueta están unidos, moldeados o incluidos en el contenedor en sí mismo; una etiqueta puede estar asociada con un contenedor cuando está presente en un receptáculo o vehículo que también porta el contenedor, por ejemplo, como un prospecto. Una etiqueta puede usarse para indicar que los contenidos son para usarse para una aplicación terapéutica específica. La etiqueta también puede indicar direcciones para uso de los contenidos, tales como en los métodos descritos en la presente memoria.

15 En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en un envase o dispositivo de dispensación que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que contienen un compuesto proporcionado en la presente memoria. El envase puede contener por ejemplo papel metálico o de plástico, tal como un envase blíster. El envase o dispositivo de dispensación puede estar acompañado de instrucciones para la administración. El envase o dispensador también puede estar acompañado de una nota asociada con el contenedor en forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de farmacéuticos, nota que refleja la aprobación por la agencia de la forma del fármaco para administración humana o veterinaria. Dicha nota, puede ser, por ejemplo, el marcaje aprobado por la U.S. Food and Drug Administration para fármacos con prescripción, o el prospecto del producto aprobado. Las composiciones que contienen un compuesto proporcionado en la presente memoria formulado en un vehículo farmacéutico compatible también pueden prepararse, ponerse en un contenedor apropiado, y marcarse para tratamiento de una afección indicada.

EJEMPLOS

30 La presente invención está dirigida sólo a compuestos que se encuentran en el contenido reivindicado. Todas las demás estructuras son ejemplos de referencia. Los ejemplos siguientes específicos y no limitativos deben considerarse como meramente ilustrativos, y no limitan la presente descripción en absoluto de ninguna manera.

Síntesis de Compuestos

Ejemplo 1: Preparación de 4-Amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (Intermedio 2)

35 Se prepara 4-Amino-3-(4-fenoxifenilo)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (Intermedio 2) como se describe en la Publicación de Patente Internacional No. WO 01/019829. Brevemente, se añade ácido 4-fenoxibenzoico (48 g) a cloruro de tionilo (100 mL) y se calienta bajo reflujo suave durante 1 hora. El cloruro de tionilo se elimina por destilación, el aceite residual se disuelve en tolueno y el material volátil se elimina a 80°C/20mbares. El cloruro de ácido resultante se disuelve en tolueno (200 mL) y tetrahidrofurano (35 mL). Se añade malononitrilo (14,8 g) y la disolución se agita a -10°C mientras se añade diisopropiletetilamina (57,9 g) en tolueno (150mL), mientras se mantiene la temperatura por debajo de 0°C. Después de 1 hora a 0°C, la mezcla se agita a 20°C toda la noche. Se elimina el hidrocloreto de amina por filtración y el filtrado se evapora *in vacuo*. El residuo se recoge en acetato de etilo y se lava con ácido sulfúrico 1,25 M, después con disolución salina concentrada y se seca sobre sulfato de sodio. La evaporación de los disolventes proporciona un residuo semisólido que se trata con un poco de acetato de etilo para proporcionar 4,1 g de 1,1-diciano-2-hidroxi-2-(4-fenoxifenil)eteno como un sólido blanco (p.f. 160-162°C). El filtrado después de evaporación proporciona 56,58 (96%) de 1,1-diciano-2-hidroxi-2-(4-fenoxifenil)eteno como un sólido gris-marrón, que es lo suficientemente puro para uso adicional.

40 Se agita 1,1-Diciano-2-hidroxi-2-(4-fenoxifenil)eteno (56,5 g) en acetonitrilo (780 mL) y metanol (85 mL) bajo nitrógeno a 0°C mientras se añade diisopropiletetilamina (52,5 mL) seguido de 2M trimetilsilildiazometano (150 mL) en THF. La reacción se agita durante 2 días a 20°C, y después se añaden 2 g de sílice (para cromatografía). La disolución marrón-rojo se evapora *in vacuo*, el residuo se disuelve en acetato de etilo y se lava bien con agua, disolución salina concentrada, se seca y se evapora. El residuo se extrae con dietil éter (3x250 mL), se decanta de aceite insoluble. La evaporación de los extractos de éter proporciona 22,5 g de 1,1-diciano-2-metoxi-2-(4-fenoxifenil)eteno como un sólido naranja claro. El aceite insoluble se purifica por cromatografía flash para proporcionar 15,0 g de un aceite rojo-naranja.

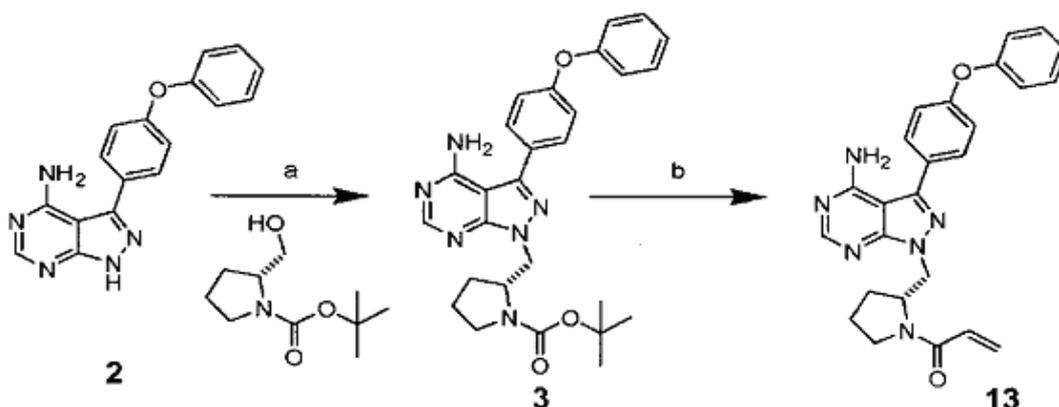
55 Se tratan 1,1-Diciano-2-metoxi-2-(4-fenoxifenil)eteno (22,5 g) y aceite 1,1-diciano-2-metoxi-2-(4-fenoxifenil)eteno (15 g) con una disolución de hidrazina hidrato (18 mL) en etanol (25 mL) y se calienta en el baño de vapor durante 1

hora. Se añade etanol (15 mL) seguido de agua (10 mL). El sólido precipitado se recoge y se lava con etanol:agua (4:1) y se seca al aire para proporcionar 3-amino-4-ciano-5-(4-fenoxifenil)pirazol como un sólido naranja claro.

Se suspende 3-Amino-4-ciano-5-(4-fenoxifenil)pirazol (29,5 g) en formamida (300 mL) y se calienta bajo nitrógeno a 180°C durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfría hasta 30°C y se añade agua (300 mL). El sólido se recoge, se lava bien con agua, después con metanol y se seca al aire para proporcionar 4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina.

Ejemplo 2: Síntesis de 1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 13)

Esquema 1.



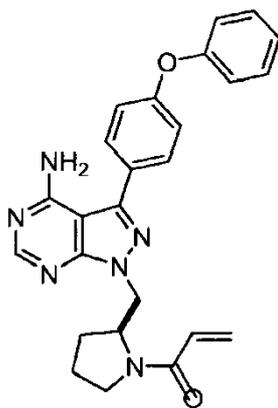
Síntesis del Compuesto **13**; a) trifenilfosfina (TPP), diazodicarboxilato de diisopropilo (DIAD), tetrahidrofurano (THF); b) TFA/CH₂Cl₂; después cloruro de acrililo, diisopropiletilamina (DIPEA), tetrahidrofurano (THF).

Los compuestos descritos en la presente memoria se sintetizaron siguiendo las etapas mostradas en el Esquema 1. Un ejemplo ilustrativo detallado de las condiciones de reacción mostradas en el Esquema 1 se describe para la síntesis de 1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto **13**).

Se mezclaron 0,5 g de 4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina y 0,65 g de trifenilfosfina (TPP) conjuntamente con 15 mL de tetrahidrofurano (THF). Se añadió (R)-terc-butil 2-(hidroximetil)piperidina-1-carboxilato (0,5 g; 1,5 equivalentes) a la mezcla seguido de la adición de diazodicarboxilato de diisopropilo (0,5 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 hr. La mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía flash (acetona/CH₂Cl₂ = 1/1) para proporcionar el intermedio **3** (1,49 g).

