

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 579 942**

51 Int. Cl.:

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.08.2011 E 11758010 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2016 EP 2611796**

54 Título: **Pirazolilaminoquinazolina ópticamente activa y composiciones farmacéuticas y métodos de uso de la misma**

30 Prioridad:

01.09.2010 US 379280 P

01.09.2010 US 379286 P

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

17.08.2016

73 Titular/es:

AMBIT BIOSCIENCES CORPORATION (100.0%)
11080 Roselle Street
San Diego, CA 92121, US

72 Inventor/es:

HOLLADAY, MARK, W. y
SETTI, EDUARDO

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 579 942 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

Pirazolilaminoquinazolina ópticamente activa y composiciones farmacéuticas y métodos de uso de la misma

Campo

5 En la presente memoria se proporciona una pirazolilaminoquinazolina ópticamente activa y composiciones farmacéuticas de la misma. También se proporciona en la presente memoria el compuesto inventivo y composiciones farmacéuticas del mismo para su uso en un método para el tratamiento, la prevención o la mejora de uno o más síntomas de una afección, un trastorno o una enfermedad mediada por la JAK. Adicionalmente se proporciona en la presente memoria el compuesto inventivo y composiciones farmacéuticas del mismo para su uso en un método para el tratamiento, la prevención o la mejora de uno o más síntomas de una enfermedad proliferativa, de una enfermedad inflamatoria o de una enfermedad renal.

Antecedentes

15 La familia de las cinasas JAK es una familia de cinasas de proteínas citoplasmáticas que comprende los miembros JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2. Los receptores de factores de crecimiento o de citocinas que reclutan las cinasas JAK incluyen los receptores del interferón, los receptores de las interleucinas (receptores para las citocinas IL-2 hasta IL-7, IL-9 hasta IL-13, IL-15, IL-23), varios receptores de hormonas (el receptor de la eritropoyetina (Epo), el receptor de la trombopoyetina (Tpo), el receptor de la leptina, el receptor de la insulina, el receptor de la prolactina (PRL), el receptor del factor estimulante de las colonias de granulocitos (G-CSF), el receptor de la hormona de crecimiento, los receptores de tirosina-cinasas de proteínas (tales como EGFR y PDGFR) y receptores de otros factores de crecimiento (factor inhibidor de la leucemia (LIF), oncostatina M (OSM), IFN $\alpha/\beta/\gamma$, factor estimulante de las colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), factor neurotrófico ciliar (CNTF) y cardiotrofina-1 (CT-1)). Véase Rane y Reddy, *Oncogene* 2000, 19, 5662-5679.

25 Los receptores fosforilados sirven como sitios de anclaje para otras moléculas de señalización que contienen el dominio SH-2 que interactúan con las JAK, tales como la familia de factores de transcripción STAT, la familia de cinasas Src, las cinasas MAP, la cinasa PB y las tirosina-fosfatasa de proteínas (Rane y Reddy, *Oncogene* 2000, 19, 5662-5679). La familia de los factores de transcripción citoplásmicos latentes, STAT, son los sustratos cascada abajo mejor caracterizados de las JAK. Las proteínas STAT se unen a los receptores fosforilados de la citocina a través de sus dominios SH2 para ser fosforilados por las JAK, lo que produce su dimerización, su liberación y finalmente su translocación al núcleo, donde activan la transcripción génica. Los diversos miembros de las STAT que han sido identificados hasta ahora son STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5 (incluyendo STAT5a y STAT5b) y STAT6.

30 Dado que las cinasas JAK pueden jugar un importante papel de señalización a través de dichos receptores, los trastornos del metabolismo de las grasas, los trastornos del crecimiento y los trastornos del sistema inmunitario son, todos, potenciales objetivos terapéuticos.

35 Las mutaciones en las cinasas JAK y JAK2 están implicadas en trastornos mieloproliferativos, en cánceres, incluyendo tumores sanguíneos y tumores sólidos. Algunos ejemplos de trastornos incluyen leucemia mieloide crónica (CML), policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (ET), mielofibrosis primaria (PME), leucemia eosinofílica crónica (CEL), leucemia mielomonocítica crónica (CMML) y mastocitosis sistémica (SM). Se cree que los trastornos mieloproliferativos surgen a partir de mutaciones de aumento de la función de la propia JAK o a partir de la activación por la oncoproteína BCR-ABL, que activa específicamente la ruta de la JAK2. Varios informes de la bibliografía describen el papel de las mutaciones de la JAK2 en varios trastornos. Véase Samanta *et al.*, *Cancer Res.* 2006, 66, 6468-6472; Sawyers *et al.*, *Cell* 1992, 70, 901- 910; Tefferi, *N. Eng. J. Med.* 2007, 356, 444-445; Baxter *et al* *Lancet* 2005, 365, 1054- 1056; Jones *et al.*, *Blood* 2005, 106, 2162-2168; Levine *et al.*, *Blood* 2006, 107, 4139-4141; Campbell *et al.*, *Blood* 2006, 107, 2098-2100; Scott *et al.*, *N. Eng. J. Med.* 2007, 356, 459- 468; Mercher *et al.*, *Blood* 2006, 108, 2770-2778; Lacronique *et al.*, *Science* 1997, 278, 1309-1312; Lacronique *et al.*, *Blood* 2000, 95, 2535-2540; Griesinger *et al.*, *Genes Chromosomes Cancer* 2005, 44, 329-333; Bousquet *et al.*, *Oncogene* 2005, 24, 7248-7252; Schwaller *et al.*, *Mol. Cell.* 2000 6, 693-704; y Zhao *et al.*, *EMBO* 2002, 21, 2159-2167.

40 La bibliografía indica que la JAK también puede servir como objetivo en el cáncer de próstata, incluyendo el cáncer de próstata resistente a los andrógenos. Véase Barton *et al.*, *Mol. Cane. Ther.* 2004, 3, 11-20, Blume-Jensen *et al.*, *Nature* 2001, 411, 355-356; Bromberg, *J. Clin. Invest.* 2002, 109, 1139-1142; y Rane, *Oncogene* 2000, 19, 5662-5679. Se considera que la JAK, como mediador importante de la ruta de señalización de las citocinas, es un objetivo terapéutico para la inflamación y los rechazos de trasplantes. Véase Borie *et al.*, *Transplantation* 2005, 79, 791-801; y Milici *et al.*, *Arthritis Research* 2008, 10, 1-9.

55 Dada la multitud de enfermedades atribuidas a la desregulación de la señalización de las JAK, actualmente se están desarrollando muchos inhibidores de molécula pequeña de las JAK. Algunos ejemplos de compuestos en desarrollo preclínico incluyen TGI 01209 (TargeGen), y algunos ejemplos de compuestos que se están investigando en estudios clínicos incluyen INCBO18424 (Incyte), XLO19 (Exelixis) y TG101348 (TargeGen). Véase Pardanani *et al.*, *Leukemia* 2007, 21, 1658-1668; y Pardanai, *Leukemia* 2008, 22, 23-20.

El documento US 2005/0380023 describe inhibidores de cinasas que son estructuralmente distintos a los compuestos descritos en la presente invención.

Kiss et al., *Expert Opin. Ther. Patents*, vol. 20, nº 4, 2010, páginas 471-495, es un artículo de revisión que describe varios inhibidores de la JAK-2.

- 5 Sin embargo, existe una necesidad de un compuesto que sea útil como inhibidor de las cinasas JAK para aplicaciones terapéuticas.

Compendio de la descripción

10 En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo; o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, en la presente memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo; o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo; y un portador, un excipiente o un diluyente farmacéutico.

15 Adicionalmente en ciertas realizaciones de la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en métodos para el tratamiento, la prevención o la mejora de uno o más síntomas de una enfermedad proliferativa, de una enfermedad inflamatoria o de una enfermedad renal en un sujeto, que comprenden la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para el tratamiento, la prevención o la mejora de uno o más síntomas de una afección, un trastorno o una enfermedad mediados por la JAK en un sujeto, que comprende la administración al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la inhibición del crecimiento de una célula, que comprende poner en contacto la célula con (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o con una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la inhibición del crecimiento de una célula en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la modulación de la actividad de una cinasa JAK, que comprende poner en contacto la cinasa JAK con (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o con una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la modulación de la actividad de una cinasa JAK en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la prevención, el tratamiento o la mejora de uno o más síntomas de una afección, o un trastorno o una enfermedad mediada por el receptor A₃ de adenosina en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

55 En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-

il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la prevención, el tratamiento o la mejora de uno o más síntomas del glaucoma o de la hipertensión ocular en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la modulación de la actividad de un receptor A₃ de adenosina, que comprende poner en contacto el receptor A₃ de adenosina con una cantidad eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo

En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para regular por disminución la actividad de un receptor A₃ de adenosina, que comprende poner en contacto el receptor A₃ de adenosina con una cantidad eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, en la presente memoria se proporciona un método para la preparación de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende la resolución del (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico mediante una cromatografía quiral.

En una realización, en la presente memoria se proporciona un método para la preparación de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende la etapa de hidrogenar la (4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanona en presencia de un catalizador quiral. En ciertas realizaciones, el catalizador quiral es [(R)-P-Phos RuCl₂ (R)-DAIPEN].

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 representa un cromatograma de CL para la resolución de los dos enantiómeros del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol mediante una cromatografía líquida quiral a alta presión sobre una columna quiral RegisCell eluyendo con 85:15 de hexano/isopropanol.

La FIG. 2 representa la estructura cristalina de rayos X de la sal del ácido (R)-(-)-canfor sulfónico del (R)-4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo.

La FIG. 3 representa la estructura cristalina de rayos X del (R)-4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo.

La FIG. 4 ilustra los resultados del análisis de supervivencia de Kaplan Meier para el (R)-4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol en comparación con el racemato.

La FIG. 5 ilustra los resultados del análisis de supervivencia de Kaplan Meier para el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol en comparación con el racemato.

La FIG. 6 proporciona una comparación de la captación de hidrógeno para la hidrogenación de la (4-fluorofenil)(4-(5-metil-4H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanona mediante el uso de un cosolvente de DMSO al 10 % y al 20 % (v/v) con alcohol isopropílico a 60 °C, a una presión de hidrógeno de 5 bar y con una carga de catalizador de 4.000/1 de S/C.

La FIG. 7 proporciona la captación de hidrógeno con respecto al tiempo para la hidrogenación de la (4-fluorofenil)(4-(5-metil-4H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanona mediante el uso de un cosolvente de DMSO al 10 % (v/v) con alcohol isopropílico a 70 °C, a una presión de hidrógeno de 5 bar y con una carga de catalizador de 4.000/1 de S/C.

La FIG. 8 proporciona la captación de hidrógeno con respecto al tiempo para la hidrogenación de la (4-fluorofenil)(4-(5-metil-4H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanona mediante el uso de un cosolvente de DMSO al 10 % (v/v) con alcohol isopropílico a 70 °C, a una presión de hidrógeno de 5 bar y con una carga de catalizador de 10.000/1 de S/C.

Descripción detallada

Para facilitar la comprensión de la descripción establecida en la presente memoria, a continuación se definen varios términos.

Generalmente, la nomenclatura usada en la presente memoria y en los procedimientos de laboratorio de química orgánica, química médica, química física, bioquímica, biología, farmacología y otros descritos en la presente

memoria son, todos, bien conocidos y se emplean habitualmente en la técnica. Salvo que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen generalmente el mismo significado al comprendido habitualmente por el experto habitual en la técnica a la que pertenece esta descripción.

5 El término "tumor," "neoplasma" y "trastorno o enfermedad neoplásica" se usan de forma intercambiable en la presente memoria y se entiende que se refieren a una proliferación celular no deseada de uno o más subconjuntos de células en un organismo pluricelular que da como resultado un daño (es decir, malestar o una disminución en la esperanza de vida) en los organismos pluricelulares. En ciertas realizaciones, un tumor puede ser benigno (no invasivo) o maligno (invasivo).

10 Se entiende que el término "cáncer" se refiere a un neoplasma maligno, que está caracterizado por una proliferación celular incontrolada en la que las células han perdido sus controles de regulación normales que de otro modo gobernarían la velocidad de crecimiento celular. Estas células en división no reguladas pueden diseminarse por todo el cuerpo e invadir los tejidos normales en un proceso denominado "metástasis".

15 El término "sujeto" se refiere a un animal, incluyendo, pero no se limitan a, un primate (por ejemplo, un ser humano), una vaca, un cerdo, una oveja, una cabra, un caballo, un perro, un gato, un conejo, una rata o un ratón. Los términos "sujeto" y "paciente" se usan de forma intercambiable en la presente memoria en referencia, por ejemplo, a un sujeto mamífero, tal como un sujeto humano, en una realización, a un ser humano.

Se entiende que los términos "tratar" y "tratamiento" incluyen el alivio o la anulación de un trastorno, de una enfermedad o de una afección, o de uno o más de los síntomas asociados con el trastorno, la enfermedad o la afección; o el alivio o la erradicación de la(s) causa(s) del propio trastorno, de la enfermedad o de la afección.

20 Se entiende que los términos "prevenir" y "prevención" incluyen un método para retrasar y/o descartar la aparición de un trastorno, de una enfermedad o de una afección, y/o de los síntomas que los acompañan; para evitar que un sujeto adquiera un trastorno, una enfermedad o una afección; o para reducir el riesgo de que un sujeto adquiera un trastorno, una enfermedad o una afección.

25 Se entiende que los términos "poner en contacto" o "contacto" se refieren a juntar entre sí un agente terapéutico y una célula o un tejido, de forma que se produzca un efecto fisiológico y/o químico como resultado de dicho contacto. El contacto puede tener lugar *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*. En una realización, se pone en contacto un agente terapéutico con una célula en un cultivo celular (*in vitro*) para determinar el efecto del agente terapéutico sobre la célula. En otra realización, el contacto de un agente terapéutico con una célula o un tejido incluye la administración de un agente terapéutico a un sujeto que tiene la célula o el tejido con el que entrar en contacto.

30 Se entiende que el término "cantidad terapéuticamente eficaz" incluye la cantidad de un compuesto que, cuando es administrada, es suficiente para prevenir al desarrollo o aliviar hasta cierto punto uno o más de los síntomas del trastorno, de la enfermedad o de la afección que se va a tratar. El término "cantidad terapéuticamente eficaz" también se refiere a la cantidad de un compuesto que es suficiente para desencadenar la respuesta biológica o médica de una molécula biológica (por ejemplo, de una proteína, enzima, ARN o ADN), de una célula, de un tejido, de un sistema, de un animal o de un ser humano, que está siendo buscada por el investigador, el veterinario, el médico o el profesional clínico.

El término "CI₅₀" o "CE₅₀" se refiere a una cantidad, una concentración o una dosis de un compuesto que es necesaria para una inhibición del 50 % de una respuesta máxima en un ensayo que mide dicha respuesta.

40 El término "portador farmacéuticamente aceptable", "excipiente farmacéuticamente aceptable", "portador fisiológicamente aceptable" o "excipiente fisiológicamente aceptable" se refiere a un material, una composición o un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un líquido, un relleno sólido, un diluyente, un disolvente o un material de encapsulación. En una realización, cada componente es "farmacéuticamente aceptable" en el sentido de que es compatible con los demás ingredientes de una formulación farmacéutica, y adecuado para su uso en contacto con tejidos u órganos de seres humanos y animales sin ninguna excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad ni otros problemas o complicaciones, proporcionado con una proporción riesgo/beneficio razonable. Véase *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 21ª ed.; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005; *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6ª ed.; Rowe *et al.*, Eds.; The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009; *Handbook of Pharmaceutical Additives*, 3ª ed.; Ash y Ash Eds.; Gower Publishing Company: 2007; y *Pharmaceutical Preformulation and Formulation*, 2ª ed.; Gibson Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2009.

50 El término "aproximadamente" significa un error aceptable para un valor en particular según es determinado por un experto habitual en la técnica, que depende en parte de cómo se mida o se determine el valor. En ciertas realizaciones, el término "aproximadamente" significa dentro de 1, 2, 3 o 4 desviaciones estándar. En ciertas realizaciones, el término "aproximadamente" significa dentro del 50 %, del 20 %, del 15 %, del 10 %, del 9 %, del 8 %, del 7 %, del 6 %, del 5 %, del 4 %, del 3 %, del 2 %, del 1 %, del 0,5 % o del 0,05 % de un valor o intervalo dado.

Los términos "principio activo" y "sustancia activa" se refieren a un compuesto que es administrado solo o junto con

uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables a un sujeto para el tratamiento, la prevención o la mejora de uno o más síntomas de una afección, un trastorno o una enfermedad. Según se usa en la presente memoria, “principio activo” y “sustancia activa” pueden ser un isómero ópticamente activo de un compuesto descrito en la presente memoria.

- 5 Los términos “fármaco”, “agente terapéutico” y “agente quimioterapéutico” se refieren a un compuesto, o a una composición farmacéutica del mismo, que es administrado a un sujeto para el tratamiento, la prevención o la mejora de uno o más síntomas de una afección, un trastorno o una enfermedad.

10 El término “solvato” se refiere a un complejo o a un agregado formado por una o más moléculas de un soluto, por ejemplo, un compuesto proporcionado en la presente memoria, y una o más moléculas de un disolvente, que están presentes en una cantidad estequiométrica o no estequiométrica. Algunos disolventes adecuados incluyen, pero no se limitan a, agua, metanol, etanol, *n*-propanol, isopropanol y ácido acético. En ciertas realizaciones, el disolvente es farmacéuticamente aceptable. En una realización, el complejo o el agregado están en una forma cristalina. En otra realización, el complejo o el agregado están en una forma no cristalina. Cuando el disolvente es agua, el solvato es un hidrato. Algunos ejemplos de hidratos incluyen, pero no se limitan a, un hemihidrato, un monohidrato, un dihidrato, un trihidrato, un tetrahidrato y un pentahidrato.

15 El término “natural” o “nativo”, cuando se usa en relación con materiales biológicos, tales como moléculas de ácidos nucleicos, polipéptidos, células hospedadoras, y similares, se refiere a los materiales que se encuentran en la naturaleza y que no están manipulados por el hombre. De forma análoga, “no natural” o “no nativo” se refiere a un material que no se encuentra en la naturaleza o que ha sido estructuralmente modificado o sintetizado por el hombre.

20 El término “JAK” o “*Just Another Kinase*” se refiere a una cinasa Janus o a una variante de la misma, incluyendo, pero no se limitan a, la cinasa Janus 1 (JAK1), la cinasa Janus 2 (JAK2), la cinasa Janus 3 (JAK3) y la tirosina-cinasa 2 (TYK2). Las variantes de la JAK incluyen proteínas sustancialmente homólogas a la JAK nativa, es decir, proteínas que tienen una o más deleciones, inserciones o sustituciones de aminoácidos naturales o no naturales (por ejemplo, derivados, homólogos y fragmentos de la JAK), en comparación con la secuencia de aminoácidos de una JAK nativa. La secuencia de aminoácidos de una variante de la JAK es idéntica en al menos aproximadamente un 80 %, idéntica en al menos aproximadamente un 90 % o idéntica en al menos aproximadamente un 95 % a una JAK nativa.

25 Los términos “afección, trastorno o enfermedad mediados por una JAK” y “una afección, un trastorno o una enfermedad mediados por una JAK” se refieren a una afección, un trastorno o una enfermedad caracterizados por una actividad anormal o desregulada, por ejemplo, mayor de lo normal, de la JAK. Una actividad funcional anormal de la JAK podría aparecer como resultado de una sobreexpresión de la JAK en células, de la expresión de la JAK en células que normalmente no expresan la JAK o de una desregulación debida a una activación constitutiva provocada, por ejemplo, por una mutación en la JAK. Una afección, un trastorno o una enfermedad mediados por una JAK pueden estar completamente o parcialmente mediados por una actividad inapropiada de una JAK. En particular, una afección, un trastorno o una enfermedad mediados por una JAK, o una enfermedad en la que la modulación de la actividad de una JAK da como resultado algún efecto sobre una afección, un trastorno o una enfermedad subyacente, por ejemplo, un inhibidor de una JAK, da como resultado una cierta mejora en al menos algunos de los pacientes que se están tratando.

30 El término “receptor A₃ de adenosina” o “A3AR” se refiere a un receptor de adenosina A₃ nativo o una variante del mismo. Las variantes del A3AR incluyen proteínas sustancialmente homólogas a un A3AR nativo, es decir, proteínas que tienen una o más deleciones, inserciones o sustituciones de aminoácidos naturales o no naturales (por ejemplo, derivados, homólogos y fragmentos del A3AR), en comparación con la secuencia de aminoácidos de un A3AR nativo. La secuencia de aminoácidos de una variante del A3AR es idéntica en al menos aproximadamente un 80 %, idéntica en al menos aproximadamente un 90 % o idéntica en al menos aproximadamente un 95 % a un A3AR nativo.

35 Los términos “una afección, un trastorno o una enfermedad mediados por el A₃ de adenosina” y “una afección, un trastorno o una enfermedad mediados por el A3AR” se refieren a una afección, un trastorno o una enfermedad caracterizados por una actividad anormal o desregulada, por ejemplo, mayor de lo normal, del A3AR. Una actividad funcional anormal del A3AR podría aparecer como resultado de una sobreexpresión del A3AR en células, por una expresión del A3AR en células que normalmente no expresan el A3AR o por una desregulación debida a una activación constitutiva causada, por ejemplo, por una mutación en el A3AR. Una afección, un trastorno o una enfermedad mediados por el A3AR pueden estar completamente o parcialmente mediados por una actividad inapropiada del A3AR. En particular, una afección, un trastorno o una enfermedad mediados por el A3AR son aquellos en los que la modulación de la actividad del A3AR da como resultado un cierto efecto en la afección, el trastorno o la enfermedad subyacentes, por ejemplo, un antagonista del A3AR da como resultado una cierta mejora en al menos algunos de los pacientes que se están tratando.

55 Los términos “ópticamente activo” y “enantioméricamente activo” se refieren a un conjunto de moléculas que tiene un exceso enantiomérico de no menos de aproximadamente un 10 %, de no menos de aproximadamente un 20 %, de no menos de aproximadamente un 30 %, de no menos de aproximadamente un 40 %, de no menos de aproximadamente un 50 %, de no menos de aproximadamente un 60 %, de no menos de aproximadamente un 70 %, de no menos de aproximadamente un 80 %, de no menos de aproximadamente un 90 %, de no menos de aproximadamente un 95 % o de no menos de aproximadamente un 99 %.

de no menos de aproximadamente un 30 %, de no menos de aproximadamente un 40 %, de no menos de aproximadamente un 50 %, de no menos de aproximadamente un 60 %, de no menos de aproximadamente un 70 %, de no menos de aproximadamente un 80 %, de no menos de aproximadamente un 90 %, de no menos de aproximadamente un 91 %, de no menos de aproximadamente un 92 %, de no menos de aproximadamente un 93 %, de no menos de aproximadamente un 94 %, de no menos de aproximadamente un 95 %, de no menos de aproximadamente un 96 %, de no menos de aproximadamente un 97 %, de no menos de aproximadamente un 98 %, de no menos de aproximadamente un 99 %, de no menos de aproximadamente un 99,5 %, de no menos de aproximadamente un 99,8 %, o de no menos de aproximadamente un 99,9 %. En ciertas realizaciones, el exceso enantiomérico de un compuesto ópticamente o enantioméricamente activo es de no menos de aproximadamente un 90 %, de no menos de aproximadamente un 95 %, de no menos de aproximadamente un 98 % o de no menos de aproximadamente un 99 %.

En la descripción de un compuesto ópticamente activo se usan los prefijos R y S para indicar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su(s) centro(s) quiral(es). Los (+) y (-) se usan para indicar la rotación óptica del compuesto, es decir, la dirección en la que el plano de la luz polarizada es rotado por el compuesto ópticamente activo. El prefijo (-) indica que el compuesto es levorrotatorio, es decir, el compuesto rota el plano de la luz polarizada hacia la izquierda o en sentido antihorario. El prefijo (+) indica que el compuesto es dextrorrotatorio, es decir, el compuesto rota el plano de la luz polarizada hacia la derecha o en sentido horario. Sin embargo, el signo de la rotación óptica, (+) y (-), no está relacionado con la configuración absoluta de la molécula, R y S.

Los términos “ópticamente puro” y “enantioméricamente puro” se refieren a un conjunto de moléculas que tiene un exceso enantiomérico (ee) de no menos de aproximadamente un 80 %, de no menos de aproximadamente un 90 %, de no menos de aproximadamente un 91 %, de no menos de aproximadamente un 92 %, de no menos de aproximadamente un 93 %, de no menos de aproximadamente un 94 %, de no menos de aproximadamente un 95 %, de no menos de aproximadamente un 96 %, de no menos de aproximadamente un 97 %, de no menos de aproximadamente un 98 %, de no menos de aproximadamente un 99 %, de no menos de aproximadamente un 99,5 %, de no menos de aproximadamente un 99,8 % o de no menos de aproximadamente un 99,9 %. En ciertas realizaciones, el exceso enantiomérico de un compuesto ópticamente o enantioméricamente puro es de no menos de aproximadamente un 90 %, de no menos de aproximadamente un 95 %, de no menos de aproximadamente un 98 % o de no menos de aproximadamente un 99 %. Un exceso enantiomérico de un compuesto puede ser determinado mediante cualquier método habitual usado por el experto habitual en la técnica, incluyendo, pero no se limitan a, una cromatografía quiróptica (una cromatografía de gases, una cromatografía de líquidos de alta resolución y una cromatografía en capa fina) mediante el uso de una fase estacionaria ópticamente activa, una dilución isotópica, una electroforesis, una calorimetría, una polarimetría, métodos de resolución de RMN con una derivatización quiral y métodos de RMN con un agente de solvatación quiral o un reactivo de desplazamiento quiral.

Los términos “sustancialmente puro” y “sustancialmente homogéneo” significan lo suficientemente homogéneo como para aparecer exento de impurezas fácilmente detectables determinadas mediante los métodos analíticos habituales usados por el experto habitual en la técnica, incluyendo, pero no se limitan a, cromatografía en capa fina (TLC), electroforesis en gel, cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), cromatografía de gases (CG), y resonancia magnética nuclear (RMN) y espectrometría de masas (EM); o lo suficientemente puro de forma que la purificación adicional no alteraría de forma detectable las propiedades físicas, químicas, biológicas y/o farmacológicas, tales como las actividades enzimáticas y biológicas, de la sustancia. En ciertas realizaciones, “sustancialmente puro” o “sustancialmente homogéneo” se refieren a un conjunto de moléculas, en donde al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 70 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 %, al menos aproximadamente un 99 % o al menos aproximadamente un 99,5 % en peso de las moléculas son un único estereoisómero de un compuesto, según se determina mediante los métodos analíticos habituales.

El término “variante isotópica” se refiere a un compuesto que contiene una porción no natural de un isótopo en uno o más de los átomos que constituyen dichos compuestos. En ciertas realizaciones, una “variante isotópica” de un compuesto contiene unas proporciones no naturales de uno o más isótopos, incluyendo, pero no se limitan a, hidrógeno (^1H), deuterio (^2H), tritio (^3H), carbono-11 (^{11}C), carbono-12 (^{12}C), carbono-13 (^{13}C), carbono-14 (^{14}C), nitrógeno-13 (^{13}N), nitrógeno-14 (^{14}N), nitrógeno-15 (^{15}N), oxígeno-14 (^{14}O), oxígeno-15 (^{15}O), oxígeno-16 (^{16}O), oxígeno-17 (^{17}O), oxígeno-18 (^{18}O), flúor-17 (^{17}F), flúor-18 (^{18}F), fósforo-31 (^{31}P), fósforo-32 (^{32}P), fósforo-33 (^{33}P), azufre-32 (^{32}S), azufre-33 (^{33}S), azufre-34 (^{34}S), azufre-35 (^{35}S), azufre-36 (^{36}S), cloro-35 (^{35}Cl), cloro-36 (^{36}Cl), cloro-37 (^{37}Cl), bromo-79 (^{79}Br), bromo-81 (^{81}Br), yodo-123 (^{123}I), yodo-125 (^{125}I), yodo-127 (^{127}I), yodo-129 (^{129}I) y yodo-131 (^{131}I). En ciertas realizaciones, una “variante isotópica” de un compuesto está en una forma estable, es decir, no radioactiva. En ciertas realizaciones, una “variante isotópica” de un compuesto contiene unas proporciones no naturales de uno o más isótopos, incluyendo, pero no se limita a, hidrógeno (^1H), deuterio (^2H), carbono-12 (^{12}C), carbono-13 (^{13}C), nitrógeno-14 (^{14}N), nitrógeno-15 (^{15}N), oxígeno-16 (^{16}O), oxígeno-17 (^{17}O), oxígeno-18 (^{18}O), flúor-17 (^{17}F), fósforo-31 (^{31}P), azufre-32 (^{32}S), azufre-33 (^{33}S), azufre-34 (^{34}S), azufre-36 (^{36}S), cloro-35 (^{35}Cl), cloro-37 (^{37}Cl), bromo-79 (^{79}Br), bromo-81 (^{81}Br) y yodo-127 (^{127}I). En ciertas realizaciones, una “variante isotópica” de un compuesto está en una forma inestable, es decir, radioactiva. En ciertas realizaciones, una “variante isotópica” de un compuesto contiene unas proporciones no naturales de uno o más isótopos, incluyendo, pero no se limitan a, tritio (^3H), carbono-11 (^{11}C), carbono-14 (^{14}C), nitrógeno-13 (^{13}N), oxígeno-14 (^{14}O), oxígeno-15 (^{15}O), flúor-18 (^{18}F), fósforo-32 (^{32}P), fósforo-33 (^{33}P), azufre-35 (^{35}S), cloro-36 (^{36}Cl), yodo-123 (^{123}I), yodo-125 (^{125}I),

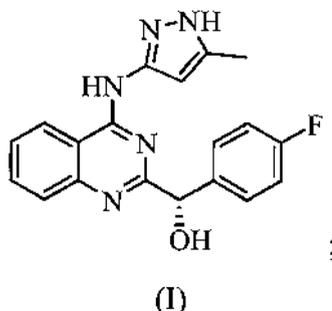
yodo-129 (¹²⁹I) y yodo-131 (¹³¹I). Se entenderá que, en un compuesto según se proporciona en la presente memoria, cualquier hidrógeno puede ser ²H, por ejemplo, o cualquier carbono puede ser ¹³C, como un ejemplo, o cualquier nitrógeno puede ser ¹⁵N, como un ejemplo, y cualquier oxígeno puede ser ¹⁸O, cuando sea posible según el juicio del experto. En ciertas realizaciones, una "variante isotópica" de un compuesto contiene unas proporciones no naturales de deuterio.

La expresión "una variante isotópica del mismo; o una sal, un solvato, un hidrato o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo" tiene el mismo significado que la expresión "una variante isotópica del compuesto ahí referenciado; o una sal, un solvato o un profármaco farmacéuticamente aceptable del compuesto ahí referenciado o una variante isotópica del compuesto ahí referenciado".

Según se usa en la presente memoria, las abreviaturas de los grupos protectores, de los aminoácidos y de otros compuestos, salvo que se indique de otro modo, están de acuerdo con su uso habitual o con las abreviaturas reconocidas que incluyen las abreviaturas que se encuentran en *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 23A-24A o las abreviaturas establecidas por la IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (*Biochem.* **1972**, 11, 942-944).

Pirazolilaminoquinazolina ópticamente activa

En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo, que tiene la estructura de la **Fórmula I**:



o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. Se determinó que el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol era el isómero (-) del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol mediante un análisis de rotación óptica.

La correspondiente mezcla racémica del compuesto de Fórmula I ha sido identificada como un inhibidor de la cinasa JAK. La correspondiente mezcla racémica del compuesto de Fórmula I puede prepararse de acuerdo con la solicitud de EE.UU. n° 12/714.323, depositada el 26 de febrero de 2010, publicada ahora como el documento US 2010/0317659.

En una realización, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo está sustancialmente exento de (R)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol. En otra realización, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 10 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 20 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 30 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 40 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 50 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 60 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 70 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 80 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 90 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 91 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 92 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 93 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 94 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo tiene un exceso enantiomérico de no menos de un 95 %. En otra realización más, el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol

En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo.

En la presente memoria se describe una variante isotópica ópticamente activa del (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol o una sal, un solvato, un hidrato o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo. En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo deuterado, o una sal, un solvato, un hidrato o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo. Previamente se ha demostrado un enriquecimiento en isótopos (por ejemplo, una deuteración) de los agentes terapéuticos para mejorar los perfiles de farmacocinética ("PK"), de farmacodinamia ("PD") y/o de toxicidad con algunas clases de fármacos. Véase, por ejemplo, Lijinsky *et. al.*, *Food Cosmet. Toxicol.* **1982**, 20, 393; Lijinsky *et. al.*, *J. Nat. Cancer Inst.* **1982**, 69, 1127; Mangold *et. al.*, *Mutation Res.* **1994**, 308, 33; Gordon *et. al.*, *DrugMetab. Dispos.* **1987**, 15, 589; Zello *et. al.*, *Metabolism* 1994, 43, 487; Gately *et. al.*, *J. Nucl. Med.* 1986, 27, 388; y Wade, *Chem. Biol. Interact.* **1999**, 117, 191. El enriquecimiento en isótopos de un fármaco puede usarse, por ejemplo, (1) para reducir o eliminar los metabolitos indeseables (2) para aumentar la semivida del fármaco parental, (3) para reducir el número de dosis necesarias para conseguir un efecto deseado, (4) para reducir la cantidad de una dosis necesaria para conseguir un efecto deseado, (5) para aumentar la formación de metabolitos activos, si es que se forman, y/o (6) para reducir la producción de metabolitos perjudiciales en tejidos específicos y/o para crear un fármaco más eficaz y/o un fármaco más seguro para una terapia de combinación, tanto si la terapia de combinación es intencionada como si no.

En otra realización más, en la presente memoria se proporciona una sal farmacéuticamente aceptable de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo, o un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Algunos ácidos adecuados para su uso en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, ácido acético, ácido 2,2-dicloroacético, aminoácidos acilados, ácido adípico, ácido algínico, ácido ascórbico, ácido L-aspártico, ácido bencensulfónico, ácido benzoico, ácido 4-acetamidobenzoico, ácido bórico, ácido (+)-canfórico, ácido canforsulfónico, ácido (+)-(1S)-canfor-10-sulfónico, ácido cáprico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclámico, ácido ciclohexansulfámico, ácido dodecilsulfúrico, ácido etan-1,2-disulfónico, ácido etansulfónico, ácido 2-hidroxi-etansulfónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido glucoheptónico, ácido D-glucónico, ácido D-glucurónico, ácido L-glutámico, ácido α -oxoglutarico, ácido glicólico, ácido hipúrico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido yodhídrico, ácido (+)-L-láctico, ácido (\pm)-DL-láctico, ácido lactobiónico, ácido láurico, ácido maleico, ácido (-)-L-málico, ácido malónico, ácido (\pm)-DL-mandélico, ácido metansulfónico, ácido naftalen-2-sulfónico, ácido naftalen-1,5-disulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico, ácido perclórico, ácido fosfórico, ácido L-piroglutámico, ácido sacárico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido sebácico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tánico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiocianico, ácido p-toluensulfónico, ácido undecilénico y ácido valérico.

En una realización, la sal farmacéuticamente aceptable de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo es una sal de clorhidrato, o un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. En otra realización, la sal farmacéuticamente aceptable de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol es una sal de bromhidrato, o un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. En otra realización más, la sal farmacéuticamente aceptable de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol es una sal del ácido canforsulfónico, o un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. En otra realización más, la sal farmacéuticamente aceptable de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol es una sal del ácido R-canforsulfónico, o un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. En otra realización más, la sal farmacéuticamente aceptable de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol es una sal del ácido S-canforsulfónico, o un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización más, en la presente memoria se proporciona un solvato farmacéuticamente aceptable de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo.

En otra realización más, en la presente memoria se proporciona un hidrato de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo.

