

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 602 577**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.03.2009 PCT/US2009/036635**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.09.2009 WO09114512**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2009 E 09718650 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.08.2016 EP 2288610**

54 Título: **Derivados de azetidina y ciclobutano como inhibidores de JAK**

30 Prioridad:

11.03.2008 US 35662
15.01.2009 US 144982

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.02.2017

73 Titular/es:

INCYTE HOLDINGS CORPORATION (100.0%)
1801 Augustine Cut-Off
Wilmington, DE 19803, US

72 Inventor/es:

RODGERS, JAMES, D.;
SHEPARD, STACEY;
LI, YUN-LONG;
ZHOU, JIACHENG;
LIU, PINGLI;
MELONI, DAVID y
XIA, MICHAEL

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 602 577 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de azetidina y ciclobutano como inhibidores de JAK

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un derivado de azetidina, así como a sus composiciones y procedimientos de uso y preparación, que es un inhibidor de JAK útil en el tratamiento de enfermedades asociadas con JAK incluyendo, por ejemplo, trastornos inflamatorios y autoinmunitarios, así como cáncer.

Antecedentes de la invención

10 Las proteínas cinasas (PK) son un grupo de enzimas que regulan diversos procesos biológicos importantes, incluyendo el crecimiento, la supervivencia y la diferenciación celular, la formación de órganos y la morfogénesis, la neovascularización, la reparación y regeneración de tejidos, entre otros. Las proteínas cinasas ejercen sus funciones fisiológicas catalizando la fosforilación de proteínas (o sustratos) y modulando de esta manera las actividades celulares de los sustratos en varios contextos biológicos. Además de las funciones en tejidos/órganos normales, muchas proteínas cinasas también desempeñan un papel más especializado en una serie de enfermedades humanas incluyendo el cáncer. Un subconjunto de las proteínas cinasas (también conocido como proteínas cinasas oncogénicas), cuando está desregulado, puede provocar la formación y el crecimiento de tumores, y contribuir, además, al mantenimiento y la progresión de los tumores. Hasta el momento, las proteínas cinasas oncogénicas representan uno de los grupos más grandes y más atractivos de dianas proteicas para la intervención y el desarrollo de fármacos contra el cáncer.

20 La familia de la cinasa Janus (JAK) desempeña un papel en la regulación dependiente de citocinas de la proliferación y función de las células implicadas en la respuesta inmunitaria. En la actualidad, hay cuatro miembros conocidos en mamíferos de la familia JAK: JAK1 (también conocida como cinasa Janus-1), JAK2 (también conocida como cinasa Janus-2), JAK3 (también conocida como cinasa Janus de leucocitos; JAKL; L-JAK y cinasa Janus-3) y TYK2 (también conocida como proteína tirosina cinasa 2). Las proteínas JAK varían en tamaño desde 120 a 140 kDa y comprenden siete dominios conservados de homología JAK (JH); uno de estos es un dominio cinasa catalítico funcional, y otro es un dominio pseudocinasa que potencialmente cumple una función reguladora y/o sirve como un sitio de acoplamiento para STAT.

30 El bloqueo de la transducción de señales a nivel de las cinasas JAK resulta prometedor para el desarrollo de tratamientos para enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades mieloproliferativas y cánceres humanos, por nombrar unos pocos. También se prevé que la inhibición de las cinasas JAK tenga beneficios terapéuticos en pacientes que padecen trastornos inmunitarios de la piel, tales como psoriasis y sensibilización de la piel. En consecuencia, se buscan ampliamente inhibidores de las cinasas Janus o cinasas relacionadas y varias publicaciones informan de clases eficaces de compuestos. Por ejemplo, se informó de ciertos inhibidores de JAK, incluyendo pirrolopiridina y pirrolopirimidinas, en la publicación de solicitud de patente de EE. UU. n.º 2007/0135461 presentada el 12 de diciembre de 2006.

35 Por tanto, se necesitan continuamente agentes nuevos o mejorados que inhiben cinasas, tales como cinasas Janus, para desarrollar agentes farmacéuticos nuevos y más eficaces para tratar el cáncer y otras enfermedades. El compuesto y los procedimientos descritos en el presente documento están dirigidos a estas necesidades y otros fines.

Sumario de la invención

40 La presente invención proporciona {1-(etilsulfonil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención además proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden {1-(etilsulfonil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

45 La presente invención además proporciona {1-(etilsulfonil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en tratamiento.

La presente invención además proporciona procedimientos para la preparación de {1-(etilsulfonil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo.

Descripción detallada

50 La presente invención proporciona, entre otros, el inhibidor de JAK {1-(etilsulfonil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo.

Se aprecia que ciertas características de la invención, que se describen, para mayor claridad, en el contexto de modos de realización separadas, también se pueden proporcionar en combinación en un único modo de realización.

A la inversa, diversas características de la invención que se describen, por brevedad, en el contexto de un único modo de realización, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada.

5 El compuesto de la invención también incluye formas tautoméricas. Las formas tautoméricas resultan del intercambio de un enlace sencillo con un doble enlace adyacente junto con la migración concomitante de un protón. Las formas tautoméricas incluyen tautómeros prototrópicos que son estados de protonación isoméricos que tienen la misma fórmula empírica y carga total. Los ejemplos de tautómeros prototrópicos incluyen 1H-pirazol. Las formas tautoméricas pueden estar en equilibrio o estéricamente bloqueadas en una forma por sustitución apropiada.

El compuesto de la invención incluye además hidratos y solvatos, así como formas anhidras y no solvatadas.

10 Se entiende que el término "compuesto", como se usa en el presente documento, incluye todos los estereoisómeros, iosómeros geométricos, tautómeros e isótopos de las estructuras representadas.

Todos los compuestos, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden encontrar junto con otras sustancias tales como agua y disolventes (por ejemplo, hidratos y solvatos) o pueden estar aislados.

15 El compuesto de la invención puede incluir también todos los isótopos de átomos que aparecen en los intermedios o compuestos finales. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números másicos. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio.

20 En algunos modos de realización, el compuesto de la invención, y sales del mismo, está sustancialmente aislado. Por "sustancialmente aislado" se entiende que el compuesto está al menos parcial o sustancialmente separado del entorno en el que se formó o detectó. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en el compuesto de la invención. La separación sustancial puede incluir composiciones que contienen al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 70 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 97 % o al menos aproximadamente un 99 % en peso del compuesto de la invención o sal del mismo. Los procedimientos para aislar los compuestos y sus sales son rutinarios en la técnica.

25 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse al compuesto, materiales, composiciones, y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico formal, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una proporción de beneficio/riesgo razonable.

30 Las expresiones "temperatura ambiente" y "temperatura ambiental", como se usa en el presente documento, son comprendidas en la técnica y se refieren, en general, a una temperatura, por ejemplo, una temperatura de reacción, que es aproximadamente la temperatura de la habitación en la que la reacción se lleva a cabo, por ejemplo, una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C.

35 La presente invención también incluye sales farmacéuticamente aceptables del compuesto descrito en el presente documento. Como se usa en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados del compuesto divulgado en los que el compuesto precursor se modifica convirtiendo un resto de ácido o base existente en su forma salina. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención incluyen las sales no tóxicas convencionales del compuesto precursor formadas, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto precursor que contiene un residuo ácido o básico, por procedimientos químicos convencionales. En general, dichas sales se pueden preparar haciendo reaccionar las formas de base o ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; en general son preferentes medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo (ACN). Las listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's
45 Pharmaceutical Sciences, 17ª ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, pág. 1418 y Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

Síntesis

50 El compuesto de la invención, incluyendo sales del mismo, se puede preparar usando técnicas conocidas de síntesis orgánica y se puede sintetizar de acuerdo con cualquiera de numerosas rutas sintéticas posibles.

55 Las reacciones para preparar el compuesto de la invención se pueden llevar a cabo en disolventes adecuados que se pueden seleccionar fácilmente por un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los disolventes adecuados pueden ser sustancialmente no reactivos con los materiales de partida (reactivos), los intermedios o los productos a las temperaturas a las que se llevan a cabo las reacciones, por ejemplo, temperaturas que puede variar desde la temperatura de congelación del disolvente hasta la temperatura de ebullición del disolvente. Una reacción dada se puede llevar a cabo en un disolvente o en una mezcla de más de un disolvente. Dependiendo de la etapa de

reacción particular, se pueden seleccionar disolventes adecuados para una etapa de reacción particular por el experto en la técnica.

5 La preparación del compuesto de la invención puede implicar la protección y la desprotección de varios grupos químicos. La necesidad de protección y desprotección y la selección de los grupos protectores apropiados se puede determinar fácilmente por un experto en la técnica. La química de grupos protectores se puede encontrar, por ejemplo, en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª Ed., Wiley & Sons, Inc., Nueva York (1999), que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

10 Las reacciones se pueden controlar de acuerdo con cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación del producto se puede controlar por medios espectroscópicos, tales como espectroscopía de resonancia magnética nuclear (por ejemplo, de ^1H o ^{13}C), espectroscopía infrarroja, espectrofotometría (por ejemplo, UV-visible), espectroscopía de masas o por procedimientos cromatográficos tales como cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) o cromatografía en capa fina (TLC).

El compuesto se puede preparar de acuerdo con los procedimientos sintéticos descritos a continuación en la sección de ejemplos.

15 *Procedimientos*

El compuesto de la invención puede modular la actividad de una o más cinasas Janus (JAK). Se entiende que el término "modular" se refiere a una capacidad de aumentar o disminuir la actividad de uno o más miembros de la familia JAK de cinasas. En consecuencia, el compuesto de la invención se puede usar en procedimientos de modulación de una JAK poniendo en contacto la JAK con el compuesto o composiciones descritas en el presente documento. En algunos modos de realización, el compuesto de la presente invención puede actuar como inhibidor de una o más JAK. En modos de realización adicionales, el compuesto de la invención se puede usar para modular la actividad de una JAK en un individuo en necesidad de modulación del receptor mediante la administración de una cantidad moduladora de un compuesto de fórmula I, II, III o IV.

25 Las JAK a las que se une y/o modula el presente compuesto incluyen cualquier miembro de la familia JAK. En algunos modos de realización, la JAK es JAK1, JAK2, JAK3 o TYK2. En algunos modos de realización, la JAK es JAK1 o JAK2. En algunos modos de realización, la JAK es JAK2. En algunos modos de realización, la JAK es JAK3.

30 Otro aspecto de la presente invención se refiere a procedimientos de tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con JAK en un individuo (por ejemplo, paciente) mediante la administración al individuo en necesidad de dicho tratamiento de una cantidad o dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo. Una enfermedad asociada con JAK puede incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que está directa o indirectamente ligada a la expresión o actividad de la JAK, incluyendo sobreexpresión y/o niveles anormales de actividad. Una enfermedad asociada con JAK también puede incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que se puede prevenir, mejorar o curar modulando la actividad de JAK.

35 Los ejemplos de enfermedades asociadas con JAK incluyen enfermedades que implican el sistema inmunitario incluyendo, por ejemplo, el rechazo de trasplantes de órganos (por ejemplo, el rechazo de aloinjertos y la enfermedad de injerto contra huésped).

40 Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen enfermedades autoinmunitarias tales como esclerosis múltiple, artritis reumatoide, artritis juvenil, artritis psoriásica, diabetes tipo I, lupus, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, miastenia grave, nefropatías por inmunoglobulina, trastornos autoinmunitarios de tiroides y similares. En algunos modos de realización, la enfermedad autoinmunitaria es un trastorno buloso autoinmunitario de la piel, tal como pénfigo vulgar (PV) o penfigoide ampollar (PA).

45 Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen afecciones alérgicas, tales como asma, alergias alimentarias, dermatitis atópica y rinitis. Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen enfermedades víricas tales como virus de Epstein Barr (EBV), hepatitis B, hepatitis C, VIH, HTLV 1, virus varicela-zóster (VZV) y virus del papiloma humano (HPV).

50 Los ejemplos adicionales de enfermedades o afecciones asociadas con JAK incluyen trastornos de la piel, tales como psoriasis (por ejemplo, psoriasis vulgar), dermatitis atópica, erupción cutánea, irritación de la piel, sensibilización de la piel (por ejemplo, dermatitis por contacto o dermatitis alérgica por contacto). Por ejemplo, ciertas sustancias, incluyendo algunos agentes farmacéuticos cuando se aplican de forma tópica, pueden causar sensibilización de la piel. En algunos modos de realización, la coadministración o la administración secuencial de al menos un inhibidor de JAK de la invención junto con el agente que causa la sensibilización no deseada puede ser útil en el tratamiento de dicha sensibilización no deseada o dermatitis. En algunos modos de realización, el trastorno de la piel se trata por la administración tópica de al menos un inhibidor de JAK de la invención.

55 En modos de realización adicionales, la enfermedad asociada con JAK es cáncer, incluyendo los caracterizados por tumores sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer hepático, cáncer pancreático, cáncer gástrico, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de tiroides, glioblastoma, sarcoma de

Kaposi, enfermedad de Castleman, melanoma, etc.), cánceres hematológicos (por ejemplo, linfoma, leucemia, tal como leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (AML) o mieloma múltiple) y cáncer de piel, tal como linfoma cutáneo de linfocitos T (CTCL) y linfoma cutáneo de linfocitos B. Los ejemplos de linfomas cutáneos de linfocitos T incluyen el síndrome de Sezary y micosis fungoide.

- 5 Las enfermedades asociadas con JAK pueden incluir, además, las caracterizadas por la expresión de una JAK2 mutante, tales como las que tienen al menos una mutación en el dominio pseudocinasa (por ejemplo, JAK2V617F).

Las enfermedades asociadas con JAK pueden incluir, además, trastornos mieloproliferativos (MPD), tales como policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (ET), mielofibrosis con metaplasia mieloide (MMM), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia mielomonocítica crónica (CMML), síndrome hipereosinofílico (HES), enfermedad sistémica de mastocitos (SMCD) y similares. En algunos modos de realización, el trastorno mieloproliferativo es mielofibrosis primaria (PMF) o mielofibrosis posterior a policitemia vera/trombocitemia esencial (MF post-PV/ET).

Las enfermedades adicionales asociadas con JAK incluyen la inflamación y enfermedades inflamatorias. Los ejemplos de enfermedades inflamatorias incluyen enfermedades inflamatorias del ojo (por ejemplo, iritis, uveítis, escleritis, conjuntivitis o una enfermedad relacionada), enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias (por ejemplo, las vías respiratorias superiores, incluyendo la nariz y los senos nasales, tales como rinitis o sinusitis, o las vías respiratorias inferiores, incluyendo bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y similares), miopatía inflamatoria, tal como miocarditis y otras enfermedades inflamatorias.

El inhibidor de JAK descrito en el presente documento se puede usar, además, para tratar lesiones de isquemia por reperfusión o una enfermedad o condición relacionada con un evento isquémico inflamatorio, tal como apoplejía o paro cardíaco. El inhibidor de JAK descrito en el presente documento se puede usar, además, para tratar la anorexia, la caquexia o la fatiga, tal como la que resulta de o está asociada con el cáncer. El inhibidor de JAK descrito en el presente documento se puede usar, además, para tratar la reestenosis, la esclerodermis o la fibrosis. El inhibidor de JAK descrito en el presente documento se puede usar, además, para tratar afecciones asociadas con hipoxia o astrogliosis, tales como, por ejemplo, la retinopatía diabética, el cáncer o la neurodegeneración. Véase, por ejemplo, Dudley, A.C. *et al.* *Biochem. J.* 2005, 390(Pt 2): 427-36 y Sriram, K. *et al.* *J. Biol. Chem.* 2004; 279(19): 19936-47. Epub 2004 Mar 2. El inhibidor de JAK descrito en el presente documento se puede usar para tratar la enfermedad de Alzheimer.

El inhibidor de JAK descrito en el presente documento se puede usar, además, para tratar otras enfermedades inflamatorias, como el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y el choque séptico.

- 30 El inhibidor de JAK descrito en el presente documento se puede usar, además, para tratar la gota y el aumento del tamaño de la próstata debido, por ejemplo, a hipertrofia prostática benigna o hiperplasia prostática benigna.

El inhibidor de JAK descrito en el presente documento, así como otros inhibidores de JAK capaces de influir sobre la señalización de IL-6/STAT3, se pueden usar, además, para tratar enfermedades proliferativas asociadas con la inflamación. Se ha demostrado que la inflamación está ligada al desarrollo de ciertos tipos de cánceres. Por ejemplo, se ha demostrado que los pacientes que padecen enfermedad inflamatoria intestinal, tal como colitis ulcerosa, tienen un riesgo mucho mayor de desarrollar cáncer colorrectal. Estos tipos de cánceres ligados a la inflamación se han denominado cáncer asociado con colitis (CAC). Varios estudios han demostrado que la señalización de IL-6/STAT3 está implicada en la promoción de CAC. Por ejemplo, los ratones deficientes en células epiteliales intestinales STAT3 tenían una disminución en el tamaño del tumor y la incidencia en un modelo animal de CAC. Bromberg, et al., "Inflammation and cancer: IL-6 and STAT3 complete the link", *Cancer Cell*, 15:79-80 (2009). Se obtuvieron resultados similares con ratones deficientes en IL-6, que desarrollaron menos adenomas y más pequeños que los ratones naturales. Grivnikov, et al., "IL-6 and STAT3 are required for survival of intestinal epithelial cells and the development of colitis-associated cancer", *Cancer Cell*, 15:103-111 (2009). Véase también, Bollrath, et al., "gp130-Mediated STAT3 activation in enterocytes regulates cell survival and cell-cycle progression during colitis-associated tumorigenesis", *Cancer Cell*, 15:91-102 (2009); y Kortylewski, et al., "Regulation of the IL-23 and IL-12 balance by Stat3 signaling in the tumor microenvironment", *Cancer Cell*, 15:114-123 (2009).