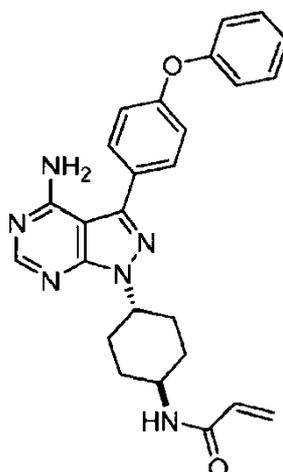
El intermedio **3** (1,49 g) se trató con 4 mL de TFA y 5 mL de CH₂Cl₂ y se agitó toda la noche a temperatura ambiente y después se concentró a sequedad. El residuo se disolvió en acetato de etilo (100 mL) y después se lavó con NaHCO₃ ac. diluido (100 mL). La capa de acetato de etilo se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró hasta ~20 mL y después se añadió 4,0 M HCl/dioxano (1 mL) y se formó un precipitado amarillo. El sólido se recogió por filtración y se lavó con acetato de etilo (20 mL). El sólido se suspendió en acetato de etilo (100 mL) y se lavó de nuevo con NaHCO₃ ac. diluido (100 mL). El acetato de etilo se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró para proporcionar 0,43 g de un sólido amarillo claro. El sólido (0,14 g, 0,36 mmoles) se agitó en THF (3 mL) y se añadió TEA (0,15 mL, 1,1 mmoles), seguido de enfriamiento de la reacción con un baño de hielo durante 30 min, después se añadió cloruro de acrililo (30 µL, 0,36 mmoles) y la reacción se agitó durante 2 hr. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (75 mL) y se lavó con NaHCO₃ ac. diluido (100 mL). La capa orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. La cromatografía flash (con CH₂Cl₂/MeOH = 20/1) proporcionó 90 mg del compuesto **4** como un sólido blanco. EM (calc) = 440,2; MS (M+1): 441,2;

Ejemplo 3: Síntesis de 1-((S)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona (Compuesto 14).



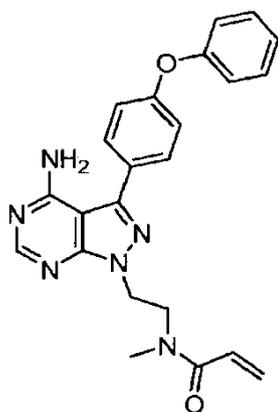
La síntesis del Compuesto **14** se consiguió usando un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 2. EM (calc.): 440,2; MS (M+1H): 441,2.

5 **Ejemplo 4: Síntesis de N-((1r,4r)-4-(4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)ciclohexil)acrilamida.**



La síntesis de este compuesto se consiguió usando un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo 2 EM (calc.): 454,21; MS (M+1): 455,2.

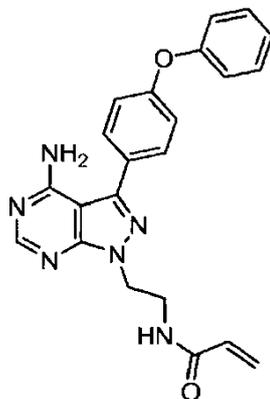
10 **Ejemplo 5: Síntesis de N-(2-(4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)-N-metilacrilamida (Compuesto 19).**



La síntesis de este compuesto se consiguió usando un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo 2. EM (calc.): 414,18; MS (M+1H): 415,2.

Ejemplo 6: Síntesis de N-(2-(4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etil)acrilamida (Compuesto 23).

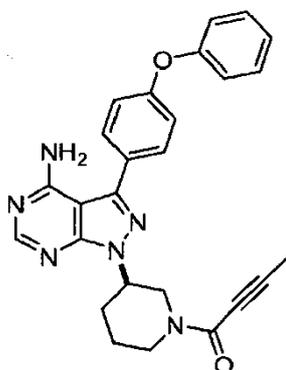
5



La síntesis de este compuesto se consiguió usando un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo 2. EM (calc.): 400,16; MS (M+1H): 401,2.

Ejemplo 7: Síntesis de 1-((R)-3-(4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)piperidin-1-il)but-2-in-1-ona (Compuesto 17).

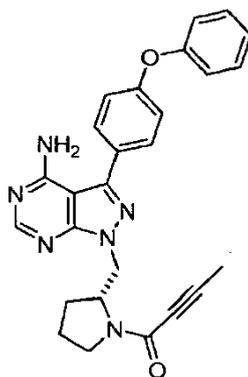
10



La síntesis de este compuesto se consiguió usando un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo 2. EM (calc.): 452,2; MS (M+1H): 453,2.

Ejemplo 8: Síntesis de 1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)but-2-in-1-ona (Compuesto 15).

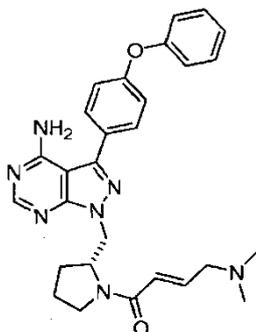
15



La síntesis de este compuesto se consiguió usando un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo 2. EM (calc.): 452,2; MS (M+1H): 453,2.

Ejemplo 9: Síntesis de (E)-1-((R)-2-((4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)metil)pirrolidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (Compuesto 11).

5



La síntesis de este compuesto se consiguió usando un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo 2. EM (calc.): 497,25; MS (M+1H): 498,2.

Usos Terapéuticos de Compuestos Inhibidores

10 **Ejemplo 1: Inhibición del Crecimiento de Células Tumorales de Linfoma**

El Compuesto 1 inhibe el crecimiento de células tumorales de linfoma. Una variedad de líneas celulares de linfoma se incubó con un intervalo de concentraciones del Compuesto 1 para determinar la GI50, la concentración que resulta en una disminución del 50% de la proliferación celular (Figura 1A). El Compuesto 1 inhibe el crecimiento tumoral en modelos de xenoinjerto DOHH2 y DLCL2 (Figura 1B y 1C).

15 Para los ensayos de proliferación celular in vitro, las células se sembraron en placas de 96 pocillos en medio de crecimiento estándar (en la mayor parte de los casos RPMI + 10% suero de ternera fetal) y el Compuesto 1 se añadió en una serie de diluciones de 9 puntos que varió de 10 μ M a 0,04 μ M con DMSO a una concentración final de 0,1% en todos los pocillos. Después de 72 horas, se midió el número de células usando Alamar Azul usando el protocolo del fabricante. En paralelo se corrió una serie de dilución de células no tratadas para verificar que el ensayo de Alamar Azul reflejaba fielmente el número de células y que las condiciones de crecimiento no eran limitantes. La GI50, la concentración que resulta en una disminución del 50% del número de células, se calculó usando Calcsyn para ajustar la curva de respuesta a la dosis. Los valores GI50 se confirmaron en dos o más experimentos separados para cada línea celular.

25 Para los estudios de xenoinjerto de linfoma in vivo, 5E6 células DOHH2 o DLCL2 en 50% matrigel se implantaron subcutáneamente en ratones SCID y se dosificaron oralmente con el Compuesto 1 empezando cuando el tamaño tumoral alcanzó 100 mm².

Ejemplo 2: Inhibición de Artritis Inducida por Colágeno en un Ratón

30 El Compuesto 1 inhibe la artritis inducida por colágeno en el ratón. Se inyectó a ratones macho DBA/101aHsd intradérmicamente 150 microlitros de 2 mg/mL colágeno Tipo II en adyuvante completo de Freund con M. tuberculosis como suplemento, 4 mg/mL y se reforzó con la misma inyección 21 días después. Después de establecerse la inflamación de la pata, los animales se aleatorizaron y el Compuesto 1 o vehículo se dosificaron oralmente una vez al día empezando el día 1. La inflamación de la pata se puntuó de 0-5 y se promedió para todas las patas de todos los animales para cada grupo en el estudio. El Compuesto 1 a 12,5 mg/kg y 50 mg/kg produjo una regresión de la inflamación hasta el final del estudio (día 11) mientras 3,125 mg/kg redujo significativamente el incremento en la inflamación de la pata (Figura 2). Se incluyó dexametasona como un control positivo.

35 En otro estudio, el Compuesto 1 se dosificó a 12,5 mg/kg a dichos ratones durante: (a) cada día de un periodo de 11 días; (b) los días 1, 2, y 3 de un periodo de 11 días; o (c) los días 9, 10, y 11 de un periodo de 11 días. La dosificación intermitente redujo el incremento en la inflamación de la pata. Además, el Compuesto 9 se dosificó a dichos ratones a un nivel de 12,5 mg/kg ó 50 mg/kg cada día de un periodo de 11 días. El Compuesto 9 redujo el incremento en la inflamación de la pata.