En la presente memoria se describe un profármaco farmacéuticamente aceptable de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo. Un profármaco es un derivado funcional de un compuesto parental, por ejemplo, el compuesto de Fórmula I, y es fácilmente convertible en el compuesto parental *in vivo*. Los profármacos son útiles a menudo porque en algunas situaciones pueden ser más fáciles de administrar que el compuesto parental. Por ejemplo, puede ser biodisponibles mediante una administración oral, mientras que el compuesto parental no lo es. El profármaco también puede tener una mejor solubilidad en composiciones farmacéuticas que el compuesto parental. Un profármaco puede ser convertido en el compuesto parental mediante diversos mecanismos, incluyendo procesos enzimáticos y una hidrólisis metabólica. Véase Harper, *Progress in Drug Research* **1962**, 4, 221-294; Morozowich *et al.*, en *Design of Biopharmaceutical Properties through Prodrugs and Analogs*; Roche Ed., APHA Acad. Pharm. Sci.: **1977**; Gangwar *et al.*, *Des. Biopharm. Prop. Prodrugs Analogs*, **1977**,

409-421; Bundgaard, *Arch. Pharm. Chem.* **1979**, *86*, 1-39; Farquhar *et al.*, *J. Pharm. Sci.* **1983**, *72*, 324-325; Wemuth en *Drug Design: Fact or Fantasy*; Jolies *et al.* Eds.; Academic Press: Londres, **1984**; págs. 47-72; *Design of Prodrugs*; Bundgaard *et al.* Eds.; Elsevier: 1985; Fleisher *et al.*, *Methods Enzymol.* **1985**, *112*, 360-381; Stella *et al.*, *Drugs* **1985**, *29*, 455-473; *Bioreversible Carriers in Drug en Drug Design, Theory and Application*; Roche Ed.; APHA Acad. Pharm. Sci.: 1987; Bundgaard, *Controlled Drug Delivery* **1987**, *17*, 179-96; Waller *et al.*, *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1989**, *28*, 497-507; Balant *et al.*, *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **1990**, *15*, 143-53; Freeman *et al.*, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 875-877; Bundgaard, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1992**, *8*, 1-38; Nathwani y Wood, *Drugs* **1993**, *45*, 866-94; Friis y Bundgaard, *Eur. J. Pharm. Sci.* **1996**, *4*, 49-59; Fleisher *et al.*, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *19*, 115-130; Sinhababu y Thakker, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *19*, 241-273; Taylor, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *19*, 131-148; Gagnault *et al.*, *Pract. Med. Chem.* **1996**, 671-696; Browne, *Clin. Neuropharmacol* **1997**, *20*, 1-12; Valentino y Borchardt, *Drug Discovery Today* **1997**, *2*, 148-155; Pauletti *et al.*, *Adv. Drug. Delivery Rev.* **1997**, *27*, 235-256; Mizen *et al.*, *Pharm. Biotech.* **1998**, *11*, 345-365; Wiebe and Knaus, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1999**, *39*, 63-80; Tan *et al.*, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1999**, *39*, 117-151; Balimane y Sinko, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1999**, *39*, 183-209; Wang *et al.*, *Curr. Pharm. Design* **1999**, *5*, 265-287; Han *et al.*, *AAPS Pharmsci.* **2000**, *2*, 1-11; Asghamejad en *Transport Processes in Pharmaceutical Systems*; Amidon *et al.*, Eds.; Marcell Dekker: 2000; págs. 185-218; Sinha *et al.*, *Pharm. Res.* **2001**, *18*, 557-564; Anand *et al.*, *Expert Opin. Biol. Ther.* **2002**, *2*, 607-620; Rao, *Resonace* **2003**, 19-27; Sloan *et al.*, *Med. Res. Rev.* **2003**, *23*, 763-793; Patterson *et al.*, *Curr. Pharm. Des.* **2003**, *9*, 2131-2154; Hu, *IDrugs* **2004**, *7*, 736-742; Robinson *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 14527-14532; Erion *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *312*, 554- 560; Fang *et al.*, *Curr. Drug Discov. Technol* **2006**, *3*, 211-224; Stanczak *et al.*, *Pharmacol. Rep.* **2006**, *58*, 599-613; Sloan *et al.*, *Pharm. Res.* **2006**, *23*, 2729-2747; Stella *et al.*, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2007**, *59*, 677-694; Gomes *et al.*, *Molecules* **2007**, *12*, 2484-2506; Krafcz *et al.*, *Chem Med Chem* **2008**, *3*, 20-53; Rautio *et al.*, *AAPS J.* **2008**, *10*, 92-102; Rautio *et al.*, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2008**, *7*, 255-270; Pavan *et al.*, *Molecules*, **2008**, *13*, 1035-1065; Sandros *et al.*, *Molecules* **2008**, *13*, 1156-1178; Singh *et al.*, *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 1802-1826; Onishi *et al.*, *Molecules*, **2008**, *13*, 2136-2155; Huttunen *et al.*, *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 2346-2365; y Serafm *et al.*, *Mini Rev. Med. Chem.* **2009**, *9*, 481-497.

En ciertas realizaciones, sin estar ceñidos a ninguna teoría, el (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo se convierte en el correspondiente isómero (R) en un sujeto. En ciertas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En ciertas realizaciones, el mamífero es un ser humano.

El compuesto proporcionado en la presente memoria pretende incluir todos los posibles isómeros estructurales, salvo que se especifique un isómero estructural en particular. Cuando los isómeros estructurales sean interconvertibles, el compuesto puede existir como un tautómero individual o como una mezcla de tautómeros. Esto puede tomar la forma de una tautomería de protón en el compuesto que contiene, por ejemplo, un grupo imino, ceto u oxima; o la denominada tautomería de valencia, en el compuesto que contiene una fracción aromática. Por lo tanto, un único compuesto puede mostrar más de un tipo de isomería.

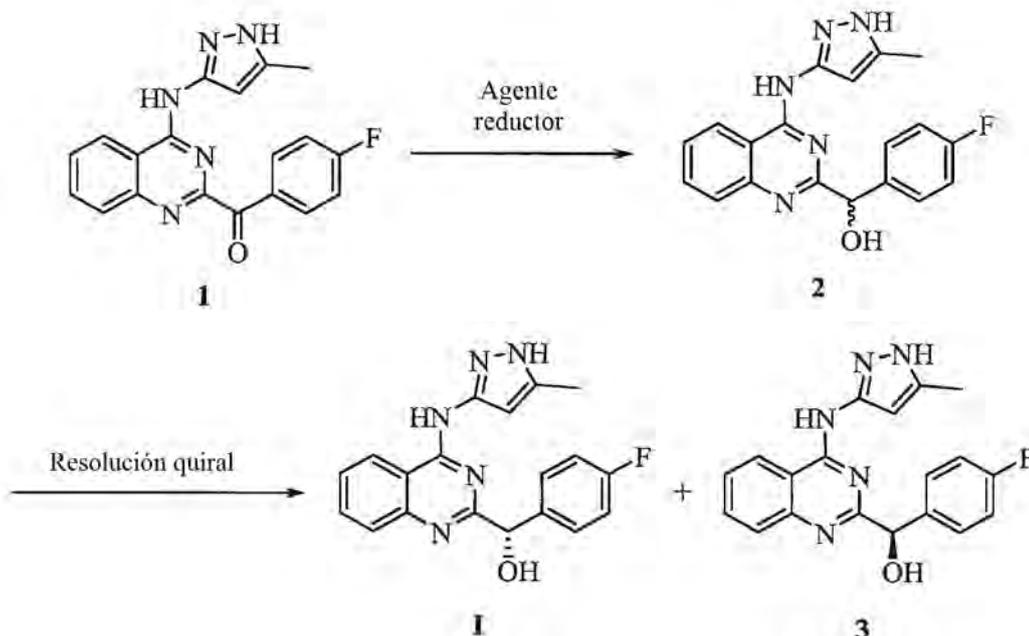
35 Métodos de síntesis

El compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria puede ser preparado, aislado u obtenido mediante cualquier método conocido por el experto en la técnica, incluyendo, pero no se limitan a, una síntesis a partir de un precursor ópticamente puro adecuado, una síntesis asimétrica a partir de un material de partida aquiral o una resolución de una mezcla racémica o enantiomérica, por ejemplo, una cromatografía quiral, una recristalización, una resolución, la formación de una sal diastereomérica o una derivatización en aductos diastereoméricos seguida de una separación.

En una realización, en la presente memoria se proporciona un método para la preparación del compuesto de Fórmula I, que comprende la resolución del (4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol racémico mediante una cromatografía quiral. En ciertas realizaciones, según se muestra en el Esquema I, los dos enantiómeros individuales se separan mediante el uso de una columna quiral, en donde la fase estacionaria es un gel de sílice recubierto con un selector quiral tal como tris-(3,5 -dimetilfenil)carbamoil celulosa.

En otra realización, en la presente memoria se proporciona un método para la preparación del compuesto de Fórmula I, que comprende la etapa de reducir la cetona aquiral I con hidrógeno en presencia de un catalizador quiral. Según se muestra en el Esquema II, la cetona I se reduce predominantemente a un único producto enantiomérico con un sistema reductor quiral del "tipo A" o del "tipo B," en donde tipo A y tipo B difieren entre sí únicamente por tener unos auxiliares quirales con unas quiralidades opuestas. En ciertas realizaciones, el catalizador quiral es [(R)-P-Phos RuCl₂ (R)-DAIPEN].

Esquema I

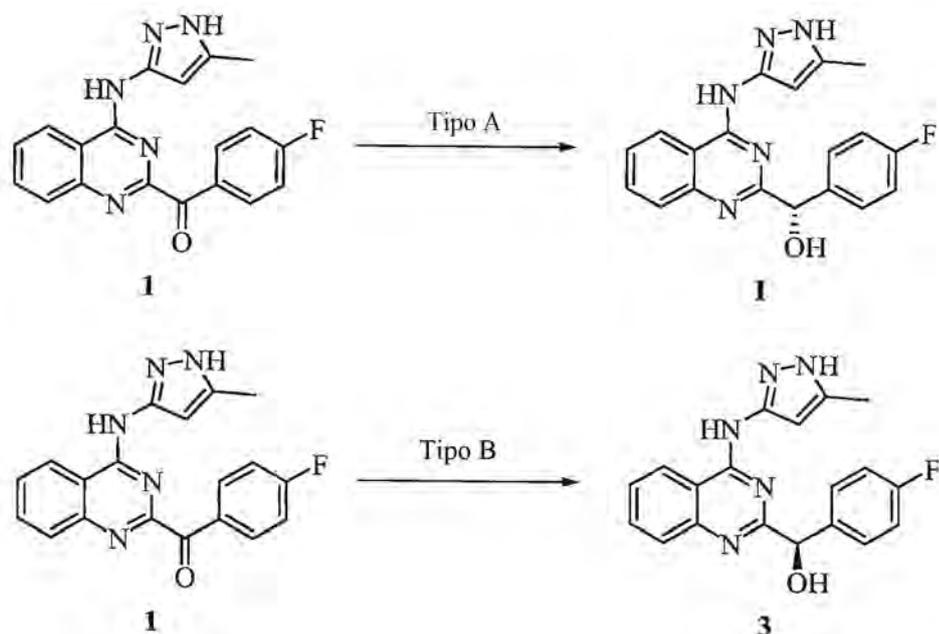


En ciertas realizaciones, la reducción de la cetona aquiral **1** en presencia de un catalizador quiral se realiza en alcohol isopropílico como disolvente. En ciertas realizaciones, la reducción de la cetona aquiral **1** en presencia de un catalizador quiral se realiza en una mezcla de alcohol isopropílico y agua como disolvente. En ciertas realizaciones, el alcohol isopropílico y el agua se usan en una proporción de 1:1, de 8:1 o de 9:1. En una realización, se usa DMSO como cosolvente en la reacción. En una realización, el DMSO se usa al 10, al 20 o al 30 % basado en la cantidad total de la mezcla de alcohol isopropílico y agua. En ciertas realizaciones, el alcohol isopropílico, el DMSO y el agua se usan en una proporción de 1:1:1, de 4:4:0.5, de 8:1:1, de 47:47:6, de 41:58:1, de 44:50:6 o de 18:79:3. En ciertas realizaciones, el alcohol isopropílico, el DMSO y el agua se usan en una proporción de 41:58:1. En ciertas realizaciones, el alcohol isopropílico y el DMSO se usan en una proporción de 1:1. En ciertas realizaciones, la reducción se realiza en presencia de una base, tal como hidróxido de potasio, terc butóxido de potasio y otras. En ciertas realizaciones, la base se usa a 2-15 mol %, en una realización, a 2 mol %, a 5 mol %, a 10 mol %, a 12,5 mol % o a 15 mol %. En ciertas realizaciones, la reducción se realiza a una temperatura de 40-80 °C, en una realización, a 40 °C, a 50 °C, a 60 °C, a 70 °C o a 80 °C. En ciertas realizaciones, la reducción se realiza a una temperatura de 70 °C. En ciertas realizaciones, la reducción se realiza a una presión de entre 4 bar y 30 bar, en una realización, a 4, a 5, a 10, a 15, a 20, a 25 o 30 bar. En ciertas realizaciones, la reducción se realiza a una presión de 4 bar. En ciertas realizaciones, la carga de catalizador en la reacción es de 100/1, de 250/1, de 500/1, de 1.000/1, de 2.000/1, de 3.000/1, de 4.000/1, de 5.000/1, de 7.000/1, de 10.000/1 o de 20.000/1. En ciertas realizaciones, la carga de catalizador en la reacción es de 2.000/1 o de 4.000/1.

En otra realización más, en la presente memoria se proporciona un método para la preparación del compuesto de Fórmula **I**, que comprende la etapa de reducir la cetona aquiral **1** con una cetorreductasa (por ejemplo, una deshidrogenasa de alcohol). Véase Moore *et al.*, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 1412-1419; Dausmann *et al.*, *Engineering in Life Sciences* **2006**, *6*, 125-129; Schlummer y Stolle, *Specialty Chemicals Magazine* **2008**, *28*, 48-49; Osswald *et al.*, *Chimica Oggi* **2007**, *25* (Supl.), 16-18; y Kambourakis y Rozzell, *PharmaChem* **2006**, *5* (9), 2-5.

En otra realización más, en la presente memoria se proporciona un método para la preparación del compuesto de Fórmula **I**, que comprende la etapa de reducir la cetona aquiral **1** con un agente reductor (por ejemplo, reactivos de borano o de borhidruro) en presencia de un catalizador quiral. En ciertas realizaciones, el agente reductor es un reactivo de borano o un borhidruro. En ciertas realizaciones, el catalizador quiral es una oxazaborolidina quiral. Véase Cory *et al.*, *Tetrahedron Letters* **1996**, *37*, 5675; y Cho, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 443.

Esquema II



En otra realización más, en la presente memoria se proporciona un método para la preparación del compuesto de Fórmula I, que comprende la etapa de reducir la cetona acquiral I a través de una hidrosililación asimétrica. Véase la Solicitud de EE.UU. publicada nº 2008/0269490.

- 5 En otra realización más, en la presente memoria se proporciona un método para la preparación del compuesto de Fórmula I, que comprende la etapa de reducir la cetona acquiral I a través de una hidrogenación de transferencia catalizada por un complejo de iridio. Véase Malacca *et al.*, *Coordination Chemistry Reviews* 2010, 254, 729-752.

Los materiales de partida usados en la síntesis del compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria están disponibles comercialmente o pueden ser preparados mediante un método conocido por los expertos en la técnica. Por ejemplo, la cetona I puede prepararse de acuerdo con los métodos descritos en la Solicitud EE.UU. nº 12/714.323, depositada el 26 de febrero de 2010.

Composiciones farmacéuticas

En una realización, en la presente memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo; o una sal, un solvato o un hidrato, farmacéuticamente aceptable del mismo; y un vehículo, un portador, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptables, o una mezcla de los mismos.

En otra realización, en la presente memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo; o una sal, un solvato o un hidrato, farmacéuticamente aceptable del mismo; y PEG 400 y agua. En ciertas realizaciones, la proporción ponderal entre el PEG 400 y el agua es de 3:1. En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica es para su administración por vía intravenosa.

Los excipientes adecuados son bien conocidos por los expertos en la técnica, y en la presente memoria se proporcionan algunos ejemplos no limitantes de excipientes adecuados. Si un excipiente en particular es adecuado para su incorporación en una composición o en una forma de dosificación farmacéutica depende de diversos factores bien conocidos en la técnica, incluyendo, pero no se limitan a, el método de administración. Por ejemplo, las formas de dosificación orales, tales como los comprimidos, pueden contener unos excipientes que no son adecuados para su uso en las formas de dosificación parenterales. La idoneidad de un excipiente en particular también puede depender de los principios activos específicos de la forma de dosificación. Por ejemplo, la descomposición de algunos principios activos puede estar acelerada por algunos excipientes tales como la lactosa, o cuando son expuestos a agua. Los principios activos que comprenden aminas primarias o secundarias son particularmente susceptibles a dicha descomposición acelerada. Por consiguiente, en la presente memoria se proporcionan composiciones y formas de dosificación farmacéuticas que contienen poca, si es que contienen, lactosa u otros mono o disacáridos. Según se usa en la presente memoria, el término "exento de lactosa" significa que la cantidad de lactosa presente, si la hubiera, es insuficiente para aumentar sustancialmente la velocidad de degradación de un principio activo. En una realización, las composiciones exentas de lactosa comprenden un principio activo proporcionado en la presente memoria, un aglutinante/agente de relleno y un lubricante. En otra realización, las composiciones exentas de lactosa comprenden un principio activo, celulosa microcristalina, almidón pregelatinizado y estearato de magnesio.

El compuesto ópticamente activo de Fórmula I proporcionado en la presente memoria puede ser administrado solo o junto con uno o más de otros compuestos proporcionados en la presente memoria. Las composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto activo de Fórmula I proporcionado en la presente memoria pueden formularse en varias formas de dosificación para una administración por vía oral, parenteral y tópica. Las composiciones farmacéuticas también pueden formularse en formas de dosificación de liberación modificada, incluyendo formas de dosificación de liberación retardada, extendida, prolongada, sostenida, pulsátil, controlada, acelerada, rápida, dirigida, programada y de retención gástrica. Estas formas de dosificación pueden prepararse de acuerdo con los métodos y las técnicas convencionales conocidos por los expertos en la técnica (véase, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy, supra; Modified-Release Drug Delivery Technology, 2ª ed.; Rathbone et al., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: Nueva York, NY, 2008*).

En una realización, las composiciones farmacéuticas se proporcionan en una forma de dosificación para su administración oral, que comprenden (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo; o una sal, un solvato o un hidrato, farmacéuticamente aceptable del mismo; y uno o más vehículos, portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas se proporcionan en una forma de dosificación para su administración parenteral, que comprenden (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo; o una sal, un solvato o un hidrato, farmacéuticamente aceptable del mismo; y uno o más vehículos, portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

En otra realización más, las composiciones farmacéuticas se proporcionan en una forma de dosificación para su administración tópica, que comprenden (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo; o una sal, un solvato o un hidrato, farmacéuticamente aceptable del mismo; y uno o más vehículos, portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En ciertas realizaciones, la administración tópica es una administración nasal, respiratoria o pulmonar.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden proporcionarse en una forma de dosificación unitaria o en una forma de dosificación múltiple. Una forma de dosificación, según se usa en la presente memoria, se refiere a una unidad físicamente individual adecuada para su administración a un sujeto humano y animal, y envasada individualmente, según se sabe en la técnica. Cada dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada de un(os) principio(s) activo(s) suficiente para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con los portadores o los excipientes farmacéuticos necesarios. Algunos ejemplos de una forma de dosificación unitaria incluyen una ampolla, una jeringa y comprimidos y cápsulas envasados individualmente. Una forma de dosificación unitaria puede administrarse en fracciones o en múltiplos de la misma. Una forma de dosificación múltiple es una pluralidad de formas de dosificación unitarias idénticas envasadas en un único recipiente para ser administradas en formas de dosificación unitaria segregadas. Algunos ejemplos de una forma de dosificación múltiple incluyen un vial, un frasco de comprimidos o de cápsulas, o un frasco de pintas o de galones.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden administrarse de una vez o en múltiples veces en intervalos de tiempo. Se entiende que la dosis y la duración precisa del tratamiento pueden variar con la edad, el peso y el estado del paciente que se va a tratar, y pueden ser determinadas empíricamente mediante el uso de protocolos de ensayo conocidos, o a partir de una extrapolación de un ensayo *in vivo* o *in vitro* o de datos diagnósticos. Adicionalmente se entiende que, para cualquier individuo en particular, deberán ajustarse los regímenes de dosificación específicos con el tiempo, de acuerdo con las necesidades individuales y según el juicio profesional de la persona que administra o que supervisa la administración de las formulaciones.

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria contienen, cada una, desde aproximadamente 0,1 mg hasta 2.000 mg, desde 10 mg hasta 1.000 mg, desde 20 mg hasta 500 mg o desde 25 mg hasta 250 mg del compuesto ópticamente activo de Fórmula I proporcionado en la presente memoria. En ciertas realizaciones, las formas de dosificación unitarias farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria contienen desde 1 mg hasta 2.000 mg, desde 10 mg hasta 1.000 mg, desde 20 mg hasta 500 mg o desde 25 mg hasta 250 mg del compuesto ópticamente activo de Fórmula I proporcionado en la presente memoria por forma de dosificación unitaria. En ciertas realizaciones, las formas de dosificación unitarias farmacéuticas contienen 10 mg, 20 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg, 250 mg, 500 mg, 1.000 mg o 2.000 mg del compuesto ópticamente activo de Fórmula I proporcionado en la presente memoria.

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria se formulan conjuntamente con uno o más de otros principios activos, que no deterioran la acción terapéutica deseada, o con sustancias que complementan la acción deseada.

A. Administración oral

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración oral pueden proporcionarse en formas de dosificación sólidas, semisólidas o líquidas. Según se usa en la presente memoria, la administración oral también incluye la administración bucal, lingual y sublingual. Algunas formas de dosificación oral adecuadas incluyen, pero no se limitan a, comprimidos, *fastmelts*, comprimidos masticables, cápsulas, píldoras,

tiras, pastillas para chupar, tabletas, pastillas, obleas, pellas, chicles medicinales, polvos a granel, polvos o gránulos efervescentes o no efervescentes, nebulizaciones orales, soluciones, emulsiones, suspensiones, obleas, cápsulas o comprimidos dispersables, elixires y jarabes. Además del (los) principio(s) activo(s), las composiciones farmacéuticas pueden contener uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables, incluyendo, pero no se limitan a, aglutinantes, agentes de relleno, diluyentes, disgregantes, agentes humectantes, lubricantes, deslizantes, agentes colorantes, inhibidores de la migración del colorante, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes emulsionantes, agentes suspensorios y dispersantes, conservantes, disolventes, líquidos no acuosos, ácidos orgánicos y fuentes de dióxido de carbono.

Los aglutinantes o granuladores imparten cohesividad al comprimido para asegurar que el comprimido permanece intacto después de la compresión. Algunos aglutinantes o granuladores adecuados incluyen, pero no se limitan a, almidones, tales como almidón de maíz, almidón de patata y almidón pregelatinizado (por ejemplo, STARCH 1500); gelatina; azúcares, tales como sacarosa, glucosa, dextrosa, melazas y lactosa; gomas naturales y sintéticas, tales como acacia, ácido alginico, alginatos, extracto de musgo de Irlanda, goma panwar, goma ghatti, mucilago de isabgol husks, carboximetil celulosa, metil celulosa, polivinilpirrolidona (PVP), Veegum, arabogalactano de alerce, tragacanto en polvo y goma guar; celulosas, tales como etil celulosa, acetato de celulosa, carboximetil celulosa de calcio, carboximetil celulosa de sodio, metil celulosa, hidroxietil celulosa (EEC), hidroxipropil celulosa (HPC), hidroxipropil metil celulosa (HPMC); celulosas microcristalinas, tales como AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103, AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (FMC Corp., Marcus Hook, PA); y mezclas de los mismos. Algunos agentes de relleno adecuados incluyen, pero no se limitan a, talco, carbonato de calcio, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos. La cantidad de aglutinante o de agente de relleno en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria varía dependiendo del tipo de formulación y es fácilmente determinable por los expertos habituales en la técnica. El aglutinante o el agente de relleno pueden estar presentes desde un 50 hasta un 99 % en peso en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria.

Algunos diluyentes adecuados incluyen, pero no se limitan a, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, lactosa, sorbitol, sacarosa, inositol, celulosa, caolín, manitol, cloruro de sodio, almidón seco y azúcar en polvo. Ciertos diluyentes, tales como manitol, lactosa, sorbitol, sacarosa e inositol, cuando están presentes en una cantidad suficiente, pueden impartir propiedades a algunos comprimidos que permiten su disgregación en la boca mediante masticación. Dichos comprimidos pueden usarse como comprimidos masticables. La cantidad de diluyente en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria varía dependiendo del tipo de formulación y es fácilmente determinable por los expertos habituales en la técnica.

Algunos disgregantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, agar; bentonita; celulosas, tales como metil celulosa y carboximetil celulosa; productos de la madera; esponjas naturales; resinas de intercambio catiónico; ácido alginico; gomas, tales como goma guar y Veegum HV; pulpa de cítricos; celulosas reticuladas, tales como croscarmelosa; polímeros reticulados, tales como crosppovidona; almidones reticulados; carbonato de calcio; celulosa microcristalina, tales como glicolato sódico de almidón; polacrilina de potasio; almidones, tales como almidón de maíz, almidón de patata, almidón de tapioca y almidón pregelatinizado; arcillas; alginatos; y mezclas de los mismos. La cantidad de disgregante en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria varía dependiendo del tipo de formulación y es fácilmente determinable por los expertos habituales en la técnica. La cantidad de disgregante en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria varía dependiendo del tipo de formulación y es fácilmente determinable por los expertos habituales en la técnica. Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden contener desde un 0,5 hasta un 15 % o, desde un 1 hasta un 5 % en peso de disgregante.

Algunos lubricantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, estearato de calcio; estearato de magnesio; aceite mineral; aceite mineral ligero; glicerina; sorbitol; manitol; glicoles, tales como behenato de glicerol y polietilenglicol (PEG); ácido esteárico; lauril sulfato de sodio; talco; aceite vegetal hidrogenado, incluyendo aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; estearato de cinc; oleato de etilo; laureato de etilo; agar; almidón; licopodio; sílice o geles de sílice, tales como AEROSIL® 200 (W. R. Grace Co., Baltimore, MD) y CAB-O-SIL® (Cabot Co. de Boston, MA); y mezclas de los mismos. Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria contener desde un 0,1 hasta un 5 % en peso de lubricante.

Algunos deslizantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, dióxido de silicio coloidal, CAB-O-SIL® (Cabot Co. de Boston, MA) y talco exento de asbestos. Algunos colorantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los colorantes FD&C aprobados certificados solubles en agua, y los colorantes FD&C insolubles en agua suspendidos en hidrato de alúmina, y lacas colorantes, y mezclas de los mismos. Una laca colorante es la combinación mediante adsorción de un colorante soluble en agua con un óxido hidratado de un metal pesado, dando como resultado una forma insoluble del colorante. Algunos agentes saborizantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, aromas naturales extraídos a partir de plantas, tales como frutas, y mezclas sintéticas de compuestos que producen una sensación de sabor agradable, tales como menta y salicilato de metilo. Algunos agentes edulcorantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, sacarosa, lactosa, manitol, jarabes, glicerina y edulcorantes artificiales, tales como sacarina y aspartamo. Algunos agentes emulsionantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, gelatina, goma arábica, tragacanto, bentonita y tensioactivos, tales como monooleato de polioxietilén sorbitano

(TWEEN® 20), monooleato de polioxietilén sorbitano 80 (TWEEN® 80) y oleato de trietanolamina. Algunos agentes suspensores y dispersantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, carboximetil celulosa de sodio, pectina, tragacanto, Veegum, goma arábiga, carbometil celulosa de sodio, hidroxipropil metil celulosa y polivinilpirrolidona. Algunos conservantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, glicerina, metil y propilparabeno, ácido benzoico, benzoato de sodio y alcohol. Algunos agentes humectantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, monoestearato de propilenglicol, monooleato de sorbitano, monolaurato de dietilenglicol y polioxietilén lauril éter. Algunos disolventes adecuados incluyen, pero no se limitan a, glicerina, sorbitol, alcohol etílico y jarabe. Algunos líquidos no acuosos adecuados utilizados en emulsiones incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral y aceite de semilla de algodón. Algunos ácidos orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácido cítrico y tartárico. Algunas fuentes adecuadas de dióxido de carbono incluyen, pero no se limitan a, bicarbonato de sodio y carbonato de sodio.

Debería entenderse que muchos portadores y excipientes pueden tener una pluralidad de funciones, incluso dentro de la misma formulación.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración oral pueden proporcionarse en forma de comprimidos, de comprimidos triturados, de comprimidos masticables, de comprimidos de disolución rápida, de comprimidos de compresión múltiple o de comprimidos con un recubrimiento entérico, con un recubrimiento de azúcar o con un recubrimiento en película. Los comprimidos con un recubrimiento entérico son comprimidos recubiertos con sustancias que resisten la acción del ácido del estómago pero que se disuelven o se disgregan en el intestino, protegiendo así los principios activos del entorno ácido del estómago. Algunos recubrimientos entéricos incluyen, pero no se limitan a, ácidos grasos, grasas, salicilato de fenilo, ceras, goma laca, goma laca amoniacal y acetatos ftalatos de celulosa. Los comprimidos recubiertos con azúcar son comprimidos rodeados por un recubrimiento de azúcar que puede ser beneficioso para encubrir sabores u olores desagradables y para proteger los comprimidos frente a la oxidación. Los comprimidos con un recubrimiento en película son comprimidos que están recubiertos con una fina capa de una película de un material soluble en agua. Algunos recubrimientos en película incluyen, pero no se limitan a, hidroxietil celulosa, carboximetil celulosa de sodio, polietilenglicol 4000 y acetato ftalato de celulosa. El recubrimiento en película imparte las mismas características generales que el recubrimiento de azúcar. Los comprimidos de compresión múltiple son comprimidos elaborados mediante más de un ciclo de compresión, incluyendo comprimidos ranurados y comprimidos recubiertos en prensa o recubiertos en seco.

Las formas de dosificación de comprimidos pueden prepararse a partir del principio activo en forma de un polvo, cristalino o granular, solo o junto con uno o más de los portadores o excipientes descritos en la presente memoria, incluyendo aglutinantes, disgregantes, polímeros de liberación controlada, lubricantes, diluyentes y/o colorantes. Los agentes saborizantes y edulcorantes son especialmente útiles en la formación de comprimidos y de tabletas masticables.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración oral pueden proporcionarse en forma de cápsulas blandas o duras, que pueden estar hechas de gelatina, de metil celulosa, de almidón o de alginato de calcio. La cápsula de gelatina dura, también conocida como cápsula con relleno seco (DFC), consiste en dos secciones, una que se desliza sobre la otra, encerrando así completamente el principio activo. La cápsula elástica blanda (SEC) es una cubierta blanda, globular, tal como una cubierta de gelatina, que es plastificada mediante la adición de glicerina, de sorbitol o de un poliol similar. Las cubiertas de gelatina blanda pueden contener un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos. Algunos conservantes adecuados son aquellos según se describe en la presente memoria, incluyendo metil y propilparabenos y ácido sórbico. Las formas de dosificación líquidas, semisólidas y sólidas proporcionadas en la presente memoria pueden estar encapsuladas en una cápsula. Algunas formas de dosificación líquidas y semisólidas adecuadas incluyen soluciones y suspensiones en carbonato de propileno, aceites vegetales o triglicéridos. Las cápsulas que contienen dichas soluciones pueden prepararse según se describe en las patentes de EE.UU. nº 4.328.245; 4.409.239; y 4.410.545. Las cápsulas también pueden recubrirse según conocen los expertos en la técnica con objeto de modificar o de prolongar la disolución del principio activo.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración oral pueden proporcionarse en formas de dosificación líquidas y semisólidas, incluyendo emulsiones, soluciones, suspensiones, elixires y jarabes. Una emulsión es un sistema bifásico en el que un líquido está dispersado en forma de pequeños glóbulos en otro líquido, que puede ser de aceite en agua o de agua en aceite. Las emulsiones pueden incluir un líquido o un disolvente no acuoso, un agente emulsionante y un conservante farmacéuticamente aceptable. Las suspensiones pueden incluir un agente suspensor y un conservante farmacéuticamente aceptable. Las soluciones alcohólicas acuosas pueden incluir un acetal farmacéuticamente aceptable, tal como un acetal de di(alquilo inferior) de un aldehído de un alquilo inferior, por ejemplo, acetal de dietil acetaldehído; y un disolvente miscible en agua que tiene uno o más grupos hidroxilo, tal como propilenglicol y etanol. Los elixires son soluciones transparentes, edulcoradas e hidroalcohólicas. Los jarabes son soluciones acuosas concentradas de un azúcar, por ejemplo, sacarosa, y también pueden contener un conservante. Para una forma de dosificación líquida, por ejemplo, puede diluirse una solución en un polietilenglicol con una cantidad suficiente de un portador líquido farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, agua, para ser medida convenientemente para su administración.

Otras formas de dosificación líquidas y semisólidas útiles incluyen, pero no se limitan a, aquellas que contienen el (los) principio(s) activo(s) proporcionados en la presente memoria y un mono o polialquilenglicol dialquilado, incluyendo, 1,2-dimetoximatano, diglima, triglima, tetraglima, polietilenglicol-3 50-dimetil éter, polietilenglicol-550-dimetil éter, polietilenglicol-750-dimetil éter, en donde 350, 550 y 750 se refieren al peso molecular medio aproximado del polietilenglicol. Estas formulaciones pueden comprender adicionalmente uno o más antioxidantes, tales como butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), galato de propilo, vitamina E, hidroquinona, hidroxycumarinas, etanolamina, lecitina, cefalina, ácido ascórbico, ácido málico, sorbitol, ácido fosfórico, bisulfito, metabisulfito de sodio, ácido tiodipropiónico y sus ésteres, y ditiocarbamatos.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración oral también pueden proporcionarse en forma de liposomas, de micelas, de microesferas o de nanosistemas. Las formas de dosificación micelares pueden prepararse según se describe en la Patente de EE.UU. N° 6.350.458.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración oral pueden proporcionarse en forma de gránulos y de polvos no efervescentes o efervescentes, para ser reconstituídos en una forma de dosificación líquida. Algunos portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables usados en los gránulos o en los polvos no efervescentes pueden incluir diluyentes, edulcorantes y agentes humectantes. Algunos portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables usados en los gránulos o en los polvos efervescentes pueden incluir ácidos orgánicos y una fuente de dióxido de carbono.

Pueden usarse agentes colorantes y saborizantes en todas las anteriores formas de dosificación.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración oral pueden formularse en forma de formas de dosificación de liberación inmediata o modificada, incluyendo formas de liberación retardada, sostenida, pulsátil, controlada, dirigida y programada.

B. Administración parenteral

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden ser administradas por vía parenteral mediante una inyección, una infusión o un implante, para su administración local o sistémica. La administración parenteral, según se usa en la presente memoria, incluye la administración intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretral, intraesternal, intracraneal, intramuscular, intrasinovial, intravesical y subcutánea.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración parenteral pueden formularse en cualquier forma de dosificación que sea adecuada para su administración parenteral, incluyendo soluciones, suspensiones, emulsiones, micelas, liposomas, microesferas, nanosistemas y formas sólidas adecuadas para soluciones y suspensiones en forma líquida antes de su inyección. Dichas formas de dosificación pueden prepararse de acuerdo con los métodos convencionales conocidos por los expertos en la técnica de la ciencia farmacéutica (véase, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy, supra*).

Las composiciones farmacéuticas destinadas a una administración parenteral pueden incluir uno o más portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables, incluyendo, pero no se limitan a, vehículos acuosos, vehículos miscibles en agua, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos o conservantes frente al crecimiento de microorganismos, estabilizantes, potenciadores de la solubilidad, agentes isotónicos, agentes tamponantes, antioxidantes, anestésicos locales, agentes suspensores y dispersantes, agentes humectantes, emulsionantes, agentes complejantes, agentes secuestrantes o quelantes, crioprotectores, lioprotectores, agentes espesantes, agentes de ajuste del pH y gases inertes.

Algunos vehículos acuosos adecuados incluyen, pero no se limitan a, agua, solución salina, solución salina fisiológica o solución salina tamponada con fosfato (PBS), cloruro de sodio para inyectables, solución de Ringer para inyectables, dextrosa isotónica para inyectables, agua estéril para inyectables, solución de Ringer para inyectables con dextrosa y lactato. Algunos vehículos no acuosos adecuados, pero no se limitan a, aceites fijos de origen vegetal, aceite de ricino, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de menta, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de soja, aceites vegetales hidrogenados, aceite de soja hidrogenado y triglicéridos de cadena media aceite de coco, y aceite de semilla de palma. Algunos vehículos miscibles en agua adecuados incluyen, pero no se limitan a, etanol, 1,3-butanodiol, polietilenglicol líquido (por ejemplo, polietilenglicol 300 y polietilenglicol 400), propilenglicol, glicerina, *N*-metil-2-pirrolidona, *N,N*-dimetilacetamida y dimetilsulfóxido.

Algunos agentes antimicrobianos o conservantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, fenoles, cresoles, mercuriales, alcohol bencílico, clorobutanol, p-hidroxibenzoatos de metilo y de propilo, timerosal, cloruro de benzalconio (por ejemplo, cloruro de bencetonio), metil y propilparabenos y ácido sórbico. Algunos agentes isotónicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, cloruro de sodio, glicerina y dextrosa. Algunos agentes tamponantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, fosfato y citrato. Algunos antioxidantes adecuados son aquellos según se describe en la presente memoria, incluyendo bisulfito y metabisulfito de sodio. Algunos anestésicos locales adecuados incluyen, pero no se limitan a, clorhidrato de procaína. Algunos agentes suspensores y dispersantes adecuados son aquellos según se describe en la presente memoria, incluyendo carboximetil celulosa

de sodio, hidroxipropil metil celulosa y polivinilpirrolidona. Algunos agentes emulsionantes adecuados son aquellos descritos en la presente memoria, incluyendo monolaurato de polioxietilén sorbitano, monooleato de polioxietilén sorbitano 80 y oleato de trietanolamina. Algunos agentes secuestrantes o quelantes adecuados incluyen, pero no se limitan a EDTA. Algunos agentes de ajuste del pH adecuados incluyen, pero no se limitan a, hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, ácido cítrico y ácido láctico. Algunos agentes complejantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, ciclodextrinas, incluyendo α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, hidroxipropil- β -ciclodextrina, sulfobutil éter- β -ciclodextrina y sulfobutil éter 7- β -ciclodextrina (CAPTISOL®, CyDex, Lenexa, KS).

Cuando las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria se formulan para la administración de dosis múltiples, las formulaciones parenterales de dosis múltiples deben contener un agente antimicrobiano a unas concentraciones bacteriostáticas o fungistáticas. Todas las formulaciones parenterales deben ser estériles, según se sabe y se lleva a cabo en la técnica.

En una realización, las composiciones farmacéuticas para su administración parenteral se proporcionan en forma de soluciones estériles listas para su uso. En otra realización, las composiciones farmacéuticas se proporcionan en forma de productos solubles estériles secos, incluyendo polvos liofilizados y comprimidos hipodérmicos, para ser reconstituidos con un vehículo antes de su uso. En otra realización más, las composiciones farmacéuticas se proporcionan en forma de suspensiones estériles listas para su uso. En otra realización más, las composiciones farmacéuticas se proporcionan en forma de productos insolubles estériles secos para ser reconstituidos con un vehículo antes de su uso. En otra realización más, las composiciones farmacéuticas se proporcionan en forma de emulsiones estériles listas para su uso.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración parenteral pueden formularse en forma de formas de dosificación de liberación inmediata o modificada, incluyendo formas de liberación retardada, sostenida, pulsátil, controlada, dirigida y programada.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración parenteral pueden formularse en forma de una suspensión, de un sólido, de un semisólido o de un líquido tixotrópico, para su administración en forma de un depósito implantado. En una realización, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria están dispersadas en una matriz inerte sólida, que está rodeada por una membrana polimérica externa que es insoluble en los líquidos corporales pero que permite que el principio activo de las composiciones farmacéuticas difunda a través de la misma.