En consecuencia, en algunos modos de realización, el inhibidor de JAK de la invención y los que influyen en la señalización de IL-6/STAT3, se pueden usar para tratar cánceres asociados con la inflamación. En algunos modos de realización, el cáncer está asociado con enfermedad inflamatoria intestinal. En algunos modos de realización, la enfermedad inflamatoria intestinal es la colitis ulcerosa. En algunos modos de realización, la enfermedad inflamatoria intestinal es la enfermedad de Crohn. En algunos modos de realización, el cáncer asociado con la inflamación es cáncer asociado con colitis. En algunos modos de realización, el cáncer asociado con la inflamación es cáncer de colon o cáncer colorrectal. En algunos modos de realización, el cáncer es cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, tumor del estroma gastrointestinal (GIST), adenocarcinoma, cáncer del intestino delgado o cáncer rectal. Además del compuesto proporcionado en el presente documento, los ejemplos de inhibidores de JAK que se pueden usar en el tratamiento de cánceres asociados con la inflamación incluyen los descritos en los documentos US 2006/0106020; US 2006/0183906; US 2007/0149506; US 2007/0135461; US 2008/0188500; US 2008/0312258; US 2008/0312259; y el documento de EE. UU. n.º de serie 12/270.135.

Los inhibidores de JAK se pueden someter a prueba en modelos animales para la eficacia potencial en el tratamiento de cánceres asociados con la inflamación. Por ejemplo, se puede inducir CAC en ratones tratados (por ejemplo, con inhibidores de JAK) o no tratados por el procedimiento resumido en Grivennikov, et al., "IL-6 and STAT3 are required for survival of intestinal epithelial cells and the development of colitis-associated cancer", *Cancer Cell*, 15:103-111 (2009). Se puede hacer un seguimiento de la progresión de la enfermedad midiendo el peso corporal y controlando los signos de hemorragia rectal y diarrea. Después del sacrificio de los animales, se retiran partes del colon distal para el análisis.

En algunos modos de realización, el inhibidor de JAK descrito en el presente documento se puede usar, además, para tratar un trastorno de xerosis oftálmica. Como se usa en el presente documento, "trastorno de xerosis oftálmica" pretende abarcar las patologías que se resumen en un informe oficial reciente del Dry Eye Workshop (DEWS), que define la xerosis como "una enfermedad multifactorial de las lágrimas y la superficie ocular que provoca síntomas de incomodidad, alteración de la visión e inestabilidad de la película lagrimal con daño potencial a la superficie ocular. Viene acompañada de un aumento de la osmolaridad de la película lagrimal y la inflamación de la superficie ocular". Lemp, "The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop", *The Ocular Surface*, 5(2), 75-92 Abril 2007, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. La xerosis oftálmica también se conoce, a veces, como queratoconjuntivitis seca. En algunos modos de realización, el tratamiento del trastorno de xerosis oftálmica implica mejorar un síntoma particular de trastorno de xerosis oftálmica, tal como molestias en los ojos, alteración de la visión, inestabilidad de la película lagrimal, hiperosmolaridad lagrimal e inflamación de la superficie ocular.

Como se resume en el informe del DEWS, la xerosis oftálmica se puede clasificar en dos clases diferentes: xerosis oftálmica deficiente en lágrimas acuosas y xerosis oftálmica evaporativa, que a su vez abarca diversas subclases. En consecuencia, en algunos modos de realización, el trastorno de xerosis oftálmica es xerosis oftálmica deficiente en lágrimas acuosas (ADDE). En modos de realización adicionales, el trastorno de xerosis oftálmica es xerosis oftálmica evaporativa. En modos de realización adicionales, el trastorno de xerosis oftálmica se selecciona de cualquiera de las subclases de ADDE o trastorno de xerosis oftálmica evaporativa o combinaciones apropiadas de las mismas. Como ha indicado el autor del informe DEWS, sin embargo, las diversas clases y subclases no son recíprocamente excluyentes. Por lo tanto, la xerosis oftálmica se puede producir a través de diferentes mecanismos en diferentes subclases o una patología de xerosis oftálmica que tiene su origen en una subclase puede conducir a eventos que causan xerosis oftálmica por un mecanismo en otra subclase.

La primera clase de xerosis oftálmica, la xerosis oftálmica deficiente en lágrimas acuosas (ADDE), también se conoce como xerosis oftálmica deficiente en lágrimas y deficiencia de lágrimas en el lagrimal. En ADDE, se cree que la xerosis oftálmica se debe a un fallo de la secreción de lágrimas en el lagrimal. Aunque no se desea estar ligados a teoría alguna, se cree que la sequedad resulta de la reducción de la secreción y el volumen de lágrimas en el lagrimal, provocando hiperosmolaridad lagrimal. La hiperosmolaridad de la película lagrimal puede provocar hiperosmolaridad de las células epiteliales de la superficie ocular, estimulando eventos inflamatorios que implican varias cinasas y rutas de señalización.

Dos subclases de ADDE son la xerosis oftálmica por síndrome de Sjogren (SSDE), en la que las glándulas lagrimales están dirigidas por un proceso autoinmunitario, y la xerosis oftálmica sin síndrome de Sjogren (NSSDE). En consecuencia, en algunos modos de realización, el trastorno ocular es SSDE. En otros modos de realización, el trastorno de xerosis oftálmica es la xerosis oftálmica sin síndrome de Sjogren. En SSDE, se cree que los linfocitos T activados pueden infiltrarse en las glándulas lagrimales, provocando la muerte celular de las células acinares y ductulares e hiposecreción de lágrimas. Los efectos de las citocinas liberadas localmente o los anticuerpos en circulación pueden amplificar los efectos de la hiposecreción. Las dos formas principales de SSDE son las formas primaria y secundaria. La SSDE primaria se puede producir en combinación con sequedad de boca (xerostomía). La SSDE secundaria se produce con los síntomas de SSDE primaria junto con una enfermedad autoinmunitaria del tejido conjuntivo, tal como la artritis reumatoide (AR), el lupus eritematoso sistémico, la poliarteritis nodosa, la granulomatosis de Wegener, la esclerosis sistémica, la esclerosis biliar primaria o la enfermedad mixta del tejido conjuntivo. Los criterios de diagnóstico para cada una de estas enfermedades del tejido conjunto son conocidos en la técnica. Además, la SSDE primaria puede estar asociada con manifestaciones sistémicas de la enfermedad que pueden afectar a los pulmones, el hígado, los riñones, los vasos sanguíneos y las articulaciones.

En NSSDE, se excluyen las características autoinmunitarias sistémicas de la xerosis oftálmica por síndrome de Sjogren. Las formas de NSSDE incluyen deficiencias primarias en la glándula lagrimal (incluyendo xerosis oftálmica relacionada con la edad, alacrimia congénita y disautonomía familiar), deficiencias lagrimales secundarias (incluyendo la infiltración inflamatoria de la glándula lagrimal por células granulomatosas sarcoideas, células linfomatosas y linfocitos T relacionados con el SIDA; las asociadas la enfermedad de injerto contra huésped; y las resultantes de la ablación de la glándula lagrimal o la desnervación de la glándula lagrimal), obstrucción de los conductos de las glándulas lagrimales (incluyendo la provocada por conjuntivitis cicatrizante incluyendo tracoma, penfigoide cicatrizal y penfigoide de las membranas mucosas, eritema multiforme y quemaduras químicas o térmicas) e hiposecreción refleja (incluyendo bloqueo sensorial reflejo, tal como el asociado con el uso de lentes de contacto, diabetes mellitus y queratitis neurotrófica, y el bloqueo motor reflejo, incluyendo el asociado con lesión en el nervio craneal VII, neuromatosis múltiple y exposición a medicamentos sistémicos, tales como antihistamínicos, beta bloqueantes, antiespasmódicos, diuréticos, antidepresivos tricíclicos, inhibidores selectivos de la recaptación de

serotonina y otros fármacos psicotrópicos).

La segunda clase principal de trastorno de xerosis oftálmica es la xerosis oftálmica evaporativa, que está provocada por la pérdida excesiva de agua de la superficie ocular expuesta en presencia de función secretora lagrimal normal. Las causas intrínsecas de xerosis oftálmica evaporativa incluyen la disfunción de las glándulas de Meibomio (MGD) (incluyendo la provocada por un número reducido de glándulas debido a MGD adquirida por deficiencia congénita; MGD asociada con distiquiasis, síndrome de linfedema-distiquiasis y metaplasia; MGD de hipersecreción asociada con la seborrea meibomiana, MGD de hipersecreción asociada con tratamiento con retinoides, MGD obstructiva primaria y secundaria, MGD obstructiva focal o difusa, MGD obstructiva simple o cicatrizal, MGD obstructiva atrófica o inflamatoria; MGD simple primaria o secundaria a blefaritis anterior, acné rosácea, dermatitis seborreica, síndrome ectrodactilia, síndrome de Turner, toxicidad sistémica por ácido 13-cis retinoico, bifenilos policlorados y epinefrina; y MGD cicatrizal primaria o secundaria a quemaduras químicas, penfigoide, acné rosácea, eritema multiforme, VKC y AKC), trastornos de la abertura del párpado y la consistencia o dinámica del párpado/globo (tales como los que se producen con craneoestenosis, formas endocrinas y otras formas de proptosis, miopía y después de cirugía plástica en los párpados) y una tasa baja de parpadeo (incluyendo la provocada por un trastorno extrapiramidal, tal como enfermedad de Parkinson). Las causas extrínsecas de xerosis oftálmica evaporativa incluyen trastornos de la superficie ocular (incluyendo la xeroftalmía provocada por deficiencia de vitamina A y la asociada con fármacos tópicos y conservantes tales como anestesia tópica y cloruro de benzalconio), el uso de lentes de contacto, enfermedad de la superficie ocular (incluyendo la enfermedad ocular alérgica), conjuntivitis alérgica (incluyendo conjuntivitis alérgica no estacional, queratoconjuntivitis vernal y queratoconjuntivitis atópica), y el uso de antihistamínicos.

Los pacientes en necesidad de tratamiento de un trastorno de xerosis oftálmica se pueden identificar por una diversidad de procedimientos de diagnóstico conocidos en la técnica, incluyendo los procedimientos de diagnóstico que se resumen en Bron, et al., "Methodologies to Diagnose and Monitor Dry Eye Disease: Report of the Diagnostic Methodology Subcommittee of the International Dry Eye Workshop (2007)", *The Ocular Surface*, 5(2), 108-152 (Abril 2007), que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. Estos incluyen, pero no se limitan a: (1) cuestionarios de síntomas (por ejemplo, Begley, et al., "Use of the dry eye questionnaire to measure symptoms of ocular irritation in patients with aqueous tear deficient dry eye", *Cornea*, 2002;21:664-70); (2) tinción de la superficie ocular para comprobar los daños superficiales (por ejemplo, tinción con rosa de Bengala o fluoresceína u otro procedimiento de tinción, tal como las técnicas resumidas en Barr et al., "Corneal scarring in the Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study: baseline prevalence and repeatability of detection", *Cornea* 1999;18(1):34-46; Lemp, "Report of the National Eye Institute/Industry Workshop on clinical trials in dry eyes", *CLAO J* 1995;21(4):221-31; Nichols, et al., "The repeatability of clinical measurements of dry eye", *Cornea* 2004; 23: 272-85; Bron, et al., "Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests", *Cornea* 2003; 22(7): 640-50); (3) medición del tiempo de descomposición de la película lagrimal para someter a prueba la estabilidad de la película lagrimal (por ejemplo, Abelson, et al., "Alternate reference values for tear film break-up time in normal and dry eye populations", *Adv Exp Med Biol* 2002; 506, Parte B:1121-1125; Bron A J, et al., "Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests", *Cornea* 2003;22:640-50; Cho et al, "Review of the tear break-up time and a closer look at the tear break-up time of Hong Kong Chinese", *Optom Vis Sci* 1993; 70(1): 30-8; Craig et al. "Tear lipid layer structure and stability following expression of the meibomian glands. *Ophthalmic Physiol Opt* 1995, 15(6): 569-74; Eliason, et al., "Staining of the conjunctiva and conjunctival tear film", *Br J Ophthalmol* 1990; 74: 519-22; Farrell et al., "A classification for dry eyes following comparison of tear thinning time with Schirmer tear test", *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1992; 70(3): 357-60; Johnson et al., "The effect of instilled fluorescein solution volume on the values and repeatability of TBUT measurements", *Cornea* 2005; 24: 811-7; Lemp et al., "Corneal desiccation despite normal tear volume", *Ann Ophthalmol* 1970; 284: 258-261; Lemp "Report of National Eye Institute/Industry Workshop on clinical trials in dry eyes", *CLAO J* 1995; 21: 221-232; Madden et al. Comparative study of two non-invasive tear film stability techniques. *Curr Eye Res* 1994; 13(4): 263-9; Marquardt et al., "Modification of tear film break-up time test for increased reliability" en Holly ed. *The Preocular Tear Film in Health, Disease and Contact Lens Wear*. Lubbock, Texas: Dry Eye Institute, 1986: 57-63; Mengher et al., "Non-invasive tear film break-up time: sensitivity and specificity", *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1986; 64(4): 441-4; Nichols et al., "The repeatability of clinical measurements of dry eye" *Cornea* 2004; 23: 272-85; Pflugfelder et al. "Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea* 1998; 17(1): 38-56; Vitali et al. "The European Community Study Group on diagnostic criteria for Sjogren's syndrome. Sensitivity and specificity of tests for ocular and oral involvement in Sjogren's syndrome." 1992; *Ann Rheum Dis* 53(10): 637-47; Welch et al., "An approach to a more standardized method of evaluating tear film break-up time" *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 2485/B324); (4) la prueba de Schirmer (una estimación del flujo de lágrimas estimulado de forma refleja por la inserción de un papel de filtro en el saco conjuntival) (por ejemplo, van Bijsterveld, "Diagnostic tests in the sicca syndrome" *Arch Ophthalmol* 1969; 82: 10-14; Holly et al., "Lacrimation kinetics as determined by a novel technique", en Holly FJ (ed). *The preocular tear film*. Lubbock TX, Lubbock Dry Eye Institute, 1986, pág. 76-88); (5) medición de la osmolaridad de las lágrimas (por ejemplo, Farris, "Tear osmolarity--a new gold standard?" *Adv Exp Med Biol* 350: 495-503, 1994; Nelson et al., "Tear film osmolality determination: an evaluation of potential errors in measurement" *Curr Eye Res Sep*; 5(9): 677-81, 1986; Sullivan et al., "4th International Conference on the Lacrimal Gland, Tear Film & Ocular Surface and Dry Eye Syndromes, 11/20/04"; White et al., "Human basic tear fluid osmolality. I. Importance of sample collection strategy", *Acta Ophthalmol (Copenh)* Ago; 71(4): 524-9, 1993; (6) medición del radio, la altura y el área de sección transversal del

menisco lagrimal para diagnostica una deficiencia acuosa de lágrimas (por ejemplo, Cermak et al, "Is complete androgen insensitivity syndrome associated with alterations in the meibomium gland and ocular surface", *Cornea* 2003; 22: 516-521; Farrell et al., "A clinical procedure to predict the value of temporary occlusion therapy in keratoconjunctivitis sicca" *Ophthalmol Physiol Opt* 2003; 23: 1-8; Glasson et al., "Differences in clinical parameters and tear film of tolerant and intolerant contact lens wearers", *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 5116-5124; Mainstone et al., "Tear meniscus measurement in the diagnosis of dry eye", *Curr Eye Res* 1996; 15: 653-661; Nichols et al., "The repeatability of clinical measurements of dry eye", *Cornea* 2004a; 23: 272-285; Nichols et al., "The lack of association between signs and symptoms in patients with dry eye disease", *Cornea* 2004b; 23: 762-770; Oguz et al., "The height and radius of the tear meniscus and methods for examining these parameters", *Cornea* 2000;19: 497-500; Yokoi et al., "Non-invasive methods of assessing the tear film", *Exp Eye Res* 2004; 78: 399-407); (7) interferometría de la capa lipídica de la película lagrimal para diagnosticar xerosis oftálmica deficiente en lágrimas acuosas (ATD) o deficiencia lipídica precorneal de las lágrimas (Danjo et al., "Observation of precorneal tear film in patients with Sjogren's syndrome", *Acta Ophthalmol Scand* 1995; 73: 501-5; Doane, "An instrument for in vivo tear film interferometry", *Optom Vis Sci* 1989; 66: 383-8; Goto et al., "Computer-synthesis of an interference color chart of human tear lipid layer by a colorimetric approach", *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 4693-7; Goto et al., "Differentiation of lipid tear deficiency dry eye by kinetic analysis of tear interference images", *Arch Ophthalmol* 2003; 121: 173-80; Goto E, et al., "Kinetic analysis of tear interference images in aqueous tear deficiency dry eye before and after punctal occlusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 1897-905; Goto et al., "Color mapping of tear lipid layer thickness distribution from the image analysis in DR-1 tear lipid layer interference images (ARVO abstract). ARVO 2004; Guillon, "Tear film photography and contact lens wear", *J Br Contact Lens Assoc* 1982; 5: 84-7; King-Smith et al., "Three interferometric methods for measuring the thickness of layers of the tear film", *Optom Vis Sci* 1999; 76: 19-32; Korb, et al., "Increase in tear film lipid layer thickness following treatment of meibomian gland dysfunction", *Adv Exp Med Biol* 1994; 350: 293-8; Korb et al., "The effect of two novel lubricant eye drops on tear film lipid layer thickness in subjects with dry eye symptoms", *Optom Vis Sci* 2005; 82: 594-601; Mathers et al., "Assessment of the tear film with tandem scanning confocal microscopy", *Cornea* 1997; 16: 162-8; Maruyama et al., "Effect of environmental conditions on tear dynamics in soft contact lens wearers", *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(8): 2563-8; Tiffany, "Refractive index of meibomian and other lipids", *Curr Eye Res* 1986; 5: 887-9; Tiffany et al., "Meniscometry using the Tearscope-plus (ARVO abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42, s37; Yokoi et al., "Correlation of tear lipid layer interference patterns with the diagnosis and severity of dry eye", *Am J Ophthalmol* 1996; 122: 818-24; Yokoi et al., "Assessment of meibomian gland function in dry eye using meibometry", *Arch Ophthalmol* 1999; 117: 723-9); (8) sistema de análisis de estabilidad lagrimal (TSAS) para diagnosticar la inestabilidad lagrimal (por ejemplo, Goto et al., "Tear Film Stability Analysis System: Introducing a new application for videokeratography", *Cornea* 2004a; Nov; 23(8): S65-S70; Goto et al., "Evaluation of the tear film stability after laser in situ keratomileusis using the tear film stability analysis system", *Am J Ophthalmol* 2004b Ene; 137(1): 116-20; Kojima et al., "A new noninvasive tear stability analysis system for the assessment of dry eyes" *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; May; 45(5): 1369-74); (9) meibometría para evaluar la disfunción de la glándula de Meibomio (por ejemplo, Chew et al., "An instrument for quantifying meibomian lipid on the lid margin: the Meibometer", *Curr Eye Res* 1993a; 12: 247-254; Chew et al., "The casual level of meibomian lipids in humans", *Current Eye Research* 1993b; 12: 255-259; Komuro et al., "Assessment of meibomian gland function by a newly developed laser meibometer", *Adv Exp Med Biol* 2002; 506: 517-520; Yokoi et al., "Assessment of meibomian gland function in dry eye using meibometry" *Arch Ophthalmol* 1999; 117: 723-729); (10) meibografía o meiboscopia para medir la disfunción de las glándulas de Meibomio (por ejemplo, Kaercher, "Ocular symptoms and signs in patients with ectodermal dysplasia syndromes", *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004; 495-500; Jester et al., "In vivo biomicroscopy and photography of meibomian glands in a rabbit model of meibomian gland dysfunction", *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1982; 22: 660-7; Mathers et al., "Video imaging of the meibomian gland", *Arch Ophthalmol* 1994; 112: 448-9; Pflugfelder, et al., "Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation", *Cornea* 1998; 17(1): 38-56; Robin et al., "In vivo transillumination biomicroscopy and photography of meibomian gland dysfunction. *Ophthalmology* 1985; 92: 1423-6; Shimazaki et al., "Meibomian gland dysfunction in patients with Sjogren syndrome", *Ophthalmology* 1998; 105(8): 1485-8; Yokoi et al., "A newly developed video-meibography system featuring a newly designed probe", *Jpn J Ophthalmol* 2007; 51: 53-6); (11) técnica de citología en cepillo (por ejemplo, Fukagawa et al., "Histological evaluation of brush cytology of rabbit conjunctiva", *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1993; 97: 1173-8; Fujihara et al., "Evaluation of human conjunctival epithelium by a combination of brush cytology and flow cytometry: an approach to the quantitative technique", *Diagn Cytopathol* 1997; 17: 456-60; Miyoshi et al., "Interleukin-8 concentrations in conjunctival epithelium brush cytology samples correlate with neutrophil, eosinophil infiltration, and corneal damage", *Cornea* 2001; 20: 743-7; Takano et al., "Inflammatory cells in brush cytology samples correlate with the severity of corneal lesions in atopic keratoconjunctivitis", *Br J Ophthalmol* 2004; 88: 1504-5; Tsubota et al., "Brush cytology for the evaluation of dryeye", *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1990a; 94: 224-30; Tsubota et al., "Conjunctival brush cytology", *Acta Cytol* 1990 b; 34: 233-5; Tsubota et al., "Detection by brush cytology of mast cells and eosinophils in allergic and vernal conjunctivitis"; *Cornea* 1991; 10: 525-31); (12) citometría de flujo en citología de impresión para detectar inflamación de la conjutival (por ejemplo, Baudouin et al., "Flow cytometry in impression cytology specimens. A new method for evaluation of conjunctival Inflammation", *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997a; 38: 1458-1464; Bourcier et al., "Expression of CD40 and CD40 ligand in the human conjunctival epithelium", *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 120-126; Brignole et al., "Expression of Fas antigen (CD95) in the human conjunctival epithelium. Positive correlation with class II HLA DR expression in inflammatory conditions", *Exp Eye Res* 1998; 67: 687-697; Brignole et al., "Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes" *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41:

1356-1363; Brignole et al., "Flow cytometric analysis of inflammatory markers in KCS: 6-month treatment with topical cyclosporin A", *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 90-95; Brignole et al., "Flow cytometry in conjunctival impression cytology: a new tool for exploring ocular surface pathologies", *Exp Eye Res* 2004; 78: 473-481; Fujihara et al., "Evaluation of human conjunctival epithelium by a combination of brush cytology and flow cytometry: an approach to the quantitative technique" *Diagn Cytopathol* 1997; 17: 456-460; Pisella et al., "Flow cytometric analysis of conjunctival epithelium in ocular rosacea and keratoconjunctivitis sicca. *Ophthalmology* 2000; 107: 1841-1849; Pisella, et al., "Conjunctival proinflammatory and proapoptotic effects of latanoprost, preserved timolol and unpreserved timolol: an ex vivo and in vitro study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 1360-1368); (13) la prueba de Ferning para diagnosticar la calidad de las lágrimas (concentración de electrolitos), KCS e hiperosmolaridad (por ejemplo, Albach et al., "Diagnosis of keratoconjunctivitis sicca in rheumatoid arthritis. The value of various tests", *Ophthalmologie* 1994 Abr; 91(2): 229-34; Golding et al., "X-ray and scanning electron microscopic analysis of the structural composition of tear ferns", *Cornea* 1994 Ene; 13(1): 58-66; Norn, "Quantitative tear ferning. Clinical investigations", *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1994 Jun; 72(3): 369-72; Pearce et al., "Spatial location studies on the chemical composition of human tear ferns", *Ophthalmic Physiol Opt* 2000; Jul; 20(4): 306-13; Pensyl et al., "The repeatability of tear mucus ferning grading", *Optom Vis Sci* 1998 Ago; 75(8): 600-4; Rolando, "Tear mucus ferning test in normal and keratoconjunctivitis sicca eyes. *Chibret Int J Ophthalmol* 1984; 2(4): 32-41; Rolando et al., "Tear mucus ferning test in keratoconjunctivitis sicca", en: Holly FJ, Lamberts DW, MacKeen DL (eds.): *The precocular tear film in health, disease, and contact lens wear*,. 1 st Intern Tear Film Symposium. Lubbock (Texas, EE. UU.), Dry Eye Institute, 1986, 203-210; Rolando et al., "The effect of hyperosmolarity on tear mucus ferning", *Fortschr Ophthalmol* 1986; 83: 644-646; Rolando et al., "Tear mucus crystallization in children with cystic fibrosis", *Ophthalmologica* 1988; 197(4): 202-6); (14) índice de protección ocular (OPI) para evaluar la protección de la superficie ocular y el riesgo de lesión en la superficie ocular (por ejemplo, Ousler et al., "Factors that influence the inter-blink interval (IBI) as measured by the ocular protection index (OPI)", (representación de póster) *ARVO* 2002; Nally et al., "Ocular discomfort and tear film break-up time in dry eye patients: A correlation", *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 4: 1436; Abelson et al., "Alternate reference values for tear film break-up time in normal and dry eye populations", *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 3 Part B*, *Adv Exp Med Biol* 2002; 506: 1121-1125; Abelson et al., "Dry eye syndrome: diagnosis, clinical trials, and pharmaceutical treatment-improving clinical trials'. *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 3 Part B*, *Adv Exp Med Biol* 2002; 506: 1079-86); (15) fluorofotometría (fluorimetría) del flujo de lágrimas para evaluar los cambios en el flujo de lágrimas en deficiencia acuosa de lágrimas (ATD) (por ejemplo, Gobbels et al., "Tear secretion in dry eyes as assessed by objective fluorophotometry. *Ger J Ophthalmol* 1992; 1: 350-353; Kuppens et al., "Basal tear turnover and topical timolol in glaucoma patients and healthy controls by Fluorophotometry", *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33: 3442-3448; Mishima, "Some physiological aspects of the precorneal tear film", *Arch Ophthalmol* 1965; 73: 233-241; Mishima S, "Determination of tear volume and tear flow", *Invest Ophthalmol* 1966; 5: 264-275; Mathers et al., "Tear film and evaporation in patients with and without dry eye", *Ophthalmology* 1996; 103: 664-669; Mathers et al., "Tear film changes associated with normal aging", *Cornea* 1996; 15: 229-334; Mathers, "Evaporation from the ocular surface", *Exp Eye Res* 2004; 78: 389-394; Van Best et al., "Measurement of basal tear turnover using a standardized protocol", *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995; 233: 1-7; McNamara et al., "Fluorometry in contact lens research: The next step", *Optom Vis Sci* 1998; 75: 316-322; Pearce, "An improved fluorophotometric method for tear turnover assessment", *Optom Vis Sci* 2001; 78: 30-36) y combinaciones de estas pruebas de diagnóstico, estando la divulgación de cada una de las referencias incorporada en el presente documento por referencia en su totalidad. Estos procedimientos también se pueden usar para evaluar la eficacia clínica de los compuestos descritos en el presente documento en el tratamiento de trastornos de xerosis oftálmica.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento de tratamiento de la conjuntivitis, la uveítis (incluyendo uveítis crónica), corioiditis, retinitis, ciclitis, escleritis, epiescleritis o iritis; tratamiento de la inflamación o el dolor relacionado con el trasplante de córnea, LASIK (queratomileusis in situ asistida por láser), queratectomía fotorrefractiva o LASEK (queratomileusis subepitelial asistida por láser); inhibición de la pérdida de agudeza visual relacionada con el trasplante de córnea, LASIK, queratectomía fotorrefractiva o LASEK; o inhibición del rechazo de trasplante en un paciente que lo necesite, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal o N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunos modos de realización, el compuesto o la sal o N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra de forma preoperatoria a un paciente a punto de someterse a un procedimiento seleccionado de trasplante de córnea, LASIK, queratectomía fotorrefractiva y LASEK. En algunos modos de realización, el compuesto o la sal o N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo, suprime o reduce la inflamación o el dolor durante y después del procedimiento. En algunos modos de realización, el compuesto o la sal o N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra aproximadamente 1 día a aproximadamente 2 días antes del procedimiento. En algunos modos de realización, el compuesto o la sal o N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra de forma posoperatoria a un paciente que se ha sometido a un procedimiento seleccionado de trasplante de córnea, LASIK, queratectomía fotorrefractiva y LASEK. En algunos modos de realización, inhibición de la pérdida de agudeza visual significa reducción de la pérdida de agudeza visual. En algunos modos de realización, el tratamiento postoperatorio o preoperatorio reduce la cantidad de cicatrices y depósitos fibrosos después del procedimiento. En algunos modos de realización, inhibición de la pérdida de agudeza visual significa que el paciente retiene la agudeza visual. En algunos modos de realización, inhibición del rechazo de trasplante significa que el compuesto o la sal o N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo es inmunosupresor, previniendo de este modo el rechazo total del trasplante de córnea.

- 5 Como se usa en el presente documento, la expresión "poner en contacto" se refiere reunir los restos indicados en un sistema *in vitro* o un sistema *in vivo*. Por ejemplo, "poner en contacto" una JAK con un compuesto de la invención incluye la administración de un compuesto de la presente invención a un individuo o paciente, tal como un ser humano, que tiene una JAK, así como, por ejemplo, la introducción de un compuesto de la invención en una muestra que contiene una preparación celular o purificada que contiene la JAK.
- Como se usa en el presente documento, el término "individuo" o "paciente", usado indistintamente, se refiere a cualquier animal, incluyendo mamíferos, preferentemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, caballos o primates, y lo más preferentemente seres humanos.
- 10 Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o medicinal que se está buscando en un tejido, sistema, animal, individuo o ser humano por un investigador, veterinario, médico u otro profesional clínico.
- 15 Como se usa en el presente documento, el término "tratar" o "tratamiento" se refiere a uno o más de (1) prevenir la enfermedad; por ejemplo, prevenir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que puede estar predispuesto a la enfermedad, afección o trastorno pero que aún no experimenta o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad; (2) inhibir la enfermedad; por ejemplo, inhibir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno; y (3) mejorar la enfermedad; por ejemplo, mejorar una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o sintomatología), tal como disminuir la gravedad de la enfermedad.
- 20 *Tratamientos de combinación*
- Uno o más agentes farmacéuticos adicionales tales como, por ejemplo, agentes quimioterapéuticos, agentes antiinflamatorios, esteroides, inmunosupresores, así como inhibidores de las cinasas Bcr-Abl, Flt-3, RAF y FAK tales como, por ejemplo, los descritos en el documento WO 2006/056399 u otros agentes se pueden usar en combinación con los compuestos de la presente invención para el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones asociadas con JAK. El uno o más agentes farmacéuticos adicionales se pueden administrar a un paciente de forma simultánea o secuencial.
- 25 Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen inhibidores del complejo endopeptidásico multicatalítico (por ejemplo, bortezomib), talidomida, revlimid y agentes que dañan el ADN, tales como melfalán, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, etopósido, carmustina y similares.
- 30 Los ejemplos de esteroides incluyen corticoesteroides tales como dexametasona o prednisona.
- Los ejemplos de inhibidores de Bcr-Abl incluyen los compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos de los géneros y especies divulgados en la patente de EE. UU. n.º 5.521.184, el documento WO 04/005281 y el documento de EE. UU. n.º de serie 60/578.491.
- 35 Los ejemplos de inhibidores adecuados de Flt-3 incluyen los compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos divulgados en los documentos WO 03/037347, WO 03/099771 y WO 04/046120.
- Los ejemplos de inhibidores adecuados de RAF incluyen los compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos divulgados en los documentos WO 00/09495 y WO 05/028444.
- 40 Los ejemplos de inhibidores adecuados de FAK incluyen los compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos divulgados en los documentos WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 y WO 01/014402.
- En algunos modos de realización, el compuesto de la invención se puede usar en combinación con uno o más de otros inhibidores de cinasa incluyendo imatinib, particularmente para tratar a pacientes resistentes a imatinib u otros inhibidores de cinasa.
- 45 En algunos modos de realización, el inhibidor de JAK de la invención se puede usar en combinación con un agente quimioterapéutico en el tratamiento del cáncer, tal como el mieloma múltiple, y puede mejorar la respuesta al tratamiento en comparación con la respuesta al agente quimioterapéutico solo, sin exacerbación de sus efectos tóxicos. Los ejemplos de agentes farmacéuticos adicionales que se usan en el tratamiento del mieloma múltiple, por ejemplo, pueden incluir, sin limitación, melfalán, melfalán más prednisona [MP], doxorubicina, dexametasona y Velcade (bortezomib). Otros agentes adicionales usados en el tratamiento del mieloma múltiple incluyen inhibidores de las cinasas Bcr-Abl, Flt-3, RAF y FAK. Los efectos aditivos o sinérgicos son resultados deseables de la combinación de un inhibidor de JAK de la presente invención con un agente adicional. Además, la resistencia de células de mieloma múltiple a agentes, tales como la dexametasona puede ser reversible tras el tratamiento con un inhibidor de JAK de la presente invención. Los agentes se pueden combinar con el presente compuesto en una forma farmacéutica única o continua, o los agentes se pueden administrar de forma simultánea o secuencial como
- 55 formas de dosificación separadas.

En algunos modos de realización, se administra un corticoesteroide, tal como dexametasona, a un paciente en combinación con al menos un inhibidor de JAK, en los que se administra la dexametasona de forma intermitente en lugar de continua.

5 En algunos modos de realización adicionales, se pueden administrar las combinaciones de inhibidor de JAK de la invención con otros agentes terapéuticos a un paciente antes de, durante y/o después de un trasplante de médula ósea o trasplante de células madre.

10 En algunos modos de realización, se puede usar al menos un agente terapéutico adicional en relación con el tratamiento de trastornos de xerosis oftálmica y otros trastornos de los ojos. En algunos modos de realización, el agente terapéutico adicional es acetónido de fluocinolona (Retisert®) o rimexolona (AL-2178, Vexol, Alcon). En algunos modos de realización, el agente terapéutico adicional es ciclosporina (Restasis®). En algunos modos de realización, el agente terapéutico adicional es un corticoesteroide. En algunos modos de realización, el corticoesteroide es triaminolona, dexametasona, fluocinolona, cortisona, prednisolona o flumetolona.

15 En algunos modos de realización, el agente terapéutico adicional se selecciona de Dehydrex™ (Hölles Labs), Civamide (Opko), hialuronato de sodio (Vismed, Lantibio/TRB Chemedica), ciclosporina (ST-603, Sirion Therapeutics), ARG101(T) (testosterona, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), ecabet sódico (Senju-ISTA), gefarnato (Santen), ácido 15-(s)-hidroxieicosatetraenoico (15(S)-HETE), cevilemina, doxiclina (ALTY-0501, Alacrity), minociclina, iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), ciclosporina A (Nova22007, Novagali), oxitetraciclina (duramicina, MOLI1901, Lantibio), CF101 (2S,3S,4R,5R)-3,4-dihidroxi-5-[6-[(3-yodofenil)metilamino]purin-9-il]-N-metil-oxolano-2-carbamilato, Can-Fite Biopharma), voclosporina (LX212 o LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (análogo sintético de resolvina, Resolvix), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), rivoglitazona (DE011, Daiichi Sanko), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Opthalmis Monaco), PCS101 (Pericor Ciencia), REV1-31 (Evolutec), lacritina (Senju), rebamipida (Otsuka-Novartis), OT-551 (Othera), PAI-2 (universidad de Pennsylvania y universidad de Temple), pilocarpina, tacrolimus, pimecrolimus (AMS981, Novartis), etabonato de loteprednol, rituximab, diquafosol tetrasódico (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), deshidroepiandrosterona, anakinra, efalizumab, micofenolato sódico, etanercept (Embrel®), hidroxicloroquina, NGX267 (TorreyPines Therapeutics) o talidomida.

20 En algunos modos de realización, el agente terapéutico adicional es un agente antiangiogénico, agonista colinérgico, modulador del receptor de TRP-1, un bloqueante de los canales de calcio, un estimulante del secretagogo de mucina, MUC 1, un inhibidor de calcineurina, un corticoesteroide, un agonista del receptor de P2Y2, un agonista del receptor muscarínico, otro inhibidor de JAK, inhibidor de la cinasa Bcr-Abl, inhibidor de la cinasa Flt-3, inhibidor de la cinasa RAF e inhibidor de la cinasa FAK, tal como, por ejemplo, los descritos en el documento WO 2006/056399. En algunos modos de realización, el agente terapéutico adicional es un derivado de la tetraciclina (por ejemplo, minociclina o doxiclina).

30 En algunos modos de realización, el agente o agentes terapéuticos adicionales son colirios demulcentes (también conocidos como "lágrimas artificiales") que incluyen, pero no se limitan a, composiciones que contienen poli(alcohol vinílico), hidroxipropilmetilcelulosa, glicerina, polietilenglicol (por ejemplo, PEG400) o carboximetilcelulosa. Las lágrimas artificiales pueden ayudar en el tratamiento de la xerosis oftálmica compensando la reducida capacidad humectante y lubricante de la película lagrimal. En algunos modos de realización, el agente terapéutico adicional es un fármaco mucolítico, tal como N-acetil-cisteína, que puede interactuar con las mucoproteínas y, por lo tanto, disminuir la viscosidad de la película lagrimal.