40

Ejemplo 3: Inhibición de Lupus en un Modelo de Ratón

El Compuesto 1 inhibe la progresión de la enfermedad en el modelo de lupus en el ratón MRL/lpr. El Compuesto 1 a 3,125 mg/kg, 12,5 mg/kg, y 50 mg/kg redujo significativamente la proteinuria, lo que indica una mejora del fallo renal

autoinmune progresivo observado en esta cepa de ratón (Figura 3). Los ratones MRL/lpr (Jax cepa 000485) se dosificaron oralmente una vez al día desde las 12 semanas de edad hasta las 20 semanas de edad y los niveles de proteína en orina se midieron semanalmente usando tiras reactivas Clinitech Multistick.

Ejemplo 4: Inhibición de la Desgranulación de Mastocitos

5 El Compuesto **1** inhibe la desgranulación de mastocitos en un modelo de anafilaxia cutánea pasiva en ratón. Las dosis crecientes del Compuesto **1** disminuyen significativamente la cantidad de liberación de Evans Azul, lo que indica una activación de mastocitos y permeabilización vascular disminuidas. (Figura 4)

10 Los ratones se sensibilizaron con una inyección intradérmica de anti-DNP-IgE monoclonal en la espalda. 23 horas después recibieron una única dosis oral del Compuesto **1** o vehículo. Después de una hora, los animales se pulsaron con una inyección intravenosa de DNP-BSA y agente de tinción Evans Azul. La desgranulación de mastocitos da lugar a permeabilidad vascular y la distribución del agente de tinción en la piel de la espalda. Se mide el área de extravasación después de 1 hora.

Ejemplo 5: Composiciones Farmacéuticas:

15 Las composiciones descritas más adelante se presentan con un compuesto de Fórmula (A1-A6) para propósitos ilustrativos; cualquiera de los compuestos de cualquiera de Fórmulas (A1-A6), (B1-B6), (C1-C6), o (D1-D6) se usan opcionalmente en dichas composiciones farmacéuticas.

Ejemplo 5a: Composición Parenteral

20 Para preparar una composición farmacéutica parenteral adecuada para administración por inyección, se disuelven 100 mg de una sal soluble en agua de un compuesto de Fórmula (A1-A6) en DMSO y después se mezcla con 10 mL de disolución salina al 0,9% estéril. La mezcla se incorpora a una forma de dosificación unitaria adecuada para administración por inyección.

Ejemplo 5b: Composición Oral

25 Para preparar una composición farmacéutica para administración oral, se mezclan 100 mg de un compuesto de Fórmula (A1-A6) con 750 mg de almidón. La mezcla se incorpora a una forma de dosificación unitaria oral, tal como una cápsula de gelatina dura, que es adecuada para administración oral.

Ejemplo 5c: Composición Sublingual (Pastilla Dura)

30 Para preparar una composición farmacéutica para administración bucal, tal como una pastilla dura, mezclar 100 mg de un compuesto de Fórmula (A1-A6), con 420 mg de azúcar en polvo mezclada con 1,6 mL de jarabe de maíz ligero, 2,4 mL agua destilada, y 0,42 mL extracto de menta. La mezcla se mezcla suavemente y se vierte en un molde para formar una pastilla adecuada para administración bucal.

Ejemplo 5d: Composición para Inhalación

35 Para preparar una composición farmacéutica para administración por inhalación, se mezclan 20 mg de un compuesto de Fórmula (A1-A6) con 50 mg de ácido cítrico anhidro y 100 mL de disolución de cloruro de sodio al 0,9%. La mezcla se incorpora en una unidad de administración por inhalación, tal como un nebulizador, que es adecuado para administración por inhalación.

Ejemplo 5e: Composición en Gel Rectal

40 Para preparar una composición farmacéutica para administración rectal, se mezclan 100 mg de un compuesto de Fórmula (A1-A6) con 2,5 g de metilcelulosa (1.500 mPa), 100 mg de metilparabeno, 5 g de glicerina y 100 mL de agua purificada. La mezcla de gel resultante se incorpora en unidades de administración rectales, tales como jeringas, que son adecuadas para administración rectal.

Ejemplo 5f: Composición en Gel Tópica

45 Para preparar una composición farmacéutica en gel tópica, se mezclan 100 mg de un compuesto de Fórmula (A1-A6) con 1,75 g de hidroxipropil celulosa, 10 mL de propilen glicol, 10 mL de isopropil miristato y 100 mL de alcohol purificado USP. La mezcla de gel resultante se incorpora en contenedores, tales como tubos, que son adecuados para administración tópica.

Ejemplo 5g: Composición en Disolución Oftálmica

50 Para preparar una composición farmacéutica en disolución oftálmica, se mezclan 100 mg de un compuesto de Fórmula (A1-A6) con 0,9 g de NaCl en 100 mL de agua purificada y se filtra usando un filtro de 0,2 micrómetros. La disolución isotónica resultante se incorpora en unidades de administración oftálmica, tales como contenedores de gotas oculares, que son adecuados para administración oftálmica.

Ejemplo 6: Respuesta Predicha de Niveles de Señalización Tónica de BCR para el Compuesto 1

Para identificar biomarcadores que se correlacionan con la respuesta al Compuesto 1, se investigaron los eventos de fosforilación en la ruta de transducción de la señal de BCR. Se usó un panel de anticuerpos fosfo-específicos que reconocen sitios de fosforilación activadores en Syk, Btk, BLNK, PLC-g1, PLC-g2, ERK, y AKT y se ensayaron los efectos del Compuesto 4 tanto en la fosforilación basal como en la fosforilación después de la estimulación de BCR dirigida por entrecruzamiento anti-IgM o anti-IgG. Examinamos los patrones de fosforilación tanto en una línea celular sensible al Compuesto 1 (DOHH2) y como una línea celular resistente al Compuesto 1 (Ramos).

El Compuesto 1 inhibe la mayor parte de los eventos de fosforilación inducidos por el estímulo BCR con potencia similar en ambas líneas celulares. Sin embargo, cuando examinamos los niveles de fosforilación basal, encontramos una fosforilación basal mayor en DOHH2 comparado con Ramos, con fosfo-ERK en particular indicando niveles mayores de señalización basal o tónica en DOHH2. Además, el Compuesto 4 disminuyó significativamente los niveles de pERK en células DOHH2 no estimuladas ($CI_{50} < 10$ nM), pero no en células Ramos.

Se cribó un panel de nueve líneas celulares de linfoma de células B que expresan Btk para niveles basales de pERK. Siete líneas expresaron niveles significativamente mayores de pERK basal, y de éstas, 5 fueron sensibles al Compuesto 1 ($GI_{50} < 1,3$ uM), mientras las dos líneas celulares con bajos niveles de pERK fueron resistentes al Compuesto 1. Estos datos muestran que la señalización tónica de BCR contribuye a la supervivencia de un subconjunto de líneas celulares de linfoma, y que la inhibición de esta señalización por el Compuesto 4 está correlacionada con la inducción de apoptosis.

Dos experimentos adicionales demuestran que la sensibilidad al Compuesto 1 se correlaciona con altos niveles de pERK. En primer lugar, 1uM del Compuesto 4 reduce la expresión de la diana transcripcional conocida de ERK Egr-1 en 1hr, con una regulación a la baja máxima (10 veces) conseguida sobre las 4hr. En segundo lugar, en la línea celular de linfoma WSU-DLCL2, el entrecruzamiento de BCR por anti-IgG (30ug/ml) supera la inhibición de pERK por el Compuesto 4, lo que muestra que un estímulo BCR fuerte activa rutas paralelas a pERK que no requieren Btk. El estímulo de BCR también rescata WSU-DLCL2 de la citotoxicidad inducida por el Compuesto 1, confirmando adicionalmente que la inhibición de pERK está correlacionada con la inducción de apoptosis por el Compuesto 1. Tomados conjuntamente, estos datos muestran que altos niveles de pERK o dianas transcripcionales de ERK tales como Egr-1 sirven como marcadores útiles para linfomas en los que la señalización tónica de BCR contribuye a la supervivencia celular y que estos linfomas son particularmente sensibles a inhibidores de la ruta de BCR tales como el Compuesto 1.