Algunas matrices inertes adecuadas incluyen, pero no se limitan a, metacrilato de polimetilo, metacrilato de polibutilo, cloruro de polivinilo plastificado o no plastificado, nailon plastificado, tereftalato de polietileno plastificado, caucho natural, poliisopreno, poliisobutileno, polibutadieno, polietileno, copolímeros de etileno-acetato de vinilo, cauchos de silicona, polidimetilsiloxanos, copolímeros de carbonato de silicona, polímeros hidrófilos, tales como hidrogeles de ésteres del ácido acrílico y metacrílico, colágeno, alcohol polivinílico reticulado y acetato de polivinilo reticulado parcialmente hidrolizado.

Algunas membranas poliméricas externas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, polietileno, polipropileno, copolímeros de etileno/propileno, copolímeros de etileno/acrilato de etilo, copolímeros de etileno/acetato de vinilo, cauchos de silicona, polidimetilsiloxanos, caucho de neopreno, polietileno clorado, cloruro de polivinilo, copolímeros de cloruro de vinilo con acetato de vinilo, cloruro de vinilideno, de etileno y de propileno, ionómero de tereftalato de polietileno, caucho de butilo, cauchos de epiclorhidrina, copolímero de etileno/alcohol vinílico, terpolímero de etileno/acetato de vinilo/alcohol vinílico y copolímero de etileno/viniloxietanol.

C. Administración tópica

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden ser administradas tópicamente sobre la piel, orificios o mucosas. La administración tópica, según se usa en la presente memoria, incluye una administración (intra)dérmica, en la conjuntiva, intracorneal, intraocular, oftálmica, auricular, transdérmica, nasal, vaginal, uretral, respiratoria, pulmonar y rectal.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden formularse en cualquier forma de dosificación que sea adecuada para su administración tópica para un efecto local o sistémico, incluyendo emulsiones, soluciones, suspensiones, cremas, geles, hidrogeles, ungüentos, polvos para espolvorear, apósitos, elixires, lociones, suspensiones, tinturas, pastas, espumas, películas, aerosoles, irrigaciones, pulverizaciones, supositorios, vendajes y parches dérmicos. La formulación tópica de las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria también puede comprender liposomas, micelas, microesferas, nanosistemas y mezclas de los mismos.

Algunos portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para su uso en las formulaciones tópicas proporcionadas en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a, vehículos acuosos, vehículos miscibles en agua, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos o conservantes frente al crecimiento de microorganismos, estabilizantes, potenciadores de la solubilidad, agentes isotónicos, agentes tamponantes, antioxidantes, anestésicos locales, agentes suspensorios y dispersantes, agentes humectantes, emulsionantes, agentes complejantes, agentes secuestrantes o quelantes, potenciadores de la penetración, crioprotectores,

lioprotectores, agentes espesantes y gases inertes.

Las composiciones farmacéuticas también pueden ser administradas tópicamente mediante electroporación, iontoforesis, fonoforesis, sonoforesis o una inyección con microagujas o sin agujas, tales como POWDERJECT™ (Chiron Corp., Emeryville, CA) y BIOJECT™ (Bioject Medical Technologies Inc., Tualatin, OR).

- 5 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden proporcionarse en forma de ungüentos, cremas y geles. Algunos vehículos de ungüentos adecuados incluyen vehículos oleaginosos o de hidrocarburos, incluyendo manteca, manteca benzoinada, aceite de oliva, aceite de semilla de algodón y otros aceites, vaselina blanca; vehículos emulsionables o de absorción, tales como vaselina hidrófila, sulfato de hidroxiestearina y lanolina anhidra; vehículos extraíbles en agua, tales como ungüento hidrófilo; vehículos de 10 ungüento solubles en agua, incluyendo polietilenglicoles de peso molecular variable; vehículos de emulsiones, ya sea de emulsiones de agua en aceite (A/O) o emulsiones de aceite en agua (O/A), incluyendo alcohol cetílico, monoestearato de glicerilo, lanolina y ácido esteárico (véase, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy, supra*). Estos vehículos son emolientes, pero generalmente requieren la adición de antioxidantes y conservantes.

- 15 Una base de crema adecuada puede ser de aceite en agua o de agua en aceite. Algunos vehículos de crema adecuados pueden ser lavables con agua y contienen una fase oleosa, un emulsionante y una fase acuosa. La fase oleosa también se denomina fase "interna", que generalmente está formada por vaselina y un alcohol graso tal como alcohol cetílico o estearílico. La fase acuosa habitualmente, aunque no necesariamente, supera en volumen a la fase oleosa, y generalmente contiene un humectante. El emulsionante de una formulación en crema puede ser un tensioactivo no iónico, aniónico, catiónico o anfótero.

- 20 Los geles son sistemas semisólidos de tipo suspensión. Los geles de fase única contienen macromoléculas orgánicas distribuidas sustancialmente uniformemente por todo el portador líquido. Algunos agentes gelificantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, polímeros de ácido acrílico reticulado, tales como carbómeros, carboxipolialquilenos y CARBOPOL®; polímeros hidrófilos, tales como óxidos de polietileno, copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno y alcohol polivinílico; polímero celulósicos, tales como hidroxipropil celulosa, hidroxietil 25 celulosa, hidroxipropil metil celulosa, ftalato de hidroxipropil metil celulosa y metil celulosa; gomas, tales como goma de tragacanto y xántica; alginato de sodio; y gelatina. Con objeto de preparar un gel uniforme, pueden añadirse agentes dispersantes tales como alcohol o glicerina, o el agente gelificante puede ser dispersado mediante trituración, mezcla mecánica y/o agitación.

- 30 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden ser administradas por vía rectal, uretral, vaginal o perivaginal en forma de supositorios, óvulos vaginales, sondas, apósitos o cataplasmas, pastas, polvos, apósitos, cremas, emplastos, anticonceptivos, ungüentos, soluciones, emulsiones, suspensiones, tampones, geles, espumas, aerosoles o enemas. Estas formas de dosificación pueden ser elaboradas mediante el uso de procesos convencionales, según se describe en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy, supra*.

- 35 Los supositorios rectales, uretrales y vaginales son cuerpos sólidos para su inserción en los orificios corporales, que son sólidos a las temperaturas habituales pero se funden o se reblandecen a las temperaturas corporales para liberar el (los) principio(s) activo(s) en el interior de los orificios. Algunos portadores farmacéuticamente aceptables utilizados en los supositorios rectales y vaginales incluyen bases o vehículos, tales como agentes endurecedores, que producen un punto de fusión en las cercanías de la temperatura corporal, cuando se formulan con las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria; y antioxidantes según se describe en la 40 presente memoria, incluyendo bisulfito y metabisulfito de sodio. Algunos vehículos adecuados incluyen, pero no se limitan a, manteca de cacao (aceite de theobroma), glicerina-gelatina, carbocera (polioxietilenglicol), espermaceti, parafina, cera blanca y amarilla, y mezclas apropiadas de mono, di y triglicéridos de ácidos grasos, e hidrogeles, tales como alcohol polivinílico, metacrilato de hidroxietilo y ácido poliacrílico. También pueden usarse combinaciones de los diversos vehículos. Los supositorios rectales y vaginales pueden prepararse mediante compresión o moldeado. 45 El peso típico de un supositorio rectal y vaginal es de desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 3 g.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden ser administradas por vía oftálmica en forma de soluciones, suspensiones, ungüentos, emulsiones, soluciones gelificantes, polvos para soluciones, geles, insertos oculares e implantes.

- 50 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden ser administradas por vía intranasal o mediante inhalación al tracto respiratorio. Las composiciones farmacéuticas pueden proporcionarse en forma de un aerosol o de una solución para su administración mediante el uso de un recipiente presurizado, una bomba, un pulverizador, un atomizador, tal como un atomizador mediante el uso de la electrohidrodinámica para producir una niebla fina, o un nebulizador, solo o junto con un propelente adecuado, tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano o 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano. Las composiciones farmacéuticas también pueden 55 proporcionarse en forma de un polvo seco para su insuflación, solo o junto con un portador inerte tal como lactosa o fosfolípidos; y en gotas nasales. Para su uso intranasal, el polvo puede comprender un agente bioadhesivo, incluyendo quitosano o ciclodextrina.

Las soluciones o las suspensiones para su uso en un recipiente presurizado, una bomba, un pulverizador, un

atomizador o un nebulizador pueden formularse para que contengan etanol, etanol acuoso o un agente alternativo adecuado para la dispersión, la solubilización o la liberación prolongada del principio activo proporcionado en la presente memoria; un propelente como disolvente; y/o un tensioactivo, tal como trioleato de sorbitano, ácido oleico o un ácido olgóláctico.

- 5 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden estar micronizadas hasta un tamaño adecuado para su administración mediante inhalación, tal como aproximadamente a 50 micrómetros o menos, o aproximadamente a 10 micrómetros o menos. Las partículas de dichos tamaños pueden prepararse mediante el uso de un método de molienda conocido por los expertos en la técnica, tal como molienda por chorro en espiral, molienda por chorro en lecho fluido, procesado con fluidos supercríticos para formar nanopartículas, homogeneización a alta presión o secado por pulverización.

10 Las cápsulas, los envases alveolados y los cartuchos para su uso en un inhalador o en un insuflador pueden formularse para que contengan una mezcla pulverulenta de las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria; una base pulverulenta adecuada, tal como lactosa o almidón; y un modificador del comportamiento, tal como *-*leucina, manitol o estearato de magnesio. La lactosa puede ser anhidra o estar en forma del monohidrato. Otros excipientes o portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, dextrano, glucosa, maltosa, sorbitol, xilitol, fructosa, sacarosa y trehalosa. Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración inhalada/intranasal pueden comprender adicionalmente un aroma adecuado, tal como mentol y levomentol; y/o edulcorantes, tales como sacarina y sacarina de sodio.

15 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria para su administración tópica pueden estar formuladas para que sean de liberación inmediata o de liberación modificada, incluyendo una liberación retardada, sostenida, pulsátil, controlada, dirigida y programada.

D. Liberación modificada

25 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden formularse en forma de una forma de dosificación de liberación modificada. Según se usa en la presente memoria, el término "liberación modificada" se refiere a una forma de dosificación en la que la velocidad o el lugar de liberación del (los) principio(s) activo(s) es diferente de la de una forma de dosificación inmediata cuando es administrada a través de la misma vía. Algunas formas de dosificación de liberación modificada incluyen, pero no se limitan a, una liberación retardada, extendida, prolongada, sostenida, pulsátil, controlada, acelerada y rápida, dirigida, programada, y formas de dosificación de retención gástrica. Las composiciones farmacéuticas de las formas de dosificación de liberación modificada pueden prepararse mediante el uso de una diversidad de dispositivos y métodos de liberación modificada conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo, pero no se limitan a, dispositivos de liberación controlada de matriz, dispositivos de liberación controlada cosméticos, dispositivos de liberación controlada multiparticulados, resinas de intercambio iónico, recubrimientos entéricos, recubrimientos multilaminares, microesferas, liposomas, y combinaciones de los mismos. La velocidad de liberación del (los) principio(s) activo(s) también puede ser modificada variando los tamaños de partícula y el polimorfismo del (los) principio(s) activo(s).

30 Algunos ejemplos de liberación modificada incluyen, pero no se limitan a, los descritos en las Patentes de EE.UU. n.º: 3.845.770; 3.916.899; 3.536.809; 3.598.123; 4.008.719; 5.674.533; 5.059.595; 5.591.767; 5.120.548; 5.073.543; 5.639.476; 5.354.556; 5.639.480; 5.733.566; 5.739.108; 5.891.474; 5.922.356; 5.958.458; 5.972.891; 5.980.945; 5.993.855; 6.045.830; 6.087.324; 6.113.943; 6.197.350; 6.248.363; 6.264.970; 6.267.981; 6.270.798; 6.375.987; 6.376.461; 6.419.961; 6.589.548; 6.613.358; 6.623.756; 6.699.500; 6.793.936; 6.827.947; 6.902.742; 6.958.161; 7.255.876; 7.416.738; 7.427.414; 7.485.322; Bussemer *et al.*, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* **2001**, 7S, 433-458; *Modified-Release Drug Delivery Technology*, 2ª ed.; Rathbone *et al.*, Eds.; Marcel Dekker AG: **2005**; Maroni *et al.*, *Expert. Opin. DrugDeliv.* **2005**, 2, 855-871; Shi *et al.*, *Expert Opin. DrugDeliv.* **2005**, 2, 1039-1058; *Polymers in Drug Delivery*; Ijeoma *et al.*, Eds.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, **2006**; Badawy *et al.*, *J. Pharm. Sci.* **2007**, 9, 948-959; *Modified-Release Drug Delivery Technology, supra*; Conway, *Recent Pat. Drug Deliv. Formul* **2008**, 2, 1-8; Gazzaniga *et al.*, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2008**, 68, 11-18; Nagarwal *et al.*, *Curr. Drug Deliv.* **2008**, 5, 282-289; Gallardo *et al.*, *Pharm. Dev. Technol* **2008**, 13, 413-423; Chrzanowski, *AAPS PharmSciTech.* **2008**, 9, 635-638; Chrzanowski, *AAPS PharmSciTech.* **2008**, 9, 639-645; Kalantzi *et al.*, *Recent Pat. Drug Deliv. Formul* **2009**, 3, 49-63; Saigal *et al.*, *Recent Pat. DrugDeliv. Formul* **2009**, 3, 64-70; y Roy *et al.*, *J. Control Release* 2009, 134, 74-80.

50 1. Dispositivos de liberación controlada de matriz

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria en una forma de dosificación de liberación modificada pueden elaborarse mediante el uso de un dispositivo de liberación controlada de matriz conocido por los expertos en la técnica. Véase Takada *et al.* en *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*; Matiwitz Ed.; Wiley: 1999; vol. 2.

55 En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria en una forma de dosificación de liberación modificada se formulan mediante el uso de un dispositivo de matriz erosionable, que son polímeros hinchables, erosionables o solubles en agua, incluyendo, pero no se limitan a, polímeros sintéticos y polímeros naturales, y derivados, tales como polisacáridos y proteínas.

Algunos materiales útiles en la formación de una matriz erosionable incluyen, pero no se limitan a, chitina, chitosan, dextrano y pululano; goma agar, goma arábica, goma karaya, goma de algarrobo, goma de tragacanto, carragenanos, goma ghatti, goma guar, goma xántica y escleroglucano; almidones, tales como dextrina y maltodextrina; coloides hidrófilos, tales como pectina; fosfátidos, tales como lecitina; alginatos; propilenglicol alginato; gelatina; colágeno; celulósicos, tales como etil celulosa (EC), metiletil celulosa (MEC), carboximetil celulosa (CMC), CMEC, hidroxietil celulosa (EEC), hidroxipropil celulosa (HPC), acetato de celulosa (CA), propionato de celulosa (CP), butirato de celulosa (CB), acetato butirato de celulosa (CAB), CAP, CAT, hidroxipropil metil celulosa (HPMC), HPMCP, HPMCAS, acetato trimelitato de hidroxipropil metil celulosa (HPMCAT) y etil hidroxietil celulosa (EHEC); polivinilpirrolidona; alcohol polivinílico; acetato de polivinilo; ésteres de ácidos grasos de glicerol; poli(acrilamida); ácido poliacrílico; copolímeros del ácido etacrílico o del ácido metacrílico (EUDRAGIT®, Rohm America, Inc., Piscataway, NJ); poli(2-hidroxietil-metacrilato); polilactidas; copolímeros de ácido L-glutámico y L-glutamato de etilo; copolímeros degradables de ácido láctico-ácido glicólico; ácido poli-D-(-)-3-hidroxi-butírico; y otros derivados del ácido acrílico, tales como homopolímeros y copolímeros de metacrilato de butilo, de metacrilato de metilo, de metacrilato de etilo, de acrilato de etilo, de metacrilato de (2-dimetilaminoetilo) y de cloruro de metacrilato de (trimetilaminoetilo).

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria se formulan con un dispositivo de matriz no erosionable. El (los) principio(s) activo(s) se disuelve(n) o se dispersa(n) en una matriz inerte y es (son) liberado(s) principalmente mediante difusión a través de la matriz inerte una vez que es (son) administrado(s). Algunos materiales adecuados para su uso como un dispositivo de matriz erosionable incluyen, pero no se limitan a, plásticos insolubles, tales como polietileno, polipropileno, poliisopreno, poliisobutileno, polibutadieno, metacrilato de polimetilo, metacrilato de polibutilo, polietileno clorado, cloruro de polivinilo, copolímeros de acrilato de metilo-metacrilato de metilo, copolímeros de etileno-acetato de vinilo, copolímeros de etileno/propileno, copolímeros de etileno/acrilato de etilo, copolímeros de cloruro de vinilo con acetato de vinilo, cloruro de vinilideno, de etileno y de propileno, ionómero de tereftalato de polietileno, cauchos de butilo, cauchos de epiclorhidrina, copolímero de etileno/alcohol vinílico, terpolímero de etileno/acetato de vinilo/alcohol vinílico, copolímero de etileno/viniloxietanol, cloruro de polivinilo, nailon plastificado, tereftalatos de polietileno plastificados, caucho natural, cauchos de silicona, polidimetilsiloxanos, y copolímeros de carbonato de silicona; polímeros hidrófilos, tales como etil celulosa, acetato de celulosa, crospovidona y acetato de polivinilo reticulado parcialmente hidrolizado; y compuestos grasos, tales como cera de carnaúba, cera microcristalina y triglicéridos.

En un sistema de liberación controlada de matriz puede controlarse la cinética de liberación, por ejemplo, a través del tipo de polímero empleado, de la viscosidad del polímero, de los tamaños de partícula del polímero y/o del (los) principio(s) activo(s), de la proporción entre el (los) principio(s) activo(s) y el polímero, y otros excipientes o portadores en las composiciones.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria en una forma de dosificación de liberación modificada pueden prepararse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo compresión directa, granulación en seco o en húmedo seguida de una compresión y granulación en fundido seguida de una compresión.

2. Dispositivos de liberación controlada osmóticos

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria en una forma de dosificación de liberación modificada pueden elaborarse mediante el uso de un dispositivo de liberación controlada osmótico, incluyendo, pero no se limitan a, un sistema de una cámara, un sistema de dos cámaras, una tecnología de membrana asimétrica (AMT) y un sistema de núcleo extrusor (ECS). En general, dichos dispositivos tienen al menos dos componentes: (a) un núcleo que contiene un principio activo; y (b) una membrana semipermeable con al menos un puerto de suministro, que encapsula el núcleo. La membrana semipermeable controla la entrada de agua al núcleo desde un entorno de uso acuoso, de forma que se provoque la liberación del fármaco mediante extrusión a través del (los) puerto(s) de suministro.

Además del (los) principio(s) activo(s), el núcleo del dispositivo osmótico incluye opcionalmente un agente osmótico, que crea una fuerza directriz para el transporte de agua desde el entorno de uso hacia el núcleo del dispositivo. Una clase de agentes osmóticos son polímeros hidrófilos hinchables en agua, que también se denominan "osmopolímeros" e "hidrogeles". Algunos polímeros hidrófilos hinchables en agua adecuados como agentes osmóticos incluyen, pero no se limitan a, polímeros hidrófilos de vinilo y acrílicos, polisacáridos tales como alginato de calcio, óxido de polietileno (PEO), polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol (PPG), poli(metacrilato de 2-hidroxietilo), ácido poli(acrílico), ácido poli(metacrílico), polivinilpirrolidona (PVP), PVP reticulada, alcohol polivinílico (PVA), copolímeros de PVA/PVP, copolímeros de PVA/PVP con monómeros hidrófobos tales como metacrilato de metilo y acetato de vinilo, poliuretanos hidrófilos que contienen grandes bloques de PEO, croscarmelosa de sodio, carragenano, hidroxietil celulosa (EEC), hidroxipropil celulosa (HPC), hidroxipropil metil celulosa (HPMC), carboximetil celulosa (CMC) y carboxietil celulosa (CEC), alginato de sodio, policarbófilo, gelatina, goma xántica y glicolato sódico de almidón.

La otra clase de agentes osmóticos es la de los osmógenos, que son capaces de embeber agua para influir en un gradiente de presión osmótica a través de la barrera del recubrimiento circundante. Algunos osmógenos adecuados

incluyen, pero no se limitan a, sales inorgánicas, tales como sulfato de magnesio, cloruro de magnesio, cloruro de calcio, cloruro de sodio, cloruro de litio, sulfato de potasio, fosfatos de potasio, carbonato de sodio, sulfito de sodio, sulfato de litio, cloruro de potasio y sulfato de sodio; azúcares, tales como dextrosa, fructosa, glucosa, inositol, lactosa, maltosa, manitol, rafinosa, sorbitol, sacarosa, trehalosa y xilitol; ácidos orgánicos, tales como ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido fumárico, ácido cítrico, ácido maleico, ácido sebáico, ácido sórbico, ácido adípico, ácido edético, ácido glutámico, ácido p-toluensulfónico, ácido succínico y ácido tartárico; urea; y mezclas de los mismos.

Pueden emplearse agentes osmóticos con diferentes velocidades de disolución para influir en la velocidad de administración inicial del (los) principio(s) activo(s) desde la forma de dosificación. Por ejemplo, pueden usarse azúcares amorfos, tales como MANNOGEM™ EZ (SPI Pharma, Lewes, DE) para proporcionar una administración más rápida durante el primer par de horas, para producir de forma rápida el efecto terapéutico deseado, y liberar gradualmente y de forma continua el resto de la cantidad para mantener el nivel deseado del efecto terapéutico o profiláctico a lo largo de un período de tiempo prolongado. En este caso, el (los) principio(s) activo(s) es (son) liberado(s) a una velocidad tal que se reemplaza la cantidad de principio activo metabolizado y excretado.

El núcleo también puede incluir una gran diversidad de otros excipientes y portadores según se describe en la presente memoria, para mejorar el rendimiento de la forma de dosificación o para favorecer la estabilidad o el procesado.

Algunos materiales útiles en la formación de membranas semipermeables incluyen derivados acrílicos, vinilos, éteres, poliamidas, poliésteres y celulósicos de diversas calidades que son permeables al agua e insolubles en agua a los pertinentes pH fisiológicos, que son susceptibles de hacerse insolubles en agua mediante una alteración química, tal como una reticulación. Algunos ejemplos de polímeros adecuados útiles en la formación del recubrimiento, incluyen acetato de celulosa (CA) plastificado, no plastificado y reforzado, diacetato de celulosa, triacetato de celulosa, propionato de CA, nitrato de celulosa, acetato butirato de celulosa (CAB), etil carbamato de CA, CAP, metil carbamato de CA, succinato de CA, trimelitato de acetato de celulosa (CAT), dimetilaminoacetato de CA, etil carbonato de CA, cloroacetato de CA, etil oxalato de CA, metil sulfonato de CA, butil sulfonato de CA, p-toluén sulfonato de CA, acetato de agar, triacetato de amilosa, acetato de beta glucano, triacetato de beta glucano, dimetil acetato de acetaldehído, triacetato de goma de semilla de algarrobo, etileno-acetato de vinilo hidroxilado, EC, PEG, PPG, copolímeros de PEG/PPG, PVP, HEC, HPC, CMC, CMEC, HPMC, HPMCP, HPMCAS, HPMCAT, ácidos y ésteres poli(acrílicos) y ácidos y ésteres poli(metacrílicos) y copolímeros de los mismos, almidón, dextrano, dextrina, chitosan, colágeno, gelatina, polialquenos, poliésteres, polisulfonas, poliétersulfonas, poliestirenos, haluros de polivinilo, ésteres y éteres de polivinilo, ceras naturales y ceras sintéticas.

La membrana semipermeable también puede ser una membrana microporosa hidrófoba, en donde los poros están sustancialmente rellenos con un gas y no están humedecidos por un medio acuoso pero son permeables al vapor de agua, según se describe en la Patente de EE.UU. nº 5.798.119. Dicha membrana hidrófoba pero permeable al vapor de agua está formada normalmente por polímeros hidrófobos tales como polialquenos, polietileno, polipropileno, politetrafluoroetileno, derivados del ácido poliacrílico, poliésteres, polisulfonas, poliétersulfonas, poliestirenos, haluros de polivinilo, fluoruro de polivinilideno, ésteres y éteres de polivinilo, ceras naturales y ceras sintéticas.

El (los) puerto(s) de administración de la membrana semipermeable pueden formarse mediante un postrecubrimiento mediante una perforación mecánica o con láser. El (los) puerto(s) de administración también puede(n) formarse mediante una erosión *in situ* de un lecho de un material soluble en agua o mediante la rotura de una porción más fina de la membrana sobre una indentación en el núcleo. Además, los puertos de suministro pueden formarse durante el proceso de recubrimiento, como en el caso de los recubrimientos de membrana asimétrica del tipo descrito en las Patentes de EE.UU. nº 5.612.059 y 5.698.220.

La cantidad total liberada del (los) principio(s) activo(s) y la velocidad de liberación pueden modularse sustancialmente a través del espesor y de la porosidad de la membrana semipermeable, de la composición del núcleo, y del número, el tamaño y la posición de los puertos de suministro.

Las composiciones farmacéuticas en una forma de dosificación de liberación controlada osmótica pueden comprender adicionalmente excipientes o portadores adicionales convencionales según se describe en la presente memoria para favorecer el comportamiento o el procesado de la formulación.

Las formas de dosificación de liberación controlada osmóticas pueden prepararse de acuerdo con los métodos y las técnicas convencionales conocidos por los expertos en la técnica. Véase *Remington: The Science and Practice of Pharmacy, supra*; Santus y Baker, *J. Controlled Release* 1995, 35, 1-21; Verma *et al.*, *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2000, 26, 695-708; y Verma *et al.*, *J. Controlled Release* 2002, 79, 7-27.

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria se formulan en forma de una forma de dosificación de liberación controlada AMT, que comprende una membrana osmótica asimétrica que recubre un núcleo que comprende el (los) principio(s) activo(s) y otros excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables. Véase la Patente de EE.UU. nº 5.612.059 y la Publicación de Solicitud de Patente Internacional nº WO 2002/17918. Las formas de dosificación de liberación controlada AMT pueden prepararse de

acuerdo con los métodos y las técnicas convencionales conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo compresión directa, granulación en seco, granulación en húmedo y un método de recubrimiento por inmersión.

5 En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria se formulan en forma de una forma de dosificación de liberación controlada ESC, que comprende una membrana osmótica que recubre un núcleo que comprende el (los) principio(s) activo(s), una hidroxietil celulosa y otros excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

3. Dispositivos de liberación controlada multiparticulados

10 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria en una forma de dosificación de liberación modificada pueden elaborarse en forma de un dispositivo de liberación controlada multiparticulado, que comprende una multiplicidad de partículas, gránulos o pellas que varían desde 10 µm hasta 3 mm, desde 50 µm hasta 2,5 mm, o desde 100 µm hasta 1 mm de diámetro. Dichos multiparticulados pueden elaborarse mediante los procesos conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo granulación en húmedo y en seco, extrusión/esferonización, compactación con rodillos, gelatinización mediante un recubrimiento por pulverización de núcleos de siembra. Véase, por ejemplo, *Multiparticulate Oral Drug Delivery*, Ghebre-Sellassie Ed.; Marcel Dekker: 1994; y *Pharmaceutical Pelletization Technology*, Ghebre-Sellassie Ed.; Marcel Dekker: 1989.

15 Pueden mezclarse otros excipientes o portadores según se describe en la presente memoria con las composiciones farmacéuticas para ayudar en el procesado y en la formación de los multiparticulados. Las partículas resultantes pueden constituir por sí mismas el dispositivo multiparticulado o pueden ser recubiertas con diversos materiales formadores de película, tales como polímeros entéricos, polímeros hinchables en agua y solubles en agua. Los multiparticulados pueden ser procesados adicionalmente en forma de una cápsula o de un comprimido.

4. Administración dirigida

25 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria también pueden formularse para ser dirigidas a un tejido, un receptor u otra área del cuerpo en particular del sujeto que se va a tratar, incluyendo sistemas de administración liposómicos, de eritrocitos resellados y basados en anticuerpos. Algunos ejemplos incluyen, pero no se limitan a, los descritos en las patentes de EE.UU. nº 5.709.874; 5.759.542; 5.840.674; 5.900.252; 5.972.366; 5.985.307; 6.004.534; 6.039.975; 6.048.736; 6.060.082; 6.071.495; 6.120.751; 6.131.570; 6.139.865; 6.253.872; 6.271.359; 6.274.552; 6.316.652; y 7.169.410.

Los compuestos y las composiciones inventivas para su uso en métodos para el tratamiento, la prevención o la mejora de enfermedades.

30 En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para el tratamiento, la prevención o la mejora de uno o más síntomas de una enfermedad proliferativa, de una enfermedad inflamatoria o de una enfermedad renal en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato, o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 En otra realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en una enfermedad inflamatoria o en una enfermedad renal en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato, o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 En ciertas realizaciones, la enfermedad proliferativa es un trastorno mieloproliferativo, incluyendo, pero no se limitan a, policitemia vera (PCV), trombocitemia esencial (ET), mielofibrosis primaria (PMF), leucemia eosinofílica crónica (CEL), leucemia mielomonocítica crónica (CMML), mastocitosis sistémica (SM) y mielofibrosis idiopática (IMF). En ciertas realizaciones, la enfermedad proliferativa es leucemia, incluyendo, pero no se limitan a, leucemia mieloide, leucemia mieloide crónica (CML), CML resistentes al imatinib, leucemia mieloide aguda (AML) y leucemia megacarioblástica aguda (AMKL). En ciertas realizaciones, la enfermedad proliferativa es una enfermedad linfoproliferativa, incluyendo, pero no se limita a, mieloma. En ciertas realizaciones, la enfermedad proliferativa es cáncer, incluyendo, pero no se limitan a, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de pulmón, tumor cerebral, cáncer de páncreas y carcinoma renal.

45 En ciertas realizaciones, la enfermedad o el trastorno inflamatorio incluyen, pero no se limitan a, disfunción inmunitaria, inmunodeficiencia, inmunomodulación, enfermedades autoinmunes, rechazo en el trasplante de un tejido, enfermedad del injerto contra el hospedador, curación de heridas, enfermedad renal, esclerosis múltiple, tiroiditis, diabetes de tipo 1, sarcoidosis, psoriasis, rinitis alérgica, enfermedades inflamatorias del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa (CU), lupus eritematoso sistémico (SLE), artritis, artrosis, artritis reumatoide, osteoporosis, asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), y xeroftalmía (o queratoconjuntivitis sicca).

(KCS)). En ciertas realizaciones, la enfermedad renal es una neuropatía diabética.

En otra realización más, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para el tratamiento, la prevención o la mejora de uno o más síntomas de una afección, de un trastorno o de una enfermedad mediados por una JAK en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para el tratamiento, la prevención o la mejora de una afección, un trastorno o una enfermedad mediada por una JAK en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En ciertas realizaciones, la afección, el trastorno o la enfermedad mediada por una JAK es un trastorno mieloproliferativo, incluyendo, pero no se limitan a, policitemia vera (PCV), trombocitemia esencial (ET), mielofibrosis primaria (PMF), leucemia eosinofílica crónica (CEL), leucemia mielomonocítica crónica (CMML), mastocitosis sistémica (SM) y mielofibrosis idiopática (IMF). En ciertas realizaciones, la afección, el trastorno o la enfermedad mediada por una JAK es leucemia, incluyendo, pero no se limita a, leucemia mieloide, leucemia mieloide crónica (CML), CML resistentes al imatinib, leucemia mieloide aguda (AML) y leucemia megacarioblástica aguda (AMBL). En ciertas realizaciones, la afección, el trastorno o la enfermedad mediada por una JAK es una enfermedad linfoproliferativa, incluyendo, pero no se limita a, mieloma. En ciertas realizaciones, el trastorno o la enfermedad mediada por una JAK es cáncer, incluyendo, pero no se limita a, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de pulmón, tumor cerebral, cáncer de páncreas y carcinoma renal. En ciertas realizaciones, la afección, el trastorno o la enfermedad mediada por una JAK es una enfermedad o un trastorno inflamatorio, incluyendo, pero no se limitan a, disfunción inmunitaria, inmunodeficiencia, inmunomodulación, enfermedades autoinmunes, rechazo en el trasplante de un tejido, enfermedad del injerto contra el hospedador, curación de heridas, enfermedad renal, esclerosis múltiple, tiroiditis, diabetes de tipo 1, sarcoidosis, psoriasis, rinitis alérgica, enfermedades inflamatorias del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa (CU), lupus eritematoso sistémico (SLE), artritis, artrosis, artritis reumatoide, osteoporosis, asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), y xerofalmía (o queratoconjuntivitis sicca (KCS)).

En ciertas realizaciones, la enfermedad o la afección proliferativa, el trastorno o la enfermedad mediada por una JAK se selecciona entre trastornos mieloproliferativos, incluyendo, pero no se limitan a, policitemia vera (PCV), trombocitemia esencial, mielofibrosis idiopática (IMF) y síndrome de hipereosinofilia (HES); leucemia, incluyendo, pero no se limitan a, leucemia mieloide, leucemia mieloide crónica (CML), CML resistentes al imatinib, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfoblástica aguda (ALL) y leucemia megacarioblástica aguda (AMKL); enfermedades linfoproliferativas, incluyendo, pero no se limitan a, mieloma; cáncer, incluyendo, pero no se limitan a, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de pulmón, cáncer cerebral, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de tiroides, carcinoma renal, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman y melanoma. En ciertas realizaciones, la enfermedad o la afección inflamatoria, el trastorno o la enfermedad mediada por una JAK se selecciona entre, pero no se limitan a, enfermedades relacionadas con una disfunción inmunitaria, una inmunodeficiencia o una inmunomodulación, incluyendo pero no se limitan a, rechazo en el trasplante de un tejido, enfermedad del injerto contra el hospedador, curación de heridas, enfermedad renal, neuropatía diabética, enfermedades autoinmunes, esclerosis múltiple, tiroiditis, diabetes de tipo 1, sarcoidosis, psoriasis, rinitis alérgica, dermatitis atópica, miastenia gravis, enfermedades inflamatorias del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa (UC), lupus eritematoso sistémico (SLE), artritis, artrosis, artritis reumatoide, osteoporosis, asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), conjuntivitis, xerofalmía (o queratoconjuntivitis sicca (KCS)), uveítis, iritis, escleritis, rinitis, sinusitis, bronquitis, miocarditis, lesiones por isquemia y reperfusión, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y septicemia. En ciertas realizaciones, la enfermedad o la afección renal, el trastorno o la enfermedad mediada por una JAK incluye una neuropatía diabética.

En ciertas realizaciones, las enfermedades y los trastornos mediados por una JAK incluyen, pero no se limitan a, reestenosis, fibrosis y esclerodermia. En ciertas realizaciones, las enfermedades mediadas por una JAK incluyen, pero no se limitan a, enfermedades víricas tales como virus de Epstein Barr (EBV), hepatitis (hepatitis B o hepatitis C), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus linfotrópico T humano de tipo 1 (HTLV-1), virus de la varicela zoster y virus del papiloma humano (VPH).

En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra al sujeto en una cantidad que varía desde 0,01 hasta 1.000 mg/kg, desde 0,1 hasta 500 mg/kg, desde 0,1 hasta 250 mg/kg o desde 0,1 hasta 100 mg/kg.

En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra al sujeto

en una cantidad que varía desde 0,01 hasta 1.000 mg/kg/día, desde 0,1 hasta 500 mg/kg/día, desde 0,1 hasta 250 mg/kg/día o desde 0,1 hasta 100 mg/kg/día. En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra al sujeto en una cantidad de 1, de 2, de 3, de 4, de 5, de 6, de 7, de 8, de 9, de 10, de 15, de 20, de 25, de 30, de 35, de 40 de 50, de 60, de 70, de 75, de 80, de 90, de 100, de 105, de 120, de 130, de 140, de 150, de 160, de 170, de 180, de 190, de 200, de 300, de 400, de 500, de 600, de 700, de 750, de 800, de 900 o de 1.000 mg/kg/día.

La dosis administrada del compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria también puede expresarse en unas unidades distintas a la unidad "mg/kg/día." Por ejemplo, las dosis para una administración parenteral pueden expresarse como mg/m²/día. El experto habitual en la técnica averiguará fácilmente cómo convertir las dosis desde mg/kg/día a mg/m²/día para una altura o un peso dados de un sujeto, o ambos (véase www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm). Por ejemplo, una dosis de 1 mg/kg/día para un ser humano de 65 kg es aproximadamente igual a 38 mg/m²/día.

Dependiendo de la enfermedad que se va a tratar y del estado del sujeto, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria puede ser administrado mediante las vías de administración oral, parenteral (por ejemplo, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, CIV, inyección o infusión suboccipital, inyección subcutánea o implante), inhalación, nasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica (por ejemplo, transdérmica o local). El compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria puede formularse, solo o conjuntamente, en una unidad de dosificación adecuada, con excipientes, portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables, apropiados para cada vía de administración.

El compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria puede ser administrado en forma de una dosis individual tal como, por ejemplo, una única inyección en bolo o comprimidos o píldoras orales; o con el tiempo, tal como, por ejemplo, una infusión continua con el tiempo o dosis en bolo divididas con el tiempo.

El compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria puede ser administrado una vez al día (QD) o dividido en múltiples dosis diarias tales como dos veces al día (BID), tres veces al día (TID) y cuatro veces al día (QID). Además, la administración puede ser continua, es decir, todos los días, o intermitente. El término "intermitente" o "intermitentemente" según se usa en la presente memoria, pretende indicar interrumpir y comenzar a intervalos regulares o irregulares. Por ejemplo, una administración intermitente del compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria es una administración durante entre uno y seis días por semana, una administración por ciclos (por ejemplo, una administración al día durante entre dos y ocho semanas consecutivas, después un periodo de descanso sin ninguna administración durante hasta una semana), o una administración en días alternos.