35 En algunos modos de realización, el agente terapéutico adicional incluye un antibiótico, antivírico, antifúngico, anestésico, agentes antiinflamatorios, incluyendo antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos y agentes antialérgicos. Los ejemplos de medicamentos adecuados incluyen aminoglucósidos tales como la amikacina, gentamicina, tobramicina, estreptomina, netilmicina y kanamicina; fluoroquinolonas, tales como ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafoxacina, lomefloxacina, levofloxacina y enoxacina; naftiridina; sulfonamidas; polimixina; cloranfenicol; neomicina; paramomomicina; colistimetato; bacitracina; vancomicina; tetraciclinas; rifampicina y sus derivados ("rifampinas"); cicloserina; betalactamas; cefalosporinas; anfotericinas; fluconazol; flucitosina; natamicina; miconazol; ketoconazol; corticoesteroides; diclofenaco; flurbiprofeno; ketorolaco; suprofen; comolina; lodoxamida; levocabastina; nafazolina; antazolina; feniramina; o antibiótico de azalida.

50 *Formulaciones farmacéuticas y formas de dosificación*

55 Cuando se emplea como producto farmacéutico, el compuesto de la invención se puede administrar en forma de composiciones farmacéuticas. Estas composiciones se pueden preparar de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica, y se pueden administrar por una diversidad de rutas, dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico y del área a tratar. La administración puede ser tópica (incluyendo transdérmica, epidérmica, oftálmica y a las membranas mucosas incluyendo administración intranasal, vaginal y rectal), pulmonar (por ejemplo, por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, incluyendo por nebulizador; intratraqueal o intranasal), oral o parenteral. La administración parenteral incluye inyección o infusión intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; o administración intracraneal, por ejemplo, intratecal o intraventricular. La administración parenteral puede ser en forma de una sola dosis de bolo, o puede ser, por ejemplo, por una bomba

de perfusión continua. Las composiciones y formulaciones farmacéuticas para administración tópica pueden incluir parches transdérmicos, pomadas, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, pulverizaciones, líquidos y polvos. Pueden ser necesarios o deseables vehículos farmacéuticos convencionales, bases acuosas, pulverulentas u oleosas, espesantes y similares. También pueden ser útiles condones recubiertos, guantes y similares.

- 5 La presente invención también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como principio activo, el compuesto de la invención anterior en combinación con uno o más vehículos (excipientes) farmacéuticamente aceptables. Al preparar las composiciones de la invención, el principio activo se mezcla típicamente con un excipiente, se diluye por un excipiente o se encierra dentro de un vehículo en la forma de, por ejemplo, una cápsula, sobrecito, papel u otro recipiente. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido que actúa como vehículo, excipiente o medio para el principio activo. Por tanto, las
- 10 composiciones se pueden encontrar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas para chupar, sobrecitos, obleas, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un medio líquido), pomadas que contienen, por ejemplo, hasta un 10 % en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles.
- 15 En la preparación de una formulación, el compuesto activo se puede moler para proporcionar el tamaño de partícula apropiado antes de combinarlo con los otros ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, se puede moler hasta un tamaño de partícula de menos de 200 de malla. Si el compuesto activo es sustancialmente soluble en agua, el tamaño de partícula se puede ajustar mediante molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo, aproximadamente 40 de malla.
- 20 Los compuestos de la invención se pueden moler usando procedimientos de molienda conocidos, tales como molienda en húmedo para obtener un tamaño de partícula apropiado para la formación de comprimidos y para otros tipos de formulaciones. Las preparaciones finamente divididas (nanoparticuladas) de los compuestos de la invención se pueden preparar por procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, véase la solicitud de patente internacional n.º WO 2002/000196.
- 25 Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábica, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: agentes lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; agentes conservantes tales como metil- y propilhidroxi-benzoatos; agentes edulcorantes; y agentes aromatizantes. Las composiciones de la invención se pueden formular para proporcionar una liberación rápida,
- 30 sostenida o retardada del principio activo después de la administración al paciente, empleando procedimientos conocidos en la técnica.

Las composiciones se pueden formular en una forma de dosificación unitaria, conteniendo cada dosificación de aproximadamente 5 hasta aproximadamente 1000 mg (1 g), más habitualmente de aproximadamente 100 hasta

35 aproximadamente 500 mg del principio activo. La expresión "formas de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente concretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y para otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

El compuesto activo puede ser eficaz sobre un amplio intervalo de dosificación y se administra generalmente en una cantidad farmacéuticamente eficaz. Se entenderá, sin embargo, que la cantidad del compuesto administrada realmente la determinará habitualmente un médico, de acuerdo con las circunstancias pertinentes, incluyendo la afección que se va a tratar, la ruta de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, el principio activo principal se mezcla con un excipiente farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, el principio activo se dispersa típicamente de forma uniforme por toda la composición de tal forma que la composición pueda subdividirse fácilmente en formas de dosificación unitaria igual de eficaces, tales como comprimidos, pastillas y cápsulas. Esta preformulación sólida se subdivide después en formas de dosificación unitarias del tipo descrito anteriormente que contienen, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 hasta

50 aproximadamente 1000 mg del principio activo de la presente invención.

Los comprimidos o pastillas de la presente invención pueden recubrirse o formar compuestos de otra forma para proporcionar una forma farmacéutica que proporcione la ventaja de la acción prolongada. Por ejemplo, el comprimido o la pastilla puede comprender una dosificación interna y un componente de dosificación externo, estando el último en forma de una envoltura sobre la primera. Los dos componentes pueden estar separados por una capa entérica que sirve para resistir la disgregación en el estómago y permite que el componente interno pase intacto al duodeno o retarde su liberación. Se puede usar una diversidad de materiales para dichas capas o recubrimientos, incluyendo dichos materiales varios ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como goma laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

Las formas líquidas en las que los compuestos y composiciones de la presente invención pueden incorporarse para administración oral o por inyección incluyen soluciones acuosas, jarabes aromatizados adecuadamente, suspensiones acuosas u oleosas y emulsiones aromatizados con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares.

Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en disolventes farmacéuticamente aceptables, acuosos u orgánicos, o mezclas de los mismos y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se describe *supra*. En algunos modos de realización, las composiciones se administran por la ruta respiratoria oral o nasal para efecto local o sistémico. Las composiciones se pueden nebulizar mediante el uso de gases inertes. Las soluciones nebulizadas pueden respirarse directamente desde el dispositivo nebulizador o el dispositivo nebulizador puede estar unido a una máscara facial, a una tienda de nebulización o a una máquina de respiración de presión positiva intermitente. Se pueden administrar composiciones en solución, en suspensión o en polvo, de forma oral o nasal, desde dispositivos que administran la formulación en una manera apropiada.

La cantidad de compuesto o composición administrada a un paciente variará dependiendo de lo que se esté administrando, el propósito de la administración, tal como profilaxis o tratamiento, el estado del paciente, la forma de administración y similares. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se pueden administrar a un paciente que ya padece una enfermedad, en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Las dosis eficaces dependerán de la afección patológica que se esté tratando, así como por el criterio del médico a cargo dependiendo de factores tales como la gravedad de la enfermedad, la edad, peso y estado general del paciente y similares.

Las composiciones administradas a un paciente pueden estar en la forma de composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones se pueden esterilizar por técnicas convencionales de esterilización o se pueden filtrar de manera estéril. Las soluciones acuosas resultantes se pueden envasar para su uso tal cual, o se pueden liofilizar, combinándose la preparación liofilizada con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones de compuesto típicamente estará entre 3 y 11, más preferentemente de 5 a 9 y lo más preferentemente de 7 a 8. Se entenderá que el uso de algunos de los excipientes, vehículos o estabilizadores anteriores provocará la formación de sales farmacéuticas.

La dosificación terapéutica del compuesto de la presente invención puede variar de acuerdo con, por ejemplo, el uso particular para el que se prepara el tratamiento, la manera de administración del compuesto, la salud y el estado del paciente, y el criterio del médico a cargo. La proporción o concentración de un compuesto de la invención en una composición farmacéutica puede variar dependiendo de varios factores incluyendo la dosificación, características químicas (por ejemplo, hidrofobicidad) y la ruta de administración. Por ejemplo, el compuesto de la invención se puede proporcionar en una solución acuosa de tampón fisiológico que contiene de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 10 % p/v del compuesto para administración parenteral. Algunos intervalos de dosis típicos son de aproximadamente 1 µg/kg a aproximadamente 1 g/kg de peso corporal por día. En algunos modos de realización, el intervalo de dosis es de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día. La dosificación probablemente depende de variables tales como el tipo y grado de progresión de la enfermedad o trastorno, el estado de salud general del paciente particular, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su ruta de administración. Se pueden extrapolar dosis eficaces a partir de curvas de respuesta a dosis procedentes de sistemas de prueba en modelos animales o *in vitro*.

En algunos modos de realización, el compuesto de la invención, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra como una composición oftálmica. En consecuencia, en algunos modos de realización, los procedimientos comprenden la administración del compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo oftálmicamente aceptable. En algunos modos de realización, la composición oftálmica es una composición líquida, composición semisólida, inserto, película, micropartículas o nanopartículas.

En algunos modos de realización, la composición oftálmica es una composición líquida. En algunos modos de realización, la composición oftálmica es una composición semisólida. En algunos modos de realización, la composición oftálmica es una composición tópica. Las composiciones tópicas incluyen, pero no se limitan a, composiciones líquidas y semisólidas. En algunos modos de realización, la composición oftálmica es una composición tópica. En algunos modos de realización, la composición tópica comprende una solución acuosa, una suspensión acuosa, una pomada o un gel. En algunos modos de realización, la composición oftálmica se aplica de forma tópica a la parte frontal del ojo, bajo el párpado superior, sobre el párpado inferior y en el cul-de-sac. En algunos modos de realización, la composición oftálmica está esterilizada. La esterilización se puede lograr por técnicas conocidas como filtración esterilizante de la solución o calentando la solución en la ampolla lista para su uso. Las composiciones oftálmicas de la invención pueden contener, además, excipientes farmacéuticos adecuados para la preparación de formulaciones oftálmicas. Los ejemplos de dichos excipientes son agentes conservantes, agentes tamponantes, agentes quelantes, agentes antioxidantes y sales para regular la presión osmótica.

Como se usa en el presente documento, la expresión "vehículo oftálmicamente aceptable" se refiere a cualquier material que pueda contener y liberar el compuesto, o sal o N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo, y que

sea compatible con el ojo. En algunos modos de realización, el vehículo oftálmicamente aceptable es agua o una solución o suspensión acuosa, pero también incluye aceites tales como los usados para preparar pomadas y matrices poliméricas, tales como las usadas en insertos oculares. En algunos modos de realización, la composición puede ser una suspensión acuosa que comprende el compuesto, o sal o N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo. Las composiciones oftálmicas líquidas, incluyendo tanto las pomadas como las suspensiones, pueden tener una viscosidad que es adecuada para la ruta de administración seleccionada. En algunos modos de realización, la composición oftálmica tiene una viscosidad en el intervalo de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 30.000 centipoises.

En algunos modos de realización, la composición líquida comprende, además, un polímero. Estos polímeros se pueden usar para mejorar la biodisponibilidad, aumentar la viscosidad o reducir el drenaje del ojo para una formulación líquida. En algunos modos de realización, los polímeros incluyen, pero no se limitan a, los descritos en Wagh, et al., "Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems", Asian J. Pharm., páginas 12-17 (Ene 2008), que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En algunos modos de realización, el polímero es hialuronasa de sodio, quitosana, una ciclodextrina (por ejemplo, hidroxipropil β -ciclodextrina), poli(ácido galacturónico), xiloglucano, goma xantana, goma gellan, una tiomer, un poli(orto-éster) (por ejemplo, como se describe en Einmahl, Adv. Drug. Deliv. Rev. 53: 45-73 (2001), que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad), o un polisacárido de semilla de tamarindo (por ejemplo, como se describe en Ghelardi, et al., Antimicrob. Agents Chemother. 48: 3396-3401 (2004), que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad).

En algunos modos de realización, las composiciones oftálmicas pueden comprender, además, uno o más tensioactivos, adyuvantes, tampones, antioxidantes, ajustadores de tonicidad, conservantes (por ejemplo, EDTA, BAK (cloruro de benzalconio), clorito de sodio, perborato de sodio, policuaterino-1), espesantes o modificadores de la viscosidad (por ejemplo, carboximetilcelulosa, hidroximetilcelulosa, poli(alcohol de vinílico), polietilenglicol, glicol 400, propilenglicol, hidroximetilcelulosa, hidroxipropil-guar, ácido hialurónico e hidroxipropilcelulosa) y similares. Los aditivos en la formulación pueden incluir, pero no se limitan a, cloruro de sodio, bicarbonato de sodio, ácido sórbico, metilparabeno, propilparabeno, clorhexidina, aceite de ricino y perborato de sodio.

Las composiciones oftálmicas acuosa (soluciones o suspensiones) en general no contienen constituyentes fisiológica u oftálmicamente nocivos. En algunos modos de realización, se usa agua purificada o desionizada en la composición. El pH se puede ajustar añadiendo cualquier ácido, base o tampón de ajuste del pH fisiológica y oftálmicamente aceptable, dentro del intervalo de aproximadamente 5,0 a 8,5. Los ejemplos oftálmicamente aceptables de ácidos incluyen ácido acético, bórico, cítrico, láctico, fosfórico, clorhídrico y similares, y los ejemplos de bases incluyen hidróxido de sodio, fosfato de sodio, borato de sodio, citrato de sodio, acetato de sodio, lactato de sodio, trometamina, trishdroximetilamino-metano y similares. Las sales y tampones incluyen citrato/dextrosa, bicarbonato de sodio, cloruro de amonio y mezclas de los ácidos y bases mencionados anteriormente.

En algunos modos de realización, la presión osmótica de la composición oftálmica puede ser de aproximadamente 10 miliosmolar (mOsM) a aproximadamente 400 mOsM, o de 260 a aproximadamente 340 mOsM. En algunos modos de realización, la presión osmótica se puede ajustar usando cantidades apropiadas de sales o excipientes fisiológica y oftálmicamente aceptables. En modos de realización adicionales, se puede usar cloruro de sodio para aproximarse al fluido fisiológico. En otros modos de realización, la composición comprende cloruro de sodio que varía desde aproximadamente un 0,01 % a aproximadamente un 1 % en peso, o de aproximadamente un 0,05 % a aproximadamente un 0,45 % en peso, basándose en el peso total de la composición. También se pueden usarse cantidades equivalentes de una o más sales compuestas por cationes tales como potasio, amonio y similares, y aniones tales como cloruro, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, sulfato, tiosulfato, bisulfato, bisulfato de sodio, sulfato de amonio y similares, además de o en lugar de cloruro de sodio para alcanzar osmolalidades dentro del intervalo establecido anteriormente. Del mismo modo, también se puede usar un azúcar tal como manitol, dextrosa, sorbitol, glucosa y similares para ajustar la osmolalidad.

En algunos modos de realización, los procedimientos implican la formación o el suministro de un depósito del agente terapéutico en contacto con la superficie externa del ojo. Un depósito se refiere a una fuente de agente terapéutico que no se retira rápidamente por las lágrimas u otros mecanismos de limpieza de los ojos. Esto permite que haya presentes altas concentraciones sostenidas y continuadas de agente terapéutico en el fluido sobre la superficie externa del ojo por una sola aplicación. Sin desear estar ligado por teoría alguna, se cree que la absorción y la penetración pueden depender tanto de la concentración de fármaco disuelto como de la duración del contacto del tejido externa con el fluido que contiene el fármaco. Como el fármaco se retira por eliminación del fluido y/o la absorción ocular en el tejido ocular, se proporciona más fármaco, por ejemplo, disuelto, en el fluido ocular repuesto desde el depósito. En consecuencia, el uso de un depósito puede facilitar más cómodamente la carga del tejido ocular de más agentes terapéuticos insolubles. En algunos modos de realización, el depósito puede permanecer durante hasta ocho horas o más. En algunos modos de realización, las formas de depósito oftálmico incluyen, pero no se limitan a, suspensiones poliméricas acuosas, pomadas e insertos sólidos.

En algunos modos de realización, una composición semisólida es una formulación líquida que aumenta en viscosidad después de su aplicación al ojo, habitualmente debido a un polímero en la formulación líquida. Este aumento de la viscosidad se puede desencadenar por un cambio de la temperatura, el pH o la concentración de

electrolito. En algunos modos de realización, el polímero incluye, pero no se limita a, los descritos para formas de dosificación semisólidas en Wagh, et al., "Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems", Asian J. Pharm., páginas 12-17 (Ene 2008), que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En algunos modos de realización, el polímero es acetofalato de celulosa, poli(ácido acrílico), goma gellan, hialuronasa, quitosana, sales del ácido alginico (por ejemplo, alginato de sodio) o un copolímero de bloques de óxido de etileno y óxido de propileno (por ejemplo, Pluronic®, BASF; poloxámero). En algún modo de realización, el poli(ácido acrílico) es ácido acrílico reticulado (por ejemplo, Carbopol®). En algunos modos de realización, la composición semisólida comprende una mezcla de carbopol y un copolímero de bloques de óxido de etileno y óxido de propileno; una mezcla de metilcelulosa e hidroxietilcelulosa; o una mezcla de polietilenglicol y un copolímero de bloques de óxido de etileno y óxido de propileno.

En algunos modos de realización, la composición oftálmica es una pomada o gel. En algunos modos de realización, la composición oftálmica es un vehículo de liberación de base oleosa. En algunos modos de realización, la composición comprende una base de petróleo o de lanolina a la que se añade el principio activo, habitualmente como de un 0,1 a un 2 %, y excipientes. Las bases comunes pueden incluir, pero no se limitan a, aceite mineral, vaselina y combinaciones de los mismos. En algunos modos de realización, la pomada se aplica como una cinta en el párpado inferior.