Plataforma de Descubrimiento de Inhibidores de Quinasa y Dosificación por Pulsos**Ejemplo 1: Diseño de un Inhibidor**

Como los sitios de unión a ATP de las >500 quinasa en el genoma humano están altamente conservados, se ha mostrado que es difícil modificar por ingeniería la selectividad para quinasa individuales usando inhibidores convencionales de unión reversible. Para nuestro inhibidor altamente selectivo de BTK, el Compuesto 1, preparamos por ingeniería un centro electrofílico capaz de inactivar irreversiblemente la enzima diana, BTK. La estrategia empleó un diseño basado en estructura para conseguir un alto grado de potencia y selectividad (1) ajustando el soporte del núcleo en el bolsillo de unión de ATP en el sitio activo de enzimas quinasa, y (2) formando un enlace covalente con la Cisteína-481 localizada en BTK. La química única requerida para la formación de un enlace covalente implica un resto electrofílico que actúa como un aceptor de Michael, que se une a un nucleófilo (tal como Cys-481) presente en una localización precisa en el sitio activo.

Ejemplo 2: Estrategia de Cribado de Inhibidor

Sólo como ejemplo, se generó un panel de 50-100 inhibidores de quinasa dirigidos a Cys. La orientación molecular y posicionamiento del grupo electrofílico en estos inhibidores en relación con el residuo de Cisteína afectará la potencia y selectividad de un inhibidor dado. Se formará un perfil de cada inhibidor para cinética de inhibición de quinasa (K_i) para cada una de las diez quinasa que contienen Cys, efecto en la proliferación de células tumorales (GI_{50}), efecto en no dianas relevantes (hERG, CYPs), características semejantes a fármaco (solubilidad, $clogP$) y capacidad para bloquear el marcaje por la sonda de sitio activo. Este panel de diversos inhibidores se usa entonces en ensayos celulares (por ejemplo, inhibición de crecimiento tumoral) para cribar un fenotipo de interés. Con el fenotipo, la identificación de quinasa adicionales inhibidas se determina usando la sonda de sitio activo y espectrometría de masa.

Ejemplo 3: Inhibición de un Panel de Quinasa para el Compuesto 1 y Compuesto 9

En otro ejemplo, el conector y el resto aceptor de Michael del Compuesto 1 se modificaron para proporcionar el Compuesto 9 que tiene un patrón de selectividad diferente. La Tabla 1 es una tabla que muestra el grado de inhibición de un panel de quinasa para dos compuestos de ejemplo. Las CI_{50} se determinaron usando el ensayo de quinasa in vitro HotSpot (enzimas purificadas, ^{33}P -ATP, un sustrato apropiado y 1uM ATP.). Comparado con el Compuesto 1, el Compuesto 9 tiene una potencia similar frente a Btk, pero significativamente menos potencia frente

a JAK-3, ITK, y EGFR y significativamente más potencia frente a las quinasas de la familia src 1ck, c-src, FGR, Fyn, Hck, y Lyn y Yes. Así, modificaciones ligeras en el resto conector y el resto aceptor de Michael son importantes para el diseño de inhibidores selectivos de ACK.

5 **Tabla 1**

Quinasa	Compuesto 1 CI50 (nM)	Compuesto 9 CI50 (M)
BTK	0,5	1,0
ITK	11,7	909,9
Bmx/ETK	0,8	1,1
TEC	77,8	108,0
EFGR	0,5	20,6
HER2	9,4	1.536,0
HER4	0,1	3,2
LCK	2,0	1,0
BLK	0,5	0,2
C-src	262,6	14,3
FGR	2,3	0,4
Fyn	95,6	7,1
HCK	3,7	1,0
Lyn	16,2	1,2
YES	6,5	0,8
ABL	86,1	32,3
Brk	3,3	3,3
CSK	2,2	2,4
FER	8.070,0	3.346,0
JAK3	10,4	878,0
SYK	> 10.000	> 10.000

Ejemplo 4: Modificación de Restos Conector y Aceptor de Michael y Actividad inhibidora in vitro

En este ejemplo, se seleccionaron compuestos tomando como base las características in vitro para optimizar la potencia de inhibición de quinasas particulares y el grado de unión covalente a cisteínas no diana tales como glutatión. Por ejemplo, en la Tabla 2, el Compuesto **9** y el Compuesto **12** ambos inhiben Btk con una potencia similar al Compuesto **1**, pero los dos son inhibidores significativamente menos potentes de EGFR, ITK, y JAK-3. Como otro ejemplo, el Compuesto **11** es similar al Compuesto **1** para inhibición de Btk pero no se une a glutatión tan fácilmente.

Un valor calculado (por ejemplo, proporción de conjugación (1/Btk Cl_{50})/Glutatión) como se muestra en la Tabla 2) se usa para comparar compuestos por su proporción entre potencia en la inhibición de su diana y su unión no específica a otros grupos SH, tales como los presentes en glutatión. Como se muestra en la Tabla 2, este valor calculado es 4,7 para el Compuesto **1** y 239,6 para el Compuesto **11**. Las proporciones calculadas tales como éstas se usan entonces para comparar cuantitativamente diferentes compuestos y seleccionar compuestos para estudios adicionales.

Ejemplo 4a: Inhibición de Enzimas

Para los ensayos de inhibición de enzimas, los compuestos se ensayaron en un intervalo de diez concentraciones desde 10uM hasta 0,0005 uM usando enzimas purificadas y el ensayo de quinasa Hotspot. Las condiciones de la reacción fueron 1uM ATP, una incubación de una hora con inhibidor, y actividad quinasa detectada usando fosforilación con 33-ATP de un sustrato peptídico seleccionado apropiadamente. Se ajustaron las curvas de respuesta a la dosis usando Prism, y se determinó la Cl_{50} , la concentración a la que la inhibición de la enzima es 50% de la inhibición máxima. Véase la Tabla 2.

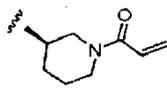
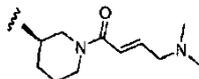
Ejemplo 4b: Ensayos de Unión a Glutatión

Para los ensayos de unión a glutatión, se combinaron 5 mM glutatión, 10 μ M inhibidor de Btk en DMSO (10 μ L) y 6 equivalentes de N'N' Diisopropil etil amina en 1 mL de tampón fosfato de potasio. La mezcla se incubó durante 0, 15, 60 minutos a temperatura ambiente y la reacción se paró con 10 equivalentes de ácido fórmico. Se inyectaron 50 μ L de cada mezcla de reacción en HPLC (Fase Móvil A: 0,2 % ácido fórmico en agua, Fase Móvil B: 0,2% ácido fórmico en acetonitrilo, Columna de HPLC: Metasil Basic 3 μ , 150 x 4,6 mm, 10%B, Gradiente: 10% a 90%B, Detección: UV/Vis 260 nM). La velocidad de reacción se reportó como nmoles de conversión de conjugado GSH por minuto a partir de la velocidad normalizada para el área bajo la curva de los cromatogramas de HPLC tanto para conjugado GSH como parental.

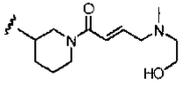
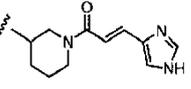
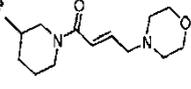
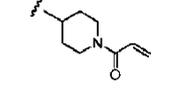
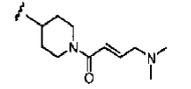
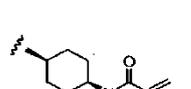
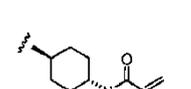
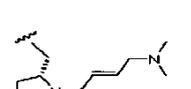
Ejemplo 4c: Ensayo de Proliferación Celular

Se generan análogos que son inhibidores de Btk y que son citotóxicos para la línea celular de linfoma DOHH2. Véase la Tabla 2. Para el ensayo de proliferación de células DOHH2, las células se sembraron en placas de 96 pocillos en medio de crecimiento estándar (RPMI + 10% suero de ternera fetal) y se añadieron los compuestos en una serie de dilución de 9 puntos que varía de 10uM a 0,04 uM con DMSO a una concentración final de 0,1% en todos los pocillos. Después de 72 horas, se midió el número de células usando Alamar Azul usando el protocolo del fabricante. En paralelo se corrió una serie de diluciones de células no tratadas para verificar que el ensayo Alamar Azul reflejaba de manera fiable el número de células y que las condiciones de crecimiento no eran limitativas. La GI_{50} , la concentración que resulta en una disminución del 50% en el número de células, se calculó usando Calcsyn para ajustar la curva de respuesta a la dosis.