En ciertas realizaciones, la frecuencia de administración del compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria está en el intervalo de aproximadamente una dosis al día hasta aproximadamente una dosis al mes. En ciertas realizaciones, la administración del compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria es una vez al día, dos veces al día, tres veces al día, cuatro veces al día, una vez cada dos días, dos veces por semana, una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas o una vez cada cuatro semanas. En una realización, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra una vez al día. En otra realización, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra dos veces al día. En otra realización más, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra tres veces al día. En otra realización más, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra cuatro veces al día.

En ciertas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En ciertas realizaciones, el mamífero es un ser humano.

En una realización, la enfermedad proliferativa es un tumor. En otra realización, la enfermedad proliferativa es un tumor sólido. En ciertas realizaciones, el tumor sólido es un tumor sólido avanzado. En ciertas realizaciones, el tumor sólido es un tumor sólido metastásico. En otra realización más, la enfermedad proliferativa es un cáncer. En otra realización más, la enfermedad proliferativa es un cáncer avanzado. En ciertas realizaciones, el tumor sólido es un cáncer metastásico.

En ciertas realizaciones, el cáncer tratable de la presente memoria incluye, pero no se limitan a, (1) leucemias, incluyendo, pero no se limitan a, leucemia aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemias mielocíticas agudas tales como las leucemias mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica, monocítica, eritroleucemia y síndrome mielodisplásico o un síntoma de las mismas (tales como anemia, trombocitopenia, neutropenia, bicitopenia o pancitopenia), anemia resistente (RA), RA con sideroblastos anulares (RARS), RA con exceso de hemoblastos (RAEB), RAEB en transformación (RAEB-T), preleucemia y leucemia mielomonocítica crónica (CMML), (2) leucemias crónicas, incluyendo, pero no se limitan a, leucemia mielocítica (granulocítica) crónica, leucemia linfocítica crónica y tricoleucemia; (3) policitemia vera; (4) linfomas, incluyendo, pero no se limitan a, enfermedad de Hodgkin y enfermedad no Hodgkin; (5) mielomas múltiples, incluyendo, pero no se limitan a, mieloma múltiple latente, mieloma no secretor, mieloma osteoesclerótico, leucemia plasmocítica, plasmocitoma solitario y plasmocitoma extramedular; (6) macroglobulinemia de Waldenstrom; (7) gammapatía monoclonal con una importancia indeterminada; (8) gammapatía monoclonal benigna; (9) enfermedad de la cadena pesada; (10) sarcomas del tejido óseo y conectivo,

incluyendo, pero no se limitan a, sarcoma óseo, osteosarcoma, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, tumor maligno de células gigantes, fibrosarcoma óseo, cordoma, sarcoma periosteal, sarcomas de tejidos blandos, angiosarcoma (hemangiosarcoma), fibrosarcoma, sarcoma de Kaposi, leiomiosarcoma, liposarcoma, linfangiosarcoma, cánceres metastásicos, neurilemoma, rabdomiosarcoma y sarcoma sinovial; (11) tumores cerebrales, incluyendo, pero no se limitan a, glioma, astrocitoma, glioma del tronco encefálico, ependimoma, oligodendroglioma, tumor no glial, neurinoma acústico, craneofaringioma, meduloblastoma, meningioma, pineocitoma, pineoblastoma y linfoma cerebral primario; (12) cáncer de mama, incluyendo, pero no se limita a, adenocarcinoma, carcinoma lobular (microcítico), carcinoma intraductal, cáncer de mama medular, cáncer de mama mucinoso, cáncer de mama tubular, cáncer de mama papilar, cánceres primarios, enfermedad de Paget y cáncer de mama inflamatorio; (13) cáncer adrenal, incluyendo, pero no se limita a, feocromocitoma y carcinoma adrenocortical; (14) cáncer de tiroides, incluyendo, pero no se limitan a, cáncer de tiroides papilar o folicular, cáncer de tiroides medular y cáncer de tiroides anaplásico; (15) cáncer de páncreas, incluyendo, pero no se limitan a, insulinooma, gastrinoma, glucagonoma, vipoma, tumor secretor de somatostatina y tumor carcinoide o de las células de los islotes; (16) cáncer de pituitaria, incluyendo, pero se limitan a, enfermedad de Cushing, tumor secretor de prolactina, acromegalia y diabetes insípida; (17) cáncer ocular, incluyendo, pero no se limitan a, melanoma ocular tal como melanoma del iris, melanoma de la coroides y melanoma del cuerpo ciliar, y retinoblastoma; (18) cáncer vaginal, incluyendo, pero no se limitan a, carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma y melanoma; (19) cáncer vulvar, incluyendo, pero no se limitan a, carcinoma de células escamosas, melanoma, adenocarcinoma, carcinoma de células basales, sarcoma y enfermedad de Paget; (20) cánceres de cuello de útero, incluyendo, pero no se limitan a, carcinoma de células escamosas y adenocarcinoma; (21) cáncer de útero, incluyendo, pero no se limitan a, carcinoma endometrial y sarcoma uterino; (22) cáncer de ovario, incluyendo, pero no se limitan a, carcinoma epitelial ovárico, tumor *borderline*, tumor de las células terminativas y tumor estromal; (23) cáncer de esófago, incluyendo, pero no se limitan a, cáncer escamoso, adenocarcinoma, carcinoma quístico adenoide, carcinoma mucoepidermoide, carcinoma adenoescamoso, sarcoma, melanoma, plasmocitoma, carcinoma verrugoso, carcinoma indiferenciado (microcítico); (24) cáncer de estómago, incluyendo, pero no se limitan a, adenocarcinoma, úlceras neoplásicas (polipoide), linfoma ulceroso de difusión superficial, de difusión difusa, maligno, liposarcoma, fibrosarcoma y carcinosarcoma; (25) cáncer de colon; (26) cáncer rectal; (27) cáncer de hígado, incluyendo, pero no se limitan a, carcinoma hepatocelular y hepatoblastoma; (28) cáncer de la vesícula biliar, incluyendo, pero no se limitan a, adenocarcinoma; (29) colangiocarcinomas, incluyendo, pero no se limitan a, papilar, nodular y difuso; (30) cáncer de pulmón, incluyendo, pero no se limitan a, cáncer de pulmón no microcítico, carcinoma de células escamosas (carcinoma epidermoide), adenocarcinoma, carcinoma de células grandes y cáncer de pulmón microcítico; (31) cáncer testicular, incluyendo, pero no se limitan a, tumor germinal, seminoma, anaplásico, clásico (típico), espermatocítico, no seminoma, carcinoma embrionario, carcinoma teratoma y coriocarcinoma (tumor del saco vitelino); (32) cáncer de próstata, incluyendo, pero no se limitan a, adenocarcinoma, leiomiosarcoma y rabdomiosarcoma; (33) cáncer de pene; (34) cáncer oral, incluyendo, pero no se limita a, carcinoma de células escamosas; (35) cáncer basal; (36) cáncer de las glándulas salivales, incluyendo, pero no se limitan a, adenocarcinoma, carcinoma mucoepidermoide y carcinoma adenoquístico; (37) cáncer de faringe, incluyendo, pero no se limitan a, cáncer de células escamosas y verrugoso; (38) cáncer de piel, incluyendo, pero no se limitan a, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas y melanoma, melanoma de diseminación superficial, melanoma nodular, melanoma maligno lentigo y melanoma lentiginoso acral; (39) cáncer de riñón, incluyendo, pero no se limitan a, cáncer de células renales, adenocarcinoma, hipernefoma, fibrosarcoma y cáncer de células transicionales (de pelvis renal y/o de uréter); (40) tumor de Wilms; (41) cáncer de vejiga, incluyendo, pero no se limitan a, carcinoma de células transicionales, cáncer de células escamosas, adenocarcinoma y carcinosarcoma; y otros cánceres, incluyendo, no se limitan a, mixosarcoma, sarcoma osteogénico, endoteliosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, mesotelioma, sinovioma, hemangioblastoma, carcinoma epitelial, cistadenocarcinoma, carcinoma broncogénico, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar y adenocarcinomas papilares (véase Fishman *et al.*, 1985, *Medicine*, 2ª Ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia, y Murphy *et al.*, 1997, *Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery*, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc., Estados Unidos de América).

50 En ciertas realizaciones, el cáncer que es tratable con los métodos proporcionados en la presente memoria incluye, pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello de útero, cáncer de colon (por ejemplo, cáncer colorrectal), cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer gástrico, glioma (por ejemplo, glioblastoma), cáncer de cabeza y cuello, cáncer de hígado, cáncer de pulmón (por ejemplo, cánceres de pulmón microcíticos y no microcíticos), melanoma, mieloma, neuroblastoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata,

55 cáncer renal, sarcoma (por ejemplo, osteosarcoma), cáncer de piel (por ejemplo, carcinoma de células escamosas), cáncer de estómago, cáncer testicular, cáncer de tiroides y cáncer de útero.

En ciertas realizaciones, el cáncer que es tratable con los métodos proporcionados en la presente memoria incluye pero no se limitan a, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello de útero, cáncer de colon (por ejemplo, cáncer colorrectal), cáncer de endometrio, cáncer gástrico, glioma (por ejemplo, glioblastoma), cáncer de cabeza y cuello, cáncer de hígado, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de ovario, cáncer de páncreas y cáncer de próstata.

60

En ciertas realizaciones, el cáncer es cáncer de cabeza y cuello. En ciertas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón. En ciertas realizaciones, el cáncer es adenocarcinoma de pulmón. En ciertas realizaciones, el cáncer es

cáncer de esófago o del GI superior.

En ciertas realizaciones, el sujeto que se va a tratar en la presente memoria no ha sido tratado con una terapia antineoplásica. En ciertas realizaciones, el sujeto que se va a tratar en la presente memoria ha sido tratado con una terapia antineoplásica.

- 5 La invención proporcionada en la presente memoria engloba el tratamiento de un sujeto independientemente de la edad del paciente, aunque algunas enfermedades o trastornos son más habituales en ciertos grupos de edad. Adicionalmente, en la presente memoria se proporcionan los compuestos y las composiciones inventivas para su uso en un método para el tratamiento de un sujeto que ha sufrido una cirugía en un intento de tratar la enfermedad o la afección en cuestión, así como aquel que no. Debido a que los sujetos con cáncer tienen unas manifestaciones clínicas heterogéneas y unos resultados clínicos variables, el tratamiento proporcionado a un sujeto en particular puede variar dependiendo de su pronóstico.

- 10 En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula I se combina o se usa junto con un segundo agente terapéutico. Según se usa en la presente memoria, el término “en combinación” incluye el uso de más de una terapia (por ejemplo, de uno o más agentes profilácticos y/o terapéuticos). Sin embargo, el uso del término “en combinación” no restringe el orden en el que se administran las terapias (por ejemplo, agentes profilácticos y/o terapéuticos) a un sujeto con una afección, un trastorno o una enfermedad. Puede administrarse una primera terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico tal como un compuesto proporcionado en la presente memoria) antes de (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas antes), junto con o después de (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas después) de la administración de una segunda terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico) al sujeto. En la presente memoria también se contempla una terapia triple.

- 25 Según se usa en la presente memoria, el término “sinérgico” incluye una combinación del compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria y de otra terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico) que se ha usado o se está usando actualmente para la prevención, el tratamiento o el abordaje de una afección, un trastorno o una enfermedad, que es más eficaz que los efectos aditivos de las terapias. Un efecto sinérgico de una combinación de terapias (por ejemplo, una combinación de agentes profilácticos o terapéuticos) permite el uso de unas dosis más bajas de una o más de las terapias y/o una administración menos frecuente de dichas terapias a un sujeto con una afección, un trastorno o una enfermedad. La capacidad para utilizar unas dosis más bajas de una terapia (por ejemplo, de un agente profiláctico o terapéutico) y/o para administrar dicha terapia menos frecuentemente, reduce la toxicidad asociada a la administración de dicha terapia a un sujeto sin reducir la eficacia de dicha terapia en la prevención, el tratamiento o el abordaje de una afección, un trastorno o una enfermedad). Además, un efecto sinérgico puede dar como resultado una mayor eficacia de los agentes en la prevención, el tratamiento o el abordaje de una afección, un trastorno o una enfermedad. Finalmente, un efecto sinérgico de una combinación de terapias (por ejemplo, de una combinación de agentes profilácticos o terapéuticos) puede evitar o reducir los efectos secundarios adversos no deseados asociados con el uso de cualquiera de las terapias individualmente.

- 40 El compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria puede ser administrado en combinación o en alternancia con otro agente terapéutico. En la terapia de combinación se administran conjuntamente dosis eficaces de dos o más agentes, mientras que en la terapia alternante o por etapas secuenciales se administra en serie o secuencialmente una dosis eficaz de cada agente. Las dosis administradas dependerán de las velocidades de absorción, de inactivación y de excreción del fármaco, así como de otros factores conocidos por los expertos en la técnica. Debe apreciarse que los valores de las dosis también variarán según la gravedad de la afección que se va a aliviar. Adicionalmente se entiende que para cualquier sujeto en particular deberían ajustarse los regímenes y los programas de dosificación específicos con el tiempo, de acuerdo con las necesidades individuales y el juicio profesional de la persona que administra o que supervisa la administración de las composiciones.

- 50 En ciertas realizaciones, el segundo agente terapéutico es un agente quimioterapéutico, un agente antiproliferativo, un agente antiinflamatorio, un agente inmunomodulador o un agente inmunosupresor. En una realización, el segundo agente terapéutico es un agente antineoplásico. En una realización, el agente antineoplásico es un antimetabolito, incluyendo, pero no se limita a, citarabina (también conocida como arabinósido de citosina o Ara-C), fludarabina, 5-fluorouracilo, gemcitabina, HDAC (una dosis elevada de citarabina), 6-mercaptopurina, metotrexato, y pemetrexed. En otra realización, el agente antineoplásico es un agente antimicrotúbulos, incluyendo, pero no se limitan a, alcaloides de la vinca (por ejemplo, vinblastina, vincristina y vinorelbina) y taxanos (por ejemplo, paclitaxel, paclitaxel unido a albúmina (ABRAXANE®) y docetaxel). En otra realización más, el agente antineoplásico es un agente alquilante, incluyendo, pero no se limitan a, busulfano, carmustina, clorambucilo, ciclofosfamida, fludarabina, ifosfamida, mecloretamina, melfalano y nitrosoureas (por ejemplo, biscloroetilnitrosourea, hidroxourea, carmustina y lomustina). En otra realización más, el agente antineoplásico es un agente de platino, incluyendo, pero no se limitan a, carboplatino, CI-973, cisplatino, oxaliplatino y satraplatino (JM-216). En otra realización más, el agente antineoplásico es una antraciclina, incluyendo, pero no se limita a, adriamicina, daunorrubicina y doxorubicina. En otra realización más, el agente antineoplásico es un antibiótico antitumoral, incluyendo, pero no se limita a,

adriamicina, bleomicina, daunomicina (también conocida como daunorrubicina), doxorubicina, idarrubicina y mitomicina. En otra realización más, el agente antineoplásico es un inhibidor de la topoisomerasa, incluyendo, pero no se limitan a, camptotecinas, etopósido, irinotecán y topotecán. En otra realización más, el agente antineoplásico es un inhibidor de la cinasa, incluyendo, pero no se limita a, erlotinoib e imatinoib. En otra realización más, el agente antineoplásico es un nucleósido, incluyendo, pero no se limita a, gemcitabina. En otra realización más, el agente antineoplásico es un agente antiangiogénesis, incluyendo, pero no se limita a, SUTENT®, sorafenib y bevacizumab. En otra realización más, el agente antineoplásico es un agente citotóxico, incluyendo, pero no se limitan a, fosfato de estramustina y prednimustina. En otra realización más, el agente antineoplásico es hormonas o agonistas, antagonistas, agonistas parciales o antagonistas parciales hormonales. En otra realización más, el agente antineoplásico se selecciona entre el grupo que consiste en enzimas (asparraginasas), hormonas (tamoxifeno, leuprolida, flutamida, y megestrol), hidroxiurea, interferones y oblimersen. En otra realización más, el agente antineoplásico es un anticuerpo monoclonal, incluyendo, pero no se limitan a, bevacizumab y cetuximab. Para un análisis más detallado de las terapias antineoplásicas actualizadas, véase <http://xvwww.nci.nih.gov/>, una lista de los fármacos oncológicos aprobados por la FDA en <http://www.fda.gov/cder/cancer/druglistframe.htm>, y The Merck Manual, decimoséptima Ed. 1999.

En otra realización, el segundo agente terapéutico es un agente antiinflamatorio, incluyendo, pero no se limitan a, metotrexato, inhibidores de las metaloproteinasas de la matriz, inhibidores de citocinas proinflamatorias (por ejemplo, moléculas anti-TNF, receptores solubles del TNF, e IL1), fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), inhibidores de la síntesis de prostaglandinas (por ejemplo, salicilato de colina y magnesio y ácido salicílsalicílico), inhibidores de la COX-1 y/o de la COX-2 y agonistas del receptor de glucocorticoides (por ejemplo, corticosteroides, metilprednisona, prednisona y cortisona).

La vía de administración del compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria es independiente de la vía de administración de una segunda terapia. En una realización, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra por vía oral. En otra realización, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra por vía intravenosa. Por lo tanto, de acuerdo con estas realizaciones, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra por vía oral o intravenosa, y la segunda terapia puede administrarse por vía oral, parenteral, intraperitoneal, intravenosa, intraarterial, transdérmica, sublingual, intramuscular, rectal, transbucal, intranasal, liposomal, mediante inhalación, pulmonar, vaginal, intraocular, mediante una administración local a través de un catéter o una endoprótesis, subcutánea, intraadiposa, intraarticular, intratecal, o en una forma de dosificación de liberación lenta. En una realización, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria y una segunda terapia se administran mediante el mismo modo de administración, por vía oral o IV. En otra realización, el compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra mediante un modo de administración, por ejemplo, por vía oral, mientras que el segundo agente (un agente antineoplásico) se administra mediante otro modo de administración, por ejemplo, por vía IV.

El compuesto o la composición proporcionados en la presente memoria, o las sales, los solvatos o los hidratos farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden ser administrados simultáneamente, antes o después de la administración de uno o más de los agentes anteriores.

Otras terapias o agentes antineoplásicos que pueden usarse junto con el compuesto proporcionado en la presente memoria incluyen cirugía, radioterapia, terapia endocrina, modificadores de la respuesta biológica (por ejemplo, interferones, interleucinas y factor de necrosis tumoral (TNF)), hipertermia y crioterapia, y agentes para atenuar cualquier efecto adverso (por ejemplo, antieméticos).

En otra realización más, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la inhibición del crecimiento de una célula, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización más, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la inhibición del crecimiento de una célula en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En ciertas realizaciones, la célula es una célula de mamífero. En ciertas realizaciones, el mamífero es una célula humana. En ciertas realizaciones, la célula es una célula tumoral. En ciertas realizaciones, la célula es una célula tumoral de mamífero. En ciertas realizaciones, la célula es una célula tumoral humana. En ciertas realizaciones, la célula es una célula cancerosa. En ciertas realizaciones, la célula es una célula cancerosa de mamífero. En ciertas realizaciones, la célula es una célula cancerosa humana.

En ciertas realizaciones, la célula cancerosa que puede ser tratada con los métodos proporcionados en la presente memoria incluye, pero no se limitan a, células de cáncer de vejiga, de cáncer de mama, de cáncer de cuello de útero, de cáncer de colon (por ejemplo, de cáncer colorrectal), de cáncer de endometrio, de cáncer de esófago, de

cáncer gástrico, de glioma (por ejemplo, de glioblastoma), de cáncer de cabeza y cuello, de cáncer de hígado, de cáncer de pulmón (por ejemplo, de cáncer de pulmón microcítico y no microcítico), de melanoma, de mieloma, de neuroblastoma, de cáncer de ovario, de cáncer de páncreas, de cáncer de próstata, de cáncer de renal, de sarcoma (por ejemplo, de osteosarcoma), de cáncer de piel (por ejemplo, de carcinoma de células escamosas), de cáncer de

5
 En ciertas realizaciones, la célula es una célula de cáncer de vejiga, de cáncer de mama, de cáncer de cuello de útero, de cáncer de colon (por ejemplo, de cáncer de colorrectal), de cáncer de de endometrio, de cáncer gástrico, de glioma (por ejemplo, de glioblastoma), de cáncer de cabeza y cuello, de cáncer de hígado, de cáncer de pulmón no microcítico, de cáncer de ovario, de cáncer de páncreas o de cáncer de próstata.

10 La inhibición del crecimiento celular puede calibrarse mediante, por ejemplo, el recuento del número de células en contacto con un compuesto de interés, comparando la proliferación celular con otras células por lo demás idénticas que no han entrado en contacto con el compuesto, o determinando el tamaño del tumor que engloba las células. El número de células, así como el tamaño de las células, puede ser fácilmente evaluado mediante el uso de cualquier método conocido en la técnica (por ejemplo, exclusión con *trypan blue* y recuento celular, midiendo la incorporación de ³H-timidina en el ADN naciente en una célula).

15
 En otra realización más, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la modulación de la actividad de una cinasa JAK, que comprende poner en contacto la cinasa JAK con (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o con una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la inhibición de la actividad de una cinasa JAK, que comprende poner en contacto la cinasa JAK con (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o con una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. En ciertas realizaciones, la cinasa JAK está activada constitutivamente. En ciertas realizaciones, la cinasa JAK está mutada.

20
 25
 30 En otra realización más, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la modulación de la actividad de una cinasa JAK en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de ((S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un método para la inhibición del actividad de una cinasa JAK en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. En ciertas realizaciones, la cinasa JAK está activada constitutivamente. En ciertas realizaciones, la cinasa JAK está mutada.

35
 40 En una realización, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para la prevención, el tratamiento o la mejora de uno o más síntomas de una afección, un trastorno o una enfermedad mediados por la adenosina A₃ en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

45
 50 En ciertas realizaciones, las afecciones, los trastornos o las enfermedades mediados por la adenosina A₃ incluyen, pero no se limitan a, trastornos mieloproliferativos tales como policitemia vera (PCV), trombocitemia esencial y mielofibrosis idiopática (IMF); leucemia, tal como leucemia mieloide, incluyendo leucemia mieloide crónica (CML), formas resistentes al imatinib de la CML, leucemia mieloide aguda (AML) y un subtipo de AML, la leucemia megacarioblástica aguda (AMKL); enfermedades linfoproliferativas tales como mieloma; cáncer, incluyendo cáncer de cabeza y cuello, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de pulmón, tumor cerebral, cáncer de páncreas y carcinoma renal; y enfermedades o trastornos inflamatorios relacionados con una disfunción inmunitaria, una inmunodeficiencia, una inmunomodulación, enfermedades autoinmunes, rechazo del trasplante de un tejido, enfermedad del injerto contra el hospedador, curación de heridas, enfermedad renal, incluyendo neuropatía diabética, esclerosis múltiple, tiroiditis, diabetes de tipo 1, sarcoidosis, psoriasis, rinitis alérgica, enfermedad inflamatoria del intestino incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa (CU), lupus eritematoso sistémico (SLE), artritis, artrosis, artritis reumatoide, osteoporosis, asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y xerofthalmía (o queratoconjuntivitis sicca (KCS)).

55
 60 En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona (S)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol o una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método de uso de los compuestos y las composiciones divulgados, o sales, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables de los mismos, para el tratamiento, la prevención o la mejora de una enfermedad o de un trastorno seleccionado entre trastornos mieloproliferativos tales como policitemia vera (PCV), trombocitemia

esencial y mielofibrosis idiopática (IMF) y síndrome hipereosinofílico (HES); leucemia, tal como leucemia mieloide, incluyendo leucemia mieloide crónica (CML), formas resistentes al imatinib de la CML, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfoblástica aguda (ALL) y un subtipo de AML, la leucemia megacarioblástica aguda (AMKL); enfermedades linfoproliferativas tales como mieloma; cáncer, incluyendo cáncer de cabeza y cuello, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de pulmón, tumor cerebral, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de tiroides, carcinoma renal, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman, melanoma; y enfermedades o trastornos inflamatorios relacionados con una disfunción inmunitaria, una inmunodeficiencia o una inmunomodulación, tales como rechazo del trasplante de un tejido, enfermedad del injerto contra el hospedador, curación de heridas, enfermedad renal; enfermedades autoinmunes tales como esclerosis múltiple, tiroiditis, diabetes de tipo 1, sarcoidosis, psoriasis, rinitis alérgica, dermatitis atópica, miastenia gravis, enfermedad inflamatoria del intestino incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa (CU), lupus eritematoso sistémico (SLE), artritis, artrosis, artritis reumatoide, osteoporosis, asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedades inflamatorias del ojo, incluyendo conjuntivitis, uveítis, iritis, escleritis, enfermedades inflamatorias del tracto respiratorio, incluyendo el tracto respiratorio superior, tales como rinitis y sinusitis, y enfermedades inflamatorias del tracto respiratorio inferior, incluyendo bronquitis; miopatía inflamatoria, tal como miocarditis, otras enfermedades inflamatorias tales como lesiones por isquemia y reperfusión relacionadas con un evento isquémico tal como una apoplejía o una parada cardíaca, y otras afecciones inflamatorias tales como el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y la septicemia.

En ciertas realizaciones, las enfermedades y los trastornos mediados por la adenosina A₃ incluyen reestenosis, fibrosis y esclerodermia. En ciertas realizaciones, las enfermedades mediadas por la adenosina A₃ incluyen enfermedades víricas tales como virus de Epstein Barr (EBV), hepatitis (hepatitis B o hepatitis C), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus linfotrópico T humano de tipo 1 (HTLV-1), virus de la varicela zoster y el virus del papiloma humano (VPH).

En ciertas realizaciones, la afección, el trastorno o la enfermedad mediados por la adenosina A₃ es una enfermedad cardiovascular, incluyendo, pero no se limita a, una enfermedad isquémica cardíaca. En ciertas realizaciones, la afección, el trastorno o la enfermedad mediados por la adenosina A₃ es una lesión pulmonar. En ciertas realizaciones, la afección, el trastorno o la enfermedad mediados por la adenosina A₃ es una insuficiencia renal. En ciertas realizaciones, la afección, el trastorno o la enfermedad mediados por la adenosina A₃ es una enfermedad ocular, incluyendo, pero no se limitan a, glaucoma e hipertensión ocular. En ciertas realizaciones, la afección, el trastorno o la enfermedad mediados por la adenosina A₃ es glaucoma o ocular hipertensión.

El compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria también puede proporcionarse en forma de un artículo de elaboración mediante el uso de materiales de envasado bien conocidos por los expertos en la técnica. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n° 5.323.907; 5.052.558; y 5.033.252. Algunos ejemplos de materiales de envasado para productos farmacéuticos incluyen, pero no se limitan a, envases alveolados, frascos, tubos, inhaladores, bombas, bolsas, viales, recipientes, jeringas y cualquier material de envasado adecuado para una formulación seleccionada y un modo de administración y de tratamiento previsto.

En la presente memoria también se proporcionan kits que, cuando son usados por un profesional médico, pueden simplificar la administración de las cantidades apropiadas de los principios activos a un sujeto. En ciertas realizaciones, el kit proporcionado en la presente memoria incluye recipientes y formas de dosificación del compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria.

En ciertas realizaciones, el kit incluye un recipiente que comprende formas de dosificación del compuesto de Fórmula I proporcionado en la presente memoria, en uno o más recipientes.

Los kits proporcionados en la presente memoria pueden incluir adicionalmente dispositivos que se usan para administrar los principios activos. Algunos ejemplos de dichos dispositivos incluyen, pero no se limitan a, jeringas, inyectores sin aguja, bolsas para goteo, parches e inhaladores. Los kits proporcionados en la presente memoria también pueden incluir preservativos para la administración de los principios activos.

Los kits proporcionados en la presente memoria pueden incluir adicionalmente vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden usarse para la administración de uno o más principios activos. Por ejemplo, si se proporciona un principio activo en una forma sólida que debe ser reconstituida para su administración parenteral, el kit puede comprender un recipiente precintado de un vehículo adecuado en el que puede disolverse el principio activo para formar una solución estéril exenta de partículas que es adecuada para su administración parenteral. Algunos ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptable incluyen, pero no se limitan a: vehículos acuosos, incluyendo, pero no se limitan a, agua para inyecciones USP, inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro de sodio, y inyección de Ringer con lactato; vehículos miscibles en agua, incluyendo, pero no se limitan a, alcohol etílico, polietilenglicol y polipropilenglicol; y vehículos no acuosos, incluyendo, pero no se limitan a, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo.

Evaluación de la actividad biológica

Hay disponibles procedimientos fisiológicos, farmacológicos y bioquímicos estándar para la determinación de la actividad biológica del compuesto de Fórmula I frente a las cinasas JAK, incluyendo las cinasas JAK naturales y mutantes. Dichos ensayos incluyen, por ejemplo, ensayos bioquímicos tales como ensayos de unión (véase Fabian *et al.*, *Nature Biotechnology* **2005**, 23, 329-336), ensayos de incorporación de radioactividad, así como una diversidad de ensayos basados en células.

Algunos ejemplos de ensayos basados en células incluyen la medición de la fosforilación del STAT5, por ejemplo, mediante un ELISA; o la medición de la proliferación en líneas celulares leucémicas tales como TF-1 o HEL-2, por ejemplo, mediante la incorporación de BrdU, mediante una tinción fluorescente o mediante un ensayo indicador activado por el factor de transcripción STAT5. Las células útiles en los ensayos incluyen células con JAK naturales, tales como TF-1, o con JAK mutadas, tales como la línea celular HEL-2, que expresa una JAK2 activa constitutivamente portadora de la mutación V617F. Algunas células adecuadas incluyen aquellas derivadas del cultivo celular de muestras de pacientes, así como las células derivadas del uso de técnicas rutinarias de biología molecular, por ejemplo, transducción retroviral, transfección, mutagénesis, etc.

La descripción se comprenderá adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

15 Ejemplos

Según se usa en la presente memoria, los símbolos y las convenciones usados en estos procesos, esquemas y ejemplos, independientemente de si se ha definido específicamente un abreviatura en particular, son coherentes con los usados en la bibliografía científica contemporánea, por ejemplo, en el *Journal of the American Chemical Society* o en el *Journal of Biological Chemistry*. Véase también *J. Org. Chem.* **2007**, 72 (1), 23A-24A. Específicamente, pero sin limitación, pueden usarse las siguientes abreviaturas en los ejemplos y a lo largo de la memoria descriptiva: g (gramos); mg (miligramos); ml (mililitros); μ l (microlitros); l (litro); mM (milimolar); μ M (micromolar); Hz (hercios); MHz (megahercios); mmol (milimoles); eq (equivalente); h (horas); min (minutos); psi (libras por pulgada cuadrada); EM (espectrometría de masas); RMN (resonancia magnética nuclear); ESI (ionización por electronebulización); EI (ionización electrónica); HPLC (cromatografía de líquidos de alta resolución o cromatografía de líquidos a alta presión); ACN (acetonitrilo); CDCl_3 (cloroformo deuterado); DCM (diclorometano); DMF (*N,N*-dimetilformamida); DMSO (dimetilsulfóxido); $\text{DMSO-}d_6$ (dimetilsulfóxido deuterado); EtOAc (acetato de etilo); Et_2O (éter dietílico); EtOH (etanol); MeOH (metanol); *i*PrOH o IPA (isopropanol); *t*BuOH (*tert*-butanol); PE (éter de petróleo); THF (tetrahidrofurano); DIPEA (*N,N*-diisopropiletilamina); TEA (trietilamina); HOAc (ácido acético); TFA (ácido trifluoroacético); Me (metilo); Et (etilo); *i*Pr (isopropilo); *t*Bu (*tert*-butilo); Boc (*tert*-butoxilcarbonilo); Bn (bencilo); Ph (fenilo); DAIPEN (1,1-bis(4-metoxifenil)-3-metil-1,2-butanodiamina); P-Phos (2,2',6,6'-tetrametoxi-4,4'-bis(di(3,5-xilil)fosfino)-3,3'-bipiridina); y FBS (suero bovino fetal).

Generalmente, los espectros de resonancia magnética nuclear de protón (RMN ^1H) se registraron con un espectrómetro de RMN Bruker Avance 300 MHz. Los desplazamientos químicos se indicaron como partes por millón (δ) campo abajo con respecto a tetrametilsilano. Salvo que se indique de otro modo, los espectros de masas de baja resolución (EM) se obtuvieron en forma de espectros de masas con ionización por electronebulización (ESI), que fueron registrados con un instrumento Shimadzu HPCL / EM mediante el uso de unas condiciones de fase inversa (acetonitrilo/agua, ácido acético al 0,05 %). Los análisis de HPLC quiral se llevaron a cabo mediante el uso de una columna Phenomenex Lux Cellulose-2 eluyendo con 7:3 de hexano/EtOH, salvo que se especifique de otro modo.

En los siguientes ejemplos, el enantiómero (1) se refiere al (*S*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol y el enantiómero (2) se refiere al (*R*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol.

En algunos de los siguientes ejemplos, pueden modificarse los procedimientos sintéticos descritos para la preparación de un enantiómero del 4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol para la preparación del otro enantiómero mediante la sustitución del catalizador quiral. Por ejemplo, el procedimiento para la preparación de (*R*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol mediante el uso del catalizador [(*S*)-P-Phos RuCl_2 (*S*)-DAIPEN] puede usarse de forma similar para la preparación del (*S*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol mediante el uso del catalizador [(*R*)-P-Phos RuCl_2 (*R*)-DAIPEN].

Para todos los siguientes ejemplos pueden utilizarse algunos métodos habituales de preparación y de purificación conocidos por los expertos en la técnica. Salvo que se indique de otro modo, todas las temperaturas están expresadas en $^{\circ}\text{C}$ (grados centígrados). Todas las reacciones se llevaron a cabo a la temperatura ambiente salvo que se indique de otro modo. Las metodologías sintéticas de la presente memoria pretenden ejemplificar la química aplicable a través del uso de ejemplos específicos, y no son indicativas del ámbito de la descripción.

Ejemplo 1

55 Separación de los enantiómeros del 4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol

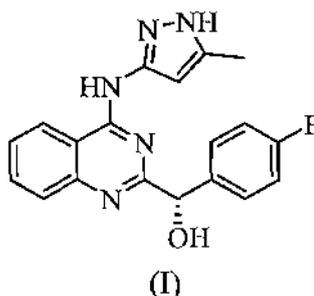
Los dos enantiómeros del 4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico se separaron mediante una CL quiral mediante el uso de una columna REGISCELL1™ (de 25 cm x 4,6 mm, 5 micron)

(Regis Technologies, Inc., Morton Grove, IL). La concentración de la muestra racémica era de 500 ng/ml. La separación se llevó a cabo en isocrático con hexano/isopropanol (85:15) a un caudal de 1,75 ml/min y a la temperatura ambiente durante 9,5 min monitorizando la transición de masa parental/masa de fragmento a 350/332 Da.

- 5 Según se muestra en la FIG. 1, el enantiómero *S* (el primer pico que eluyó) tuvo un tiempo de retención de 6,03 minutos con un área del pico del 49,8 %, y el enantiómero *R* (el segundo pico que eluyó) tuvo un tiempo de retención de 7,16 minutos con un área del pico del 50,2 %.

Ejemplo 2

Preparación del (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol



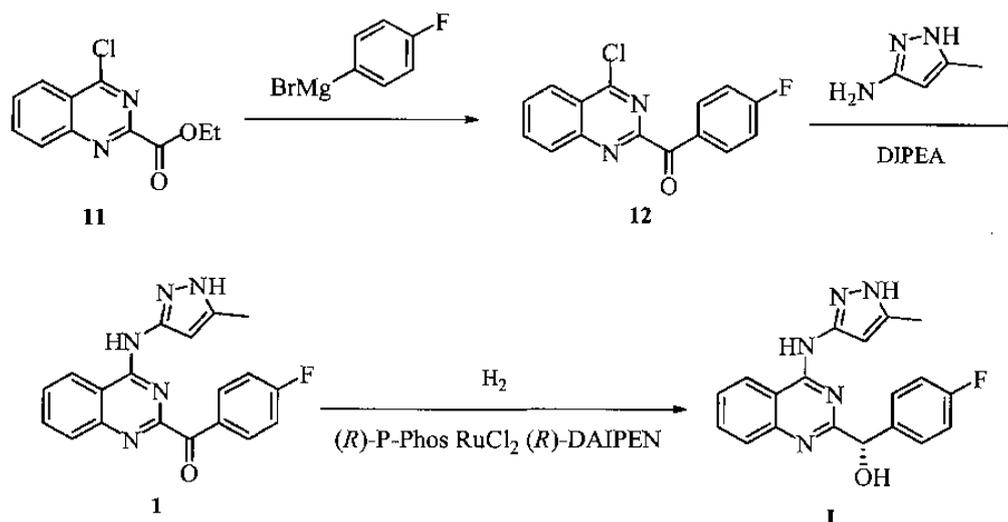
10

El compuesto de Fórmula I se preparó según se muestra en el Esquema 1.

Etapa A. Preparación de la (4-cloroquinazolin-2-il)(4-fluorofenil) metanona **12**. A una solución de 4-cloroquinazolin-2-carboxilato de etilo **11** (0,6 g, 2,53 mmol) en THF (6 ml) a -40 °C se añadió gota a gota una solución de bromuro de 4-fluorofenilmagnesio en THF (1 M, 3 ml, 3,0 mmol, 1,2 eq). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 4 h. La reacción se inactivó mediante la adición de HCl 0,5 N (5 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante una cromatografía en gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexanos para proporcionar el compuesto **12** en forma de un sólido de color amarillo claro (440 mg, 60 %). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,45 - 7,40 (m, 2H), 8,07 - 8,03 (m, 1H), 8,17 - 8,13 (m, 2H), 8,23 (m, 2H), 8,42 (d, 1H); CL-EM (ESI) *m/z*: 287 (M + H)⁺.