En algunos modos de realización, la composición oftálmica es un inserto oftálmico. En algunos modos de realización, el inserto oftálmico es biológicamente inerte, suave, bioerosionable, viscoelástico, estable a la esterilización después de la exposición a los agentes terapéuticos, resistente a las infecciones de bacterias transmitidas por el aire, bioerosionable, biocompatible y/o viscoelásticas. En algunos modos de realización, el inserto comprende una matriz oftálmicamente aceptable, por ejemplo, una matriz polimérica. La matriz es típicamente un polímero y el agente terapéutico se dispersa, en general, en la misma o se une a la matriz polimérica. En algunos modos de realización, el agente terapéutico se puede liberar lentamente desde la matriz a través de la disolución o la hidrólisis del enlace covalente. En algunos modos de realización, el polímero es bioerosionable (soluble) y la velocidad de disolución del mismo puede controlar la velocidad de liberación del agente terapéutico dispersado en el mismo. En otra forma, la matriz polimérica es un polímero biodegradable que se descompone tal como por hidrólisis para liberar de ese modo el agente terapéutico unido al mismo o dispersado en el mismo. En otros modos de realización, la matriz y el agente terapéutico pueden estar rodeados de un recubrimiento polimérico adicional para el control adicionalmente la liberación. En algunos modos de realización, el inserto comprende un polímero biodegradable tal como policaprolactona (PCL), un copolímero de etileno/acetato de vinilo (EVA), cianoacrilato de polialquilo, poliuretano, un nylon o poli(DL-láctido-co-glicólido) (PLGA) o un copolímero de cualquiera de estos. En algunos modos de realización, el agente terapéutico se dispersa en el material de matriz o se dispersa entre la composición de monómeros usada para preparar el material de matriz antes de la polimerización. En algunos modos de realización, la cantidad de agente terapéutico es de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 50 %, o de aproximadamente un 2 a aproximadamente un 20 %. En modos de realización adicionales, la matriz polimérica biodegradable o bioerosionable se usa para que el inserto usado no se tenga que retirar. A medida que se degrada o se disuelve el polímero biodegradable o bioerosionable, se libera el agente terapéutico.

En modos de realización adicionales, el inserto oftálmico comprende un polímero, incluyendo, pero no se limitan a, los descritos en Wagh, et al., "Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems", Asian J. Pharm., páginas 12-17 (Ene 2008), que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En algunos modos de realización, el inserto comprende un polímero seleccionado de polivinilpirrolidona (PVP), un polímero o copolímero de acrilato o metacrilato (por ejemplo, la familia de polímeros Eudragit® de Rohm o Degussa), hidroximetilcelulosa, poli(ácido acrílico), poli(amidoamina) dendrímeros, poli(dimetilsiloxano), óxido de polietileno, poli(láctido-co-glicólido), poli(2-hidroxietilmetacrilato), poli(alcohol vinílico), o poli(fumarato de propileno). En algunos modos de realización, el inserto comprende Gelfoam® R. En algunos modos de realización, el inserto es un poli(ácido acrílico) de conjugado con cisteína de 450 kDa.

En algunos modos de realización, la composición oftálmica es una película oftálmica. Los polímeros adecuados para dichas películas incluyen, pero no se limitan a, los descritos en Wagh, et al., "Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems", Asian J. Pharm., páginas 12-17 (Ene 2008). En algunos modos de realización, la película es una lente blanda de contacto, tal como las preparadas a partir de copolímeros de N, N-dietilacrilamida y ácido metacrílico reticulado con dimetacrilato de etilenglicol.

En algunos modos de realización, el inserto comprende un núcleo que comprende el agente terapéutico y un tubo externo (véase, por ejemplo, la publicación de patente de EE. UU. n.º 20040009222, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). En algunos modos de realización, el tubo externo puede ser permeable, semipermeable o impermeable al fármaco. En algunos modos de realización, el núcleo de fármaco puede incluir una matriz polimérica que no afecta de significativamente a la velocidad de liberación del fármaco. En algunos modos de realización, el tubo externo, la matriz del polímero del núcleo de fármaco, o ambos pueden ser bioerosionables. En algunos modos de realización, el producto co-extruido se puede segmentar en los dispositivos de administración de fármacos. En algunos modos de realización, los dispositivos se pueden dejar sin recubrir de modo que sus respectivos extremos están abiertos, o los dispositivos se pueden recubrir con, por ejemplo, una capa que es permeable al agente terapéutico, semipermeable al agente terapéutico o bioerosionable. En ciertos modos de realización, el agente terapéutico y al menos un polímero se mezclan en forma de polvo. En algunos modos de

realización, el inserto se forma enviando un material polimérico hasta un primer dispositivo de extrusión, enviando un agente terapéutico a un segundo dispositivo de extrusión, co-extruyendo una masa que incluye el material polimérico y el agente terapéutico, y formando la masa en al menos un dispositivo de administración de fármacos co-extruido que comprende un núcleo que incluye el agente terapéutico y una capa externa que incluye el material polimérico.

5 En ciertos modos de realización, el agente terapéutico enviado al segundo dispositivo de extrusión está en mezcla con al menos un polímero. En ciertos modos de realización, el agente terapéutico y al menos un polímero se mezclan en forma de polvo. En ciertos modos de realización, esta acción incluye enviar más de un fármaco al segundo dispositivo de extrusión. En ciertos modos de realización, el material polimérico es uno impermeable, semipermeable o permeable al agente terapéutico. El material polimérico puede ser bioerosionable y/o curable por radiación. En los últimos casos, el inserto se puede irradiar.

10 En ciertos modos de realización, el inserto está en una forma tubular, y se puede segmentar en una pluralidad de productos más cortos. En ciertos modos de realización, el inserto comprende, además, un recubrimiento de la pluralidad de productos más cortos con una o más capas, incluyendo al menos una capa que es permeable al agente terapéutico, una capa que es semipermeable al agente terapéutico y una capa que es bioerosionable. El material polimérico puede incluir cualquier polímero biocompatible, tal como policaprolactona (PCL), un copolímero de etileno/acetato de vinilo (EVA), cianoacrilato de polialquilo, poliuretano, un nylon o poli(DL-láctido-co-glicólido) (PLGA) o un copolímero de cualquiera de estos.

15 En algunos modos de realización, el inserto comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico recubierto por o dispersado en una matriz polimérica, en el que el agente terapéutico está en forma granular o en forma particulada. En algunos modos de realización, el agente terapéutico se libera de la formulación según se disuelve el fármaco desde los gránulos en o dentro de la matriz, se difunde a través de la matriz y se libera en el fluido fisiológico que rodea. En algunos modos de realización, la velocidad de liberación está limitada principalmente por la velocidad de disolución del agente terapéutico desde los gránulos/partículas en la matriz; las etapas de difusión a través de la matriz y la dispersión en el líquido que rodea no son principalmente limitantes de la velocidad de liberación. En ciertos modos de realización, la matriz polimérica no es bioerosionable, mientras que en otros modos de realización es bioerosionable. Los ejemplos de matrices poliméricas no bioerosionables se pueden formar a partir de poliuretano, polisilicona, poli(etileno-co-acetato de vinilo) (EVA), poli(alcohol vinílico) y derivados y copolímeros de los mismos. Los ejemplos de matrices poliméricas bioerosionables se pueden formar a partir de polianhídrido, poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), polioortéster, cianoacrilato de polialquilo y derivados y copolímeros de los mismos.

20 En algunos modos de realización, el inserto comprende un material colagenoso. En algunos modos de realización, el inserto puede ser un inserto de fármaco oftálmico soluble (SODI, por ejemplo, una película polimérica ovalada que se puede introducir en el saco conjuntival superior para la administración de fármacos; un inserto elíptico como OCUSERT® (sistema terapéutico ocular Pilocarpine, desarrollado por Alza Corporation) que está hecho de acetato de etilenvinilo; OCUFIT® (desarrollado por Escalon Ophthalmics Inc., Skillman, NS), que es un elastómero de silicona en forma de varilla; Lacrisert®, un inserto en forma de varilla hecho de celulosa; New Ophthalmic Drug Delivery Systems (asiente), hecho de poli(alcohol vinílico), y los insertos descritos en Fabrizio, Advanced Drug Delivery Reviews 16: 95-106, 1998, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En otros modos de realización, el inserto se puede colocar, dependiendo de la ubicación y el mecanismo usado para mantener el inserto en su posición, por el paciente o por el médico. En modos de realización adicionales, el inserto comprende colágeno, gelatina o un polímero, en el que el polímero se selecciona de policaprolactona (PCL), un copolímero de etileno/acetato de vinilo (EVA), cianoacrilato de polialquilo, poliuretano, un nylon, poli(dl-láctido-co-glicólido) (PLGA) o un copolímero de cualquiera de los mencionados anteriormente. En algunos modos de realización, el inserto se implanta bajo el párpado superior. En algunos modos de realización, el inserto se implanta en el segmento posterior del ojo, en el espacio croideo o en la esclerótica. En algunos modos de realización, el inserto se implanta de forma intravítrea o subretiniana. En algunos modos de realización, el inserto se inyecta de forma subretiniana. Los procedimientos de administración y técnicas para su preparación se exponen en Remington's Pharmaceutical Sciences, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

25 En otros modos de realización, el inserto proporciona una liberación sostenida del agente terapéutico al vítreo del ojo. Como se usa en el presente documento, "liberación sostenida" significa que la composición libera el agente terapéutico durante un período prolongado de tiempo de una manera controlada. En algunos modos de realización, el inserto libera el agente terapéutico a una velocidad tal que la concentración de agente terapéutico en el acuoso sigue siendo menor que la concentración de agente terapéutico en el vítreo durante la liberación. En algunos modos de realización, la concentración de agente terapéutico es de aproximadamente 0,002 µg/l a aproximadamente 0,01 µg/l, o de aproximadamente 0,01 µg/l a aproximadamente 0,05 µg/l, o de menos de aproximadamente 0,05 µg/l. En algunos modos de realización, el agente terapéutico se libera a una velocidad de aproximadamente 1 µg/día a aproximadamente 50 µg/día, o de aproximadamente 1 µg/día a aproximadamente 10 µg/día. En algunos modos de realización, el inserto comprende, además, un agente terapéutico adicional, tal como se detalla anteriormente, por ejemplo, acetónido de fluocinolona (tal como la que se encuentra en el inserto oftálmico Retisert®).

30 En algunos modos de realización, la composición oftálmica comprende microesferas o nanopartículas. En algún modo de realización, las microesferas comprenden gelatina. En algunos modos de realización, las microesferas se inyectan en el segmento posterior del ojo, en el espacio croideo, en la esclerótica, de forma intravítrea o de forma

subretiniana. En algunos modos de realización, las microesferas o nanopartículas comprenden un polímero, incluyendo, pero no se limitan a, los descritos en Wagh, et al., "Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems", Asian J. Pharm., páginas 12-17 (Ene 2008), que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En algunos modos de realización, el polímero es quitosana, un ácido policarboxílico tal como poli(ácido acrílico), partículas de albúmina, ésteres de ácido hialurónico, poli(ácido itacónico), poli(butil)cianoacrilato, policaprolactona, poli(isobutil)caprolactona, poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) o poli(ácido láctico). En algunos modos de realización, las microesferas o nanopartículas comprenden partículas lipídicas sólidas.

En algunos modos de realización, la composición oftálmica comprende una resina de intercambio iónico. En algunos modos de realización, la resina de intercambio iónico es una zeolita inorgánica o resina orgánica sintética. En algunos modos de realización, la resina de intercambio iónico incluye, pero no se limita a, las descritas en Wagh, et al., "Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems", Asian J. Pharm., páginas 12-17 (Ene 2008), que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En algunos modos de realización, la resina de intercambio iónico es un poli(ácido acrílico) parcialmente neutralizado.

En algunos modos de realización, la composición oftálmica es una suspensión polimérica acuosa. En algunos modos de realización, el agente terapéutico o un agente polimérico de suspensión se suspende en un medio acuoso (por ejemplo, que tiene las propiedades como se describe anteriormente). En algún modo de realización, el agente antibesidad está suspendido. En algunos modos de realización, el agente terapéutico está en solución. En modos de realización adicionales, el agente de suspensión sirve para proporcionar estabilidad a la suspensión, para aumentar el tiempo de residencia de la forma farmacéutica en el ojo o para mejorar la liberación sostenida del fármaco tanto en términos de tiempos de liberación más largos como una curva de liberación más uniforme. Los ejemplos de agentes poliméricos de suspensión incluyen, pero no se limitan a, dextranos, polietilenglicoles, polivinilpirrolidona, geles de polisacáridos, Gelrite®, polímeros celulósicos como hidroxipropilmetilcelulosa y polímeros que contienen carboxi, tales como polímeros o copolímeros de ácido acrílico, así como otros demulcentes poliméricos. En algunos modos de realización, el agente polimérico de suspensión es un polímero hinchable en agua, insoluble en agua, especialmente un polímero que contiene carboxi reticulado. En algunos modos de realización, el agente polimérico de suspensión comprende de al menos aproximadamente un 90 % a aproximadamente un 99,9 %, o de aproximadamente un 95 % a aproximadamente un 99,9 % en peso basado en el peso total de monómeros presentes, de uno o más monómeros monoetilénicamente insaturados que contienen carboxi. En algunos modos de realización, el monómero monoetilénicamente insaturado que contiene carboxi incluye ácido acrílico, ácido metacrílico, ácido etacrílico, ácido metacrílico (ácido crotónico), ácido cis- α -metilcrotónico (ácido angélico), ácido trans- α -metilcrotónico (ácido tíglico), ácido α -butilcrotónico, ácido α -fenilacrílico, ácido α -bencilacrílico, ácido α -ciclohexilacrílico, ácido fenilacrílico (ácido cinámico), ácido cumárico (ácido o-hidroxicinámico) y ácido umbálico (ácido p-hidroxicumárico). En algunos modos de realización, los polímeros se pueden reticular por un agente de reticulación polifuncional (por ejemplo, un agente de reticulación difuncional). En modos de realización adicionales, la cantidad de reticulación debe ser suficiente para formar partículas poliméricas insolubles, pero no tan grande como para interferir indebidamente con la liberación sostenida del agente terapéutico. En algún modo de realización, los polímeros están sólo ligeramente reticulados. En algunos modos de realización, el agente de reticulación está contenido en una cantidad de aproximadamente un 0,01 % a aproximadamente un 5 %, o de aproximadamente un 0,1 % a aproximadamente un 5,0 %, o de aproximadamente un 0,2 % a aproximadamente un 1 %, basándose en el peso total de monómeros presentes. En algunos modos de realización, los agentes de reticulación son monómeros de reticulación difuncionales no de poliéter de polialqueno tales como divinilglicol, 2,3-dihidroxihexa-1,5-dieno, 2,5-dimetil-1,5-hexadieno, divinilbenceno, N,N-dialilacrilamida, N,N-dialilmetacrilamida; agentes de reticulación de poliéter de polialqueno, con dos o más grupos éter de alqueno por molécula, por ejemplo, grupos éter de alqueno que contienen grupos terminales $H_2C=C<$, preparados por eterificación de un alcohol polihídrico que contiene al menos cuatro átomos de carbono y al menos tres grupos hidroxilo con un haluro de alqueno tal como bromuro de alilo o similares, por ejemplo, polialil sacarosa, polialil pentaeritritol o similares; agentes de reticulación macroméricos no hidrófilos diolefinicos que tienen pesos moleculares de aproximadamente 400 a aproximadamente 8.000, tales como diacrilatos y poliácrilatos y metacrilatos insolubles de dioles y polioles, productos de reacción de hidroxialquil acrilato o metacrilato de diisocianato de prepolímeros terminados en isocianato derivados de dioles de poliéster, polieterdioles o polisiloxanodioles con hidroxialquilmetacrilatos y similares.

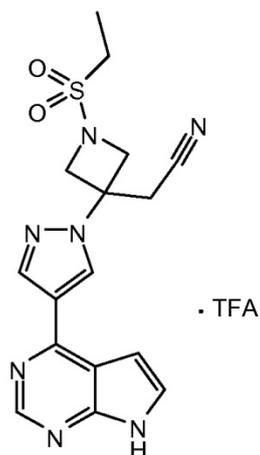
En algunos modos de realización, los polímeros reticulados se pueden preparar a partir de un monómero o monómeros monoetilénicamente insaturados que contienen carboxi como el único monómero monoetilénicamente insaturado presente, junto con un agente o agentes de reticulación. En algunos modos de realización, los polímeros son aquellos en los que hasta aproximadamente un 40 %, y preferentemente de aproximadamente un 0 % a aproximadamente un 20 % en peso, del monómero o monómeros monoetilénicamente insaturados que contienen carboxi se ha sustituido por uno o más monómero o monómeros monoetilénicamente insaturados que no contienen carboxi que contienen sustituyentes sólo fisiológica y oftálmicamente inocuos, incluyendo ésteres de ácido acrílico y metacrílico tales como metacrilato de metilo, acrilato de etilo, acrilato de butilo, acrilato de 2-etilhexilo metacrilato de octilo, metacrilato de 2-hidroxietilo, acrilato de 3-hidroxipropilo y similares, acetato de vinilo, N-vinilpirrolidona y similares (véase Mueller et al. patente de EE. UU. n.º 4.548.990, cuyo contenido completo se incorpora en el presente documento por referencia, para obtener una lista más extensa de dichos monómeros monoetilénicamente insaturados adicionales). En algunos modos de realización, los polímeros incluyen policarbófilo (Noveon AA-1),