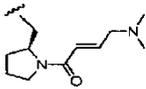
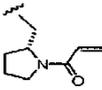
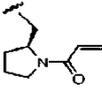
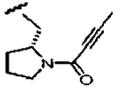
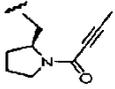
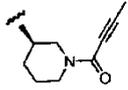
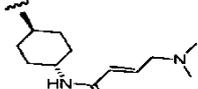
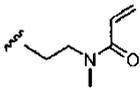
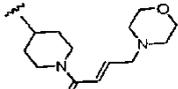
Tabla 2.

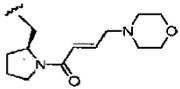
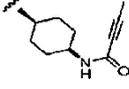
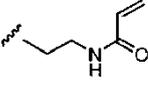
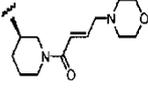
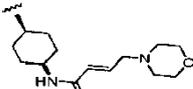
#	Estructura del Compuesto	BTK Cl_{50} (nM)	ITK Cl_{50} (nM)	EGFR Cl_{50} (nM)	LCK Cl_{50} (nM)	JAK3 Cl_{50} (nM)	Velocidad Conj Glutatión (nmoles/min)	(1/BTK Cl_{50}) / Glutatión Proporción	DOHH2 GI_{50} (μ M)
1		0,5	11,7	0,5	2,0	10,4	0,398	4,7	0,1
2		1,1		48,8					0,32

ES 2 562 215 T3

#	Estructura del Compuesto	BTK Cl ₅₀ (nM)	ITK Cl ₅₀ (nM)	EGFR Cl ₅₀ (nM)	LCK Cl ₅₀ (nM)	JAK3 Cl ₅₀ (nM)	Velocidad Conj Glutación (nmoles/min)	(1/BTK Cl ₅₀) / Glutación Proporción	DOHH2 Cl ₅₀ (μM)
3		21		74,5					
4		22,2		487,6					
5		5,6		326,0			0,004	44,5	
6		3,1		60,9			0,39	0,8	
7		6,3	6.123	268,7	2,6	> 10.000	0,01	15,9	0,317
8		1,4		83,4					
9		1,0	909,9	20,6	1,0	8.278,0			0,011
10		1,31	1.954	44,5	0,88	> 10.000			<0,03
11		0,92	6891	18,85	2,43	> 10.000	0,004525	239,6	>10

ES 2 562 215 T3

#	Estructura del Compuesto	BTK Cl ₅₀ (nM)	ITK Cl ₅₀ (nM)	EGFR Cl ₅₀ (nM)	LCK Cl ₅₀ (nM)	JAK3 Cl ₅₀ (nM)	Velocidad Conj Glutación (nmoles/min)	(1/BTK Cl ₅₀) / Glutación Proporción	DOHH2 Cl ₅₀ (μM)
12		1,33	14.290	698,3	5,97	> 10.000	0,004361	172,2	>10
13		0,67	3.013	18,75	1,56	12.980			0,24
14		0,39	592,3	2,298	9,24	1.456			0,37
15		4,16	21.100	289,4	5,90	> 10,000			0,59
16		3,14	> 10,000	2.807	3,82	> 10,000			0,21
17		2,00	2.333	435,3	2,07	> 10.000	0,0243	20,6	0,21
18		1,38	2,536	22,53	0,76	> 10,000			<0,03
19		1,58	534,6	28,22	6,62	5.997			0,69
20		4,07	7.993	303,60	98,59	> 10.000			0,39

#	Estructura del Compuesto	BTK Cl ₅₀ (nM)	ITK Cl ₅₀ (nM)	EGFR Cl ₅₀ (nM)	LCK Cl ₅₀ (nM)	JAK3 Cl ₅₀ (nM)	Velocidad Conj Glutación (nmoles/min)	(1/BTK Cl ₅₀) / Glutación Proporción	DOHH2 Cl ₅₀ (μM)
21		4,15	> 10.000	6.238,00	1.346	> 10.000			1,53
22		1,57	3.691	156,30	22,12	> 10.000	0,014	45,4	<0,04
23		0,32	830	70,49	208,00	3.306,00			0,11
24		0,89	476	383,70	235,40	9.077,00			0,44
25		3,48	> 10.000	272,90	25,81	>10.000			0,05

Ejemplo 5: Selectividad del Inhibidor de Quinasa Predicha por Dosificación

El Compuesto 1 y Compuesto 12 tienen una vida media corta in vivo. Por el contrario, el Compuesto 7 y Compuesto 8 tienen una vida media significativamente mayor in vivo (Figura 5). Los Compuestos como 1 y 12 se predice que tienen una selectividad para quinasa aumentada in vivo porque la inhibición sólo se mantendrá para aquellas quinasas que se inhiben irreversiblemente.

Se administró a ratas macho canuladas en la vena yugular una única dosis de todos los compuestos de ensayo a 8mg/kg cada uno, en combinación por sonda oral. Los volúmenes de las dosis se ajustaron tomando como base los datos del peso corporal recogidos inmediatamente antes de la dosificación. Se recogieron muestras de sangre a las 0,0833 (5 minutos), 0,333 (20 minutos), 1, 3, 6, 9, y 24 horas después de la dosificación de ratas dosificadas oralmente. Las muestras se recogieron en tubos Microtainer separadores de plasma con anticoagulante (heparina litio). Las muestras de plasma se prepararon por centrifugación (5 min a 5.000 x g), y al menos 100 μL se transfirieron a tubos de almacenamiento y se almacenaron congeladas a -80°C. Las muestras de plasma se descongelaron y se transfirieron alicuotas de 75 uL a tubos de centrifuga a los que se añadieron alicuotas de 10 μL de disolución de estándar interno (1 μg/mL). Las muestras no se diluyeron con plasma blanco antes de procesamiento adicional. Las proteínas solubles se precipitaron por la adición de 200 μL de acetonitrilo, seguido de centrifugación (20 min a 16.000 x g). Las muestras se evaporaron a sequedad y se reconstituyeron en 200 μL de agua que contenía 0,2% ácido fórmico y 10% metanol. Todas las muestras se cargaron en un automuestreador mantenido a 6°C y se evaluaron para concentraciones de compuestos de ensayo usando LC-MS/MS.

Ejemplo 6: Inhibición de Células B

Una breve exposición al Compuesto 1 in vitro es suficiente para inhibir la activación de las células B en células B humanas normales (Figura 6). Este protocolo mimetiza la exposición predicha de células al Compuesto 1 in vivo y demuestra que la inhibición de células B se mantiene a pesar de eliminar por lavado el Compuesto 1.

Las células B se purificaron de sangre de donantes sanos por selección negativa usando la mezcla de enriquecimiento de células B humanas RosetteSep. Las células se sembraron en placas en medio de crecimiento

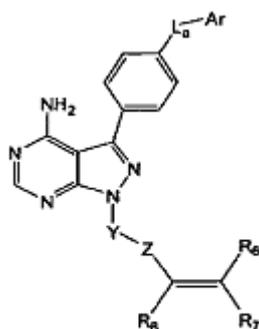
(10% RPMI + 10% suero de ternera fetal) y se añadieron concentraciones indicadas del Compuesto 1. Después de incubar durante 1 hora a 37°C, las células se lavaron tres veces usando una dilución de 8 veces en medio de crecimiento para cada lavado. Las células se estimularon con 10ug/ml de IgM F(ab')₂ durante 18 horas a 37°C. Las células se tiñeron con anticuerpo anti-CD69-PE y se analizaron por citometría de flujo usando condiciones estándar.

5 **Ejemplo 7: Optimización del Índice Terapéutico de los Inhibidores de Quinasa**

10 Dado que los inhibidores de quinasa descritos anteriormente tendrán actividades tanto reversibles como irreversibles, seleccionamos sus propiedades *in vivo* de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) con el fin de optimizar el índice terapéutico. Específicamente, se espera que los compuestos que se aclaran rápidamente causen sólo una breve inhibición de dianas inhibidas reversiblemente mientras se mantiene la inhibición sostenida de dianas inhibidas irreversiblemente. Dependiendo del grado en el que la inhibición sostenida de dianas particulares resulta en efectos terapéuticos o toxicidades, identificamos compuestos con una combinación óptima de perfiles de selectividad *in vitro* y propiedades ADME *in vivo*.