20

Esquema 1



25

Etapa B. Preparación de la (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanona **1**. A una solución de compuesto **12** (84 mg, 0,30 mmol) en DMF (3 ml) a la temperatura ambiente se añadieron DIPEA (0,103 ml, 0,6 mmol) y 5-metil-1*H*-pirazol-3-amina (88 mg, 0,9 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 40 °C durante una noche. Se añadió agua, y el precipitado de color amarillo se recogió mediante filtración y se lavó con agua. El sólido se purificó mediante una cromatografía en gel de sílice eluyendo con DCM/MeOH para dar el compuesto **1** (30 mg, 29 %). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,19 (s, 3H), 6,54 (s, 1H), 7,40 (m, 2H), 7,68 (t, 1H), 7,9 - 7,7 (m, 2H), 8,08 (m, 2H), 8,74 (d, 1H), 10,66 (s, 1H), 12,20 (s, 1H); CL-EM (ESI) *m/z*: 348 (M + H)⁺.

30

Etapa C. Preparación del (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol (**1**). Se sometió una mezcla agitada del compuesto **1** (418 mg, 1,2 mmol) y (R)-P-Phos RuCl₂ (R)-DAIPEN (5,4 mg, 0,0048 mmol) a

la temperatura ambiente a cinco ciclos de presurización con nitrógeno a 40 psi, y después a una despresurización. Después se añadió KO^tBu/^tBuOH (1 M, 14,4 µl, 0,0144 mmol) en 9:1 de *i*-PrOH/H₂O (4 ml) y la mezcla se sometió a cinco ciclos de presurización con nitrógeno a 40 psi y después a una despresurización. La mezcla agitada se sometió después a diez ciclos de presurización con hidrógeno a 435 psi y después a una despresurización. Después, la mezcla se agitó a 900 rpm bajo hidrógeno (435 psi) a 50 °C durante 18 h. La mezcla se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente y se purgó cuidadosamente. Se añadió MeOH (8 ml) y se analizó una muestra (0,2 ml) mediante una HPLC quiral y una CLEM (Phenomenex Luna C18) eluyendo con un gradiente de CH₃CN en HOAc acuoso al 0,1 %. El procedimiento anterior se llevó a cabo de una forma análoga en 12 ensayos adicionales. Las muestras con las especificaciones requeridas (> 98 %, exceso enantiomérico > 95 %) se combinaron y se filtraron a través de celita, se lavaron con MeOH. El filtrado se concentró a sequedad y se secó adicionalmente a alto vacío durante una noche para proporcionar el compuesto **1** en forma de un sólido de color blanquecino (4,48 g, 12,8 mmol). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,13 (s a, 1H), 10,38 (s a, 1H), 8,59 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,70 - 7,98 (m, 2H), 7,45 - 7,64 (m, 3H), 7,06 - 7,24 (m, 2H), 6,45 (s, 1H), 5,80 (s, 1H), 5,67 (s, 1H), 2,26 (s, 3H); CL-EM (ESI) *m/z*: 350 (M + H)⁺. El análisis mediante una HPLC quiral mostró un exceso enantiomérico del 96,7 % del enantiómero que eluyó más temprano.

La actividad óptica del compuesto de Fórmula I fue determinada mediante el uso de una muestra preparada mediante el uso de este procedimiento a gran escala, siguiendo el Método 781 de la USP XXXI (2003) mediante el uso de un polarímetro Perkin Elmer 241. Se averiguó que la muestra tenía una rotación óptica específica ($[\alpha]_D^{22}$) de aproximadamente + 4,976 (c = 6,029 mg/ml, en metanol).

20 Ejemplo 3

Preparación del clorhidrato de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol

A una suspensión de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol (4,33 g) en 1:1 de CH₃CN/H₂O (100 ml) se añadió HCl 1 N (15,5 ml, 15,5 mmol). La solución se congeló y se liofilizó para proporcionar 4,9 g de clorhidrato de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol en forma de un sólido. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 514,61 (s a, 1H), 12,16 (s a, 1H), 8,84 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 8,24 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 8,02 - 8,13 (m, 1H), 7,73 - 7,88 (m, 1H), 7,55 - 7,70 (m, 2H), 7,18 - 7,36 (m, 2H), 6,21 (s, 1H), 6,02 (s, 1H), 3,93 (s a, 2H, oscurecido por un pico de H₂O), 2,26 (s, 3H); CL-EM (ESI) *m/z*: 350 (M + H)⁺. El análisis mediante una HPLC quiral mostró que la sal de HCl tenía un exceso enantiomérico de aproximadamente el 100 %.

Ejemplo 4

30 Aumento de escala de la síntesis del (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol I

Se sometió una mezcla agitada de (4-fluorofenil)(4-((5-metil-4H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanona (16,66 g, 48 mmol) y [(*R*)-P-Phos RuCl₂ (*R*)-DAIPEN] (217 mg, 0,192 mmol) a la temperatura ambiente a cinco ciclos de presurización con nitrógeno a 40 psi seguidos de una despresurización. Después se añadió KO^tBu/^tBuOH 1 M (576 µl, 0,0,576 mmol) en 9:1 de *i*-PrOH/H₂O (4 ml) y la mezcla se sometió a cinco ciclos de presurización con nitrógeno a 40 psi seguidos de una despresurización. La mezcla agitada se sometió después diez ciclos de presurización con hidrógeno a 435 psi seguidos de una despresurización. Después, la mezcla se agitó a 900 rpm bajo hidrógeno (435 psi) a 40 °C durante 18 h. La mezcla se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente y después se purgó cuidadosamente. El precipitado resultante se recogió mediante filtración y se lavó con MeOH frío (100 ml) para proporcionar el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol en forma de un sólido de color blanco (13,8 g). La HPLC quiral indicó un exceso enantiomérico > 99 % del enantiómero que eluyó más temprano.

Se realizó una repetición del análisis del procedimiento anterior a una escala de 96 mmol que proporcionó 30,5 g del (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol en forma de un sólido de color blanco, para el cual la HPLC quiral indicó un exceso enantiomérico > 99 % del enantiómero que eluyó más temprano.

45 Ejemplo 5

Preparación de la sal del ácido R-(-)-canforsulfónico del (R)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol

El (R)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol se sintetizó de acuerdo con el procedimiento descrito para el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol, excepto por el uso de [(*S*)-P-Phos RuCl₂ (*S*)-DAIPEN] en lugar de [(*R*)-P-Phos RuCl₂ (*R*)-DAIPEN] durante la reducción de la cetona. Se determinó la actividad óptica del (R)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol, siguiendo el Método 781 de la USP XXXI (2003), mediante el uso de un polarímetro Perkin Elmer 241. Se averiguó que el isómero (*R*) tenía una rotación óptica específica ($[\alpha]_D^{22}$) de aproximadamente -4,688 (c = 6,079 mg/ml, en metanol).

Al (R)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol (100 mg, 0,29 mmol) en EtOH (10 ml) se añadió una solución de ácido R-(-)-canforsulfónico (67 mg, 0,29 mmol) en EtOH (10 ml). La solución homogénea

se diluyó con EtOAc (aproximadamente 50 ml) y se concentró hasta un residuo viscoso. Al residuo en EtOAc (aproximadamente 5 ml) se añadió éter dietílico hasta que la solución se volvió turbia, y la mezcla se dejó en reposo a la temperatura ambiente con un raspado y una agitación ocasionales. Después de 24 h se había formado un sólido de color amarillo. La mezcla se enfrió con hielo, y el sólido se recogió mediante filtración, se lavó con éter dietílico frío, para proporcionar la sal del ácido *R*-(-)-canforsulfónico del (*R*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol en forma de un sólido de color amarillo (133 mg, 80 %). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14,35 (s a, 1H), 12,59 (s a, 1H), 12,08 (s a, 1H), 8,78 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 8,20 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,99 - 8,13 (m, 1H), 7,79 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,51 - 7,68 (m, 2H), 7,18 - 7,35 (m, 2H), 6,17 (s, 1H), 5,99 (s, 1H), 2,86 (d, *J* = 14,7 Hz, 1H), 2,60 - 2,77 (m, 1H), 2,36 (d, *J* = 14,7 Hz, 1H), 2,17 - 2,29 (m, 1H), 2,25 (s, 3H), 1,89 - 1,96 (m, 1H), 1,78 - 1,89 (m, 2H), 1,76 (s, 1H), 1,22 - 1,32 (m, 2H), 1,05 (s, 3H), 0,74 (s, 3H).

La sal resultante se analiza mediante rayos X del cristal individual y se determinó que la configuración absoluta del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol era *R* (FIG. 2).

Ejemplo 6

Análisis por rayos X de la estructura cristalina del enantiómero *R*

La reducción quiral de la (4-fluorofenil)(4-((5-metil-4*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanona se llevó a cabo en presencia de [(*S*)-*P*-Phos RuCl₂ (*S*)-DAIPEN], de acuerdo con el Ejemplo 5. El producto sólido (4,58 g, 13 mmol) se disolvió en 1:1 de CH₃CN/H₂O (100 ml) y se trató con HCl 1 N (16 ml, 16 mmol). La solución se congeló y se liofilizó para proporcionar una sal sólida de clorhidrato. Un análisis mediante una HPLC quiral de la sal de clorhidrato (columna RegisCell eluyendo con un 85:15 de hexano/isopropanol) indicó una proporción del 2:98 entre el enantiómero que eluyó más temprano y el enantiómero que eluyó más tarde. Se cristalizó una muestra de la sal de clorhidrato en una mezcla de isopropanol, etanol y HCl acuoso para proporcionar unos cristales de color amarillo. El análisis cristalográfico mediante rayos X de un cristal amarillo mostró la estructura del (*R*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol protonado. Un análisis mediante una HPLC quiral de una muestra individual de los cristales amarillos (columna RegisCell eluyendo con un 85:15 de hexano/*i*-propanol) indicó una proporción de 4:96 entre el enantiómero que eluyó más temprano y el enantiómero que eluyó más tarde. La preponderancia de las pruebas apoya la conclusión de que el isómero que eluyó más tarde tiene la configuración absoluta (*R*).

Ejemplo 7

Ensayo de unión de competición para determinar las constantes de unión (*K*_d) de un inhibidor de la cinasa JAK

Los ensayos de unión de competición usados en la presente memoria fueron desarrollados, validados y ejecutados según se describe en Fabian *et al.*, *Nature Biotechnology* 2005, 23, 329-336. Las cinasas se produjeron en forma de fusiones con el fago T7 (véase Fabian *et al.* o el documento WO04/015142) o como alternativa, las cinasas fueron expresadas en células HEK-293 y etiquetadas posteriormente con ADN para su detección mediante una PCR (véase el documento WO08/005310). Para los ensayos de unión, se trataron microesferas magnéticas recubiertas con estreptavidina con ligandos de afinidad biotinilados durante 30 min a la temperatura ambiente para generar resinas de afinidad. Las microesferas con los ligandos se bloquearon con un exceso de biotina y se lavaron con tampón de bloqueo (SeaBlock (Pierce), 1 % de BSA, 0,05 % de Tween 20, DTT 1 mM) para retirar el ligando no unido y para reducir la unión no específica. Las reacciones de unión se montaron mediante la combinación de la cinasa, las microesferas con los ligandos de afinidad y los compuestos de ensayo, en 1x de tampón de unión (20 % de SeaBlock, 0,17x de PBS, 0,05 % de Tween 20, DTT 6 mM). Los compuestos de ensayo se prepararon en forma de soluciones madre 100x en DMSO y se diluyeron rápidamente en el entorno acuoso. Se añadió DMSO a los ensayos de control que no contienen compuesto de ensayo. Las interacciones de cribado primarias se llevaron a cabo en placas de polipropileno de 384 pocillos en un volumen final de 34 µl, mientras que las determinaciones de la *K*_d se llevaron a cabo en placas de poliestireno de 96 pocillos en un volumen final de 135 µl. Las placas de ensayo se incubaron a la temperatura ambiente con agitación durante 1 h, lo suficiente para que las reacciones de unión alcanzaran el equilibrio, y las microesferas de afinidad se lavaron ampliamente con tampón de lavado (1x PBS, 0,05 % de Tween 20) para retirar la proteína no unida. Después, las microesferas se resuspendieron en tampón de elución (1x PBS, 0,05 % de Tween 20, ligando de afinidad no biotinilado 2 µM) y se incubaron a la temperatura ambiente con agitación durante 30 min. La concentración de cinasa en los eluidos se midió mediante una PCR cuantitativa. Cada cinasa fue ensayada individualmente frente a cada compuesto. Las *K*_d se determinaron mediante el uso de once de diluciones de tres veces sucesivas. Para un compuesto, puede calcularse una puntuación de selectividad, que es una medición cuantitativa de la selectividad de un compuesto frente a un conjunto de enzimas, dividiendo el número de enzimas para las que un compuesto cumple un conjunto de criterios (por ejemplo, una constante de unión de 100 nM o menos) por el número total de enzimas ensayadas. Se calcula una puntuación de selectividad de cinasa, S10, por ejemplo, para cada compuesto dividiendo el número de cinasas para las que un compuesto a una cierta concentración (por ejemplo, 10 µM) mostró una inhibición del 90 % o mayor en comparación con los controles negativos que carecían de inhibidores (únicamente DMSO) dividido por el número de cinasas distintas ensayadas excluyendo las variantes mutantes, normalmente 359 o 386 cinasas.

Los valores de la *K*_d para el (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico y sus

enantiómeros (*R*) y (*S*) se resumen en la Tabla 1.

TABLA 1

Compuesto	JAK1	JAK2	JAK3	TYK2
Racemato	6	0,3	10,5	1,8
(<i>S</i>)(+)	2,5	0,18	5	1,6
(<i>R</i>)(-)	15	0,5	21	8,8

Ejemplo 8

5 Ensayo indicador basado en células csTF-1

Las células csTF-1 derivaban de la línea celular de eritroleucemia humana que se cultivó dependiente de GM-CSF y tenía intacta la ruta GM-CSFR/JAK2/STAT5. La línea celular contenía integrado de forma estable el gen indicador de la beta-lactamasa bajo el control del elemento de respuesta del factor regulador 1 (irf 1) reconocido por el factor de transcripción activado STAT5. Las células csTF-1 (Invitrogen K1219) se lavaron con medio de ensayo (97 % de OPTIMEM / 0,5 % de FBS dializado / aminoácidos no esenciales 0,1 mM / piruvato de sodio 1 mM / penicilina / estreptomicina) y se sembraron en el mismo medio a 5×10^5 células/ml en un matraz T150. Después de 16 h de incubación, las células se sembraron a 2×10^5 células/pocillo en un volumen de 50 μ l, en placas de ensayo Costar de 96 pocillos de fondo transparente. Se añadieron diluciones sucesivas de los compuestos a las placas a una concentración final de DMSO del 0,5 % y de GM-CSF de 2 ng/ml, y las placas se incubaron después a 30 °C y con un 5 % de CO₂ durante 4 h. Las placas se llevaron hasta la temperatura ambiente antes de añadir la mezcla de sustrato de acuerdo con el protocolo del fabricante (Invitrogen, número de catálogo K1085). Las placas de ensayo que contenían la mezcla de sustrato se incubaron en la oscuridad a la temperatura ambiente durante 2 h. Se midió la fluorescencia azul y verde con una excitación a 409 nm y una emisión a 460 nm (para el azul), y una excitación a 409 nm y una emisión a 530 nm (para el verde) mediante el uso de un EM Spectra Max Gemini. En esta línea celular, el racemato inhibió la actividad indicadora estimulada por el GM-CSF con una CE₅₀ de 70 nM. Los enantiómeros individuales inhibieron la actividad indicadora estimulada por el GM-CSF con una CE₅₀ de 38 y de 75 nM para el (*S*)(+) y el (*R*)(-), respectivamente.

Ejemplo 9

Ensayo celular de TEL-JAK

Para comparar la actividad celular de un compuesto frente a cada miembro de la familia JAK, se generaron líneas celulares Ba/F3 que expresaban exógenamente cada una de las cuatro proteínas JAK en un estado activado constitutivamente. Esto se consigue mediante la fusión del dominio de dimerización de la proteína TEL con el dominio de la cinasa de las proteínas JAK individuales. Cuando son expresadas, estas proteínas de fusión dimerizan, causando la activación cruzada de sus dominios de cinasa asociados, lo que da lugar a la fosforilación de la STAT5, entre otras proteínas STAT, dependiendo de la cinasa en particular. Cada línea celular fue generada mediante una transducción retroviral del gen de la proteína de fusión recombinante y la posterior clonación de las células individuales de cada línea celular resultante.

Para determinar la actividad celular anti-JAK de un compuesto, se determinó la inhibición de la fosforilación constitutiva de la STAT5 en cada línea celular. Las células se mantuvieron en RPMI 1640 (Thermo Scientific) + un 10 % de FBS con 0,5 μ g/ml de puomicina (Clontech) para mantener la expresión del gen de la proteína de fusión. Para el ensayo, las células se lavaron y se resuspendieron en medio + 0,5 % de FBS (sin puomicina), y se colocaron en placas a 1E5 células/pocillo en placas de 96 pocillos con el fondo en U (BD Biosciences). Se añadió el compuesto diluido sucesivamente a las células y se incubaron durante 2 h a 37 °C. Después las células se lavaron con PBS frío y se lisaron durante 15 min con 50 μ l/pocillo de tampón de lisis enfriado en hielo (Cell Signaling Technology), que contiene cócteles inhibidores de proteasa y de fosfatasa (Roche Applied Science). La evaluación de los niveles de la STAT5 fosforilada en los lisados se determinó mediante el uso de los kits fosfo-STAT5a,b (Meso Scale Discovery (MSD)) según las instrucciones del fabricante. En resumen, las placas se bloquearon durante 1 h con Blocker A al 3 % en tampón de lavado MSD (TBS + 0,02 % de Tween 20) y se lavaron con un lavador de placas BioTek ELx405. Los lisados celulares se añadieron a 25 μ l/pocillo y se incubaron durante 2 h a la temperatura ambiente. Las placas se lavaron y se añadió una solución de detección que contiene anticuerpo anti-STAT5a,b total SULFO-TAG a 25 μ l/pocillo. Después de una incubación de 1 h, se lavaron las placas y se añadieron 150 μ l/pocillo de tampón de lectura MSD antes de leer las placas con un instrumento Sector Imager 6000 (MSD).

Ejemplo 10

Ensayo de unión de un radioligando al receptor de adenosina A₃

El receptor de adenosina A₃, también conocido como A3AR o ADORA3, es un receptor acoplado a proteínas G (GPCR). El (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico se ensayó en un ensayo de unión de GTP γ S al receptor de adenosina A₃ en un formato antagonista, según el procedimiento descrito en Jacobson *et al.*, *Neuropharmacology* **1997**, *36*, 1157-1165, en la línea celular humana CHO-K1 que expresa el receptor de adenosina A3 humano. La concentración final de DMSO en el ensayo era de aproximadamente un 0,4 %. Las incubaciones del compuesto a 1 μ M, 0,1 μ M y 10 nM se llevaron a cabo por duplicado a 30 °C durante 30 min en un tampón de incubación (HEPES 20 mM, a pH 7,4, NaCl 100 mM, MgCl₂ 10 mM, DTT 1 mM y EDTA 1 mM). El ensayo se cuantificó mediante la medición de la cantidad unida de [³⁵S]GTP γ S con respecto a la respuesta de 2-Cl-IB-MECA. Se determinó que la Cl₅₀ del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico frente al A₃ de la adenosina era de 62,9 nM.

Ejemplo 11

Ensayo de unión de un radioligando al receptor de adenosina A₃

Se ensayaron el (R) y el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol en un ensayo de unión de radioligando, según el procedimiento descrito en Olah *et al.*, *Mol Pharmacol* **1994**, *45*, 978-982 y en Salvatore *et al.*, *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* **1993**, *90*, 10365-10369, en células recombinantes humanas CHO-K1 que expresan el receptor de adenosina A3 humano. Las incubaciones de un intervalo de concentración de cada compuesto se llevaron a cabo por duplicado durante 1 h a 25 °C en HEPES 25 mM, a pH 7,4, MgCl₂ 5 mM, CaCl₂ 1 mM, 0,1 % de BSA, en presencia de [¹²⁵I] AB-MECA 0,5 nM. Se determinó la unión no específica en presencia de IB-MECA 1 μ M. Los valores de la K_i se calcularon mediante el uso de la ecuación de Cheng y Prusoff (Cheng *et al.*, *Biochem. Pharmacol.* **1973**, *22*, 3099-3108) mediante el uso de la Cl₅₀ observada del compuesto, la concentración del radioligando usado en el ensayo y la Kd histórica del radioligando. Los resultados se resumen en la Tabla 2.

TABLA 2

Compuesto	Cl ₅₀ (nM)	K _i (nM)	Coefficiente de Hill
(S)(+)	1,55	1,42	0,811
(R)(-)	28	25,8	1,14

Ejemplo 12

Ensayo antagonista del receptor de adenosina A₃ basado en células

Para determinar la actividad antagonista de un compuesto sobre el receptor de adenosina A₃ se emplearon dos ensayos mediante DiscoverX. El ensayo de la β -Arrestina PathHunter monitoriza la activación de un GPCR etiquetado recombinantemente mediante la utilización de la complementación del fragmento de enzima con β -galactosidasa (β -Gal) como indicador funcional. Para el ensayo de la β -Arrestina, se cultivó una línea celular humana PathHunter que expresa ADORA3 de acuerdo con los procedimientos habituales y se mantuvo en medio de crecimiento selectivo antes del ensayo. Las células se sembraron en microplacas de 384 pocillos a una densidad de 5.000 células por pocillo en un volumen total de 20 μ l y se dejaron adherir y recuperar durante una noche antes de la adición del compuesto. Las curvas de dosis del agonista 2-Cl-IB-MECA se llevaron a cabo la mañana del análisis para determinar el valor de la CE₈₀, que se usó para el siguiente ensayo del compuesto antagonista. Para la determinación del antagonista, las células se preincubaron con el antagonista (R) o (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol o con el antagonista racémico (se añadieron 5 μ l de 5x compuesto a las células durante 30 min a 37 °C) seguido de una exposición al agonista 2-Cl-IB-MECA a la concentración CE₈₀ (5 μ l de 6x CE₈₀ de agonista incubado a 37 °C durante 90 min). La señal del ensayo se generó mediante la adición de 15 μ l de cóctel de reactivo de detección PathHunter durante 1 h a la temperatura ambiente. Las microplacas se leyeron con un instrumento Perkin Elmer Envision para la detección de la señal quimioluminiscente. El porcentaje de inhibición se calculó mediante el uso de la siguiente fórmula: % de inhibición = 100 % x (1 - (RLU media de la muestra de prueba - RLU media del control con vehículo) / (RLU media del control CE₈₀ - RLU media del control con vehículo)). Se calculó que el (R) y el (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol tenían unas Cl₅₀ de 212,5 y de 28,5 nM, respectivamente. Se calculó que la mezcla racémica tenía una Cl₅₀ de 26,2 nM.

Ejemplo 13

Inhibición de la fosfodiesterasa PDE4

El (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico se ensayó en un ensayo de inhibición de la fosfodiesterasa PDE4, según el procedimiento descrito en Cortijo *et al.*, *Br. J. Pharmacol.* **1993**, *108*, 562-568 y en Nicholson *et al.*, *Trends Pharmacol. Sci.* **1991**, *12*, 19-27. En este ensayo se usaron células humanas U937. La concentración final de DMSO en el ensayo era de aproximadamente un 1 %. El ensayo se preincubó a

25 °C durante 15 min y después se incubó a 25 °C durante 20 min en un tampón de incubación (Tris-HCl 50 mM, a pH 7,5, MgCl₂ 5 mM). El ensayo se cuantificó mediante la medición de la cantidad de [³H]adenosina. Se determinó que la CI₅₀ del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico frente a la fosfodiesterasa PDE4 era de 2,53 µM.

5 Ejemplo 14

Inhibición de la fosfodiesterasa PDE5

El (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico se ensayó en un ensayo de inhibición de la fosfodiesterasa PDE5, según el procedimiento descrito en Hidaka y Asano, *Biochem. Biophys. Acta* **1976**, 429, 485-497 y en Nicholson *et al.*, *Trends Pharmacol. Sci.* **1991**, 12, 19-27. En este ensayo se usaron plaquetas humanas. La concentración final de DMSO en el ensayo era de aproximadamente un 1 %. El ensayo se preincubó a 25 °C durante 15 min y después se incubó a 25 °C durante 20 min en un tampón de incubación (Tris-HCl 50 mM, a pH 7,5, MgCl₂ 5 mM). El ensayo se cuantificó mediante la medición de la cantidad de [³H]guanosina. Se determinó que la CI₅₀ del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico frente a la fosfodiesterasa PDE5 era de 9,34 µM.

15 Ejemplo 15

Ensayo de unión de un radioligando para la melatonina MT

El (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico se ensayó en un ensayo de melatonina MT, un ensayo de unión de GTPγS, según el procedimiento descrito en Beresford *et al.*, *Biochem. Pharmacol.* **1998**, 56, 1167-1174. En este ensayo se usaron células humanas CHO-K1 de ovario de hámster chino. La concentración final de DMSO en el ensayo era de aproximadamente un 0,4 %. La mezcla de ensayo se incubó a 30 °C durante 30 min en un tampón de incubación (HEPES 20 mM, a pH 7,4, NaCl 100 mM, MgCl₂ 10 mM, DTT 1 mM y EDTA 1 mM). El ensayo se cuantificó mediante la medición de la cantidad unida de [³⁵S]GTPγS con respecto a la respuesta de 2-yodometlonina. Se determinó que la CI₅₀ del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico frente a la melatonina era de 9,75 µM.

25 Ejemplo 16

Administración de clorhidrato de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol a monos

Se administró (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol a monos cinomólogos macho por vía oral. Se recogió plasma durante un periodo de tiempo de 24 horas para la determinación de los parámetros farmacocinéticos.

Tres de los monos cinomólogos macho se dejaron en ayunas durante una noche y durante cuatro horas después de la dosis. Antes de la dosis se tomaron dos alícuotas de 100 µl de una formulación oral. A tres monos se les administró una única dosis por sonda oral de un compuesto de ensayo a 10 mg/kg formulado en Pharmatek#6, seguido de un enjuague con aproximadamente 10,0 ml de agua del grifo del tubo de la sonda. Se recogieron muestras sanguíneas (de aproximadamente 1,0 ml) en unos puntos temporales específicos (15, 30 min, 1, 2, 4, 6 y 24 h) en tubos que contienen K₃EDTA. Las muestras recogidas se colocaron en un bloque de hielo húmedo/hielo y se procesaron para obtener el plasma en 15 min. Para cada muestra se separó el plasma y se almacenó congelado aproximadamente a -20 °C hasta que se envió en hielo seco para su análisis.

Las muestras plasmáticas, la calibración y los patrones para el control de calidad (75 µl) se extrajeron con cinco volúmenes de acetonitrilo que contiene un patrón interno (25 ng/ml de N-(5-ciclopropil-1H-pirazol-3-il)-2-(difluoro(4-fluorofenil)metil)quinazolin-4-amina) y se analizaron mediante el uso de una CL-EM/EM (Sciex 4000 Qtrap) en una columna Regis RegisCell de 5 µm (de 4,6 x 250 mm), eluyendo en isocrático con hexano/alcohol isopropílico (85:15) a un caudal de 1,75 ml/min durante 9,5 min, y monitorizando la transición de masa parental/masa de fragmento a 350/332 Da. Se integró el área de cada pico de los enantiómeros por separado para cuantificar los niveles de los enantiómeros R y S.

Después se calcularon los parámetros farmacocinéticos a partir de las áreas de los picos de la CL-EM/EM normalizadas mediante el uso del modelo no compartimental y del método de estimación trapezoidal lineal mediante el uso del programa informático WinNonlin (v5.2, Pharsight Corporation, Mountain View, CA).

Después de la administración oral del isómero S, ambos enantiómeros estaban presentes en el plasma en unas proporciones prácticamente iguales, y la proporción R/S era de aproximadamente 0,8. De forma notable, el isómero R estaba presente como una impureza (aproximadamente un 2 %) en la formulación del isómero S, pero es poco probable que este nivel de impureza influya en esta observación.

Se determinaron las propiedades farmacocinéticas del clorhidrato de (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico después de la administración del compuesto racémico. También se determinaron las propiedades farmacocinéticas de los dos enantiómeros en el compuesto racémico. Los resultados

5 se resumen en la Tabla 3. Para la administración oral del compuesto racémico, el compuesto racémico tiene una $C_{m\acute{a}x}$ de 2,1 μM , un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 8,52 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ y una semivida ($t_{1/2}$) de 1,2 h. El isómero *S* en el compuesto racémico tiene una $C_{m\acute{a}x}$ de 0,49 μM , un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 1,84 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ y una $t_{1/2}$ de 1,4 h, y el isómero *R* tiene una $C_{m\acute{a}x}$ de 1,66 μM , un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 6,50 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ y una $t_{1/2}$ de 1,2 h. Para la administración IV del compuesto racémico, el compuesto racémico tiene un aclaramiento (Cl) de 37,27 ml/min/kg, un volumen de distribución (Vd) de 2,88 l/kg, un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 1,29 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ y una semivida de 0,9 h. El isómero *S* en el compuesto racémico tiene un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 0,38 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ y una semivida de 0,5 h, mientras que el isómero *R* tiene un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 0,88 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ y una semivida de 1,0 h.

10 Las propiedades farmacocinéticas del clorhidrato de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol se determinaron después de la administración del isómero *S*. Los resultados se resumen en la Tabla 4. Para la administración oral del isómero *S*, el isómero *S* tiene una $C_{m\acute{a}x}$ de 1,03 μM , un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 2,20 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ y una $t_{1/2}$ de 1,1 h. Para la administración IV del isómero *S*, el isómero *S* tiene un aclaramiento de 40,55 ml/min/kg, un volumen de distribución (Vd) de 2,10 l/kg, un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 1,18 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ y una $t_{1/2}$ de 0,6 h.

TABLA 3. Parámetros farmacocinéticos del compuesto racémico

Vía	Dosis (mg/kg)	Análito	Cl-obs (ml/min/kg)	Cmáx (µM)	Tmáx (h)	Vz_obs (l/kg)	AUCtodos (h * µM)	AUCINF_obs (h * µM)	HL_Lambda_z (h)
IV	1	Racémico	37,27			2,88	1,25	1,29	0,9
		isómero S	NA			NA	0,36	0,38	0,5
		isómero R	NA			NA	0,83	0,88	1,0
PO	10	Racémico		2,10	2,0		8,06	8,52	1,2
		isómero S		0,49	1,5		1,71	1,84	1,4
		isómero R		1,66	2,0		6,19	6,50	1,2

TABLA 4. Parámetros farmacocinéticos de los isómeros R y S

Compuesto administrado	Vía	Dosis (mg/kg)	Análito	Cl_obs (ml/min/kg)	Cmáx (µM)	Tmáx (h)	Vz_obs (l/kg)	AUCtodos (h * µM)	AUCINF_obs (h * µM)	HL_Lambda_z (h)
isómero R	IV	1	isómero S	40,55			2,10	1,15	1,18	0,6
isómero S	IV	1	isómero R	21,17			2,86	1,67	2,29	1,6
isómero R	PO	10	isómero S		1,03	0,8		2,13	2,20	1,1
isómero S	PO	10	isómero R		3,01	2,0		10,36	10,90	1,3

5 Las propiedades farmacocinéticas del clorhidrato de (*R*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol se determinaron después de la administración del isómero *R*. Los resultados se resumen en la Tabla 4. Para la administración oral del isómero *R*, mientras que el isómero *R* tiene una $C_{m\acute{a}x}$ de 3,01 μM , un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 10,90 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ y una $t_{1/2}$ de 1,3 h. Para la administración IV del isómero *R*, el isómero *R* tiene un aclaramiento de 21,17 ml/min/kg, un volumen de distribución (Vd) de 2,86 l/kg, un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 2,29 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ y una $t_{1/2}$ de 1,6 h.

10 Las muestras plasmáticas, la calibración y los patrones para el control de calidad (75 μl) se extrajeron con cinco volúmenes de acetonitrilo que contiene un patrón interno (25 ng/ml de *N*-(5-ciclopropil-1*H*-pirazol-3-il)-2-(difluoro(4-fluorofenil)metil)quinazolin-4-amina) y se analizaron mediante el uso de una CL-EM/EM (Sciex 4000 Qtrap) en una columna Regis RegisCell de 5 μm (de 4,6 x 250 mm), eluyendo en isocrático con hexano/alcohol isopropílico (85:15) a un caudal de 1,75 ml/min durante 9,5 min, y monitorizando la transición de masa parental/masa de fragmento a 350/332 Da. Se integró el área de cada pico de los enantiómeros por separado para cuantificar los niveles de los enantiómeros *R* y *S*, mientras que ambos picos se integraron conjuntamente en forma de una única integral para cuantificar el nivel del compuesto racémico.

15 Después se calcularon los parámetros farmacocinéticos a partir de las áreas de los picos de la CL-EM/EM normalizadas mediante el uso del modelo no compartimental y del método de estimación trapezoidal lineal mediante el uso del programa informático WinNonlin (v5.2, Pharsight Corporation, Mountain View, CA).

Se determinaron las propiedades farmacocinéticas del clorhidrato de (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico y de sus enantiómeros. Los resultados se resumen en la Tabla 5.

20 Para la administración IV del compuesto racémico, el compuesto racémico tiene un aclaramiento (Cl) de 21,27 ml/min/kg, un volumen de distribución (Vd) de 5,41 l/kg y una semivida ($t_{1/2}$) de 2,9 h. Para la administración oral del compuesto racémico, el compuesto racémico tiene una $C_{m\acute{a}x}$ de 5,76 μM y un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 46,92 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$. La biodisponibilidad del compuesto racémico se calculó como > 100 %, lo que puede indicar una farmacocinética no lineal.

TABLA 5. Parámetros farmacocinéticos del compuesto racémico y de sus isómeros R y S

Compuesto administrado	Vía	Dosis (mg/kg)	Cl _{obs} (ml/min/kg)	C _{máx} (μM)	T _{máx} (h)	Vz _{obs} (l/kg)	AUC _{todos} (h * μM)	AUC _{INF_obs} (h * μM)	HL _{Lambda_z} (h)
Racémico	IV	1	21,27			5,41	2,19	2,24	2,9
isómero S			46,49			8,77	1,02	1,05	2,3
isómero R			15,17			7,09	3,52	3,58	4,3
Racémico	PO	10		5,76	3,3		46,20	46,92	3,5
isómero S				1,89	2,7		9,66	9,93	4,7
isómero R				8,11	2,0		82,77	83,07	2,7

Para la administración IV del isómero *S*, el isómero *S* tiene un aclaramiento (Cl) de 46,49 ml/min/kg, un volumen de distribución (Vd) de 8,77 l/kg y una semivida ($t_{1/2}$) de 2,3 h. Para la administración oral del isómero *S*, el isómero *S* tiene una $C_{m\acute{a}x}$ de 1,89 μM y un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 9,93 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$. La biodisponibilidad del isómero *S* se calculó como del 89 %.

- 5 Para la administración IV del isómero *R*, el isómero *R* tiene un aclaramiento (Cl) de 15,17 ml/min/kg, un volumen de distribución (Vd) de 7,09 l/kg y una semivida ($t_{1/2}$) de 4,3 h. Para la administración oral del isómero *R*, el isómero *R* tiene una $C_{m\acute{a}x}$ de 8,11 μM y un $\text{AUC}_{0-\infty}$ de 83,07 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$. La biodisponibilidad del isómero *R* se calculó como > 100 %.

Ejemplo 17

Estudios farmacocinéticos del clorhidrato de (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol y de sus enantiómeros *R* y *S* en monos

- 10 Se administró (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol, o su enantiómero *R* o *S*, en un diseño cruzado individual, a monos cinomólogos macho por vía oral o intravenosa. Se recogió plasma durante un periodo de tiempo de 24 horas para la determinación de los parámetros farmacocinéticos.

- 15 Tres de los monos cinomólogos macho se dejaron en ayunas durante una noche y durante cuatro horas después de la dosis. Antes de la dosis se tomaron dos alícuotas de 100 μl de una formulación oral. A tres monos se les administró una única dosis por sonda oral de un compuesto de ensayo a 10 mg/kg formulado en Pharmatek#6, seguido de un enjuague con aproximadamente 10,0 ml de agua del grifo del tubo de la sonda. Después de un periodo de desintoxicación de 1 semana, dos de los tres monos recibieron una única dosis IV en bolo de un compuesto de ensayo a 1 mg/kg en una vena periférica, seguido de un enjuague con aproximadamente 1,0 ml de solución salina. Se recogieron muestras sanguíneas (de aproximadamente 1,0 ml) en unos puntos temporales
- 20 específicos (5 min (sólo IV), 15, 30 min, 1, 2, 4, 6 y 24 hs) en tubos que contienen K_3EDTA . Las muestras recogidas se colocaron en un bloque de hielo húmedo/hielo y se procesaron para obtener el plasma en 15 min. Para cada muestra se separó el plasma y se almacenó congelado aproximadamente a -20 °C hasta que se envió en hielo seco para su análisis.

TABLA 6. Parámetros farmacocinéticos del compuesto racémico y de sus isómeros R y S (análisis quiral)

Compuesto administrado	Vía	Dosis (mg/kg)	Análito	Cl_obs (ml/min/kg)	Cmáx (µM)	Tmáx (h)	Vz_obs (l/kg)	AUCtodos (h * µM)	AUCINF_obs (h * µM)	HL_Lambda_z (h)
Racémico	IV	1	Racémico	21,27			5,41	2,19	2,24	2,9
			isómero S	NA			NA	0,63	0,64	3,6
			isómero R	NA			NA	1,58	1,59	3,8
isómero S	IV	1	isómero S	46,49			8,77	1,02	1,05	2,3
			isómero R	NA			NA	0,17	0,32	NA
isómero R	IV	1	isómero R	15,17			7,09	3,52	3,58	4,3
			isómero S	NA			NA	0,22	0,39	NA
Racémico	PO	10	Racémico		5,76	3,3		46,20	46,92	3,5
			isómero S		0,63	4,0		4,90	5,06	4,6
			isómero R		4,98	3,3		39,97	40,53	3,4
isómero S	PO	10	isómero S		1,89	2,7		9,66	9,93	4,7
			isómero R		1,38	2,7		7,58	7,97	7,4
isómero R	PO	10	isómero R		8,11	2,0		82,77	83,07	2,7
			isómero S		0,42	4,7		5,02	5,17	3

Se usó un análisis quiral para determinar los niveles de enantiómero individual en plasma después de la administración del compuesto racémico, del isómero *R* o del isómero *S*. Los resultados se resumen en la Tabla 6. Después de la administración del compuesto racémico, el isómero *R* era la especie predominante para ambas vías oral e intravenosa. El isómero *R* suponía más del 85 % de los valores de la $C_{m\acute{a}x}$ y del AUC determinados para el compuesto racémico.