- Carbopol® y DuraSite®. En algunos modos de realización, los polímeros reticulados se preparan por polimerización en suspensión o emulsión de los monómeros, usando catalizadores de polimerización por radicales libres convencionales, para un tamaño de partícula seca de no más de aproximadamente 50 µm de diámetro esférico equivalente. En algunos modos de realización, el tamaño promedio de partícula seca es de aproximadamente 1 a 5 aproximadamente 30 µm, o de aproximadamente 3 a aproximadamente 20 µm de diámetro esférico equivalente. En algunos modos de realización, las partículas poliméricas se obtienen moliendo mecánicamente partículas poliméricas más grandes. En modos de realización adicionales, dichos polímeros tendrán un peso molecular de aproximadamente 250.000 a aproximadamente 4.000.000, y de aproximadamente 3.000.000.000 a 4.000.000.000. En otros modos de realización, las partículas de polímero reticulado son monodispersas, es decir que tienen una distribución de tamaño de partícula tal que al menos aproximadamente un 80 %, aproximadamente un 90 % o aproximadamente un 95 % de las partículas caen dentro de una banda micrométrica de distribución grande de tamaño de partícula. En modos de realización adicionales, el tamaño de partículas monodispersas significa que no hay más de aproximadamente un 20 %, aproximadamente un 10 % o aproximadamente un 5 % de partículas de un tamaño inferior a 1 µm. En algunos modos de realización, la suspensión polimérica acuosa comprende de aproximadamente un 0,05 a aproximadamente un 1 %, de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 0,5 %, o de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 0,5 % del agente terapéutico y de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 10 %, de aproximadamente un 0,5 a aproximadamente un 6,5 %, de aproximadamente un 0,5 a aproximadamente un 2,0 %, de aproximadamente un 0,5 % a aproximadamente un 1,2 %, de aproximadamente un 0,6 a aproximadamente un 0,9 % o de aproximadamente un 0,6 a aproximadamente un 0,8 % de un agente polimérico de suspensión. Aunque se hace referencia en singular, debe entenderse que se puede usar una o más especies de agentes poliméricos de suspensión con estando la cantidad total dentro de los intervalos indicados. En un modo de realización, la cantidad de partículas poliméricas ligeramente reticuladas insolubles, el pH y la presión osmótica se pueden correlacionar entre sí y con el grado de reticulación para dar una composición que tenga una viscosidad en el intervalo de aproximadamente 500 a aproximadamente 100.000 centipoises y preferentemente de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 30.000 o de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 10.000 centipoises, medida a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) usando un viscosímetro Brookfield Digital LVT equipado con un husillo número 25 y un pequeño adaptador de muestras 13R a 12 rpm . En algunos modos de realización, la viscosidad es de aproximadamente 10 a aproximadamente 400 centipoises, de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 centipoises o de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 centipoises.
- En algunos modos de realización, las suspensiones poliméricas acuosas se pueden formular para que conserven la misma o sustancialmente la misma viscosidad en el ojo que tenían antes de la administración al ojo. En algunos modos de realización, se pueden formular de manera que haya un aumento de la gelificación tras el contacto con el fluido lagrimal. Por ejemplo, cuando se administra una formulación que contiene DuraSite® u otro polímero de tipo poli(ácido acrílico) similar al ojo a un pH de menos de aproximadamente 6,7, el polímero se puede hinchar al entrar en contacto con el fluido lagrimal, ya que tiene un pH más alto (aproximadamente 7). Esta gelificación o aumento de gelificación puede conducir al atrapamiento de las partículas suspendidas, prolongando de ese modo el tiempo de residencia de la composición en el ojo. En algunos modos de realización, el agente terapéutico se libera lentamente a medida que las partículas en suspensión se disuelven con el tiempo. En algunos modos de realización, esta ruta de administración aumenta la comodidad del paciente y aumenta el tiempo de contacto del agente terapéutico con los tejidos del ojo, aumentando de ese modo el grado de absorción del fármaco y la duración de la acción de la formulación en el ojo. Los agentes terapéuticos contenidos en estos sistemas de administración de fármacos se pueden liberar de los geles a velocidades que dependen de factores tales como el propio fármaco y su forma física, el grado de carga del fármaco y el pH del sistema, así como en cualquier adyuvante de administración de fármacos, tales como resinas de intercambio iónico compatibles con la superficie ocular, que también pueden estar presentes.
- Las composiciones de la invención pueden incluir, además, uno o más agentes farmacéuticos adicionales tales como un agente quimioterapéutico, un esteroide, un compuesto antiinflamatorio o inmunosupresor, cuyos ejemplos se enumeran anteriormente en el presente documento.

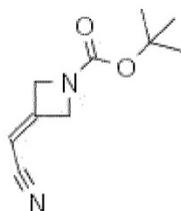
La invención se describirá ahora en mayor detalle a modo de ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se ofrecen con propósitos ilustrativos, y no están destinados a limitar la invención de ninguna manera. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente una diversidad de parámetros no críticos que se podrán cambiar o modificar para proporcionar esencialmente los mismos resultados.

Ejemplos

Ejemplo 1. sal del ácido {1-(etilsulfonil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo trifluoroacético



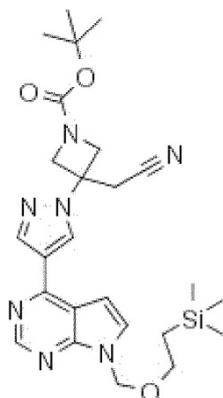
Etapa 1. 3-(cianometil)azetidina-1-carboxilato de terc-butilo



5 A una suspensión de hidruro de sodio (dispersión al 60 % en aceite mineral, 0,257 g, 6,42 mmol) en tetrahidrofurano (32 ml) a 0 °C bajo una atmósfera de nitrógeno se le añadió cianometilfosfonato de dietilo (1,19 g, 6,72 mmol) (adquirido de Aldrich). Después se agitó la reacción durante 45 minutos a temperatura ambiente. Una solución de 3-oxoazetidina-1-carboxilato de terc-butilo (1,00 g, 5,84 mmol) (adquirido de Alfa Aesar) en tetrahidrofurano (8,8 ml) se introdujo gota a gota y la mezcla se agitó durante 16 horas. Se añadieron salmuera y acetato de etilo y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con tres partes de acetato de etilo. Los extractos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron para dar el producto, usado sin purificación adicional en la etapa 2 (1,12 g, 99 %).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 5,38 (p, 1H), 4,73-4,68 (m, 2H), 4,64-4,59 (m, 2H), 1,46 (s, 9H).

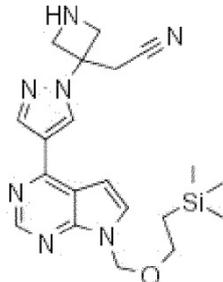
Etapa 2. 3-(cianometil)-3-[4-(7-[2-(trimetilsilil)etoxi]metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-1-carboxilato de terc-butilo



15 A una solución de 4-(1H-pirazol-4-il)-7-[2-(trimetilsilil)etoxi]metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (4,61 g, 14,6 mmol) (preparado de acuerdo con el procedimiento del documento WO 2007/070514 en el ejemplo 65, etapa 2) y 3-(cianometil)azetidina-1-carboxilato de terc-butilo (2,84 g, 14,6 mmol) en acetonitrilo (100 ml) se le añadió 1,8-diazabicyclo [5.4.0]undec-7-eno (2,19 ml, 14,6 mmol). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 16 horas. El acetonitrilo se retiró al vacío y el residuo se disolvió en acetato de etilo. Esta solución se lavó secuencialmente con HCl 1 N y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida, eluyendo con acetato de etilo al 80 %/hexanos para dar el producto deseado (5,36 g, 72 %).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 8,86 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 6,80 (d, 1H), 5,68 (s, 2H), 4,54 (d, 2H), 4,29 (d, 2H), 3,59-3,51 (m, 2H), 3,33 (s, 2H), 1,47 (s, 9H), 0,96-0,89 (m, 2H), -0,06 (s, 9H); CLEM (M+H) $^+$: 510,2.

Etapa 3. 3-[4-(7-[2-(trimetilsilil)etoxi]metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-ilacetonitrilo



5

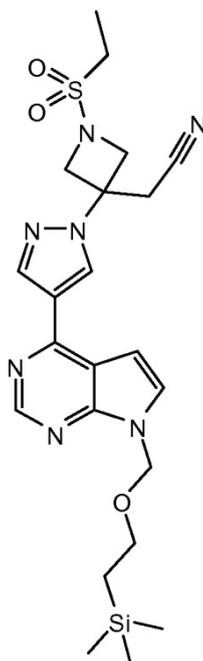
A una solución de 3-(cianometil)-3-[4-(7-[2-(trimetilsilil)etoxi]metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-1-carboxilato de terc-butilo (5,36 g, 10,5 mmol) en 1,4-dioxano (100 ml) se le añadió 4,00 M de cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (40 ml, 160 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La reacción se vertió en solución saturada de bicarbonato de sodio suficiente para neutralizar. El producto se extrajo con tres partes de acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para dar el producto que se usó sin purificación adicional (3,0 g, 69 %).

10

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8,85 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,41 (d, 1H), 6,80 (d, 1H), 5,68 (s, 2H), 4,30 (d, 2H), 3,88 (d, 2H), 3,58-3,51 (m, 2H), 3,42 (s, 2H), 0,96-0,89 (m, 2H), -0,06 (s, 9H); CLEM (M+H) $^+$: 410,2.

15

Etapa 4. 1-(etilsulfonil)-3-[4-(7-[2-(trimetilsilil)etoxi]metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-ilacetonitrilo



20

A una solución de 3-[4-(7-[2-(trimetilsilil)etoxi]metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-ilacetonitrilo (0,100 g, 0,244 mmol) en tetrahydrofurano (2 ml) que contenía N,N-diisopropiletilamina (0,085 ml, 0,49 mmol) se le añadió cloruro de etanosulfonilo (0,023 ml, 0,24 mmol). Después de agitar durante 1,5 horas, la mezcla de reacción se vertió en HCl diluido y se extrajo con tres partes de acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se decantaron y se concentraron para dar el producto, usado sin purificación adicional en la etapa 5 (111 mg, 91 %).

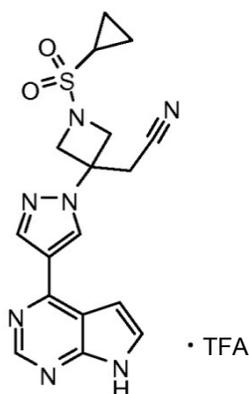
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 8,86 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,45 (d, 1H), 6,83 (d, 1H), 5,68 (s, 2H), 4,63 (d, 2H), 4,26 (d, 2H), 3,54 (t, 2H), 3,42 (s, 2H), 3,09 (c, 2H), 1,410,92 (m, 2H), -0,06 (s, 9H); CLEM (M+H) $^+$: 502,1.

Etapa 5. sal trifluoroacetato de 1-(etilsulfonil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-

25

ilacetonitrilo

- A una solución de 1-(etilsulfonyl)-3-[4-(7-[2-(trimetilsilil)etoxi]metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-ilacetoneitrilo (0,111 g, 0,22 mmol) en cloruro de metileno (3 ml) se le añadió ácido trifluoroacético (2 ml) y la solución se agitó durante 1,5 horas. Los disolventes se retiraron al vacío y el residuo se disolvió en metanol (3 ml) y etilendiamina (0,1 ml). Después de agitar durante 3 horas, el volumen se redujo al vacío y el producto se purificó por HPLC preparativa/EM (columna SunFire C18, eluyendo con un gradiente de MeCN/H₂O que contiene TFA al 0,1 %) para dar el producto como la sal de ácido trifluoroacético (50 mg, 47 %). RMN de ¹H (400 MHz, d₆-dmsó): δ □ 12,55 (d a, 1H), 9,03 (s, 1H), 8,83 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 7,79-7,75 (m, 1H), 7,24-7,19 (m, 1H), 4,59 (d, 2H), 4,26 (d, 2H), 3,71 (s, 2H), 3,25 (c, 2H), 1,24 (t, 3H); CLEM (M+H)⁺: 372,1.
- 10 Alternativamente, las etapas de desprotección y de sulfonilación se podrían realizar en el orden inverso, como en el ejemplo 2.

Ejemplo de referencia 2. sal del ácido 1-(ciclopropilsulfonyl)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-ilacetoneitrilo trifluoroacético

- 15 *Etapas 1. sal del ácido 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-ilacetoneitrilo trifluoroacético*



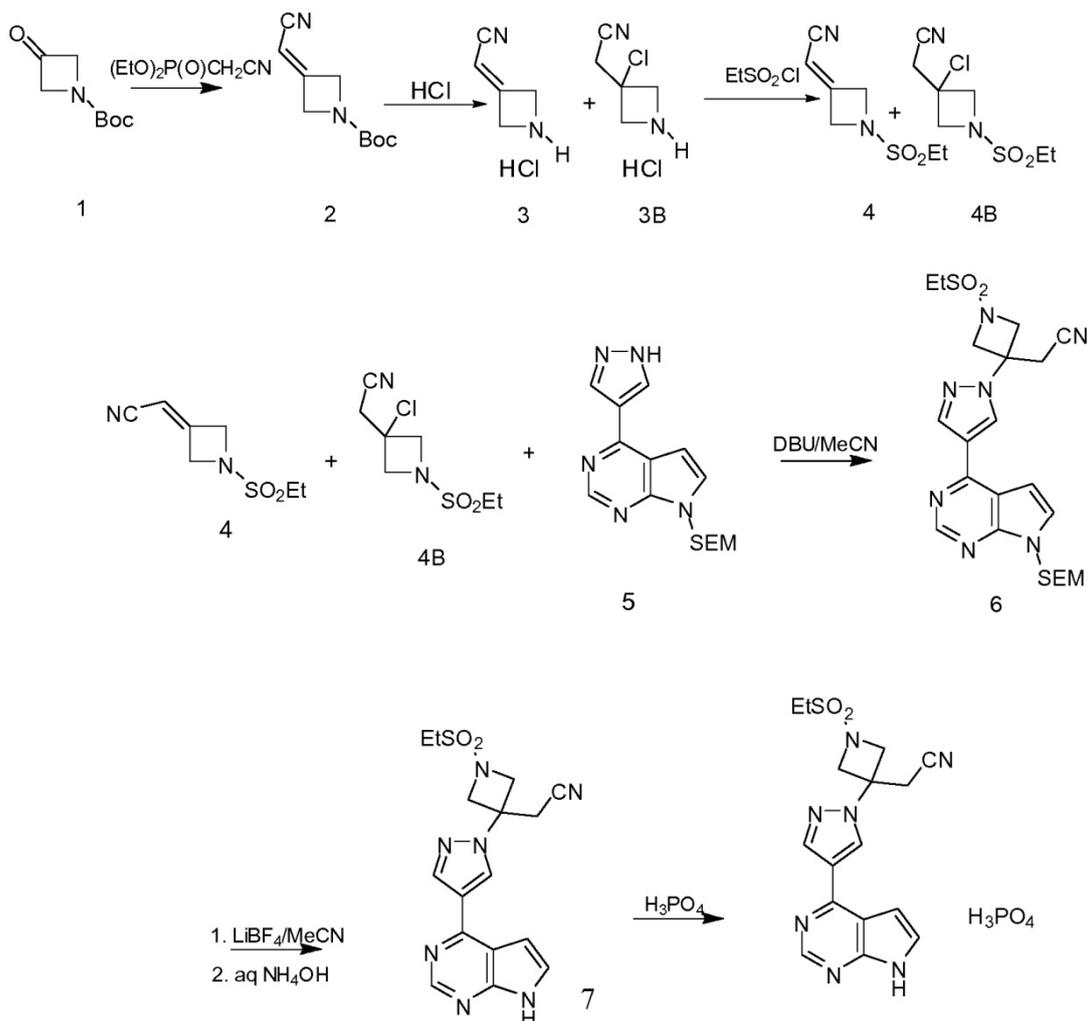
- Una solución de 3-(cianometil)-3-[4-(7-[2-(trimetilsilil)etoxi]metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-1-carboxilato de terc-butilo, preparado en el ejemplo 1, etapa 2 (0,60 g, 1,2 mmol) en ácido trifluoroacético (10 ml) y cloruro de metileno (40 ml) se agitó durante 5 horas. Los disolventes se retiraron al vacío y el residuo se agitó en una solución de metanol (40 ml) y 14,50 M de hidróxido de amonio en agua (10 ml) durante la noche. El disolvente se evaporó, el residuo se reconstituyó en metanol y se purificó por HPLC preparativa/EM (columna SunFire C18, eluyendo con un gradiente de MeCN/H₂O que contiene TFA al 0,1 %) para proporcionar el producto como la sal de ácido trifluoroacético (526 mg, 88 %).
- 20
- RMN de ¹H (400 MHz, d₆-dmsó): δ □ 12,36 (s a, 1H), 9,37 (s a, 1H), 9,15 (s a, 1H), 9,05 (s, 1H), 8,77 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 7,71 (dd, 1H), 7,14 (dd, 1H), 4,75-4,65 (m, 2H), 4,48-4,39 (m, 2H), 3,74 (s, 2H); CLEM (M+H)⁺: 280,1.
- 25

Etapas 2. sal trifluoroacetato de 1-(ciclopropilsulfonyl)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-ilacetoneitrilo

- A bis (trifluoroacetato) de 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-ilacetoneitrilo (0,400 g, 0,788 mmol) en tetrahidrofurano (38 ml) y trietilamina (0,55 ml, 3,9 mmol) se le añadió cloruro de ciclopropanosulfonyl (0,084 ml, 0,83 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante unas pocas horas con la adición periódica de cloruro de ciclopropanosulfonyl hasta que se consumió la amina de partida como se evidencia por CLEM. Para disolver los insolubles, se añadió metanol (0,16 ml). El THF se retiró al vacío y se usó MeOH para reconstituir la muestra para la purificación por HPLC preparativa/EM (columna SunFire C18, eluyendo con un gradiente de MeCN/H₂O que contiene TFA al 0,1 %) para dar el producto como la sal trifluoroacetato (193 mg, 49 %). RMN de ¹H (300 MHz, d₆-dmsó): δ □ 12,53 (s a, 1H), 9,05 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 7,76 (dd, 1H), 7,21
- 30
- 35

(dd, 1H), 4,65 (d, 2H), 4,31 (d, 2H), 3,70 (s, 2H), 2,90-2,80 (m, 1H), 1,07-0,97 (m, 4H); CLEM (M+H)⁺: 384,1.

Ejemplo 61. preparación a gran escala de sal de ácido {1-(etilsulfonil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo fosfórico



5 **Etapa 1 3-(cianometil)azetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (2).**

Se añadió fosfonato de dietilcianometilo (745 g, 4,20 mol, 1,20 equiv.) y THF anhidro (9 l) a un matraz con cuatro bocas equipado con termopozo, embudo de adición y tubo de protección de nitrógeno. La solución se enfrió con un baño de metanol en hielo a -14 °C y se le añadió una solución 1,0 M de *t*-BuOK en THF (3,85 l, 3,85 mol, 1,1 equiv.) durante 20 min manteniendo la temperatura <-5 °C. La mezcla se agitó durante 3 h a -10 °C y se le añadió una solución de 1-*tert*-butoxicarbonil-3-azetidínona (1, 600 g, 3,50 mol) en THF (2 l) durante 2 h, manteniendo la temperatura de reacción <-5 °C. La mezcla de reacción se agitó a -5 hasta -10 °C durante 1 hora y después se calentó lentamente hasta la temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después se diluyó la mezcla de reacción con agua (4,5 l) y salmuera saturada (4,5 l) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 9 l). Las capas orgánicas combinadas se combinaron y se lavaron con salmuera (6 l), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro. El disolvente orgánico se retiró a presión reducida, se diluyó con diclorometano (4 l) y se adsorbió sobre gel de sílice (1,5 kg). El producto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, 3,5 kg x 2), cada columna se eluyó con (8 l de heptano, 8 l de AcOEt al 5 %/heptano, 12 l de AcOEt al 10 %/heptano, 40 l de AcOEt al 25 %/heptano) para dar el 3-(cianometileno)azetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo puro (2, 414,7 g, 679,8 g teóricos, 61 % de rendimiento) como un sólido blanco. Para 2: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,46 (s, 9H), 4,62 (m, 2H), 4,72 (m, 2H), 5,41 (m, 1H).