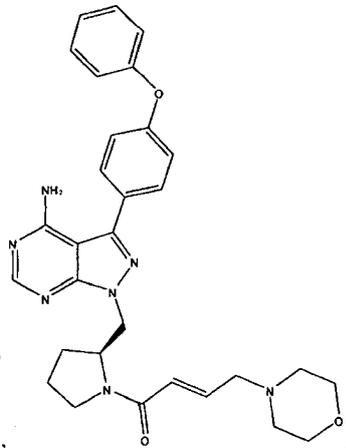
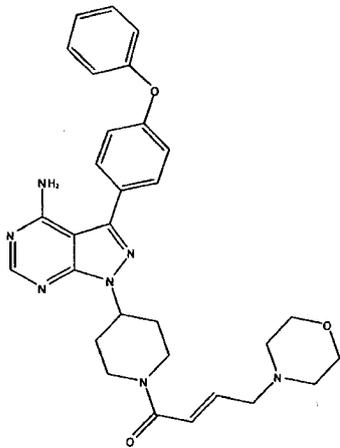
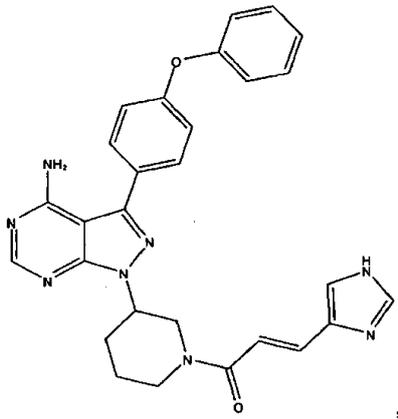
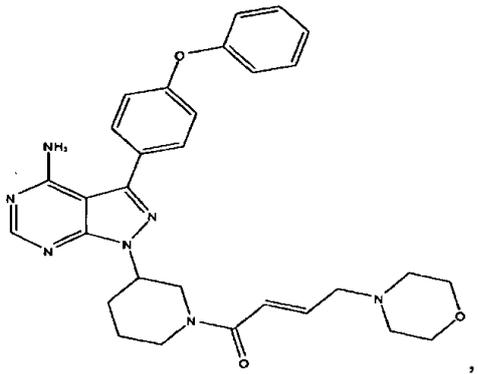
REIVINDICACIONES

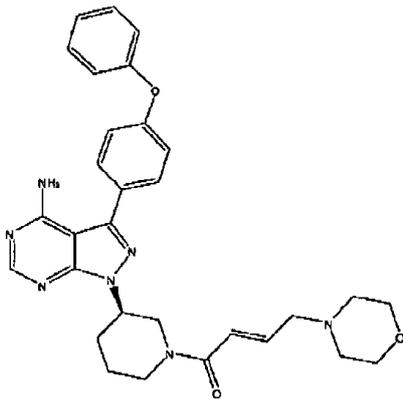
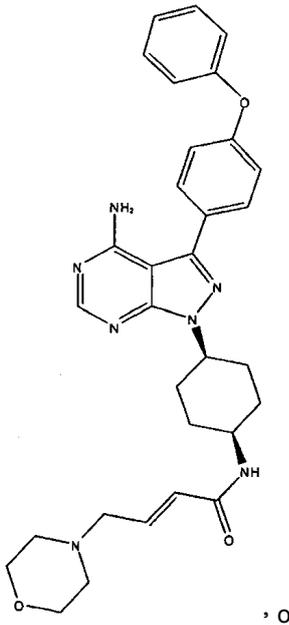
1. Un compuesto de Fórmula (I),



FÓRMULA (I)

- 5 en la que:
 La es O;
 Ar es fenilo;
 Y es alquilenheterocicloalquileno;
- 10 Z es C(=O), NHC(=O), NR^aC(=O), o NR^aS(=O)_x, en el que x es 1 ó 2, y R^a es H, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido;
 y:
 R₆ y R₈ son H; y
- 15 R₇ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, heteroalquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, hidroxialquilaminoalquiloC₁-C₈, alcoxialquilaminoalquiloC₁-C₈, cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquilC₁-C₄(arilo), alquilC₁-C₄(heteroarilo), heterocicloalquiloC₂-C₈sustituido o no sustituido, alquiléteresC₁-C₈, alquilamidasC₁-C₈, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈); o
 una sal farmacéuticamente aceptable de éste.
- 20 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que:
 R₇ es H, alquiloC₁-C₄ sustituido o no sustituido, alquilaminoalquiloC₁-C₈, alquilC₁-C₈cicloalquiloC₃-C₆ sustituido o no sustituido, o alquilC₁-C₄(heterocicloalquiloC₂-C₈).
3. Un compuesto seleccionado de:





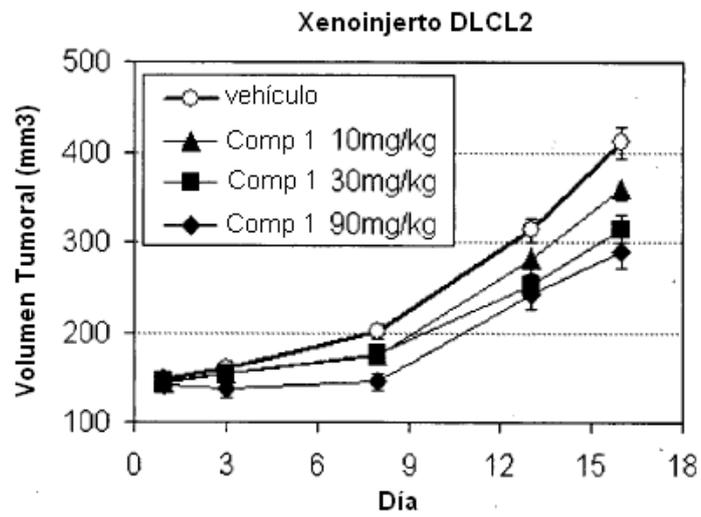
o una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

4. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3 para uso como un medicamento.
5. Un compuesto para uso según la reivindicación 4 para uso en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, un trastorno heteroinmune, enfermedades inflamatorias, trastornos alérgicos, trastorno proliferativo de las células B, o trastornos tromboembólicos.
6. Un compuesto para uso según la reivindicación 5 para uso en el tratamiento de artritis reumatoide, o lupus.
7. Un compuesto para uso según la reivindicación 5 para uso en el tratamiento de enfermedad de injerto frente a huésped, trasplante, transfusión, anafilaxis, alergia, hipersensibilidad tipo I, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica, o dermatitis atópica.
8. Un compuesto para uso según la reivindicación 5 para uso en el tratamiento de un trastorno proliferativo de las células B.
9. Un compuesto para uso según la reivindicación 5 para uso en el tratamiento de linfoma de células B grandes difuso, linfoma folicular, leucemia linfocítica crónica.
10. Una composición farmacéutica que comprende (a) una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3; y (b) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

A

Línea Celular	Comp 1 GI50 (uM)
LY10	0,1
WSU-NHL	0,12
DOHH2	0,12
Mino	0,15
DHL6	0,18
WSU-DLCL2	0,5
DHL4	0,53
DHL10	3,69
Ramos	5,5
HF1	>10
LY19	>10
LY3	>10
DB	>10