Después de la administración oral o intravenosa del isómero *R*, había muy poco isómero *S* presente en plasma, sólo aproximadamente un 6 % con respecto al AUC del isómero *R*, parte del cual puede justificarse por la presencia del isómero *S* (aproximadamente un 3 %) como una impureza en la formulación del isómero *R*.

Después de la administración oral del isómero *R*, ambos enantiómeros estaban presentes en plasma en unas proporciones prácticamente iguales, teniendo unos valores similares del AUC y de la $C_{m\acute{a}x}$. De forma notable, el isómero *R* estaba presente como una impureza (aproximadamente un 2 %) en la formulación del isómero *S*, pero es poco probable que este nivel de impureza influya en esta observación.

Ejemplo 18

Inhibición del CYP450

Se evaluó la capacidad de los enantiómeros *R* y *S* del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol para inhibir las isoformas de metabolización del fármaco habituales del citocromo P450 (CYP) frente a las siguientes isoformas: CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4. Los compuestos se incubaron por duplicado con ocho concentraciones de compuesto de ensayo (concentración final de DMSO del 0,20 %) con microsomas hepáticos humanos (0,25 o 0,50 mg/ml) y NADPH (1 mM) en presencia de sustratos de sonda específicos para la isoforma del CYP (fenacetina, bupropión, taxol, diclofenaco, mefenitoína, dextrometorfano, testosterona) a la K_m durante 10-20 minutos a 37 °C. Los inhibidores selectivos de la isoforma del CYP (furafulina, ticlopidina, quercetina, sulfafenazol, ticlopidina, quinidina, ketoconazol) se cribaron junto con los compuestos de ensayo como controles positivos. En la Tabla 7 se presenta un resumen de los valores de las CI_{50} .

TABLA 7

Isoforma del CYP	CI_{50} (μ M)		
	Racemato	enantiómero <i>S</i>	enantiómero <i>R</i>
1A2	< 0,31	< 0,31	1,7
2B6	> 40	> 40	> 40
2C8	23,1	22,7	26,9
2C9	17,4	24,6	15,2
2C19	14,7	15,9	11,8
2D6	> 40	> 40	> 40
3A4	10,9	10,5	14,8

25

Ejemplo 19

Estudio de la eficacia *in vivo* en el modelo de ratón de TELJAK de ratón

Este estudio de eficacia se llevó a cabo para determinar el efecto de los enantiómeros *R* y *S* del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol sobre la progresión y la supervivencia tumoral. En este modelo de oncología murina dependiente de la Jak2, se inocularon ratones SCID con células BaF3/TEL-JAK que desarrollan una elevada carga de tumores periféricos según se mide mediante un recuento de glóbulos blancos, y una esplenomegalia masiva, con un tiempo medio hasta el criterio de valoración (letalidad) de 11 días.

Se inocularon ratones CB17 SCID (Harlan Laboratories) con células 5e5 BaF3/TEL-JAK a través de la vena de la cola en el día 0. Se dejó que las células se establecieran en el animal, y en el día 3 se inició una dosificación como sigue: se administraron 50 μ l de vehículo (Pharmatek#6) BID a un primer grupo, se preparó el racemato del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol en Pharmatek #6 y se administró a 120 mg/kg/día, a 40 mg/kg/día y a 10 mg/kg/día, todos BID para el segundo, el tercer y el cuarto grupo, respectivamente, el (*R*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol preparado en Pharmatek #6 se administró al quinto, al sexto y al séptimo grupo a 120 mg/kg/día, a 40 mg/kg/día y a 10 mg/kg/día, todos BID, y el (*S*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol preparado en Pharmatek #6 se administró

40

al octavo, al noveno y al décimo grupo a 120 mg/kg/día, a 40 mg/kg/día y a 10 mg/kg/día, todos BID. Cada grupo de tratamiento (16 animales por grupo) recibió una dosis de dos veces al día durante un periodo de dos semanas. Un grupo de 13 animales sin tratar sirvió como control. La FIG. 4 muestra los resultados del análisis de supervivencia de Kaplan Meier para el (*R*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol en comparación con el racemato. La FIG. 5 muestra los resultados del análisis de supervivencia de Kaplan Meier para el (*S*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol en comparación con el racemato. El aumento porcentual en la esperanza de vida (% de ILS) para cada compuesto con respecto a los animales tratados con vehículo se muestra en la Tabla 8.

TABLA 8

Compuesto	% de ILS		
	10 mg/kg/día	40 mg/kg/día	120 mg/kg/día
Racemato	9	36	86
enantiómero S	9	32	80
enantiómero R	9	36	75

Ejemplo 20

Estudio clínico en fase I del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico

Se llevó a cabo un estudio clínico en fase I de la sal de HBr del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico en voluntarios en un estudio con enmascaramiento doble controlado por placebo de tres partes en el que en la parte uno los sujetos recibían una única dosis oral que variaba entre 60-750 mg/día del racemato, en el que en la parte dos, los sujetos recibían una dosis QD que variaba entre 240-720 mg/día del racemato durante 14 días de forma continua, y en un grupo del estudio de la parte dos, una dosis BID de 360 mg del racemato durante 14 días de forma continua (para un total de 720 mg/día), y en el que en la parte tres, se estudió de forma aleatoria, sin enmascaramiento, de dos secuencias, en dos períodos y cruzado, el efecto de los alimentos después de una única dosis. Para todas las partes del estudio se evaluaron los parámetros PK en plasma, y en las partes uno y dos, en orina, para el (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico, incluyendo el análisis quiral de sus enantiómeros R y S. Se computaron los siguientes parámetros PK a partir de los datos de la concentración plasmática: el área bajo la curva de concentración-tiempo desde el momento 0 hasta el momento de la última concentración cuantificable (AUC_{0-t}), el área bajo la curva de concentración-tiempo desde el momento 0 hasta infinito ($AUC_{0-\infty}$), la concentración plasmática máxima observada ($C_{m\acute{a}x}$), el tiempo hasta alcanzar la $C_{m\acute{a}x}$ ($t_{m\acute{a}x}$), la constante de la velocidad de eliminación terminal (λ_z), la semivida terminal ($t_{1/2}$), el aclaramiento aparente después de la administración extravascular (CL/F) y el volumen de distribución aparente durante la fase terminal después de la administración extravascular (V_z/F). Para el conjunto de datos de la orina, se calcularon los siguientes parámetros: cantidad total de fármaco excretada en la orina desde el momento 0 hasta las 48 horas (Ae_{0-48}), y fracción de fármaco excretada en la orina (Fe). El estudio también estaba diseñado para evaluar la seguridad, la tolerabilidad y los efectos farmacodinámicos de las dosis individuales y múltiples del (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol racémico en sujetos humanos. Los efectos farmacodinámicos se basan en la medición de los niveles de fosforilación de la STAT después de una estimulación *ex vivo* con citocinas que señalizan a través de JAK2 y de JAK1. También únicamente para la parte dos del estudio, se llevó a cabo una citometría de flujo para determinar la prevalencia de los subconjuntos celulares identificados según los marcadores superficiales celulares específicos del tipo celular.

Ejemplo 21

Cribado y optimización del catalizador

Se llevaron a cabo varias reacciones de hidrogenación por transferencia y de hidrogenación de la (4-fluorofenil)(4-(5-metil-4*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanona en diversas condiciones para obtener la conversión completa en la transformación requerida con una elevada selectividad enantiomérica (por ejemplo, > 95 % de *ee*). Se determinó la conversión y la pureza quiral de los productos mediante el uso de una columna en fase normal Phenomenex Lux de 5 μ Cellulose-2 eluyendo con EtOH/Hexano (30/70). Los datos de la conversión también fueron corroborados mediante una C-18 en fase inversa y mediante una CLEM. En los siguientes ejemplos, "sustrato" y "cetona" se refieren a la (4-fluorofenil)(4-(5-metil-4*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanona, y "alcohol" se refiere al (4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol. El sustrato puede ser preparado mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo los métodos descritos en cualquier parte de la presente memoria y en la publicación de EE.UU. n° US 2010/0317659.

Se usó el siguiente método analítico en la determinación del % de conversión para la hidrogenación de la (4-

5 fluorofenil)(4-(5-metil-4H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanona (HPLC): columna: Phenomenex Luna C-18 (2) 100A, de 150 x 4,6 mm, 5 μ ; temperatura: 30 °C; fase móvil A: MeCN, y fase móvil B: H₂O + 0,1 % de AcOH; caudal: 1 ml/min; detección UV: 254 nm; volumen de inyección: 5 μ l; disolvente de la muestra: MeOH. El programa de disolventes usado se resume en la Tabla 9. Los tiempos de retención para el alcohol y la cetona, $t_{alcohol}$ y t_{cetona} , son de 8,6 y de 11,8 min, respectivamente.

10 Se usó el siguiente método analítico en la determinación la pureza quiral de los productos hidrogenados (HPLC): columna: Phenomenex Lux 5 μ Cellulose-2 de 250 mm x 4,6 mm; temperatura: 40 °C; sistema disolvente: 70 % de Hexano, 30 % de EtOH; caudal: 1 ml/min; detección UV: 254 nm; volumen de inyección: 5 μ l; disolvente de la muestra: EtOH; y tiempo de análisis: 20 min. Los tiempos de retención para los aminoalcoholes (t_1 y t_2) y la cetona son de 5,4, de 14,4 y de 6,6 min, respectivamente.

TABLA 9

Tiempo (min)	Disolvente A (%)	Disolvente B (%)
0	10	90
2,5	10	90
14,5	95	5
16,0	95	5
16,5	10	90

A. Cribado de la hidrogenación por transferencia catalizada por rutenio

15 Se llevó a cabo un cribado de la hidrogenación por transferencia con catalizadores [(S,S)-MsDPEN RuCl(*p*-cimenol)] (Noyori *et. al.*, *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 393; Wills *et. al.*, *Tetra. Asymm.*, **1999**, *10*, 2045) y [(R,R)-Teth-TsDPEN RuCl] (Wills *et. al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 7318) a una proporción molar entre el sustrato y el catalizador (S/C) de 50/1 en DMF y DCE con HCOOH/Et₃N (10 eq) como sigue: en un reactor de carrusel de Radley, se calentaron 87 mg de sustrato (0,25 mmol), 2 mol % de catalizador (0,05 mmol) y 10 eq de HCOOH/Et₃N durante 18 h a 50 °C en 3 ml de disolvente. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se proporcionan en la Tabla 10.

TABLA 10

Entrada	Disolvente	HCOOH/Et ₃ N	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
(S,S)-Ms						
1	DMF	5:2	98	0	2	ND
2	DCE	5:2	98	0	2	ND
3	DMF	1:1	35	65	0	36 (1)
4	DCE	1:1	84	16	0	40 (2)
(R,R)-Teth-Ts						
5	DMF	5:2	100	0	0	ND
6	DCE	5:2	95	2	3	ND
7	DMF	1:1	60	39	0	50 (1)
8	DCE	1:1	47	53	0	20 (2)

B. Cribado del disolvente

25 Se llevó a cabo un cribado adicional con [(S,S)-MsDPEN RuCl(*p*-cimenol)] en diversos disolventes a una carga de S/C de 50/1, a 50 °C con dos fuentes de H (10 eq). Cada reacción se llevó a cabo como sigue: en un reactor de carrusel de Radley, se calentaron 87 mg de sustrato (0,25 mmol), 2 mol % de catalizador (0,05 mmol) y 10 eq de HCOOH/Et₃N durante 18 h a 50 °C en 3 ml de disolvente. El % de conversión y el % de ee se determinaron

mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 11.

TABLA 11

Entrada	Disolvente	Fuente de H	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
1	DCE	Et ₃ N/HCOOH (1:1)	82	18	0	ND
2	MeOH	Et ₃ N/HCOOH (1:1)	30	56	12	35 (1)
3	THF	Et ₃ N/HCOOH (1:1)	6	94	0	43 (1)
4	EtOAc	Et ₃ N/HCOOH (1:1)	84	16	0	40 (1)
5	DCE	NaCOOH 2 M	98	2	0	ND
6	MeOH	NaCOOH 2 M	74	26	0	54 (1)
7	THF	NaCOOH 2 M	73	27	0	52 (1)
8	EtOAc	NaCOOH 2 M	87	13	0	ND

C. Cribado con catalizadores *in situ*

- 5 Se llevó a cabo un cribado adicional de la hidrogenación por transferencia con catalizadores formados *in situ* a una S/C de 50/1 en THF a 50 °C con 1:1 de HCOOH/Et₃N (10 eq) como sigue: en un reactor de carrusel de Radley, se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol), 2 mol % de catalizador (0,05 mmol) y 10 eq de HCOOH/Et₃N a 18 h a 50 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 12.

10

TABLA 12

Precursor	Ligando	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
[RuCl ₂ (benceno)] ₂	(<i>R,R</i>)-TsDPEN	79	21	0	14 (2)
[RuCl ₂ (<i>p</i> -cimemo)] ₂	(<i>R,R</i>)-TsDPEN	34	66	0	54 (2)
[RuCl ₂ (mesitileno)] ₂	(<i>R,R</i>)-TsDPEN	74	26	0	54 (2)
[RuCl ₂ (<i>p</i> -cimemo)] ₂	(<i>R,R</i>)-INphDPEN	47	53	0	40 (2)
[RuCl ₂ (<i>p</i> -cimemo)] ₂	(<i>R,R</i>)-4CIPhDPEN	38	62	0	50 (2)
[RuCl ₂ (<i>p</i> -cimemo)] ₂	(<i>R,R</i>)-4MeOPhDPEN	44	56	0	54 (2)
[RuCl ₂ (<i>p</i> -cimemo)] ₂	(<i>R,R</i>)-BuDPEN	71	29	0	52 (2)
[RuCl ₂ (<i>p</i> -cimemo)] ₂	(<i>R,R</i>)-TsDACH	9	91	0	78 (2)

D. Catalizadores de hidrogenación por transferencia anclados

- 15 Se llevaron a cabo reacciones de hidrogenación por transferencia adicionales con catalizadores de hidrogenación por transferencia anclados, a una carga de S/C de 50/1 en THF como sigue: en un reactor de carrusel de Radley, se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol), 2 mol % de catalizador (0,05 mmol) y 10 eq de HCOOH/Et₃N durante 18 h a 50 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 13.

TABLA 13

Entrada	Catalizador	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
1	[(<i>R,R</i>)-TethTsDPEN RuCl]	67	33	0	64 (2)
2	[(<i>R,R</i>)-TethMsDPEN RuCl]	41	59	0	59 (2)
3	[(<i>S,S</i>)-TethTsDPEN RuCl]	49	51	0	61 (1)

E. Cribado de catalizadores de rutenio

- 5 Se llevó a cabo el cribado de catalizadores seleccionados de rutenio a una carga de catalizador de catalizador de 50/1 en MeOH en un BIOT AGE ENDEAVOR™ mediante el uso de las siguientes condiciones de reacción: se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol) y 2 mol % de catalizador (0,005 mmol) durante 18 h a 65 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 14.

TABLA 14

Entrada	Catalizador	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
1	[(S)-XylPPhos RuCl ₂](DMF) _n	86	12	2	33 (1)
2	[(S)-ToIBINAP RuCl ₂](DMF) _n	94	6	0	ND
3	[(R)-MeBoPhoz RuCl ₂](DMF) _n	91	9	0	Rac.
4	[(R)-XylPhanephos RuCl ₂](DMF) _n	1	99	0	6 (1)
5	[(R)-H ₈ -BINAM-P RuCl ₂](DMF) _n	92	8	0	ND
6	[(S)-BINAP RuCl ₂ (MeCN) ₂]	93	7	0	ND
7	[(S)-TethTsDPEN RuCl]	11	89	0	59 (1)
8	[(R,R)-TsDPEN Ru(p-cimeno)]OTf	98	2	0	ND

F. Cribado de catalizadores de rodio

- 10 El cribado de los catalizadores de rodio se llevó a cabo a una carga de catalizador de 50/1 en MeOH y a 30 bar de H₂ en un BIOTAGE ENDEAVOR™ mediante el uso de las siguientes condiciones de reacción: se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol) y 2 mol % de catalizador (0,005 mmol) durante 18 h a 65 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 15.

TABLA 15

Catalizador	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
[(S)-ToIBINAP Rh(COD)]BF ₄	7	90	3	80 (2)
[(S)-PPhos Rh(COD)]BF ₄	54	46	0	50 (2)
[(S)-Phanephos Rh(COD)]BF ₄	100	0	0	-
[(R)-BINAM-P Rh(COD)]BF ₄	96	4	0	ND
[(S)-MeBoPhoz Rh(COD)] OTf	0	100	0	60 (1)
(S _a R _c)-(1Nph)-Quinaphos Rh(COD)]BF ₄	95	5	0	ND
[(S)-TCFP Rh(COD)]BF ₄	0	100	0	68 (1)
[(S,S)-Norphos Rh(COD)]BF ₄	96	4	0	-
[(R,R)-BDPP Rh(COD)]BF ₄	1	99	0	Rac.
[(S,S)-Chiraphos Rh(COD)]BF ₄	98	2	0	ND
[(R,R)-DIOP Rh(COD)]BF ₄	99	1	0	ND
[(S,S,R,R)-Tangphos Rh(COD)]BF ₄	3	97	0	93 (1)
[(S,S)-MeBPE Rh(COD)]BF ₄	1	99	0	58 (1)
[(S,S)-PhBPE Rh(COD)]BF ₄	0	100	0	85 (1)
[CatASium M(S)Rh(COD)]BF ₄	25	75	0	20 (2)

Catalizador	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
[CatASium MNN(<i>R</i>)Rh(COD)]BF ₄	2	98	0	37 (1)
[(<i>R</i>)-MeBoPhoz Rh(COD)]BF ₄	95	5	0	ND
[(<i>S</i>)-BINAP Rh(COD)]BF ₄	8	92	0	77 (2)
[(<i>S</i>)-TolPPhos Rh(COD)]BF ₄	16	84	0	81 (2)
[(5)-XylPhanephos Rh(COD)]BF ₄	0	100	0	7(2)

G. Cribado del catalizador con ligandos BoPhoz

Se llevó a cabo un cribado del catalizador con ligandos BoPhoz y [Rh(COD)₂]BF₄ en MeOH o en THF a una carga de catalizador S/C de 100/1 a 30 bar de H₂ en un BIOTAGE ENDEAVOR™ mediante el uso de las siguientes condiciones de reacción: se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol) y 1 mol % de catalizador (0,0025 mmol) durante 18 h a 65 °C. En todos los casos, el sustrato está presente durante la formación del catalizador debido a problemas de solubilidad (es decir, no pudo prepararse disolución madre para una adición posterior). El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 16.

TABLA 16

Disolvente	Ligando	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
MeOH	(<i>R</i>)-MeBoPhoz	2	98	0	40 (2)
	(<i>R</i>)-BnBoPhoz	0	100	0	40 (2)
	(<i>R</i>)-Fenetilamina (<i>R</i>)-BoPhoz	0	100	0	10 (2)
	(<i>S</i>)-Naftetilamina (<i>R</i>)-BoPhoz	0	100	0	7 (2)
THF	(<i>R</i>)-MeBoPhoz	13	97	0	33 (2)
	(<i>R</i>)-BnBoPhoz	12	88	0	66 (2)
	(<i>R</i>)-Fenetilamina (<i>R</i>)-BoPhoz	2	98	0	27 (2)
	(<i>S</i>)-Naftetilamina (<i>R</i>)-BoPhoz	0	100	0	10 (2)

H. Catalizadores de rodio en THF

Se usaron ciertos catalizadores de rodio en THF a una carga de catalizador S/C de 50/1 a 30 bar de H₂ en reactores BIOTAGE ENDEAVOR™ con las siguientes condiciones de reacción: se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol) y 2 mol % de catalizador (0,005 mmol) durante 18 h a 65 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 17.

TABLA 17

Catalizador	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
[(<i>S</i>)-MeBoPhoz Rh(COD)]Otf	92	3	0	ND
[(<i>S</i>)-TCFP Rh(COD)]BF ₄	75	5	0	ND
[(<i>S,S</i>)-PhBPE Rh(COD)]BF ₄	66	34	0	53 (2)
[(<i>S,S,R,R</i>)-Tangphos Rh(COD)]BF ₄	1	99	0	23 (1)

I. Catalizadores de rutenio de tipo Noyori

Se llevó a cabo un análisis de cribado con catalizadores de bis-fosfina de diamina de rutenio de tipo Noyori (Noyori

et. al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, 37, 1703; Noyori et. al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 1) en IPA, KOtBu 1 M en tBuOH (20 %) a una carga de catalizador de 50/1 y a 30 bar de H₂ en un BIOTAGE ENDEAVOR™ mediante el uso de las siguientes condiciones de reacción: se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol), 2 mol % de catalizador (0,005 mmol) y KOtBu 1 M en tBuOH (20 %) durante 18 h a 65 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 18.

5

TABLA 18

Catalizador	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
[(R)-XylPPhos RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	29	71	0	82 (1)
[(S)-XylPPhos RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	35	65	0	85 (2)
[(R)-PPhos RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	0	100	0	79 (1)
[(S)-PPhos RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	0	100	0	85 (2)
[(R)-XylPPhos RuCl ₂ (R,R)-DPEN]	97	1	2	ND
[(R)-XylPPhos RuCl ₂ (S,S)-DPEN]	87	9	4	ND
[(R)-PPhos RuCl ₂ (R,R)-DPEN]	78	22	0	64 (1)
[(S)-PPhos RuCl ₂ (R,R)-DPEN]	25	74	1	78 (1)
[(S)-PPhos RuCl ₂ (S)-DAIPEN]	2	98	0	74 (2)
[(R)-PPhos RuCl ₂ (S)-DAIPEN]	1	99	0	78 (1)
[(R)-BINAP RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	7	93	0	68 (1)
[(S)-BINAP RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	12	88	0	59 (2)
[(S)-XylBINAP RuCl ₂ (S)-DAIPEN]	13	87	0	40 (2)
[(R)-BINAP RuCl ₂ (R,R)-DPEN]	94	6	0	ND
[(R)-XylBINAP RuCl ₂ (R,R)-DPEN]	98	2	0	ND
[(S)-PPhos RuCl ₂ (R,R)-DACH]	79	21	0	52 (1)
[(R)-PPhos RuCl ₂ (R,R)-DPPN]	54	46	0	78 (1)
[(R)-PPhos RuCl ₂ (S,S)-DPPN]	58	42	0	67 (1)
[(R)-BINAP RuCl ₂ (S,S)-Damtar]	87	13	0	54 (1)
[(S)-PPhos RuCl ₂ (R,R)-Damtar]	76	24	0	25 (2)
[(R)-XylPPhos RuCl ₂ (ampi)]	91	9	0	ND
[(R)-PPhos RuCl ₂ (ampi)]	75	25	0	4 (1)
[(R)-MeBoPhoz RuCl ₂ (ampi)]	84	16	0	75 (1)
[(S)-Phanephos RuCl ₂ (ampi)]	63	37	0	16 (2)
[(R)-TolBINAP RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	2	98	0	60 (1)
[(S)-BINAP RuCl ₂ Me ₂ EN]	85	15	0	Rac.
[(R)-PPhos RuCl ₂ (R,R)-DCEN]	53	47	0	74 (1)
[(R)-XylPPhos RuCl ₂ (R,R)-DCEN]	98	2	0	ND
[(R)-TolPPhos RuCl ₂ (R,R)-DCEN]	87	12	0	60 (1)
[(R)-BINAP RuCl ₂ (PPh ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂)]	0	100	0	76 (1)
[(R)-BINAP RuCl (R,R)-DACH]BF ₄	0	100	0	7 (2)
[(R)-FerroPHOX RuCl ₂ (PPh ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂)]	91	9	0	ND

J. Cribado del disolvente

El cribado con [(S)-PPhos RuCl₂ (R)-DAIPEN] en diversos disolventes y KOtBu 1 M en tBuOH (20 %) a una S/C de

100/1 y a 30 bar de H₂ se llevó a cabo como sigue: en un BIOTAGE ENDEAVOR™, se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol) 1 mol % de catalizador (0,0025 mmol) y KO^tBu 1 M en *t*BuOH (20 %) durante 18 h a 65 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 19.

5

TABLA 19

Disolvente	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
MeOH	0	100	0	62 (2)
EtOH	0	100	0	55 (2)
IPA	0	100	0	68 (2)
MeOH/ <i>t</i> BuOH (1:1)	0	100	0	71 (2)
MeOH/THF (1:1)	0	100	0	57 (2)
EtOH/THF (1:1)	0	100	0	60 (2)
IPA/THF (1:1)	0	100	0	60 (2)
THF	5	95	0	42 (2)

K. Estabilidad del producto

La estabilidad de producto o pérdida de selectividad con respecto a la epimerización del centro quiral con el tiempo en el medio de reacción se determinó mediante el uso de dos reacciones de la Tabla 18 (las entradas 3 y 4). El residuo obtenido de la evaporación natural se redisolvió en IPA y se calentó a 70 °C durante 24 h. Los resultados se presentan en la Tabla 20.

10

TABLA 20

Punto final	+ 24 horas en IPA a 70 °C
79 % de ee (1)	78 % de ee (1)
85 % de ee (2)	85 % de ee (2)

L. Optimización mediante el uso de [(S)-PPhos RuCl₂ (R)-DAIPEN]

15 Siguiendo los resultados obtenidos previamente con [(S)-PPhos RuCl₂ (R)-DAIPEN], se llevó a cabo un cribado de la temperatura, la concentración y la concentración de base a una carga de catalizador S/C de 100/1 en IPA con 5-100 % de KO^tBu 1 M en *t*BuOH, a 50-65 °C y a 10-30 bar de H₂ como sigue: en un BIOTAGE ENDEAVOR™, se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol), 1 mol % de catalizador (0,0025 mmol) y un 5-100 % de KO^tBu 1 M en *t*BuOH durante 18 h a 65 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 21.

20

TABLA 21

Temp. (°C)	Presión (bar de H ₂)	Base (%)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
50	10	20	13	87	0	90 (2)
50	30	20	2	98	0	91 (2)
65	10	20	0	100	0	75 (2)
65	30	20	0	100	0	85 (2)
65	30	5	0	100	0	77 (2)
65	30	10	0	100	0	70 (2)

ES 2 579 942 T3

Temp. (°C)	Presión (bar de H ₂)	Base (%)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
65	30	25	0	100	0	68 (2)
65	30	100	2	98	0	57 (2)

M. Cribado de la temperatura

5 Se llevaron a cabo varias series de reacciones para determinar los límites de la reacción con respecto a la temperatura a una S/C de 100/1 en IPA con un 5 % o un 10 % de KO^tBu 1 M en *t*BuOH y a 30 bar como sigue: en un BIOTAGE ENDEAVOR™, se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol) 1 mol % de catalizador (0,0025 mmol) y un 5 % o un 10 % de KO^tBu 1 M en *t*BuOH durante 18 h a 25-50 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 22.

TABLA 22

Temp. (°C)	Base (%)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
25	10	99	1	0	ND
25	5	98	2	0	ND
30	10	96	4	0	ND
30	5	94	6	0	ND
40	10	71	29	0	87 (2)
40	5	62	38	0	92 (2)
50	10	2	98	0	91 (2)
50	5	1	99	0	94 (2)

10 N. Cribado de la base

15 Se investigó el papel de la base en la reacción a una S/C de 100/1 en IPA con un 0-5 % de KO^tBu 1 M en *t*BuOH, y a 30 bar de H₂. Las reacciones también se llevaron a cabo con un 10 % de los aditivos disolventes tolueno y H₂O (las entradas 6 y 7, Tabla 23). Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: en un BIOTAGE ENDEAVOR™, se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol), 1 mol % de catalizador (0,0025 mmol) y un 0 % o un 5 % de KO^tBu 1 M en *t*BuOH durante 18 h a 50 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 23.

TABLA 23

Base (%)	Aditivo disolvente	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
0	-	100	0	-	-
1	-	2	98	0	94,5 (2)
2	-	2	98	0	94,0 (2)
3	-	1	99	0	93,8 (2)
4	-	1	99	0	94,0 (2)
5	Toluno (10 %)	2	98	0	92,5 (2)
5	H ₂ O (10 %)	0	100	0	93,0 (2)

20 Después se combinaron las muestras de las entradas 2-7 y se evaporaron a sequedad y el sólido resultante se analizó de nuevo mediante una HPLC. Esto confirmó que los resultados eran precisos, especialmente con respecto a la conversión (sólido aislado: 1 % de SM, 99 % de productos con un 93,5 % de ee).

O. Cribado de la carga de catalizador y de las concentraciones de base

Se llevaron a cabo varias series de reacciones con PPhos RuCl₂ DAIPEN a diversas cargas de catalizador en IPA con un 1-5 % de KO^tBu 1 M en *t*BuOH y a 30 bar de H₂. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: en un BIOTAGE ENDEAVOR™, se calentaron 3 ml de disolvente, 87 mg de sustrato (0,25 mmol), desde 0,4 hasta 1 mol % de catalizador y un 1-5 % de KO^tBu 1 M en *t*BuOH durante 18 h a 50 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 24.

TABLA 24

Carga	B/C	Base (%) [M]	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
100	5	5 [0,0042]	1	99	0	93,5 (2)
150	7,5	5 [0,0042]	3	97	0	93,4 (2)
200	10	5 [0,0042]	4	96	0	93,2 (2)
250	12,5	5 [0,0042]	59	41	0	93,0 (2)
100	3	3 [0,0025]	2	98	0	94,0 (2)
150	3	2 [0,0016]	5	95	0	94,2 (2)
200	3	1,5 [0,00125]	3	97	0	94,2 (2)
250	3	1,2 [0,001]	2	98	0	94,5 (2)

P. Cribado de la concentración de sustrato

La concentración de sustrato se investigó mediante el uso de [(*S*)-PPhos RuCl₂ (*R*)-DAIPEN] a una carga de catalizador de 250/1 en IPA con un 0,8 % de KO^tBu 1 M en *t*BuOH y a 30 bar de H₂. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: en un BIOTAGE ENDEAVOR™, se calentaron 4 ml de disolvente, desde 0,2 hasta 1,2 mmol de sustrato, 0,4 mol % de catalizador y 3 equivalentes de KO^tBu 1 M en *t*BuOH basados en el catalizador durante 18 h a 50 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 25.

TABLA 25

Conc. (M) [g/l]	B/C	Base (M)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
0,05 [17]	3	0,0006	71	29	0	95,0 (2)
0,1 [34]	3	0,0012	6	94	0	94,7 (2)
0,2 [68]	3	0,0024	7	93	0	94,2 (2)
0,3 [102]	3	0,0036	29	71	0	94,1 (2)
0,05 [17] 10 % de H ₂ O	3	0,0006	0	100	0	94,0 (2)
0,1 [34] 10 % de H ₂ O	3	0,0012	0	100	0	94,0 (2)
0,2 [68] 10 % de H ₂ O	3	0,0024	1,5	98,5	0	95,3 (2)
0,3 [102] 10 % de H ₂ O	3	0,0036	2	98	0	95,9 (2)

Q. Carga de catalizador

Se llevaron a cabo varias reacciones mediante el uso de [(*S*)-PPhos RuCl₂ (*R*)-DAIPEN] a una carga de catalizador S/C de 500/1 y de 1.000/1 en IPA/H₂O (9:1) con 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador y a 30 bar de H₂.

Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: en un BIOTAGE ENDEAVOR™, se calentaron 4 ml de disolvente, desde 0,2 hasta 1,2 mmol de sustrato, 0,1 mol % de catalizador y 3 equivalentes de KO^tBu 1 M en *t*BuOH basados en el catalizador durante 18 h a 50 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 26.

5

TABLA 26

Conc. (M) [g/l]	Carga	Base (M)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
0,3 [104]	500	0,0018	4	96	0	96,0 (2)
0,3 [104]	1.000	0,0009	6	94	0	96,2 (2)
0,5 [174]	500	0,003	4	96	0	94,8 (2)
0,5 [174]	1.000	0,0015	24	76	0	94,7 (2)

R. Reacciones con una carga de catalizador de 500/1

Las reacciones se llevaron a cabo en el BIOTAGE ENDEAVOR™ mediante el uso de todos los isómeros diferentes de [PPhos RuCl₂ DAIPEN] para determinar su comportamiento con un nuevo lote de material de partida a una carga de catalizador S/C de 500/1 en IPA/H₂O (9:1) con 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador y a 30 bar de H₂. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: en un BIOTAGE ENDEAVOR™, se calentaron 4 ml de disolvente, 1,2 mmol de sustrato, 0,2 mol % de catalizador y 3 equivalentes de KO^tBu 1 M en *t*BuOH basados en el catalizador durante 18 h a 50 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 27.

15

TABLA 27

Catalizador	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
[(S)-PPhos RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	50	50	0	94,6 (2)
[(S)-PPhos RuCl ₂ (S)-DAIPEN]	5	96	0	95,0 (2)
[(R)-PPhos RuCl ₂ (S)-DAIPEN]	36	64	0	95,0 (1)
[(R)-PPhos RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	4	96	0	95,0 (1)

S. Reacciones con una carga de catalizador de 250/1

Se llevaron a cabo varias series de reacciones paralelas mediante el uso de 420 mg (1,2 mmol) de sustrato en 4 ml de IPA/H₂O (9:1) a una carga de catalizador S/C de 250/1 con 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador y a 30 bar de H₂. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: en un BIOTAGE ENDEAVOR™, se calentaron 4 ml de disolvente, 1,2 mmol de sustrato, 0,4 mol % de catalizador y 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH basados en el catalizador durante 18 h a 50 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 28.

20

TABLA 28

Catalizador	Reacciones paralelas	Rendimiento aislado (g)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
[(S)-PPhos RuCl ₂ (S)-DAIPEN]	14	5,0	6,2	93,8	0	95,7 (2)
[(R)-PPhos RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	13	4,4	1,6	98,4	0	96,7 (1)
[(S)-PPhos RuCl ₂ (S)-DAIPEN]	17	5,5	1,5	98,5	0	96,5 (2)

Cada vial fue analizado individualmente para evaluar la conversión y la selectividad antes de la combinación para dar el material final. En todos los casos se usó MeOH como disolvente de lavado para asegurar una máxima disolución para el análisis y la transferencia de los sólidos.

25

T. Reacciones en un recipiente Parr de 25 ml

a). Reacciones con [(S)-PPhos RuCl₂ (R)-DAIPEN]

- 5 Se llevaron a cabo dos reacciones en un recipiente Parr de 25 ml mediante el uso de [(S)-PPhos RuCl₂ (R)-DAIPEN] a una S/C de 500/1 o de 1.000/1 en IPA/H₂O (9:1) con 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador y a 30 bar de H₂. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: se calentaron 4 ml de disolvente, 0,2-1,2 mmol de sustrato, 0,4 mol % de catalizador y 3 equivalentes de KO^tBu 1 M en *t*BuOH basados en el catalizador durante 18 h a 50 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 29.

TABLA 29

Conc. (M) [g/l]	Carga	Base (M)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
0,3 [104]	500	0,0018	7	93	0	87,7 (2)
0,3 [104]	1.000	0,0009	16	84	0	87,7 (2)

- 10 Se observó una cierta pérdida de selectividad debida probablemente a la diferencia en la regulación de la temperatura interna cuando se traslada desde el BIOTAGE ENDEAVOR™ hacia el recipiente Parr debido a las diferencias en el diseño del reactor. Se llevaron a cabo experimentos adicionales con un aumento de escala y una optimización mediante el uso de autoclaves Parr autónomos.

b). Reacciones con [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN]

- 15 Se llevaron a cabo varias series de reacciones en un recipiente Parr de 25 ml mediante el uso de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] a una S/C de 500/1 o de 1.000/1 en IPA/H₂O (9:1) con KO^tBu 1 M en *t*BuOH (0,0036 M) y a 30 bar de H₂. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: se calentaron 8 ml de disolvente, 2,4 mmol de sustrato, 0,1 mol % de catalizador y KO^tBu 0,0036 M 1 M en *t*BuOH durante 18 h a 40 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 30.

20

TABLA 30

Carga	Tiempo (h)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
1.000	70	1,6	98,4	0	92,7 (2)
	Recrist.	0,68	99,32	0	98,9 (2)
500	18	3	97	0	91,9 (2)
250	4	28	72	0	92,6 (2)
250	24	2	98	0	92,8 (2)
	Recrist.	0,86	99,14	0	97,6 (2)

En dos experimentos se intentó la recristalización del material en bruto. El disolvente se eliminó mediante una evaporación rotatoria y después se añadió IPA puro a reflujo hasta que ya no quedó nada de sólido (~ 35 ml/g).

c). Reacciones con [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] y 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH

- 25 Las reacciones se llevaron a cabo en un recipiente Parr de 25 ml mediante el uso de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] a una S/C de 250/1-1.000/1 en IPA/H₂O (1:1) con 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador y a 30 bar de H₂. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: se calentaron 8 ml de disolvente, 2,4 mmol de sustrato, 0,1 mol % de catalizador y 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador durante 18 h a 40 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 31.

30

TABLA 31

Carga	Tiempo (h)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
1.000	18	5	95	0	95,1 (2)
	Recrist.	3,5	96,5	0	98,1 (2)
500	18	5	95	0	95,0 (2)
250	18	5	95	0	95,0 (2)

d). Cribado de la temperatura

5 Se llevaron a cabo varias series de reacciones en un recipiente Parr de 25 ml mediante el uso de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] a una S/C de 250/1 en IPA/H₂O (9:1) con 3 de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador y a 30 bar de H₂. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: se calentaron 8 ml de disolvente, 2,4 mmol de sustrato, 0,1 mol % de catalizador y 3 de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador durante 18-70 h a 30-40 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 32.