Etapa 2. 2-(1-(etilsulfonil)azetidín-3-ilideno)acetónitrilo (4).

Se diluyó 3-(cianometil)azetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (2, 1,000 g, 5,2 mol) con acetonitrilo (7 l) y HCl acuoso 3 N (7 l). Esta mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Cuando la TLC mostró que la reacción se consideraba completa, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. Los sólidos residuales se suspendieron en acetonitrilo (12 l) y se enfriaron a 5 °C. Se añadió lentamente diisopropilamina (2,7

l, 15, 6 mol, 3 equiv.) a la suspensión manteniendo la temperatura <15 °C. La solución homogénea se dejó enfriar hasta 5 °C y se le añadió cloruro de etanosulfonilo (730 ml, 7,73 mol, 1,5 equiv.) durante 1 h, manteniendo la temperatura de reacción <15 °C. La solución resultante se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió la cantidad adicional de cloruro de etanosulfonilo (100 ml, 1,05 mol, 0,2 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h adicionales a temperatura ambiente. Después de que la reacción se considerara completa, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 4 l. Después, esta solución se colocó en un embudo de separación de 50 l, se diluyó con diclorometano (10 l) y se lavó con salmuera saturada (10 l). Se extrajo la fase acuosa con diclorometano (5 l). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se absorbieron en gel de sílice (1 kg) a presión reducida. El material se cargó entonces en una columna de gel de sílice (2,5 kg) y se eluyó con acetato de etilo al 20% en heptano (40 l), acetato de etilo al 40 % en heptano (80 l) y finalmente acetato de etilo al 60 % en heptano (40 l) para dar 2-(1-(etilsulfonil)azetidín-3-ilidén)acetonitrilo (**4**), 567 g, 968,4 g teóricos, 58,6 % de rendimiento) como un sólido blanquecino. Para **4**: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,38 (t, 3H), 3,05 (c, 2H), 4,72 (m, 2H), 4,79 (m, 2H), 5,41 (m, 1H); EM: *m/z* calc. 187,05; hallado: 187,1.

15 *Etapa 3. 2-(1-(etilsulfonil)azetidín-3-ilidén)acetonitrilo (4) y 2-(3-cloro-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)acetonitrilo (4b).*

Se añadió 3-(cianometilén)azetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2, 82 g, 0,42 mol) a THF (850 ml) y la solución resultante se enfrió hasta 0 °C antes de una solución de HCl 4 M en 1,4 dioxano (850 ml, 3,38 mol, 8,0 equiv.) durante 1 h manteniendo la temperatura <5 °C. La mezcla de reacción resultante se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Cuando la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se colocó a alto vacío durante 3 h adicionales antes de tratarla con THF (900 ml) y diisopropiltilamina (183 ml, 1,06 mol, 2,5 equiv.) a temperatura ambiente. Después, la solución resultante se enfrió hasta 0 °C y se le añadió cloruro de etanosulfonilo (56 ml, 0,59 mol, 1,4 equiv.) manteniendo la temperatura de reacción <5 °C. El baño de hielo se retiró y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Cuando la TLC indicó que la reacción estaba completa, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (1 l) y se lavó con salmuera saturada (1 l). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 500 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a presión reducida. El residuo se diluyó con diclorometano y se absorbió en gel de sílice (150 g). Esta mezcla se purificó por cromatografía en columna (1,5 kg de gel de sílice) eluyendo con heptano (4 l), EtOAc al 10 % en heptano (4 l), EtOAc al 20 % en heptano (8 l), EtOAc al 30 % en heptano (12 l) y finalmente con EtOAc al 40 % en heptano (12 l) para dar 2-(1-(etilsulfonil)azetidín-3-ilidén)acetonitrilo (**4**) y 2-(3-cloro-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)acetonitrilo (**4B**) como un sólido blanquecino (58,1 g, 68 % de rendimiento), que se encontró que era una mezcla aproximadamente uno a uno de compuesto **4** y **4B**. Para **4**: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,38 (t, 3H), 3,05 (c, 2H), 4,72 (m, 2H), 4,79 (m, 2H), 5,41 (m, 1H); EM: *m/z* calc. 187,05; hallado: 187,1. Para **4B**: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,38 (t, 3H), 3,05 (c, 2H), 3,1 (s, 2H), 4,15 (d, 2H), 4,37 (m, 2H); EM: *m/z* calc. 222,9; hallado: 222,9.

35 *Etapa 4. 2-(1-(etilsulfonil)-3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrol-2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidín-3-il)acetonitrilo (6).*

A una solución de 2-(1-(etilsulfonil)azetidín-3-ilidén)acetonitrilo (**4**) y 2-(3-cloro-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)acetonitrilo (**4B**) obtenido de la reacción previa como una mezcla aproximada de uno a uno (**4** y **4B**, 184 g, 919 mmol, 1,2 equiv.) y 4-(1H-pirazol-4-il)-7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrol-2,3-d]pirimidina (**5**, 241 g, 766 mmol) en acetonitrilo (6 l) se le añadió gota a gota DBU (137 ml, 919 mmol, 1,2 equiv.) durante 30 min a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción resultante durante la noche a temperatura ambiente. Cuando la reacción se consideró completa, se retiró el disolvente a presión reducida. El sólido resultante se disolvió en 6 l de acetato de etilo y 2 l de acetonitrilo a 40 °C y la solución se lavó con una mezcla de salmuera (3 l) y agua (1 l). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 1,6 l). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (1,6 l) y el disolvente se retiró a presión reducida. Se añadió tolueno (2 l) al residuo y la destilación azeotrópica se repitió a presión reducida. El residuo se trituró con MTBE (1,5 l, metil *t*-butil éter) y los sólidos se recogieron por filtración. El sólido marrón se disolvió completamente en acetato de etilo (3 l) a 50 °C antes de tratarse la solución con carbón vegetal (30 g) y gel de sílice (30 g). La mezcla de reacción se agitó a 45 °C durante 1 h antes de filtrarse en caliente a través de celite. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se trituró con MTBE (3 ml). Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con MTBE (1 l). Los sólidos entonces se disolvieron completamente en isopropanol (8,8 l) a 70 °C y la solución resultante se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente con agitación durante la noche. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con isopropanol (1,3 l) y heptano (2 x 490 ml), y se secaron en un horno durante la noche para dar 2-(1-(etilsulfonil)-3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrol-2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidín-3-il)acetonitrilo (**6**), 327 g, 384,3 g teóricos, 85 % de rendimiento) como un sólido blanquecino. Para **6**: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,00 (s, 9H), 0,99 (m, 2H), 1,49 (t, 3H), 3,15 (c, 2H), 3,49 (s, 2H), 3,60 (m, 2H), 4,30 (d, 2H), 4,70 (d, 2H), 5,76 (s, 2H), 6,83 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,90 (s, 1H); EM: *m/z* calc. 502,20; hallado: 502,3.

60 *Etapa 5. 2-(3-(4-(7H-pirrol-2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)acetonitrilo (7).*

A una solución de 2-(1-(etilsulfonil)-3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrol-2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidín-3-il)acetonitrilo (**6**, 327 g, 655 mmol) en acetonitrilo (3 l) y agua (300 ml) se le añadió LiBF₄ (614 g, 6,55 mol, 10,0 equiv.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 75°C durante la noche. La mezcla de reacción se

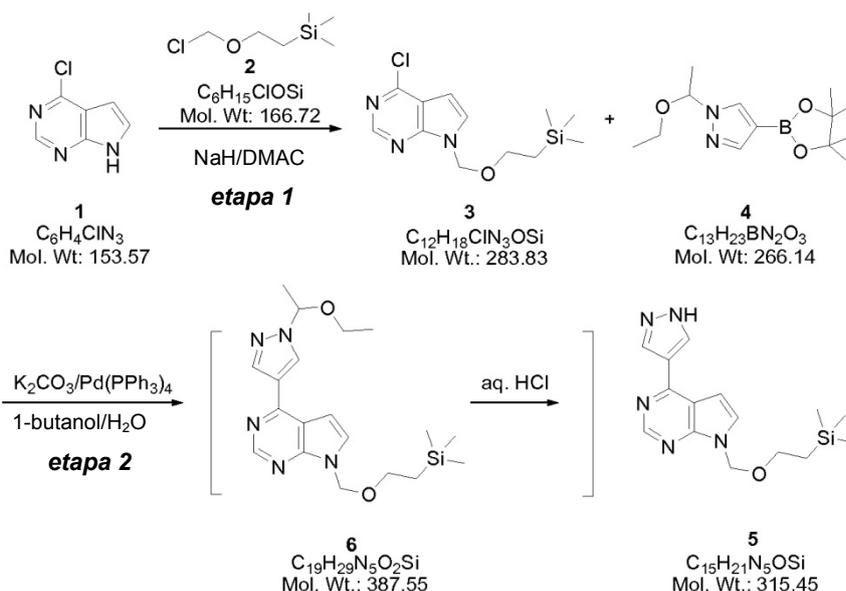
enfrió hasta 0 °C antes de añadir lentamente una solución de hidróxido de amonio (NH₄OH, 570 ml) en agua (2,2 l) para mantener la temperatura por debajo de 10 °C (pH 9-10). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Cuando la reacción se consideró completa, se le añadió agua (10 l) y la mezcla resultante se agitó vigorosamente durante 3 h a temperatura ambiente. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con agua (6,7 l) y heptano (6,7 l) y se secaron en horno de vacío a 45 °C durante el fin de semana. El sólido seco se disolvió entonces en MeOH al 20 % en diclorometano (12 l) y se purificó por cromatografía en columna sobre 1,3 kg de gel de sílice eluyendo con MeOH 20 % en solución de diclorometano (18 l) para dar 2-(3-(4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonyl)azetidín-3-il) acetónitrilo (7, 204 g, 243,3 g teóricos, 83,8 % de rendimiento) como un sólido blanquecino. Para 7: RMN de ¹H (300 MHz, d₆-DMSO) δ 1,25 (t, 3H), 3,25 (c, 2H), 3,75 (s, 2H), 4,25 (d, 2H), 4,65 (d, 2H), 7,10 (d, 1H), 7,65 (dd, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,95 (s, 1H), 12.2 (s a, 1H); EM: m/z calc. 372,12; hallado: 372,0.

Etapa 6. sal de ácido 2-(3-(4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonyl)azetidín-3-il)acetónitrilo fosfórico.

A una solución de 2-(3-(4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonyl)azetidín-3-il)acetónitrilo (7, 204 g, 550 mmol) en acetónitrilo (5,1 l) y etanol (1,6 l) se le añadió una solución de ácido fosfórico (67,4 g, 688 mmol, 1,25 equiv.) en etanol (800 ml) lentamente durante 30 min a 70 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C durante 2 h antes de enfriarse gradualmente hasta temperatura ambiente con agitación durante la noche. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con acetónitrilo (160 ml) y se secaron en horno de vacío a 45 °C durante 6 h para dar sal de ácido 2-(3-(4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin 4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonyl)azetidín-3-il)acetónitrilo fosfórico (240 g, 258,2 g teóricos, 93 % de rendimiento) como un sólido blanco. Para producto final: RMN de ¹H (300 MHz, d₆-DMSO) δ 1,25 (t, 3H), 3,25 (c, 2H), 3,75 (s, 2H), 4,20 (d, 2H), 4,61 (d, 2H), 7,10 (d, 1H), 7,60 (dd, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,95 (s, 1H), 12.2 (s a, 1H); EM: m/z calc. 372,12; hallado: 372,0.

Ejemplo 62. 4-cloro-7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina (3).

A un matraz equipado con una entrada de nitrógeno, un embudo de adición, un termopozo y el agitador mecánico, se le añadió 4-cloro-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina (1, 600 g, 3,91 mol) y N,N-dimetilacetimida (DMAC, 9,6 l) a temperatura ambiente. La mezcla se enfrió hasta 0-5 °C en un baño de hielo/salmuera antes de añadirle hidruro de sodio sólido (NaH, 60 % en peso, 174 g, 4,35 mol, 1,1 equiv.) en partes a 0-5 °C. La mezcla de reacción llegó a una solución oscura durante 15 minutos. Se añadió lentamente entonces cloruro de trimetilsililetoximetilo (2, SEM-Cl, 763 ml, 4,31 mol, 1,1 equiv.) mediante un embudo de adición a una velocidad que la temperatura interna de reacción no excediera de 5 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0-5 °C durante 30 minutos. Cuando la reacción se consideró completa, determinado por TLC y HPLC, la mezcla de reacción se inactivó con agua (1 l). La mezcla entonces se diluyó con agua (12 l) y TMBE (8 l). Las dos capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con MTBE (8 l). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 4 l) y salmuera (4 l) y se secaron sobre sulfato de sodio (Na₂SO₄). Los disolventes se retiraron a presión reducida. Después, el residuo se disolvió en heptano (2 l), se filtró y se cargó en una columna de gel de sílice (SiO₂, 3,5 kg) eluyendo con heptano (6 l), heptano al 95 %/acetato de etilo (12 l), heptano al 90 %/acetato de etilo (10 l) y finalmente heptano al 80 %/acetato de etilo (10 l). Las fracciones que contenían el producto deseado puro se combinaron y se concentraron a presión reducida para dar 4-cloro-7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina (3, 987 g, 1109,8 g teóricos, 88,9 % de rendimiento) como un aceite amarillo pálido que solidificó parcialmente a un sólido oleoso en reposo a temperatura ambiente. Para 3: RMN de ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) □ 8,67 (s, 1H), 7,87 (d, 1H, J = 3,8 Hz), 6,71 (d, 1H, J = 3,6 Hz), 5,63 (s, 2H), 3,50 (t, 2H, J = 7,9 Hz), 0,80 (t, 2H, J = 8,1 Hz), 1,24 (s, 9H) ppm; RMN de ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz) □□ 151,3, 150,8, 150,7, 131,5, 116,9, 99,3, 72,9, 65,8, 17,1, -1,48 ppm; C₁₂H₁₈ClN₃O₂Si (PM 283,83), CLEM (EI) m/e 284/286 (M⁺+ H).



Ejemplo 63. 4-(1H-pirazol-4-il)-7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina (5).

A un reactor equipado con el agitador suspendido, un condensador, un termopozo y una entrada de nitrógeno, se le cargó agua (H_2O , 9,0 l), carbonato de potasio sólido (K_2CO_3 , 4461 g, 32,28 mol, 2,42 equiv.), 4-cloro-7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina (3, 3,597 g, 12,67 mol), 1-(1-etoxietil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (4, 3,550 g, 13,34 mol, 1,05 equiv.) y 1-butanol (27 l) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se desgasificó tres veces volviendo a llenar con nitrógeno cada vez antes de tratarla con tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) ($Pd(PPh_3)_4$, 46 g, 0,040 mol, 0,003 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se calentó a reflujo suave (aproximadamente 90 °C) durante 1-4 horas. Cuando la reacción se consideró completa, determinada por HPLC, la mezcla de reacción se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente antes de filtrarla a través de un lecho de Celite. El lecho de Celite se lavó con acetato de etilo (2 x 2 l) antes de combinar los filtrados y la solución de lavado. Las dos capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (12 l). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para retirar los disolventes, y el producto en bruto 4-(1-(1-etoxietil)-1H-pirazol-4-il)-7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina (6) se cargó directamente de vuelta al reactor con tetrahidrofurano (THF, 4,2 l) para la reacción de desprotección posterior promovida con ácido sin purificación adicional.

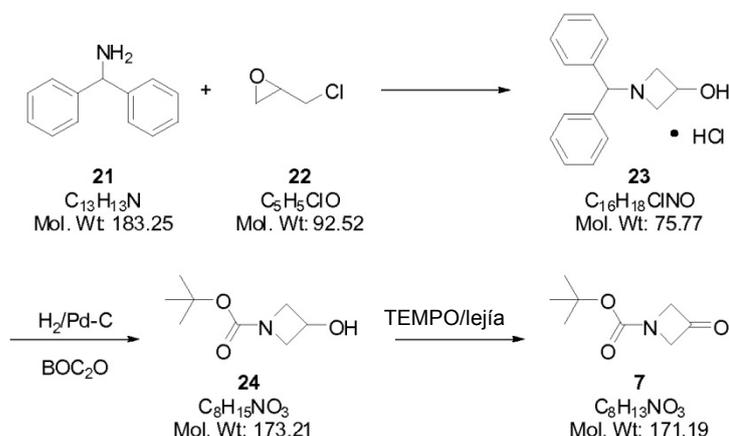
A una suspensión de 4-(1-(1-etoxietil)-1H-pirazol-4-il)-7-((2-(trimetilsilil)etoxi) metil)-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina (6), preparado como se describe anteriormente, en tetrahidrofurano (THF, 4,2 l) en el reactor se le cargó agua (H_2O , 20,8 l) y una solución acuosa de HCl al 10 % (16,2 l, 45,89 mol, 3,44 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agitó a 16-30 °C durante 2-5 h. Cuando la reacción se consideró completa por análisis HPLC, la mezcla de reacción se trató con una solución acuosa de hidróxido de sodio al 30 % (NaOH) (4 l, 50,42 mol, 3,78 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1-2 h. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua (2 x 5 l). La torta húmeda se cargó de nuevo al reactor con acetonitrilo (21,6 l) y la suspensión resultante se calentó a reflujo suave durante 1 - 2 h. Después, la solución transparente se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente con agitación, y los sólidos se precipitaron fuera de la solución con enfriamiento. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1-2 h adicionales. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con acetonitrilo (2 x 3,5 l) y se secaron en horno a presión reducida a 45 - 55 °C hasta un peso constante para dar 4-(1H-pirazol-4-il)-7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina (5, 3281,7 g, 3996,8 g teóricos, 82,1 % de rendimiento) como sólidos cristalinos blancos (99,5 % de área por HPLC). Para 5: RMN de 1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 13,41 (s a. , 1H), 8,74 (s, 1H), 8,67 (s a. , 1H), 8,35 (s a. , 1H), 7,72 (d, 1H, $J = 3,7$ Hz), 7,10 (d, 1H, $J = 3,7$ Hz), 5,61 (s, 2H), 3,51 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), 0,81 (t, 2H, $J = 8,2$ Hz), 0,13 (s, 9H) ppm; $C_{15}H_{21}N_5OSi$ (PM, 315,45), CLEM (EI) m/e 316 ($M^+ + H$).