B



C

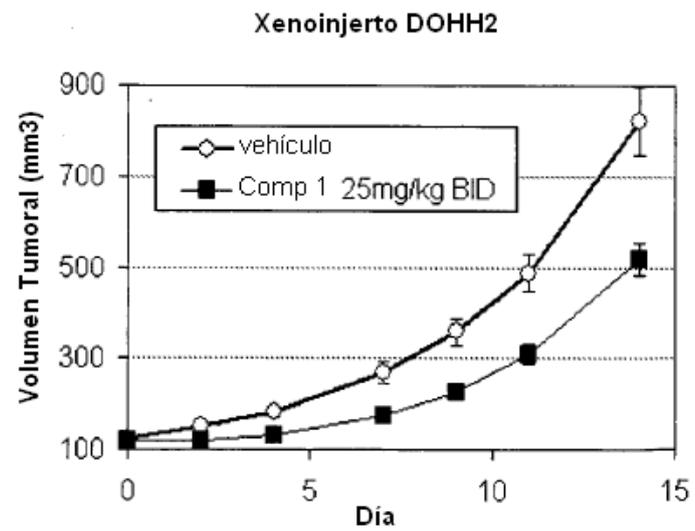


Figura 1

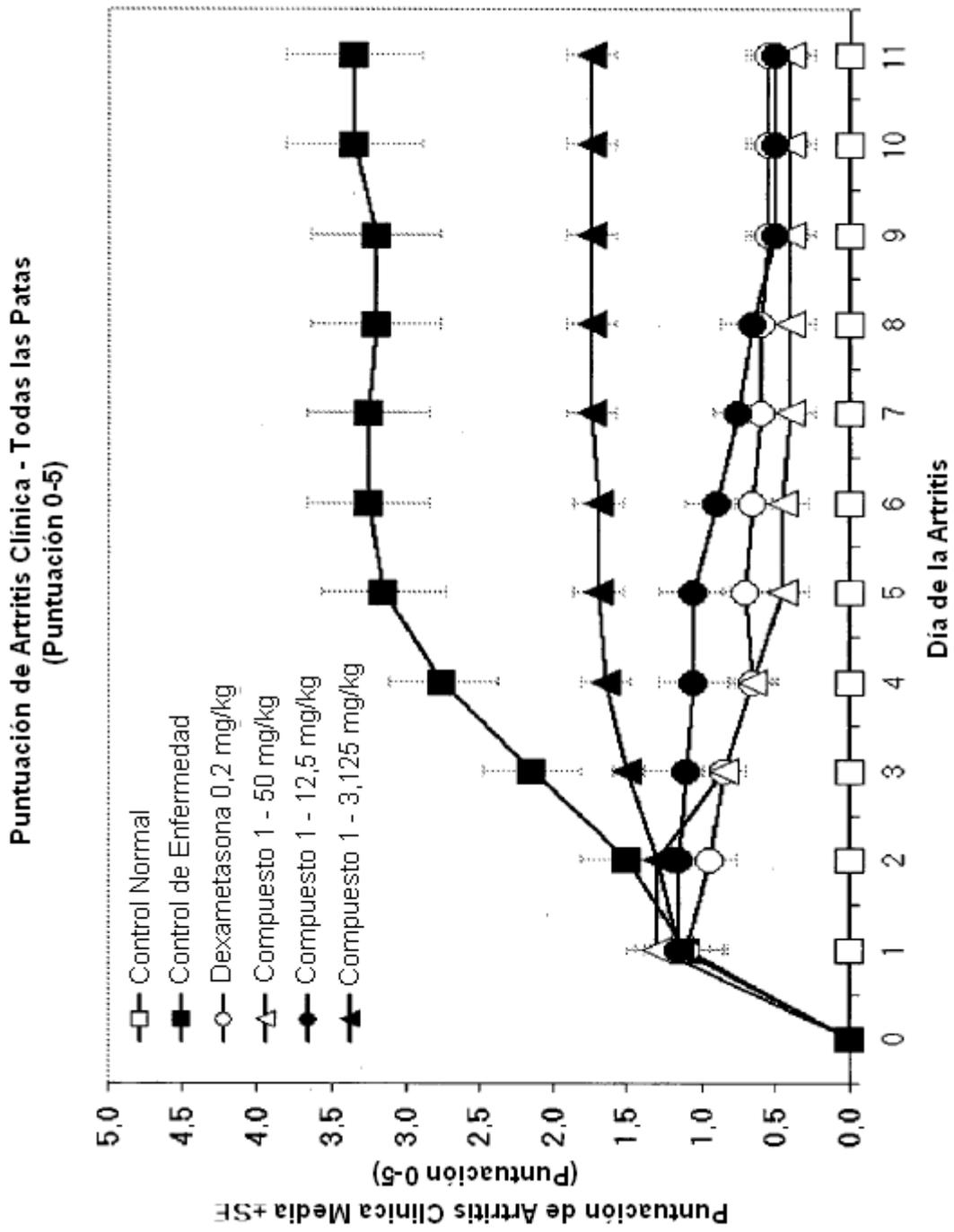


Figura 2

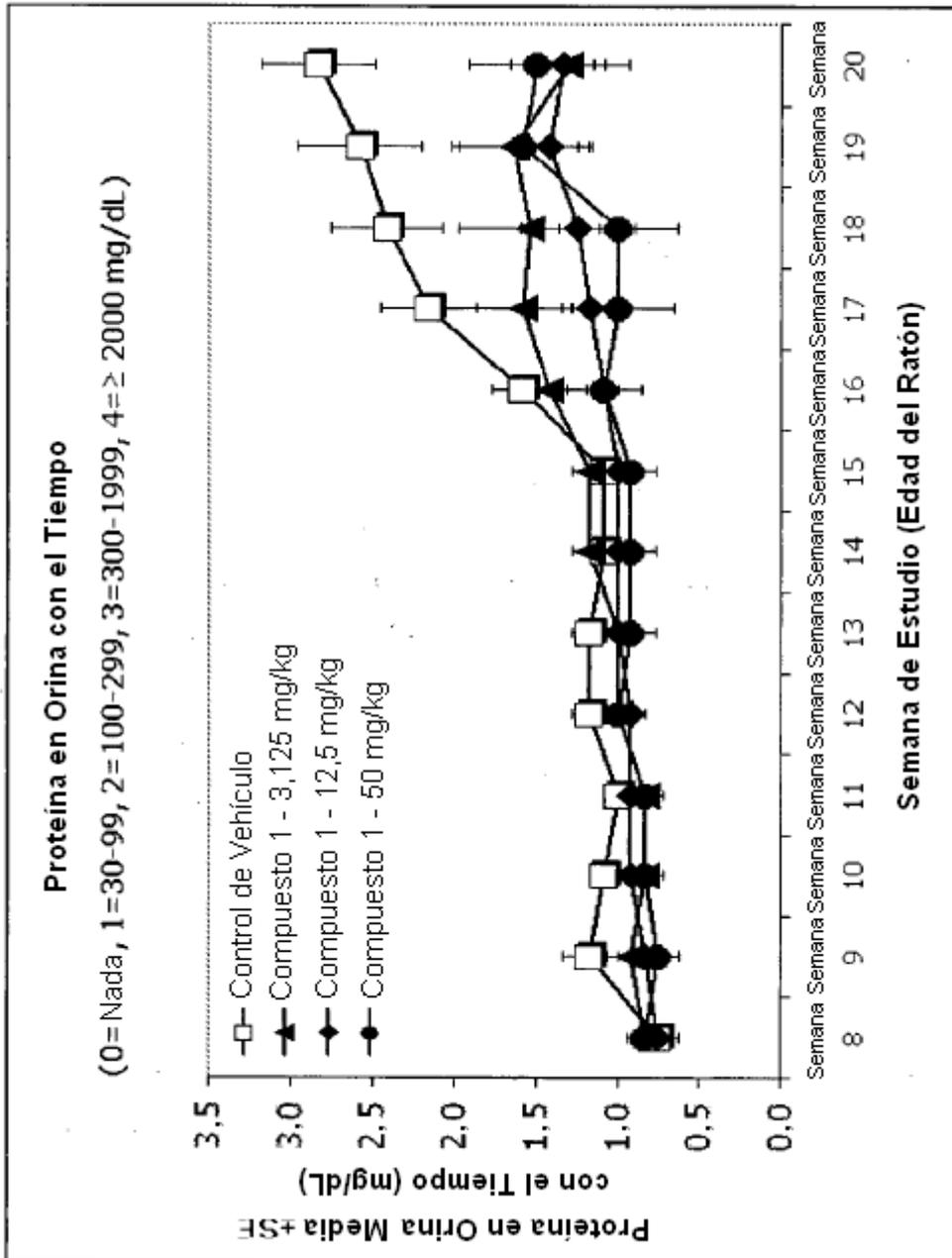


Figura 3

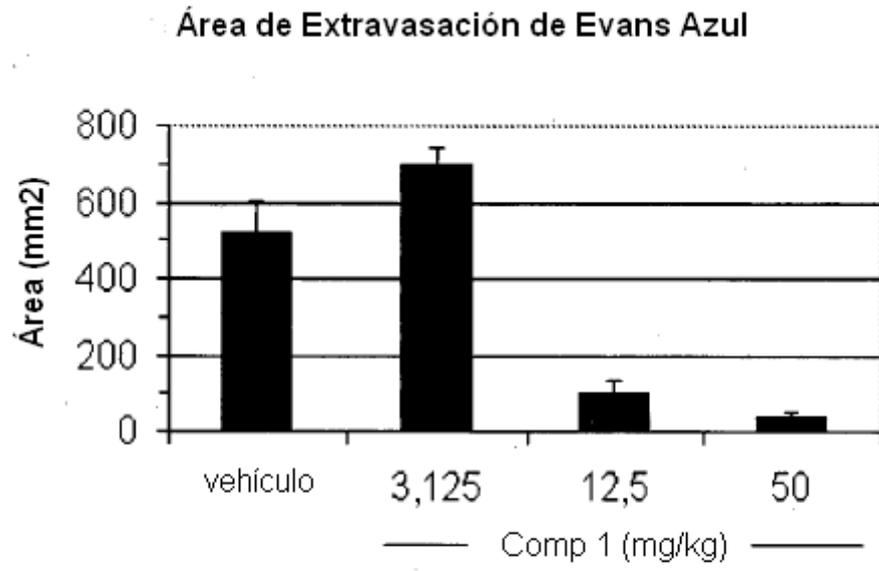


Figura 4

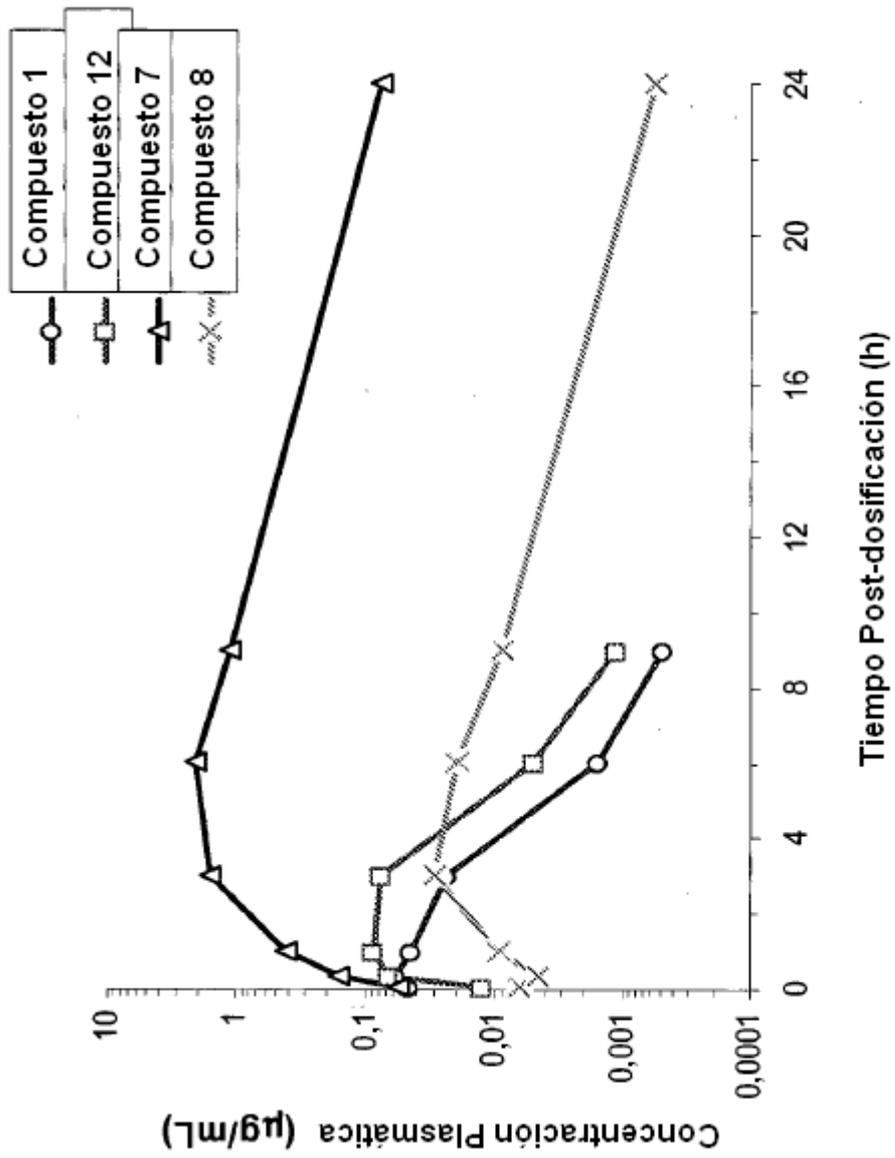


Figura 5

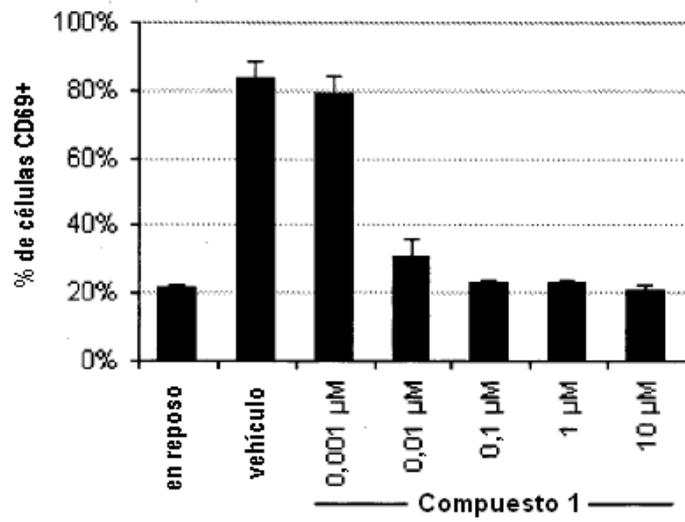
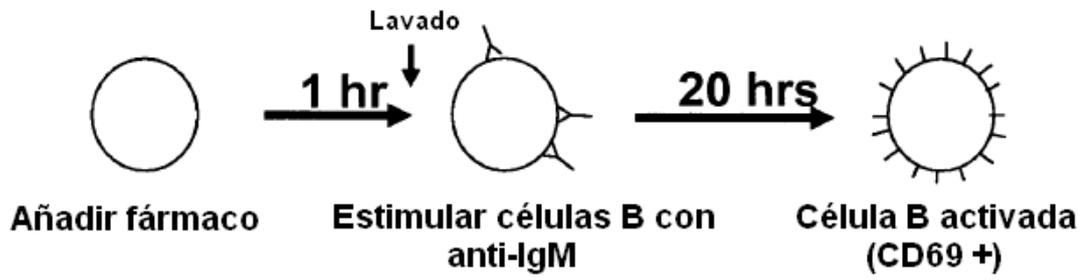


Figura 6

#	473	<u>474</u>	475	476	477	478	479	480	<u>481</u>	482	483
BLK	I	<u>T</u>	E	Y	M	A	N	G	<u>C</u>	L	L
BMX	V	<u>T</u>	E	Y	M	A	R	G	<u>C</u>	L	L
TEC	V	<u>T</u>	E	F	M	E	R	G	<u>C</u>	L	L
TXK	V	<u>T</u>	E	F	M	E	N	G	<u>C</u>	L	L
ITK	V	<u>F</u>	E	F	M	E	H	G	<u>C</u>	L	S
EGFR	I	<u>T</u>	Q	L	M	P	F	G	<u>C</u>	L	L
ErbB2	V	<u>T</u>	Q	L	M	P	Y	G	<u>C</u>	L	L
ErbB4	V	<u>T</u>	Q	L	M	P	H	G	<u>C</u>	L	L
JAK3	V	<u>M</u>	E	Y	L	P	S	G	<u>C</u>	L	R
BLK	V	<u>T</u>	E	Y	L	P	S	G	<u>C</u>	L	L
LCK	I	<u>T</u>	E	Y	M	E	N	G	<u>S</u>	L	V
LYN	I	<u>T</u>	E	Y	M	A	K	G	<u>S</u>	L	L
SYK	V	<u>M</u>	E	M	A	E	L	G	<u>P</u>	L	N

Figura 7