TABLA 32

Temp. (°C)	Tiempo (h)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
40	24	2	98	0	92,8 (2)
	Recrist.	0,86	99,14	0	97,6 (2)
35	24	3	97	0	92,9 (2)
30	70	3	97	0	94,2 (2)
	Recrist.	0,94	99,06	0	97,9 (2)

10 e). Reacciones en un recipiente Parr de 100 ml

15 Las reacciones se llevaron a cabo en a un recipiente Parr de 100 ml mediante el uso de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] a una S/C de 250/1 y de 1.000/1 en IPA/H₂O (9:1) con 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador y a 30 bar de H₂. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: se calentaron 40 ml de disolvente, 12 mmol de sustrato, 0,1 mol % de catalizador y 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador durante más de 18 h a 40 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 33.

TABLA 33

Temp. (°C)	Carga/Tiempo (h)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
40	250/18	3	97	0	96,5 (2)
	Recrist.	1,52	98,48	0	98,5 (2)
40	1.000/70	12	88	0	97,9 (2)

f). Cribado de presión en un recipiente Parr

20 Las reacciones se llevaron a cabo en un recipiente Parr de 25 ml mediante el uso de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] a una S/C de 250/1 en IPA/H₂O (9:1) con 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador y a 5-30 bar de H₂. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: se calentaron 8 ml de disolvente, 2,4 mmol de sustrato, 0,1 mol % de catalizador y 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador durante más de 24 h a 40 °C. Todas las reacciones se purgaron al valor de presión de la reacción individual. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 34.

25

TABLA 34

Presión (bar de H ₂)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
30	2	98	0	92,8 (2)
Recrist.	0,86	99,14	0	97,6 (2)
20	3	97	0	93,2 (2)
10	4	96	0	93,9 (2)
5	38	62	0	92,9 (2)

g). Cribado del tiempo de calentamiento adicional en un recipiente Parr

Las reacciones se llevaron a cabo en un recipiente Parr de 25 ml mediante el uso de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] a una S/C de 250/1 en IPA/H₂O (9:1) con 3 eq de KOtBu 1 M en tBuOH para el catalizador a 40 °C y a 30 bar de H₂ se calentaron durante más de 18 h de calentamiento, con un calentamiento adicional durante 6 h. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: se calentaron 8 ml de disolvente, 2,4 mmol de sustrato, 0,1 mol % de catalizador y 3 eq de KOtBu 1 M en tBuOH basados en el catalizador durante 18 h a 40 °C. Se llevó a cabo un calentamiento adicional durante 6 h a 60 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 35.

TABLA 35

Adición (periodo de 6 h)	Tiempo (h)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
60 °C	24	2	98	0	92,8 (2)
	18 + 6	1,12	98,88	0	92,0 (2)
	Recrist.	0,72	99,38	0	97,9 (2)
3 eq de base	18 + 6	1,81	98,19	0	94,2 (2)

h). Tiempo de calentamiento adicional en un recipiente Parr a una S/C de 1.000/1

Las reacciones se llevaron a cabo en un recipiente Parr de 25 ml mediante el uso de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] a una S/C de 1.000/1 en IPA/H₂O (1:1) con 3 eq de KOtBu 1 M en tBuOH para el catalizador se calentaron a 40 °C y a 30 bar de H₂ durante más de 18 h, con un calentamiento adicional durante 6 h a 60 °C. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: se calentaron 8 ml de disolvente, 2,4 mmol de sustrato, 0,1 mol % de catalizador y 3 eq de KOtBu 1 M en tBuOH basados en el catalizador durante 18 h a 40 °C. Se llevó a cabo un calentamiento adicional durante 6 h a 60 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 36.

TABLA 36

Adición (periodo de 6 h)	Tiempo (h)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
60 °C	18	5	95	0	95,1 (2)
	18 + 6	7	93	0	94,0 (2)
3 eq de base	18 + 6	3	97	0	90,8 (2)

i). Cribado en un recipiente Parr de 25 ml con el catalizador [(S)-PPhosRuCl₂ (S)-DAIPEN]

Las reacciones se llevaron a cabo en un recipiente Parr de 25 ml mediante el uso de [(S)-PPhosRuCl₂ (S)-DAIPEN] a una S/C de 250/1 en IPA/H₂O (9:1 o 1:1) con 3 eq de KOtBu 1 M como sigue: se calentaron 8 ml de disolvente, 2,4 mmol de sustrato, 0,1 mol % de catalizador y 3 eq de KOtBu 1 M en tBuOH basados en el catalizador a 30-35 °C y a 30 bar de H₂ durante más de 18 h. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 37.

TABLA 37

Disolvente	Tiempo (h)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
IPA/H ₂ O (9:1)	18	5	95	0	95,2 (1)
IPA/H ₂ O (1:1)	18	2	98	0	93,8 (1)

j). Cribado en un recipiente Parr de 100 ml con el catalizador [(S)-PPhosRuCl₂ (S)-DAIPEN]

5 Las reacciones se llevaron a cabo en un recipiente Parr de 100 ml mediante el uso de [(S)-PPhosRuCl₂ (S)-DAIPEN] a una S/C de 250/1 en IPA/H₂O (9:1 o 1:1) con 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH como sigue: se calentaron 40 ml de disolvente, 12 mmol de sustrato, 0,4 mol % de catalizador y 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH basados en el catalizador durante más de 18 h a 40 °C y a 30 bar de H₂. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 38.

TABLA 38

Disolvente	Tiempo (h)	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
IPA/H ₂ O (9:1)	18	6	94	0	93,6 (1)
IPA/H ₂ O (1:1)	18	2	98	0	94,0 (1)

10 k). Cribado en un recipiente Parr de 300 ml con [(S)-PPhosRuCl₂ (S)-DAIPEN] y [(R)-PPhosRuCl₂ (R)-DAIPEN]

15 Las reacciones se llevaron a cabo en un recipiente Parr de 300 ml mediante el uso de [(S)-PPhosRuCl₂ (S)-DAIPEN] y de [(R)-PPhosRuCl₂ (R)-DAIPEN] a una S/C de 250/1 en IPA/H₂O (9:1) con 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH como sigue: se calentaron 160 ml de disolvente, 48 mmol de sustrato, 0,4 mol % de catalizador y 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH basados en el catalizador durante más de 18 h a 40 °C y a 30 bar de H₂. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 39.

TABLA 39

Catalizador	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
[(S)-PPhos RuCl ₂ (S)-DAIPEN]	0,65	99,35	0	95,1 (2)
Sólido de color blanco	0,62	99,38	0	99,0 (2)
Solución de color marrón oscuro	0	100	0	66 (2)
Rendimiento aislado: 14,0 g, 83,5 %				
[(R)-PPhos RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	1,60	98,4	0	96,0 (1)
Sólido de color blanquecino	1,35	98,65	0	>99 (1)
Solución de color marrón oscuro	0	100	0	72 (1)
Rendimiento aislado: 14,0 g, 83,5 %				

l). Cribado en un recipiente Parr de 600 ml con [(S)-PPhosRuCl₂ (S)-DAIPEN] y [(R)-PPhosRuCl₂ (R)-DAIPEN]

20 Las reacciones se llevaron a cabo en un recipiente Parr de 600 ml mediante el uso de [(S)-PPhosRuCl₂ (S)-DAIPEN] y de [(R)-PPhosRuCl₂ (R)-DAIPEN] a una S/C de 250/1 en IPA/H₂O (9:1) con 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH para el catalizador a 40 °C, y a 30 bar de H₂ durante más de 18 h de calentamiento. Las reacciones se llevaron a cabo como sigue: se calentaron 320 ml de disolvente, 96 mmol de sustrato, 0,4 mol % de catalizador y 3 eq de KO^tBu 1 M en *t*BuOH basados en el catalizador durante más de 18 h a 40 °C. El % de conversión y el % de ee se determinaron mediante una HPLC. Los resultados se presentan en la Tabla 40.

25

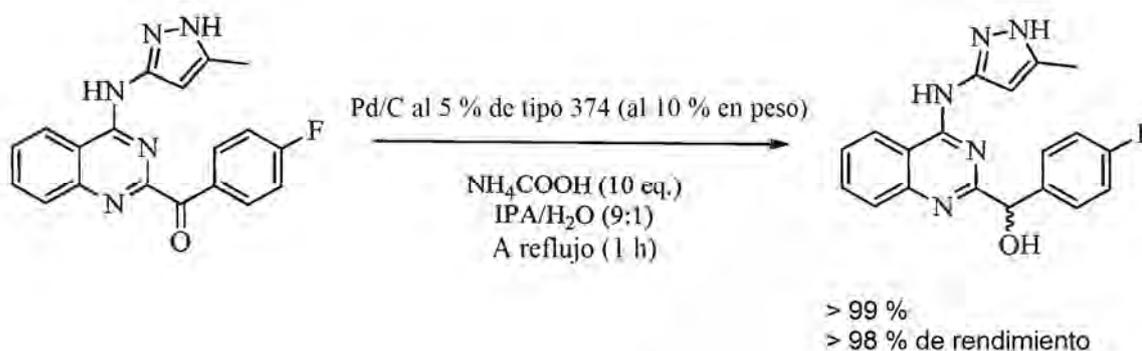
TABLA 40

Catalizador	% de cetona	% de alcohol	% de impurezas	ee (%)
[(S)-PPhos RuCl ₂ (S)-DAIPEN]	1,88	98,12	0	95,6 (2)
Sólido de color blanco	1,75	98,25	0	99,4 (2)
Solución de color marrón oscuro	0	100	0	67 (2)
Rendimiento aislado: 29,5 g, 88 %				
[(R)-PPhos RuCl ₂ (R)-DAIPEN]	1,5	98,5	0	96,1 (1)
Sólido de color blanquecino	1,32	98,68	0	> 99 (1)
Solución de color marrón oscuro	0	100	0	68 (1)
Rendimiento aislado: 30,5 g, 91 %				

Ejemplo 22

Reducción aquiral

5 En esta reacción se llevó a cabo una reducción catalítica aquiral de la (4-fluorofenil)(4-(5-metil-4H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanona con un catalizador heterogéneo de Pd/C para operar en unas condiciones de hidrogenación por transferencia.



10 La reacción se llevó a cabo mediante el uso de Pd/C al 5 % de tipo 374 al 10 % en peso en IPA/H₂O (9:1) con NH₄COOH (10 eq) a reflujo durante 1 h. Una muestra de la reacción después de 1 h mostró una conversión completa, después la reacción se filtró mientras todavía estaba caliente para permitir una eliminación eficaz del catalizador, y los productos se precipitaron desde el filtrado con H₂O. El producto aislado era un sólido de color blanco con > 99 % de conversión y > 98 % de rendimiento aislado.

Ejemplo 23

15 Tomando como base las reacciones de cribado descritas en el Ejemplo 20, se seleccionaron las siguientes condiciones como adecuadas para una referencia.

A. Procedimiento de referencia

20 Se cargó un recipiente Parr con (4-fluorofenil)(4-(5-metil-4H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanona (1,67 g, 4,8 mmol), (R)-PPhos RuCl₂ (R)-DAIPEN (5,4 mg, S/C 1.000/1) y una solución de *i*-PrOH-H₂O (9:1 v/v, 16 ml). El recipiente se cerró herméticamente y se purgó con N₂ mediante la introducción de 3 bar durante 1 min y ventilando después, se realizaron otras 5 purgas adicionales con agitación (1.500 rpm). Se añadió una solución de *t*-BuOK/*t*-BuOH (1 M, 14 μl) en *i*-PrOH-H₂O (9:1 v/v, 1 ml) y la reacción se purgó con N₂ de acuerdo con la secuencia previa. Después el recipiente se purgó con H₂ mediante la introducción de 30 bar durante 1 min y ventilando, se realizaron otras 5 purgas adicionales con agitación (1.500 rpm). Después la reacción se calentó a 40 °C y se mantuvo a esta temperatura y presión durante 16 h.

25 Las condiciones de reacción de referencia fueron ensayadas inicialmente, los detalles del procedimiento de reacción se proporcionan a continuación. Después se compararon diversas variaciones experimentales y se analizaron para evaluar la conversión de la reacción. La suspensión de reacción en bruto se diluyó con THF para obtener una solución homogénea para su análisis.

La siguiente Tabla 41 proporciona los datos de las condiciones de cribado, pre-catalizador de (*R*)-PPhos RuCl₂ (*R*)-DAIPEN o de (*S*)-PPhos RuCl₂ (*S*)-DAIPEN.

B. Cribado de las condiciones para aumentar la solubilidad

5 Se modificaron las siguientes condiciones en un intento de aumentar la solubilidad del sustrato: aumento de la temperatura de la reacción (40 °C frente a 60 °C), aumento del volumen de reacción, ajustes en el sistema disolvente para mejorar la solubilidad y una agitación intermitente del reactor. Las condiciones de la reacción y los resultados se resumen en la Tabla 42. Las notas para la Tabla 42 son: a. Conversión calculada como el % del área del pico para el producto frente al material de partida, $(\text{prod}/\text{prod} + \text{sm}) \times 100$, área del pico a 210 nm mediante el uso de un análisis mediante HPLC (método en fase inversa) a 254 nm; b. Conversión incompleta como resultado de un solapamiento parcial del primer enantiómero y del material de partida, dando un pequeño error en la medición del ee, el número entre paréntesis representa el pico principal 1 = elución temprana 2 = elución tardía; c. Se calentó una solución de (*R*)-PPhos RuCl₂ (*R*)-DAIPEN en *i*-PrOH-H₂O (9:1 v/v, 1 ml) y *t*-BuOK/*t*-BuOH a 50 °C durante 10 min bajo N₂ antes de su adición a la reacción; d. Equivalentes con respecto al catalizador; e. La presión se redujo durante el transcurso de la reacción debido al consumo del H₂; f. Muestra tomada a partir de la suspensión de reacción; y g. mol % con respecto al sustrato.

10 Los resultados de la muestra de reacción en diversas posiciones del reactor se proporcionan con más detalle a continuación, en la Tabla 43. Notas para la Tabla 43: a. Conversión calculada como el % del área del pico para el producto frente al material de partida, $(\text{prod}/\text{prod} + \text{sm}) \times 100$, área del pico a 210 nm mediante el uso de un análisis mediante HPLC (método en fase inversa) a 254 nm; b. Conversión incompleta como resultado de un solapamiento parcial del primer enantiómero y del material de partida, dando un pequeño error en la medición del ee, el número entre paréntesis representa el pico principal 1 = elución temprana 2 = elución tardía; c. Se calentó una solución de (*R*)-PPhos RuCl₂ (*R*)-DAIPEN en *i*-PrOH-H₂O (9:1 v/v, 1 ml) y *t*-BuOK/*t*-BuOH a 50 °C durante 10 min bajo N₂ antes de su adición a la reacción; d. Equivalentes con respecto al catalizador.

C. Presión de hidrógeno

25 Se llevaron a cabo experimentos para mostrar el efecto de la presión (5 bar y 30 bar) y de la carga de catalizador (2.000/1, 4.000/1, 5.000/1 y 10.000/1) sobre la conversión y la selectividad. Los resultados se proporcionan a continuación, en la Tabla 44. Notas para la Tabla 44: a. Conversión calculada como el % del área del pico para el producto frente al material de partida, $(\text{prod}/\text{prod} + \text{sm}) \times 100$, área del pico a 210 nm mediante el uso de un análisis mediante HPLC (método en fase inversa) a 254 nm; b. Conversión incompleta como resultado de un solapamiento parcial del primer enantiómero y del material de partida, dando un pequeño error en la medición del ee, el número entre paréntesis representa el pico principal 1 = elución temprana 2 = elución tardía; c. Se calentó una solución de (*R*)-PPhos RuCl₂ (*R*)-DAIPEN en *i*-PrOH-H₂O (9:1 v/v, 1 ml) y *t*-BuOK/*t*-BuOH a 50 °C durante 10 min bajo N₂ antes de su adición a la reacción; d. Equivalentes con respecto al catalizador; e. La presión se redujo durante el transcurso de la reacción debido al consumo del H₂; f. Muestra tomada a partir de la suspensión de reacción; y g. mol % con respecto al sustrato.

D. Eficacia de la mezcla

40 En el transcurso de la utilización de la reacción se observó que diferencias menores en la longitud del deflector del recipiente de reacción causaban unas eficacias de mezcla variables. Las diferencias observadas en la conversión dependiendo de la posición del deflector indicaron que se requería una agitación eficiente para una mayor conversión. Los resultados se proporcionan en la Tabla 45.

E. Efecto de los cosolventes

45 Se realizó una comparación de los cosolventes para aumentar la reactividad mediante una mayor solubilidad del sustrato. Para comparar se eligieron las condiciones que proporcionaban una baja conversión mediante el uso de la mezcla disolvente patrón (IPA-H₂O, 9:1). La mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 16 h y se usó una carga de catalizador de 4.000/1 S/C. Los resultados se proporcionan a continuación, en la Tabla 45.

TABLA 41

Entrada	Variación del método	Catalizador	Carga (S/C)	Aditivo (eq)	Tiempo (h)	Temp. (°C)	H ₂ (bar)	Disolvente (conc./M)	Conv. (%) ^a	ee (%) ^b
1	Ninguna	(R,R)	1.000	-	16	40	30	0,28	84,7	> 94,4
2	IPA-H ₂ O (1:1)	(R,R)	1.000	-	16	40	30	0,28	83,6	-
3	Aumento de la concentración	(R,R)	1.000	-	16	40	30	0,53	85,5	-
4	Base débil	(R,R)	1.000	HCOONa (10 %)	16	40	30	0,28	4,4	-
5	Catalizador preactivado (0,3 % de t-BuOK)	(R,R)	1.000	-	64	40	30	0,28	89,9	> 91,8
6	Catalizador preactivado (0,6 % de t-BuOK)	(R,R)	1.000	-	64	40	30	0,28	90,0	> 95,4

a. Conversión calculada como el % del área del pico para el producto frente al material de partida. (prod/prod + sm) x 100, área del pico a 210 nm analizada mediante el uso de un análisis mediante HPLC (método en fase inversa) a 254 nm.

b. Conversión incompleta como resultado de un solapamiento parcial del primer enantiómero y del material de partida, dando un pequeño error en la medición del ee.

TABLA 42

Entrada	Variación del método	Escala (g)	Catalizador	Carga (S/C)	Aditivo (eq)	Tiempo (h)	Temp. (°C)	H ₂ (bar)	Disolvente (conc./M)	Conv. (%) ^a	ee (%) ^b
1	Ninguna	1,67	(R,R)	1.000	-	16	40	30	0,3	84,7	> 94,4 (1)
Aumento de la temperatura (60 °C)											
2	60 °C 3 eq de t-BuOK ^d	1,67	(R,R)	1.000	-	16	60	30	0,3	96,0	> 93,6 (1)
3	60 °C, base débil	1,67	(R,R)	1.000	-	16	60	30	0,3	23,8	-
4	60 °C 6 eq de t-BuOK ^d	3,34	(R,R)	2.000	HCOONa (10 %) ^g	16	60	30	0,6	91,2	> 93,2 (1)
5	60 °C 6 eq de t-BuOK ^d	3,34	(R,R)	2.000	(R)-DAIPEN (1 eq) ^d	16	60	30	0,6	90,3	> 95,2 (1)
Aumento de uso del recipiente (~ 70 %)											
6	60 °C 6 eq de t-BuOK ^d	6,68	(S,S)	2.000	-	64	60	30 ^e	0,6	98,0	99,2 (2)
7	60 °C 6 eq de t-BuOK ^d	6,68	(S,S)	4.000	-	64	60	30	0,6	98,9	96,8 (2)
8	60 °C	6,68	(S,S)	2.000	-	16	60	30 ^e	0,6	97,8	97,3 (2)
	6 eq de t-BuOK ^d										
9	60 °C 6 eq de t-BuOK ^d	6,68	(S,S)	2.000	-	16	40	30 ^e	0,6	38,4 ^f	

TABLA 43

Entrada	Variación del método	Escala (g)	Catalizador	Carga (S/C)	Posición de la muestra	Conv. (%) ^a	ee (%) ^b
Uso habitual del recipiente (~ 35 %)							
1					Global	89,9	> 91,8 (1)
2	Catalizador preactivado, 60 °C, 0,3 M, 64 h	1,67	(R,R)	1.000	En el fondo del reactor	97,9	-
3					En la parte superior de la reacción	ND	-
4					Global	96,0	> 93,6 (1)
5	60 °C (3 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d , 0,3 M, 16 h	1,67	(R,R)	1.000	En el fondo del reactor	98,2	-
6					En la parte superior de la reacción	96,0	-
7	60 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d , 0,6 M, 16 h	3,34	(R,R)	2.000	Global	91,2	> 93,2
8					En el fondo del reactor	96,2	-
9					En la parte superior de la reacción	41,7	-
10					Global	90,3	> 95,2 (1)
11	60 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d , 0,6 M, 16 h	3,34	(R,R)	2.000	En el fondo del reactor	91,8	-
12	1 eq ^d de (R)-DAIPEN				En la parte superior de la reacción	38,4	-

Entrada	Variación del método	Escala (g)	Catalizador	Carga (S/C)	Posición de la muestra	Conv. (%) ^a	ee (%) ^b
Aumento de uso del recipiente (~ 70 %)							
13	60 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d , 0,6 M, 64 h	6,68	(S,S)	2.000	Global	98,0	99,2 (2)
14					En el fondo del reactor	98,1	-
15					En la parte superior de la reacción	99,5	-
16	60 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d , 0,6 M, 64 h	6,68	(S,S)	4.000	Global	98,9	96,8 (2)
17					En el fondo del reactor	99,0	-
18					En la parte superior de la reacción	96,9	-
19	60 °C (6 de <i>t</i> -BuOK) ^d , 0,6 M, 16 h	6,68	(S,S)	2.000	Global	97,8	97,3 (2)
20					En el fondo del reactor	97,8	-
21					En la parte superior de la reacción	97,9	-

TABLA 44

Entrada	Variación del método	Escala (g)	Catalizador	Carga (S/C)	Aditivo (eq)	Tiempo (h)	Temp. (°C)	H ₂ (bar)	Disolvente (conc./M)	Conv. (%) ^a	ee (%) ^b
1	60 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d	6,68	(S,S)	4.000	-	64	60	30	0,6	98,9	96,8 (2)
2	60 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d	6,68	(S,S)	4.000	-	16	60	30 ^e	0,6	98,8	96,4 (2)
3	70 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d	6,68	(S,S)	10.000	-	16	70	30 ^e	0,6	91,8	94,8 (2)
4	60 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d	6,68	(S,S)	2.000	-	16	60	5	0,6	94,9	96,2 (2)
5	70 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d	6,68	(S,S)	2.000	-	16	70	5	0,6	98,7	96,0 (2)
6	70 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d	6,68	(S,S)	4.000	-	16	70	5	0,6	97,8	94,9 (2)
7	80 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d	6,68	(S,S)	5.000	-	16	80	5	0,6	99,1	94,2 (2)
8	70 °C (6 eq de <i>t</i> -BuOK) ^d	6,68	(S,S)	10.000	-	88	70	5	0,6	99,7	95,4 (2)

TABLA 45

Entrada	Escala (g)	Catalizador	Carga (S/C)	Disolvente 1 (v %)	Disolvente 2 (v %)	Disolvente 3 (v %)	Deflector (L/S) ^b	Tiempo (h)	Temp. (°C)	H ₂ (bar)	Disolvente (conc./M)	Conv. (%) ^a	ee (%) ^b
1	6,68	(5,5)	4.000	IPA (90)	H ₂ O (10)	-	L	16	60 ^f	5	0,6	38,5 ^c	-
2	6,68	(5,5)	4.000	IPA (80)	H ₂ O (10)	THF (10)	S	16	60 ^f	5	0,6	15,8 ^c	-
3	6,68	(5,5)	4.000	IPA (80)	H ₂ O (10)	DMSO (10)	L	16	60 ^f	5	0,6	90,1	98,9 (2) ^d
4	6,68	(5,5)	4.000	IPA (90)		DMSO (10)	S	16	60 ^g	5	0,6	19,7 ^c	-
5	6,68	(5,5)	4.000	IPA (70)	H ₂ O (10)	DMSO (20)	L	40 ^e	60 ^f	5	0,6	99,6 ^e	96,0 (2)
6	6,68	(5,5)	4.000	IPA (70)	H ₂ O (10)	DMSO (20)	L	16	60 ^f	5	0,6	98,9	96,6 (2)
7	6,68	(5,5)	4.000	IPA (80)	H ₂ O (10)	MeOH (10)	L	16	60 ^g	5	0,6	36,8 ^c	-
8	6,68	(5,5)	4.000	IPA (80)	H ₂ O (10)	DMSO (10)	S	16	60 ^g	5	0,6	50,6 ^c	-
9	6,68	(5,5)	4.000	IPA (80)	H ₂ O (10)	DMSO (10)	L	16	60 ^g	5	0,6	85,0	-

- Notas para la Tabla 45: a. Conversión calculada como el % del área del pico para el producto frente al material de partida, $(\text{prod}/\text{prod} + \text{sm}) \times 100$, área del pico a 210 nm mediante el uso de un análisis mediante HPLC (método en fase inversa) a 254 nm; b. Conversión incompleta como resultado de un solapamiento parcial del primer enantiómero y del material de partida, dando un pequeño error en la medición del ee, el número entre paréntesis representa el pico principal 1 = elución temprana 2 = elución tardía; c. Muestra de HPLC tomada a partir de la mezcla de reacción en bruto en forma de una suspensión en THF, ya que el sustrato tiene una baja solubilidad; d. ee medido a partir de la HPLC del sólido aislado; e. El hidrógeno disponible se consumió en las 16 h iniciales antes de que la presión se restableciera 5 bar durante 24 h adicionales; f. Fuente de hidrógeno a través de una bureta; g. Suministro de hidrógeno a través de un caudalímetro; h. L/S representa el uso del deflector más largo o más corto.
- 5
- 10 En la FIG. 6 se muestra una comparación de la captación de hidrógeno para un 10 % y un 20 % de DMSO (v/v) como cosolvente.

F. Estudios de solubilidad

- Los estudios de solubilidad se llevaron a cabo mediante la adición de (4-fluorofenil)(4-(5-metil-4H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanona en pequeñas porciones a varios disolventes hasta que persistió una suspensión sólida. Se seleccionaron varios disolventes para este estudio basándose en su idoneidad como cosolventes para la reacción. Los resultados se proporcionan a continuación, en la Tabla 46.
- 15

TABLA 46

Entrada	Disolvente(s)	Solubilidad (mg/ml)	Temp. (°C)
1	DMSO	12 - 149	20
2	THF	< 17	20
3	IPA-H ₂ O (9:1)	< 7	20
4	EtOAc	< 6	20
5	PhMe	< 9	20

G. Reducción de la carga de catalizador (Parr de 50 ml)

- Se realizó un intento de reducir adicionalmente la carga de catalizador en el recipiente Parr de 50 ml. Se usó una carga de catalizador de 20.000/1 S/C con una presión de 30 bar. En la Tabla 47 se incluyen los resultados previos a una carga de 10.000/1 de S/C para comparar. Notas para la Tabla 47: a. Conversión calculada como el % del área del pico para el producto frente al material de partida, $(\text{prod}/\text{prod} + \text{sm}) \times 100$, área del pico a 210 nm mediante el uso de un análisis mediante HPLC (método en fase inversa) a 254 nm; b. Conversión incompleta como resultado de un solapamiento parcial del primer enantiómero y del material de partida, dando un pequeño error en la medición del ee, el número entre paréntesis representa el pico principal 1 = elución temprana 2 = elución tardía; c. Muestra de HPLC tomada a partir de la mezcla de reacción en bruto en forma de una suspensión en THF, ya que el sustrato tiene una baja solubilidad; d. ee medido a partir de la HPLC del sólido aislado; e. El hidrógeno disponible se consumió en las 16 h iniciales antes de que la presión se restableciera 5 bar durante 24 h adicionales; f. Fuente de hidrógeno a través de una bureta; g. Suministro de hidrógeno a través de un caudalímetro; h. L/S representa el uso del deflector más largo o más corto.
- 20
- 25
- 30

H. Método de preparación de la reacción

- Durante el transcurso de los experimentos de cribado descritos anteriormente se realizó un análisis de las reacciones en bruto después de diluir con THF y de calentar para disolver todos los sólidos. Varias reacciones se sometieron a un procedimiento representativo de preparación y aislamiento. En primer lugar, los disolventes se eliminaron a presión reducida y el sólido en bruto se recogió en mezclas 9:1 o 1:1 de *i*-PrOH:H₂O, después la suspensión se calentó a 60-70 °C antes de enfriar la hasta la temperatura ambiente y filtrar. Los resultados se proporcionan en la Tabla 48. Notas para la Tabla 48: a. Conversión calculada como el % del área del pico para el producto frente al material de partida, $(\text{prod}/\text{prod} + \text{sm}) \times 100$, área del pico a 210 nm mediante el uso de un análisis mediante HPLC (método en fase inversa) a 254 nm; b. Conversión incompleta como resultado de un solapamiento parcial del primer enantiómero y del material de partida, dando un pequeño error en la medición del ee, el número entre paréntesis representa el pico principal 1 = elución temprana 2 = elución tardía.
- 35
- 40

I. Aumento de escala de las reacciones en un reactor Parr de 300 ml

5 El aumento de escala de la reacción se llevó a cabo en el reactor Parr de 300 ml. Se encontraron diversos problemas mecánicos, y por lo tanto los resultados no fueron verdaderamente representativos. Se llevó a cabo otro experimento después de resolver los problemas mecánicos. Aunque se obtuvieron unos resultados mejorados, el ee del producto todavía era relativamente bajo en comparación con los resultados previos en el recipiente Parr de 50 ml. No se llevaron a cabo experimentos adicionales mediante el uso de este recipiente, ya que se obtuvieron unos mejores resultados en el recipiente Parr de 600 ml, mayor.

TABLA 47

Entrada	Escala (g)	Catalizador	Carga (S/C)	Disolvente 1 (v %)	Disolvente 2 (v %)	Disolvente 3 (v %)	Deflector (L/S) ^b	Tiempo (h)	Temp. (°C)	H ₂ (bar)	Disolvente (conc./M)	Conv. (%) ^a	ee (%) ^b
1	6,68	(S,S)	10.000	IPA (80)	H ₂ O (10)	DMSO (10)	S	64	60	5 ^g	0,6	58,1 ^e	-
2	6,68	(S,S)	10.000	IPA (80)	H ₂ O (10)	DMSO (10)	L	64	70	5 ^f	0,6	99,6	95,0 (2)
3	6,68	(S,S)	20.000	IPA (80)	H ₂ O (10)	DMSO (10)	L	48	70	30 ^f	0,6	99,8	97,2 (2)

TABLA 48

Entrada	Muestra de la reacción	Escala (g)	Disolventes de aislamiento	Masa aislada (g)	Rendimiento (%)	Producto de la HPLC (%) ^a	ee (%) ^b
Sin cosolvente de DMSO							
1	Mezcla de reacción (solución de THF)	6,68	-	-	-	98,9	96,8 (2)
2	Sólido aislado	-	<i>i</i> PrOH/H ₂ O (9:1, 30 ml)	5,75	85,6	99,3	98,3 (2)
3	Mezcla de reacción (solución de THF)	6,68	-	-	-	97,8	97,3 (2)
4	Sólido aislado	-	<i>i</i> PrOH/H ₂ O (1:1, 45 ml)	5,75	85,6	98,1	98,1 (2)
Con cosolvente de DMSO, al 10 % (v/v)							
5	Mezcla de reacción (solución de THF)	6,68	-	-	-	90,1	-
6	Sólido aislado	-	<i>i</i> PrOH/H ₂ O (1:1, 45 ml)	5,95	88,6	92,3	98,9 (2)
7	Mezcla de reacción (solución de THF)	6,68	-	-	-	99,6	95,0 (2)
8	Sólido aislado	-	<i>i</i> PrOH/H ₂ O (9:1, 30 ml)	5,50	81,9	99,8	98,8 (2)
Con cosolvente de DMSO, al 20 % (v/v)							
9	Mezcla de reacción (solución de THF)	6,68	-	-	-	99,4	94,2 (2)
10	Sólido aislado	-	<i>i</i> PrOH/H ₂ O (1:1, 45 ml)	5,96	88,7	99,8	97,2 (2)

TABLA 49

Entrada	Escala (g)	Catalizador	Carga (S/C)	Cosolvente (v %)	Tiempo (h)	Temp. (°C)	Hz (bar)	Rendimiento aislado (%)	Prod. (%) ^a	ee (%) ^b
1	80,16	(S,S)	4.000	DMSO (10)	22	70	5 ^f	89,0	99,5	99,1 (2)
2	80,16	(S,S)	10.000	DMSO (10)	112	70	5 ^f	88,8	96,6	98,6 (2)

a. Conversión calculada como el % del área del pico para el producto frente al material de partida, $(\text{prod}/\text{prod} + \text{sm}) \times 100$, área del pico analizada a 210 nm mediante el uso de un análisis mediante HPLC (método en fase inversa) a 254 nm.

b. Conversión incompleta como resultado de un solapamiento parcial del primer enantiómero y del material de partida, dando un pequeño error en la medición del ee, el número entre paréntesis representa el pico principal 1 = elución temprana 2 = elución tardía.

c. Muestra de HPLC tomada a partir de la mezcla de reacción en bruto en forma de una suspensión en THF, ya que el sustrato tiene una baja solubilidad.

d. ee medido a partir de la HPLC del sólido aislado.

e. El hidrógeno disponible se consumió en las 16 h iniciales antes de que la presión se restableciera a 5 bar durante 24 horas adicionales.

f. Fuente de hidrógeno a través de una bureta.

g. Suministro de hidrógeno a través de un caudalímetro.

h. Secado en curso de la muestra hasta masa constante, el rendimiento debe ser revisado a la baja.

J. Aumento de escala de las reacciones en un reactor Parr de 600 ml

Se usaron las condiciones de reacción mediante el uso de DMSO (10 % v/v) como cosolvente ya que los beneficios sobre la velocidad de reacción fueron demostrados previamente. El recipiente Parr de 600 ml estaba equipado con un rotor internig para una agitación eficaz.

- 5 Carga de catalizador 4.000/1 de S/C: el tiempo de reacción total fue de 22 horas ya que la curva de captación parecía aplanarse después de aproximadamente 20 h según se observa en la FIG. 7. Sólo se observó una cantidad menor de la cetona en el producto aislado. El producto aislado tenía una buena pureza enantiomérica (99,1 % de ee). El rendimiento es lado, del 89 %, era comparable a los resultados obtenidos a una escala menor con los recipientes de 50 y de 300 ml. Los resultados se proporcionan en la Tabla 49.
- 10 Carga de catalizador 10.000/1 de S/C: también se intentó una reacción mediante el uso de una carga de catalizador reducida mediante el uso de este recipiente. Se usó un cosolvente de DMSO (10 % v/v). Se necesitó un tiempo de reacción relativamente largo hasta que pareció aplanarse la captación de hidrógeno (112 h, véase la FIG. 8). Se obtuvieron unos tiempos de reacción más cortos mediante el uso de estas condiciones a una escala menor (Parr de 50 ml), debido posiblemente a la diferencia en la eficacia de mezcla del recipiente. El producto aislado contenía pequeñas cantidades de la cetona (un 3,4 % mediante una HPLC), aunque el producto se aisló con un buen ee (del 98,6 %). Los resultados se proporcionan en la Tabla 49.
- 15

K. Contenido en rutenio

Se llevó a cabo un análisis del contenido en rutenio en comparación con la carga de catalizador. El contenido máximo en rutenio estimado en comparación con la carga de catalizador y los resultados reales se muestran en la Tabla 50.

20

TABLA 50

Entrada	Carga (S/C)	Contenido máximo en rutenio (ppm) ^a	Contenido real en rutenio (ppm)
1	2.000	150	30
2	4.000	75	3
3	4.000	75	6
4	5.000	60	8
5	4.000	75	2
6	10.000	30	2
7	10.000	30	< 1
8	20.000	15	< 1

a. Estimado basándose en la carga inicial de catalizador y en un 0 % de eliminación de rutenio del producto

Ejemplo 24

Ejemplo de reacción de aumento de escala en un recipiente Parr de 600 ml

- 25 Se cargó un recipiente Parr de 600 ml con (4-fluorofenil)(4-(5 -metil-1*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanona (80,16 g, 231 mmol), (S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN (65,3 mg, S/C de 4.000/1), una solución de *i*-PrOH-H₂O (9:1 v/v, 324 ml) y DMSO (36 ml). El recipiente se cerró herméticamente y se purgó con N₂ mediante la introducción de 3 bar durante 1 min y ventilando después, se realizaron otras 5 purgas adicionales con agitación (1.500 rpm). Se añadió una solución de *t*-BuOK/*t*-BuOH (1 M, 348 µl) en *i*-PrOH-H₂O (9:1 v/v, 10 ml) y la reacción se purgó con N₂ de acuerdo con la secuencia previa. Después el recipiente se purgó con H₂ mediante la introducción de 5 bar durante 2 min y ventilando, se realizaron otras 3 purgas adicionales con agitación (1.500 rpm). Después la reacción se calentó a 70 °C y se mantuvo a esta temperatura y presión durante el tiempo indicado.
- 30

- El recipiente se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente antes de purgar con nitrógeno. La suspensión de reacción se diluyó con H₂O (260 ml) y se filtró. El sólido se lavó con *i*-PrOH-H₂O (1:1 v/v) (2 x 100 ml) y se secó a alto vacío hasta que se consiguió una masa constante. La reacción dio como resultado 71,75 g y un rendimiento aislado del 89,0 %. El análisis mediante HPLC indicó un 99,5 % de producto y un 0,5 % de material de partida. El exceso enantiomérico de producto del 99,1 % favoreció al enantiómero que eluyó más tarde.
- 35

Ejemplo 25

Se cribaron dos lotes de (4-fluorofenil)(4-(5-metil-1*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanona para evaluar la conversión a unas cargas de catalizador S/C de 500/1 y de 2.000/1. El lote 1 contenía Et(*i*-Pr)₂N ~ 15 % molar, base de Hunig y un 2 % molar de AcOEt. El lote 2 contenía un ~11 % molar (3 % p/p) de AcOEt. Las reacciones se llevaron a cabo en un reactor BIOTAGE ENDEAVOR™ con 1,13 g de un sustrato, 0,3 mol % de *i*-BuOK, en IPA/H₂O/DMSO (8:1:1, v/v/v) a 70 °C y a 5 bar de hidrógeno durante 16 h. Se usaron varios lotes del catalizador [(*S*)-PPhosRuCl₂(*S*)-DAIPEN] y [(*R*)-PPhosRuCl₂(*R*)-DAIPEN].

El lote 1 dio una conversión completa con ambas cargas. El lote 2 de una conversión completa con una S/C de 500/1, pero no dio conversión con una S/C de 2.000/1. La adición de 15 mol % de la base de amina produjo un ligero aumento de la conversión para el lote 2. Cuando el material sin reaccionar recuperado se reutilizó en la reacción, se obtuvieron unas conversiones mejoradas.

Los resultados de estas reacciones sugirieron que la purificación del material de partida, combinada con la adición de una base, podría resolver la baja reactividad del lote 2.

Se usaron tres procedimientos de purificación básicos con el lote 2 (Tabla 51, entradas 5-7). En los siguientes Ejemplos se usan los números de sustrato de la columna 2 de la Tabla 51 para indicar el lote de sustrato usado.

TABLA 51

nº de lote	nº de sustrato	Acción (normalmente realizada sobre 5 g de sustrato)
1	1	Ninguna
2	2	Ninguna
2	3	El material recuperado de la reacción anterior
2	4	Secado a vacío
2	5	A reflujo en IPA (70 ml), filtrado después de enfriar
2	6	A reflujo en IPA/H ₂ O (9/1) (70 ml), se diluyó con agua (70 ml), se filtró después de enfriar
2	7	Se suspendió en IPA/H ₂ O (9/1) (30 ml), DIPEA (se añadió 1 mol %) La mezcla se agitó a 70 °C durante 1 h, se diluyó con agua (30 ml), se filtró después de enfriar

a. Homogeneidad de la reacción

Se llevaron a cabo ensayos para evaluar la solubilidad del material de partida, del producto y de su mezcla a 70 °C. El objetivo de estos experimentos era encontrar la cantidad mínima de DMSO necesaria para disolver los reactivos y crear una mezcla de reacción homogénea. Un tubo contenía el material de partida, el segundo una mezcla del material de partida y el producto (1/1) para simular una situación en la que la reacción se ha completado la mitad, y el tercer tubo contenía producto. Los experimentos comenzaron en 5 ml de IPA/DMSO/agua (8/1/1), donde ninguna de las mezclas era soluble a 70 °C. Después se añadió gota a gota DMSO hasta que pudo alcanzarse una solubilidad. Se averiguó que tras la adición de 5 ml adicionales de DMSO se alcanzó una solubilidad completa del producto, mientras que la mezcla del material de partida y el producto pudo disolverse tras la adición de 7 ml de DMSO. En estas condiciones, el material de partida todavía estaba parcialmente sin disolver. Se usó este experimento para determinar las cantidades necesarias de DMSO para crear una mezcla de reacción homogénea (después de mantener las cantidades originales de IPA y agua). Los resultados de los ensayos de solubilidad de 1,113 g de material a 70 °C se proporcionan en la Tabla 52.

En la Tabla 52, cetona se refiere a la (4-fluorofenil)(4-(5-metil-1*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanona, y alcohol se refiere al (*R*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol o al (*S*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol.

TABLA 52

35

Entrada	Composición del sustrato	IPA (ml)	Agua (ml)	DMSO (ml)	Resultado
1	Cetona	4	0,5	0,5	No disuelto
2	Cetona/Alcohol (1/1)	4	0,5	0,5	No disuelto
3	Alcohol	4	0,5	0,5	No disuelto
4	Cetona	4	0,5	5,5	No disuelto
5	Cetona/Alcohol (1/1)	4	0,5	5,5	No disuelto
6	Alcohol	4	0,5	5,5	Disuelto
7	Cetona	4	0,5	7,5	No disuelto
8	Cetona/Alcohol (1/1)	4	0,5	7,5	Disuelto
9	Alcohol	4	0,5	7,5	Disuelto

b. Reactividad de los sustratos purificados

Las reacciones con los sustratos purificados se realizaron en un Endeavor a una carga de catalizador de 2.000/1 de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] con varias cantidades de *t*-BuOK (usado en forma de una solución 1 M de *t*-BuOK en *t*-BuOH). Las reacciones se llevaron a cabo a una escala de 3,33 mmol mediante el uso de una carga de catalizador de 2.000/1 en 5 ml de IPA/DMSO/agua (8/1/1), a 5 bar de H₂ y a 70 °C durante 16 h. Se averiguó que las purificaciones eran beneficiosas. Los resultados del efecto de la base y de la purificación se proporcionan en la Tabla 53. Los sustratos usados en este experimento se obtuvieron según se ha descrito en el Ejemplo 25, Tabla 51.

TABLA 53

Entrada	<i>t</i> -BuOK (mol %)	Sustrato	Conv. (%) ^a	ee (%) ^b
1	0,3	1	99+	ND
2	0,3	2	0	ND
3	1	2	18	ND
4	2,5	2	34	ND
5	1	3	93	99
6	2,5	3	96	99
7	1	4	21	ND
8	2,5	4	57	ND
9	5	4	94	99+
10	1	5	91	ND
11	2,5	5	97	ND
12	0,3	6	55	ND
13	1	6	97	ND
14	2,5	6	95	99+
15	5	6	98	99+
16	0,3	7	75	ND
17	1	7	96	ND
18	2,5	7	97	99+
19	5	7	98	99+

Ejemplo 26

Reacciones en el reactor BIOTAGE ENDEAVOR™ (a una escala de 3,33 mmol)

Se cargó con sustrato un vial de BIOTAGE ENDEAVOR™ (1,113 g, 3,33 mmol), se añadieron sucesivamente IPA (1 ml), DMSO (0,5 ml) y agua (0,5 mmol). El vial se puso en el BIOTAGE ENDEAVOR™ y el sistema se purgó con nitrógeno mediante una presurización a 3 bar y liberando la presión. Se inyectaron 3 ml de la solución madre de catalizador, preparada mediante la disolución de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] (5,4 mg, 0,005 mmol) en IPA (12 ml) y añadiendo una solución de *t*-BuOK en *t*-BuOH (normalmente 666 ml para 5 mol %) en cada reactor BIOTAGE ENDEAVOR™ y la mezcla de reacción se purgó con nitrógeno (5 x) y con hidrógeno (5 x). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h a 4-5 bar (véase la Tabla 54) y a 70 °C. La mezcla de reacción se dejó enfriar, se despresurizó, y el contenido de los viales de reacción se transfirió a un matraz Erlenmeyer de 100 ml mediante el uso de 70 ml de THF. Esto dio como resultado normalmente una solución transparente de color amarillo. En algunos casos se obtuvo una solución de color naranja con sólido disuelto, lo que indicaba una conversión baja/incompleta. Se tomó una muestra y se determinaron la conversión de la reacción y el ee mediante una HPLC. Los resultados se proporcionan en la Tabla 54. Los sustratos usados en este experimento se obtuvieron según se ha descrito en el Ejemplo 25, Tabla 51.

Ejemplo 27

A. Reacciones en un autoclave Parr (a una escala de 20 mmol)

Se cargó un autoclave Parr con sustrato (6,68 g, 20 mmol) y se cerró. A través del puerto de inyección se añadieron sucesivamente IPA (12 ml), DMSO (3 ml) y agua (3 mmol) (el autoclave se purgó con nitrógeno 5 x). Se añadió la solución del catalizador preparada mediante la disolución de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] o de [(R)-PPhos RuCl₂ (R)-DAIPEN] (5,4 mg, 0,005 mmol) en IPA (11 ml) y añadiendo una solución de *t*-BuOK en *t*-BuOH (normalmente 1 ml para 5 mol %). El reactor se purgó con nitrógeno (5 x) y con hidrógeno (5 x). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h a 5 bar y a 70 °C. La mezcla de reacción se enfrió, se despresurizó, y el contenido de los viales de reacción se transfirió a un matraz Erlenmeyer de 100 ml que contenía 30 ml de agua. El precipitado se eliminó mediante filtración, se lavó con IPA/agua (15 ml, 9/1) y se secó a vacío proporcionando el correspondiente alcohol. Se preparó una muestra y se determinaron la conversión de la reacción y el ee mediante una HPLC. Los resultados se proporcionan en la siguiente Tabla 55. Los sustratos usados en este experimento se obtuvieron según se ha descrito en el Ejemplo 25, Tabla 51.

B. Reacciones en un autoclave Parr (a una escala de 10 mmol) - sistema homogéneo

Se cargó un autoclave Parr con sustrato (3,34 g, 10 mmol) y se cerró. A través del puerto de inyección se añadieron sucesivamente IPA (7 ml), DMSO (14 ml) y agua (2 ml) (el autoclave se purgó con nitrógeno al menos cinco veces). Se añadieron 7 ml de la solución del catalizador preparada mediante la disolución de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] o de [(R)-PPhos RuCl₂ (R)-DAIPEN] (5,4 mg, 0,005 mmol) en IPA (13 ml) y añadiendo una solución de *t*-BuOK en *t*-BuOH (1 ml para 5 mol %). El reactor se purgó con nitrógeno (5 x) y con hidrógeno (5 x). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h a 4 bar y a 70 °C. La mezcla de reacción se dejó enfriar y se despresurizó. Se tomó una muestra y se determinaron la conversión de la reacción y el ee mediante una HPLC. El contenido del reactor se añadió gota a gota con una agitación vigorosa a un matraz Erlenmeyer de 100 ml que contenía 30 ml de agua. Inmediatamente se formó un grueso precipitado de color blanco. El precipitado se eliminó mediante filtración, se lavó con agua (15 ml) y se secó a vacío proporcionando el correspondiente alcohol. Los resultados se proporcionan en la siguiente Tabla 55. Los sustratos usados en este experimento se obtuvieron según se ha descrito en el Ejemplo 25, Tabla 51.

Ejemplo 28

Reacciones aumentadas de escala a 4 bar

Se llevaron a cabo reacciones aumentadas de escala para la preparación del (*R*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol y del (*S*)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol mediante el uso de 10 g de (4-fluorofenil)(4-(5-metil-1*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanona y de [(S)-PPhos RuCl₂ (S)-DAIPEN] o de [(R)-PPhos RuCl₂ (R)-DAIPEN] a 70 °C y a 4 bar de H₂ mediante el uso de unos procedimientos similares a los descritos en el Ejemplo 27B. Las siguientes Tablas 56 y 57 resumen los procedimientos y los resultados. En las siguientes Tablas 56 y 57, enantiómero *R* se refiere al (*R*)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol, y enantiómero *S* se refiere al (*S*)-(4-fluorofenil)(4-(5-metil-1*H*-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol.

Para las tres últimas entradas de la Tabla 53 se usó el siguiente procedimiento para la preparación. La solución de la masa de reacción final se administró a una mezcla de IPA/agua con agitación a 0-5 °C para precipitar el producto. Después de la filtración a través de 10 micrómetros, el producto húmedo se lavó con IPA y agua. De acuerdo con los datos del ensayo, las aguas madres contenían normalmente aproximadamente un 10 % de material y aproximadamente un 1 % en las aguas madres. El secado se llevó a cabo a 5 0 °C.

Formación de la sal de esilato

Los productos de las tres últimas entradas de la Tabla 56 se usaron para la formación de las sales de esilato. Todas las reacciones de formación de las sales de esilato se llevaron a cabo en las condiciones descritas en la Tabla 57 con 1 equivalente de la cantidad de EtSO_3H , el tiempo de reacción era de 30 min a reflujo, y la masa se enfrió hasta 5°C durante el aislamiento del producto.

- 5 Los ejemplos establecidos anteriormente se proporcionan para dar a los expertos habituales en la técnica una descripción completa y una descripción de cómo elaborar y usar las realizaciones reivindicadas, y no pretenden limitar el alcance de lo que se describe en la presente memoria.

TABLA 54

Entrada	<i>t</i> -BuOK (mol %)	Sustrato	Disolvente(s)	Carga (S/C)	Tiempo (h)	Temp. (°C)	Hz (bar)	Disolvente (conc./M)	Conv. (%) ^a	ee (%) ^b
1	1	3	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	93	99
2	2,5	3	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	96	99
3	1	2	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	18	ND
4	1	4	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	21	ND
5	1	5	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	91	ND
6	2,5	2	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	34	ND
7	2,5	4	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	57	ND
8	2,5	5	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	97	ND
9	0,3	6	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	55	ND
10	1	6	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	97	99+
11	2,5	6	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	95	99+
12	5	6	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	98	99+
13	5	4	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	94	99+
14	0,3	7	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	75	ND
15	1	7	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	96	ND
16	2,5	7	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	97	99+
17	5	7	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	98	99+
18	0,3	1 + EtoAc (10 mol %)	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	5	0,6	98	ND
19	5	4	IPA/DMSO/agua 4/4/0,5	2.000	16	70	5	0,3	cuant.	ND
20	5	2	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	4	0,6	97	99+
21	5	2	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	4	0,6	98	99+
22	5	2	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2.000	16	70	4	0,6	98	99+
23	5	2	IPA/DMSO 4/4	2.000	16	70	4	0,3	cuant.	99+

TABLA 55

Entrada	Escala (g)	Catalizador (R/S)	tBuOK (mol %)	Disolvente(s)	Sustrato	Carga (S/C)	Tiempo (h)	Temp. (°C)	H ₂ (bar)	Disolvente (conc./M)	Conv. (%) ^a	ee (%) ^b
1	6,68	(S,S)	0,3	IPA/DMSO/agua 8/1/1	1	4.000	16	70	5	0,6	cuant	99+
2 ^a	6,68	(S,S)	0,3	IPA/DMSO/agua 8/1/1	1	4.000	16	70	5	0,6	cuant	99+
3 ^a	6,68	(R,R)	0,3	IPA/DMSO/agua 8/1/1	1	4.000	16	70	5	0,6	97	99+
4	6,68	(S,S)	10	IPA/DMSO/agua 8/1/1	2	4.000	16	70	5	0,6	94	99+
5	3,34	(S,S)	5	IPA/DMSO/agua 47/47/6	2	4.000	16	70	4	0,3	cuant.	> 99
6 ^a	3,34	(R,R)	5	IPA/DMSO 50/50	2	4.000	16	70	4	0,3	cuant.	> 84
7 ^a	3,34	(R,R)	5	IPA/DMSO/agua 47/47/6	2	4.000	16	70	4	0,3	cuant.	97
8	3,34	(R,R)	5		2	4.000	16	70	4	0,3	cuant.	97

a. Agitación baja (aproximadamente a 200 rpm). Todas las demás reacciones se agitaron a > 1.200 rpm.

TABLA 56

Catalizador	Mezcla de disolventes (p/p)			Base		Cantidad de catalizador	Velocidad de agitación (rpm)	IPC		
	IPA	DMSO	Agua	Tipo	Cantidad (M)			Tiempo (h)	Conversión del enantiómero S o del enantiómero R	ee (%)
S	44 %	50 %	6 %	tBuOK	5 %	4.000	600	20,5	65 %	98,7
S	18 %	79 %	3 %		5 %	4.000	1200	50,5	17 %	-
S	34 %	66 %	0 %	KOH	10 %	2.000		+20	98,7 %	98*
S	41 %	58 %	1 %		5 %	4.000	23	44,2 %	92,3	
S	41 %	58 %	1 %	KOH	12,5 %	2.000	+66	98,1 %	46,4	
S	41 %	58 %	1 %		5 %	3.000	20	99,4 %	95,6	
R	41 %	58 %	1 %	KOH	5 %	4.000	22	99,7 %	-	
				KOH	5 %		23,5	ND	-	

TABLA 57

Material de partida	Proporción entre etanol/enantiómero (v/v)	Adición de DMSO	Temperatura de cristalización (°C)	Tiempo de agitación a 5 °C	Uso de un antisolvente (disolvente/enantiómero, p/p)	Lavado del sólido	Rendimiento
enantiómero S	10:1	-	≈ 66	1 h	-	Etanol frío	72,0 %
enantiómero S	10:1	5 %	≈ 40	1 h	Acetato de etilo (5:1)		84,2 %
enantiómero S	20:1 *	5 %	< 5	16 h	Acetato de etilo (5:1)	isopropanol frío	~ 55 %
enantiómero S	10:1	-	≈ 78	~ 1,5 h	-		ND

* La mitad de la cantidad de etanol (90 g) se eliminó mediante destilación a 78 °C, porque el producto no precipitaba a 5 °C.

REIVINDICACIONES

1. Un (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo; o una sal, un solvato un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es una sal.
- 5 3. El compuesto de la reivindicación 2, en donde la sal es una sal de clorhidrato.
4. El compuesto de la reivindicación 2, en donde la sal es una sal de esilato.
5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que tiene un exceso enantiomérico de no menos del 10 %, preferentemente que tiene un exceso enantiomérico de no menos del 95 %.
- 10 6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el compuesto tiene una pureza de al menos el 50 %, preferentemente en donde el compuesto tiene una pureza de al menos el 90 %.
7. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7,
 en donde la composición está formulada para una administración por vía oral, nasal, bronquial o tópica; y/o
 15 en donde la composición está formulada en forma de una dosis individual.
9. La composición farmacéutica de la reivindicación 7 u 8, en donde la composición está formulada en forma de una forma de dosificación oral, parenteral, nasal, respiratoria, pulmonar o intravenosa; preferentemente en donde la forma de dosificación oral es un comprimido o una cápsula.
- 20 10. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en donde el excipiente farmacéuticamente aceptable es PEG 400, en donde la composición se formula preferentemente para una administración por vía intravenosa.
11. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en donde el excipiente farmacéuticamente aceptable es agua, en donde la composición se formula preferentemente para una administración por vía intravenosa.
- 25 12. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 para su uso en un método para el tratamiento, la prevención o la mejora de uno o más síntomas de una enfermedad proliferativa en un sujeto,
 opcionalmente en donde la enfermedad proliferativa es cáncer; u
 opcionalmente en donde la enfermedad proliferativa es leucemia; u
 30 opcionalmente en donde la enfermedad proliferativa es una enfermedad inflamatoria.
13. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 para su uso en un método para el tratamiento, la prevención o la mejora de uno o más síntomas de una afección, un trastorno o una enfermedad mediados por una JAK en un sujeto,
 en donde la afección, el trastorno o la enfermedad mediados por una JAK es cáncer; o
 35 en donde la afección, el trastorno o la enfermedad mediados por una JAK es leucemia; o
 en donde la afección, el trastorno o la enfermedad mediados por una JAK es una enfermedad inflamatoria.
14. Un método *in vitro* para la inhibición del crecimiento de una célula que comprende poner en contacto la célula con el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o con la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, opcionalmente en donde la célula es una célula cancerosa.
- 40 15. Un método para la preparación de (S)-(4-fluorofenil)(4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)quinazolin-2-il) metanol ópticamente activo; o de una sal, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo;
 que comprende la resolución del (4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanol racémico mediante una cromatografía quiral; o que comprende la etapa de hidrogenar la (4-fluorofenil)(4-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)quinazolin-2-il) metanona en presencia de un catalizador quiral, opcionalmente en donde el catalizador
 45 quiral es [(R)-P-Phos RuCl₂ (R)-DAIPEN].

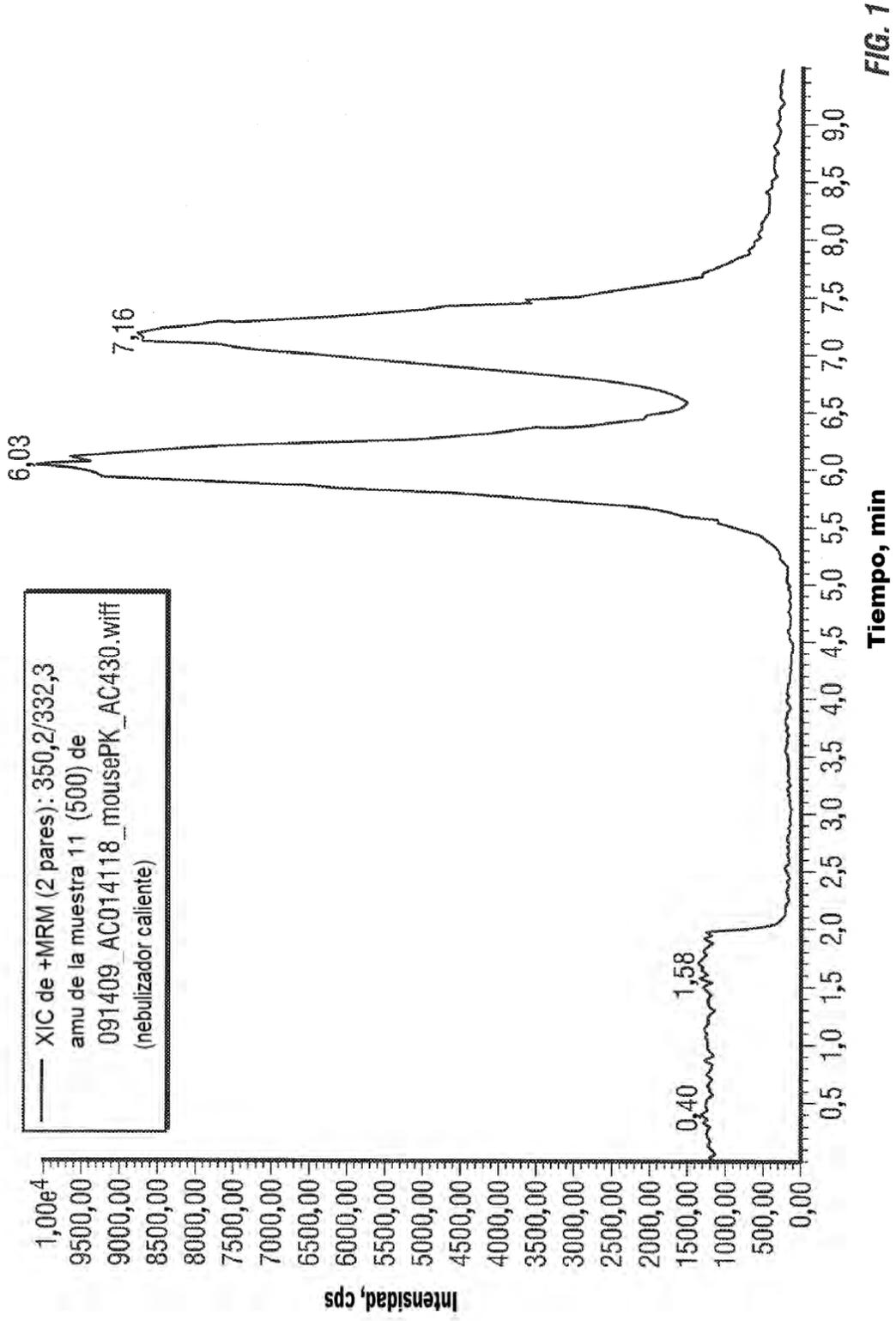


FIG. 1

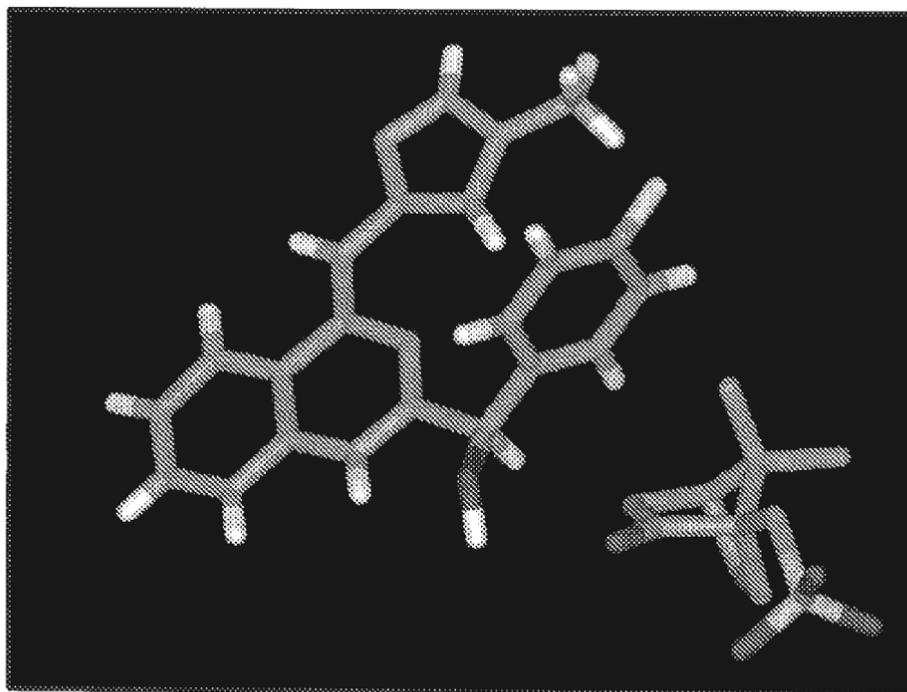


FIG. 2

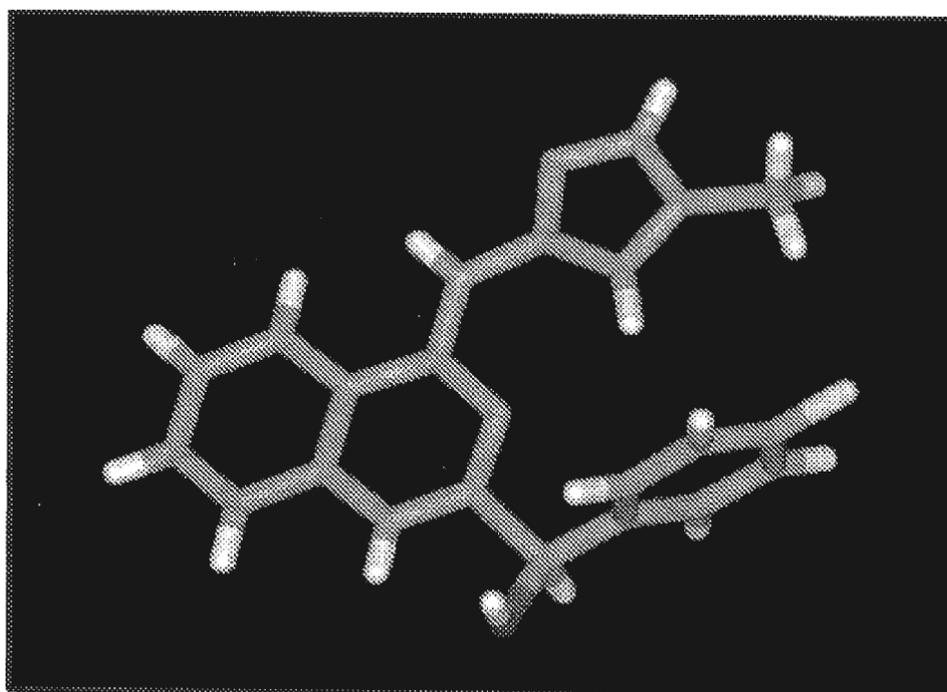


FIG. 3

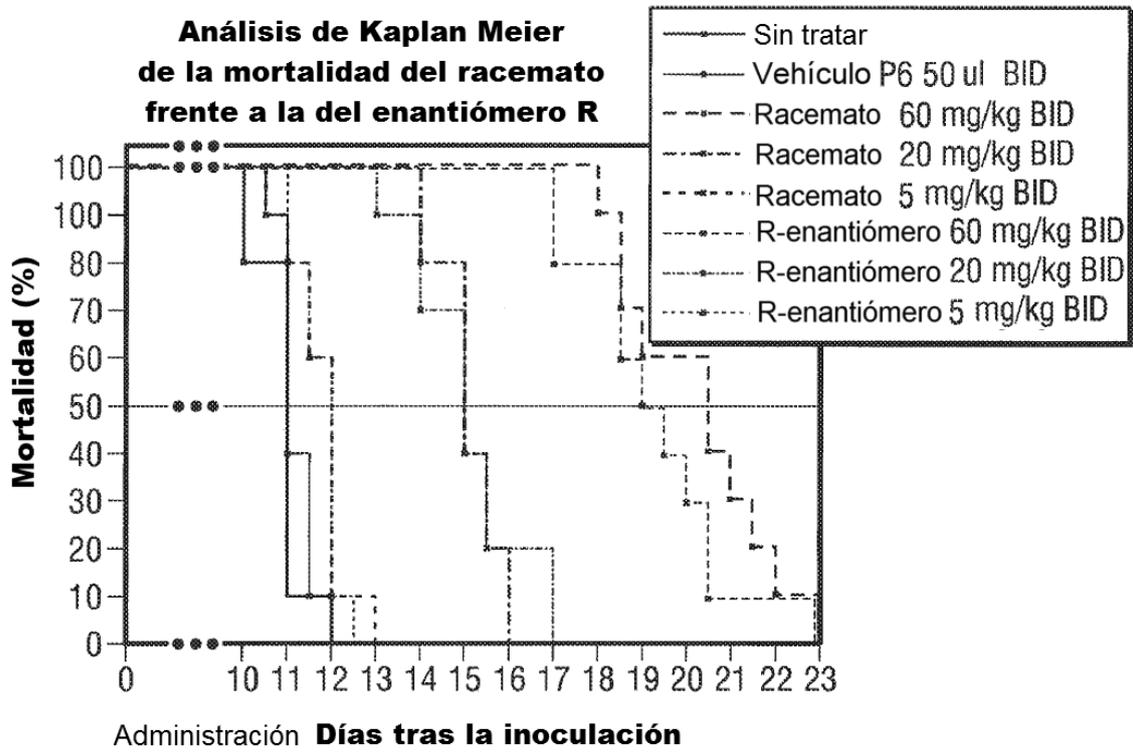


FIG. 4

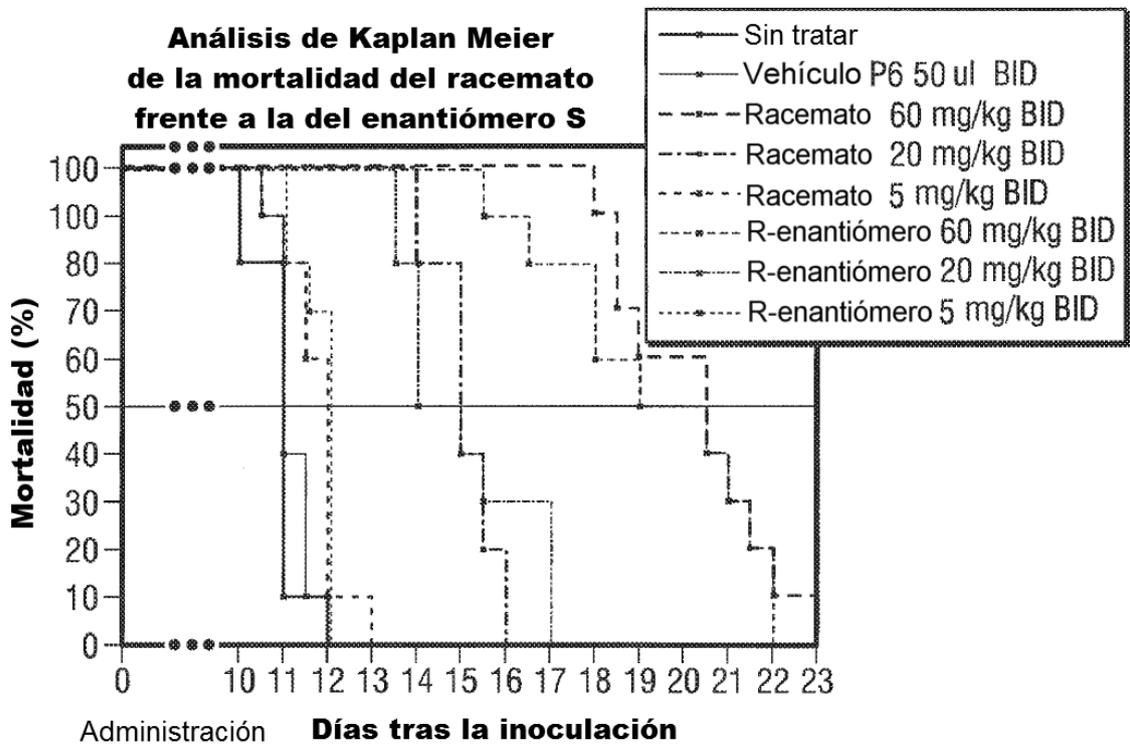


FIG. 5

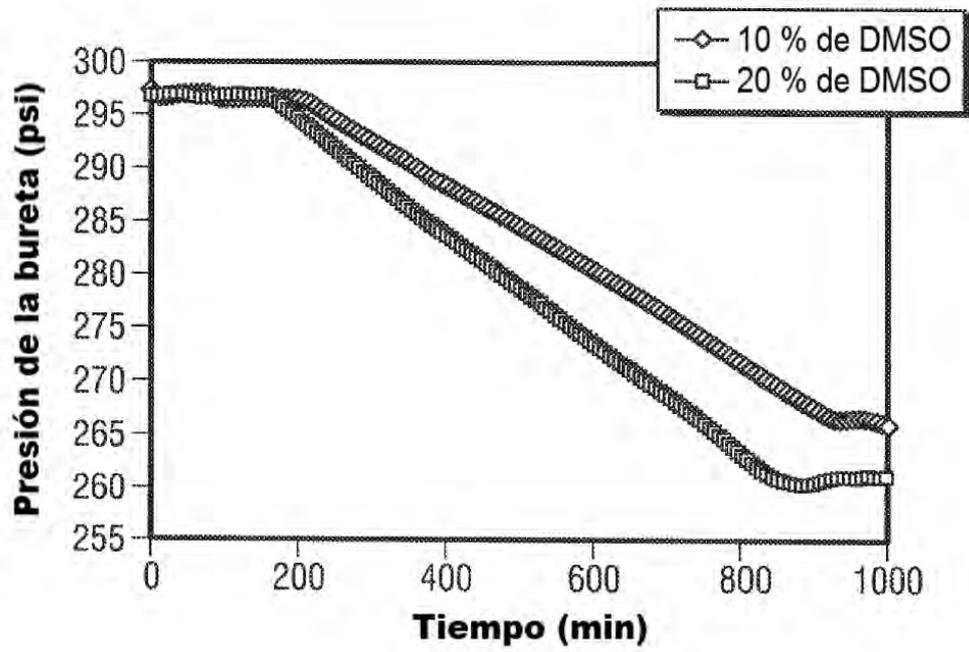


FIG. 6

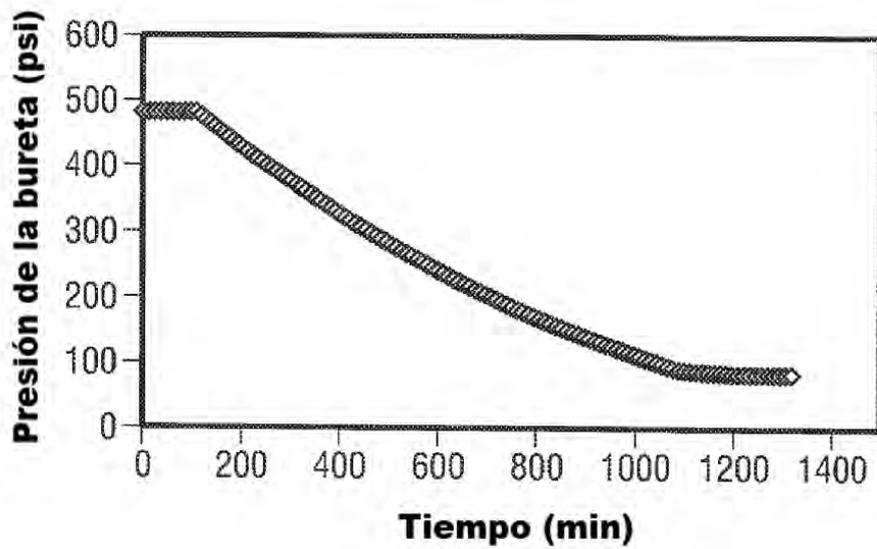


FIG. 7

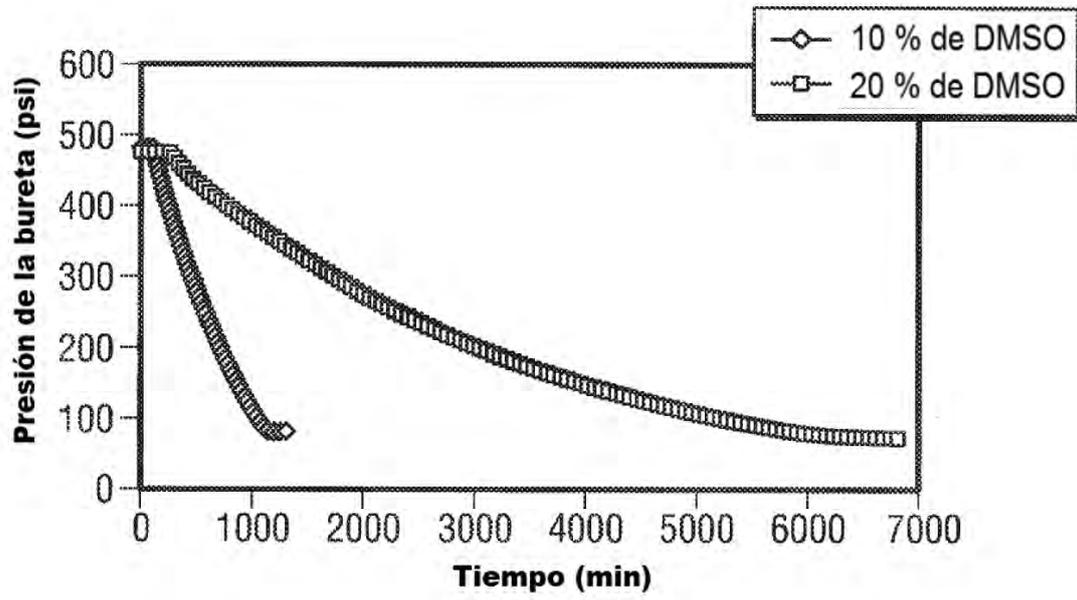


FIG. 8