Ejemplo 64. clorhidrato de 1-benzhidrilazetidín-3-ol (23).

Una solución de difenilmetanamina (21, 2,737 g, 15,0 mol, 1,04 equiv.) en metanol (MeOH, 6 l) se trató con 2-(clorometil)oxirano (22, 1,330 g, 14,5 mol) desde un embudo de adición a temperatura ambiente. Durante la adición inicial se observó una ligera endotermya. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 días antes de calentarla a reflujo durante 3 días adicionales. Cuando la TLC mostró que la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se enfrió primero hasta temperatura ambiente y luego hasta 0-5 °C en un baño de hielo. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con acetona (4 l) para dar el primer cultivo del producto deseado en bruto (23, 1,516 g). El filtrado se concentró a presión reducida y el semisólido resultante se diluyó con acetona (1 l). Después, este sólido se recogió por filtración para dar el segundo cultivo del producto deseado en

bruto (**23**, 221 g). El producto en bruto, clorhidrato de 1-benzhidrilazetidina-3-ol (**23**, 1,737 g, 3998,7 g teóricos, 43,4 % de rendimiento), se encontró que era suficientemente puro para usarlo en la reacción posterior sin purificación adicional. Para **23**: RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 12,28 (d a. , 1H), 7,7 (m, 5H), 7,49 (m, 5H), 6,38 (d, 1H), 4,72 (s a. , 1H), 4,46 (m, 1H), 4,12 (m, 2H), 3,85 (m, 2H) ppm; $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClNO}$ (base libre de **23**, $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}$ PM, 239.31), CLEM (EI) m/e 240 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

5



Ejemplo 65. 3-hidroxi-3-hidroxiacetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**24**).

Una suspensión de clorhidrato de 1-benzhidrilazetidina-3-ol (**23**, 625 g, 2,27 mol) en una solución al 10 % de carbonato de sodio acuoso (Na_2CO_3 , 5 l) y diclorometano (CH_2Cl_2 , 5 l) se agitó a temperatura ambiente hasta que se disolvieron todos los sólidos. Las dos capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (CH_2Cl_2 , 2 l). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio (Na_2SO_4) y se concentraron a presión reducida. Esta base libre en bruto resultante de **23** a continuación se disolvió en THF (6 l) y la solución se colocó en una bomba Parr grande. Se le añadió dicarbonato de di-*terc*-butilo (BOC_2O , 545 g, 2,5 mol, 1,1 equiv.) y paladio (Pd) al 20 % sobre carbono (125 g, 50 % de humedad) a la bomba Parr. El recipiente se cargó a 206,8 kPa (30 psi) con gas hidrógeno (H_2) y se agitó en atmósfera de hidrógeno constante (el recipiente se recargó tres veces para mantener la presión a 206, 8 kPa (30 psi)) a temperatura ambiente durante 18 h. Cuando la HPLC mostró que la reacción estaba completa (cuando no se recogía más hidrógeno), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite y la almohadilla de Celite se lavó con THF (4 l). Los filtrados se concentraron a presión reducida para retirar el disolvente y el residuo se cargó en una columna Biotage 150 con una cantidad mínima de diclorometano (CH_2Cl_2). La columna se eluyó con acetato de etilo al 20 - 50 % en heptano y las fracciones que contenían el producto deseado puro (**24**) se recogieron y se combinaron. Los disolventes se retiraron a presión reducida para dar 3-hidroxiacetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**24**, 357 g, 393,2 g teóricos, 90,8 % de rendimiento) como un aceite incoloro, que solidificó al dejarlo en reposo a temperatura ambiente al vacío. Para **24**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz), δ 4,56 (m 1H), 4,13 (m, 2H), 3,81 (m, 2H), 1,43 (s, 9H) ppm.

Ejemplo 66. 3-oxoacetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**7**).

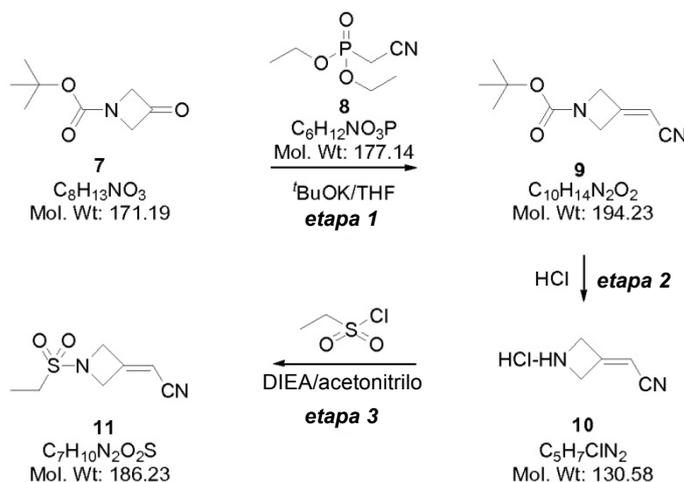
Una solución de 3-hidroxiacetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**24**, 50 g, 289 mmol) en acetato de etilo (400 ml) se enfrió hasta 0 °C. Después, la solución resultante se trató con TEMPO sólido (0,5 g, 3,2 mmol, 0,011 equiv.) y una solución de bromuro de potasio (KBr, 3,9 g, 33,2 mmol, 0,115 equiv.) en agua (60 ml) a 0-5 °C. Mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 0 - 5 °C se le añadió una solución de bicarbonato de sodio acuoso saturado (NaHCO_3 , 450 ml) y una solución acuosa de hipoclorito de sodio (NaClO , 10 - 13 % de cloro disponible, 450 ml). Una vez que se añadió la solución de hipoclorito de sodio, el color de la mezcla de reacción se cambió inmediatamente. Cuando se añadió una cantidad adicional de solución de hipoclorito de sodio, el color de la mezcla de reacción se desvaneció gradualmente. Cuando la TLC mostró que todo el material de partida se había consumido, el color de la mezcla de reacción ya no se cambió. La mezcla de reacción entonces se diluyó con acetato de etilo (EtOAc, 500 ml) y se separaron dos capas. La capa orgánica se lavó con agua (500 ml) y la solución de cloruro de sodio acuoso saturado (500 ml) y se secó sobre sulfato de sodio (Na_2SO_4). Después, el disolvente se retiró a presión reducida para dar el producto en bruto, 3-oxoacetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**7**, 48 g, 49,47 g teóricos, 97 % de rendimiento), que se encontró que era suficientemente puro y se usó directamente en la reacción posterior sin purificación adicional. Para **7** en bruto: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz), δ 4,65 (s, 4H), 1,42 (s, 9H) ppm.

Ejemplo 67. 3-(cianometil)azetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**9**).

Se añadió fosfonato de dietilcianometilo (**8**, 745 g, 4,20 mol, 1,20 equiv.) y tetrahidrofurano anhidro (THF, 9 l) a un matraz de cuatro bocas equipado con un termopozo, un embudo de adición y el tubo de protección de nitrógeno a temperatura ambiente. La solución se enfrió con un baño de hielo-metanol a -14 °C y se le añadió una solución de *terc*-butóxido de potasio (*t*-BuOK) en tetrahidrofurano anhidro (THF, 3,85 l, 3,85 mol, 1,1 equiv.) durante 20 min manteniendo la temperatura de reacción por debajo de -5 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 3

45

horas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se le añadió una solución de 1-*terc*-butoxicarbonil-3-azetidina (7, 600 g, 3,50 mol) en tetrahidrofurano anhidro (THF, 2 l) durante 2 h manteniendo la temperatura interna por debajo de $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. La mezcla de reacción se agitó a -5 hasta $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1 h y después se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después, la mezcla de reacción se diluyó con agua (4,5 l) y solución de cloruro sódico acuoso saturado (NaCl, 4,5 l) y se extrajo con acetato de etilo (EtOAc, 2 x 9 l). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (6 l) y se secaron sobre sulfato de sodio (Na_2SO_4) anhidro. El disolvente orgánico se retiró a presión reducida y el residuo se diluyó con diclorometano (CH_2Cl_2 , 4 l) antes de absorberlo en gel de sílice (SiO_2 , 1,5 kg). El producto en bruto, que se absorbió en gel de sílice, se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 , 3,5 kg, elución en gradiente de EtOAc al 0 - 25 %/ hexanos) para dar 3-(cianometil)azetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**9**, 414,7 g, 679,8 g teóricos, 61 % de rendimiento) como un sólido blanco. Para **9**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300MHz), δ 5,40 (m, 1H), 4,70 (m, 2H), 4,61 (m, 2H), 1,46 (s, 9H) ppm; $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ (PM, 194,23), CLEM (EI) *m/e* 217 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).



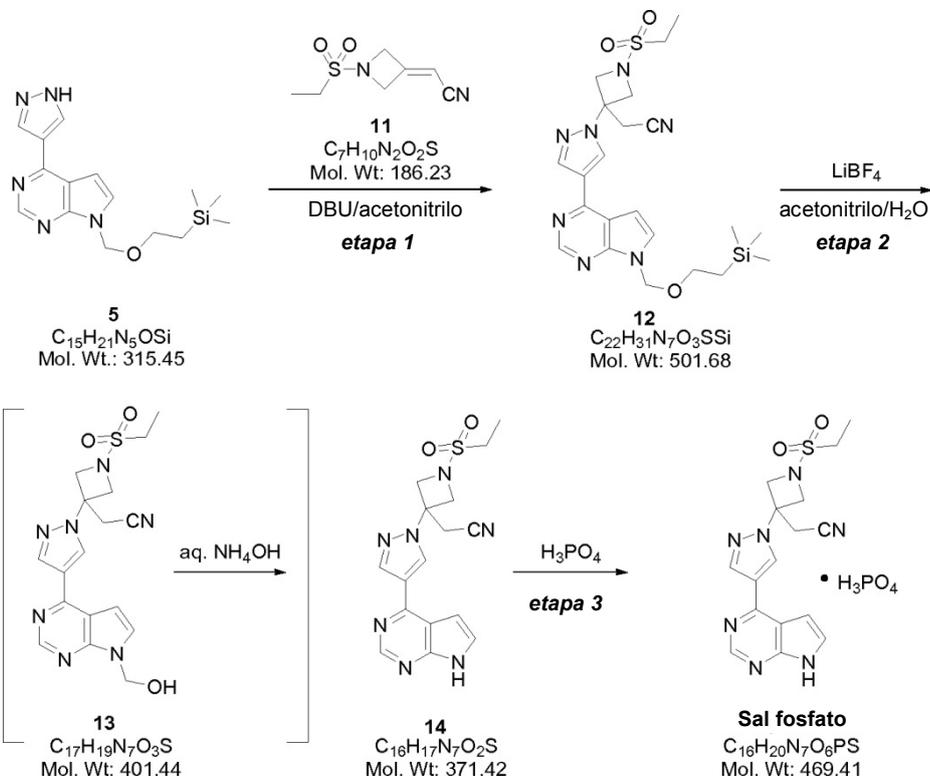
Ejemplo 68. 2-(1-(etilsulfonil)azetidina-3-iliden)acetonitrilo (**11**).

Una solución de 3-(cianometil)azetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**9**, 1000 g, 5,2 mol) en acetonitrilo (7 l) y una solución acuosa 3 N de HCl (7 l) se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Cuando la HPLC mostró que todo el material de partida (**9**) se había consumido, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida hasta sequedad. Después, el residuo, que contiene el producto de desprotección deseado en bruto (**10**), se suspendió en acetonitrilo (12 l) y la suspensión resultante se enfrió hasta $0-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Entonces se añadió lentamente diisopropiletilamina (DIEA, 3,14 l, 18,03 mol, 3,5 equiv.) manteniendo la temperatura interna por debajo de $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. La solución homogénea resultante se dejó enfriar hasta $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se le añadió cloruro de etanosulfonilo (ETSO_2Cl , 730 ml, 7,73 mol, 1,5 equiv.) durante 1 h manteniendo la temperatura interna por debajo de $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. La mezcla de reacción resultante se dejó calentar gradualmente hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Cuando la HPLC mostró que la reacción estaba completa, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 2 l. La temperatura del baño del evaporador rotativo está configurada para no exceder los $45\text{ }^{\circ}\text{C}$. A continuación, el residuo concentrado se diluyó con diclorometano (CH_2Cl_2 , 10 l) y la solución de diclorometano resultante se lavó con solución de cloruro de sodio acuoso (10 l). La fase acuosa se volvió a extraer con diclorometano (CH_2Cl_2 , 5 l). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) y el residuo se absorbió en gel de sílice (SiO_2 , 1 kg) a presión reducida. La temperatura del baño del evaporador rotativo estaba configurada para no exceder los $45\text{ }^{\circ}\text{C}$. El material se cargó entonces en una columna de gel de sílice (SiO_2 , 2,5 kg) y se eluyó con acetato de etilo al 20 - 60 % en heptano para dar 2-(1-(etilsulfonil)azetidina-3-iliden)acetonitrilo (**11**, 882 g, 968,4 g teóricos, 91 % de rendimiento) en forma de sólidos blanquecinos. Para **11**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ 5,46 (m, 1H), 4,77 (m, 2H), 4,70 (m, 2H), 3,05 (c, 2H), 1,39 (t, 3H) ppm; $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ (PM, 186.23), CLEM (EI) *m/e* 187 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

Ejemplo 69. 2-(1-(etilsulfonil)-3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidina-3-il)acetonitrilo (**12**).

Procedimiento A. A una suspensión de 4-(1H-pirazol-4-il)-7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (**5**, 440 g, 1,395 mol) y 2-(1-(etilsulfonil)azetidina-3-iliden)acetonitrilo (**11**, 312,4 g, 1,68 mol, 1,2 equiv.) en acetonitrilo (4,4 l) se le añadió gota a gota DBU (249,8 ml, 1,67 mol, 1,2 equiv.) para mantener la temperatura de reacción entre $15 - 25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Después de añadir DBU, la mezcla de reacción se volvió homogénea, pero apareció un precipitado en 30 min. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. Cuando la HPLC mostró que la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se inactivó con agua (11 l). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos adicionales y después se filtró. La torta sólida se lavó con agua (4 l), MTBE (2 l) y se secó en horno de vacío a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h para dar 2-(1-(etilsulfonil)-3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidina-3-il)acetonitrilo (**12**, 681 g, 699,8 g teóricos, 97,3 % de rendimiento)

como sólidos blancos, que se encontró que era suficientemente puro para la reacción posterior sin purificación adicional. Para 12: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz), δ 8,86 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,43 (d, 1H), 6,80 (d, 1H), 5,68 (s, 2H), 4,65 (d, 2H), 4,27 (d, 2H), 3,55 (s, 2H), 3,4 (t, 2H), 3,07 (m, 2H), 1,42 (m, 3H), 0,92 (m, 2H), -0,05 (s, 9H) ppm; $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_3\text{SSi}$ (PM, 501,68), CLEM (EI) *m/e* 502 ($\text{M}^+ + \text{H}$).



5

Ejemplo 70. 2-(3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)acetonitrilo (14).

Procedimiento A. A una solución de 2-(1-(etilsulfonil)-3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidín-3-il)acetonitrilo (**12**, 400 g, 797 mmol) en acetonitrilo (3,6 l) y agua (360 ml) se le añadió tetrafluoroborato de litio sólido (LiBF_4 , 747,5 g, 7,97 mol, 10,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se calentó hasta 80 °C y se agitó a 80 °C durante la noche. Cuando la HPLC mostró que la primera fase de desprotección estaba completa, lo que daba el intermedio hidroximetilo **13** correspondiente, la mezcla de reacción se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente y posteriormente hasta 0 °C. Se añadió lentamente una solución de hidróxido de amonio (NH_4OH acuoso al 28-30 %, 680 ml) en agua (2,7 l) a la mezcla de reacción para ajustar el pH a 9-10, manteniendo la temperatura interna por debajo de 10 °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Cuando la HPLC mostró que la segunda fase de desprotección estaba completa, se añadió la mezcla de reacción en agua (10 l), y la mezcla resultante se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 3 h. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con agua (8 l) y heptano (8 l) y se secaron en horno de convección a 35 °C durante el fin de semana. Los sólidos secos se disolvieron en MeOH al 20 % en diclorometano (16 l) antes de purificarlos por cromatografía de columna sobre 1,6 kg de gel de sílice (SiO_2). La columna se eluyó con MeOH al 20 % en solución de diclorometano (CH_2Cl_2 , 18 l) para dar 2-(3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)acetonitrilo (**14**, 239,5 g, 296,1 g teóricos, 80,9 % de rendimiento) como sólidos blanquecinos. Para 14: RMN de ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ 12,15 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,09 (d, 1H), 4,62 (d, 2H), 4,25 (d, 2H), 3,71 (s, 2H), 3,24 (c, 2H), 1,26 (t, 3H) ppm; $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_2\text{S}$ (PM, 371,42), CLEM (IE) *m* 372 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

20

Ejemplo 71. sal fosfato de 2-(3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)acetonitrilo

A una solución de 2-(3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)acetonitrilo (**14**, 471,2 g, 1268,6 mmol) en acetonitrilo (10,86 l) y etanol (3,75 l) se le añadió lentamente una solución acuosa al 85 % de ácido fosfórico (H_3PO_4 , 191,6 g, 1661,7 mmol, 1,31 equiv.) en etanol (EtOH, 1,68 l) durante 50 min a 70 °C. La mezcla de reacción resultante se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con acetonitrilo (500 ml). A continuación, la torta húmeda resultante se suspendió en etanol (EtOH, 7,0 l) antes de tratarla con una solución acuosa al 85 % de ácido fosfórico (H_3PO_4 , 95,1 g, 824,6 mmol, 0,65 equiv.) en etanol (EtOH, 1,23 l) a temperatura ambiente. Después, la mezcla resultante se calentó hasta reflujo y se agitó a reflujo durante 1 h antes de enfriarse lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Los sólidos se recogieron por filtración,

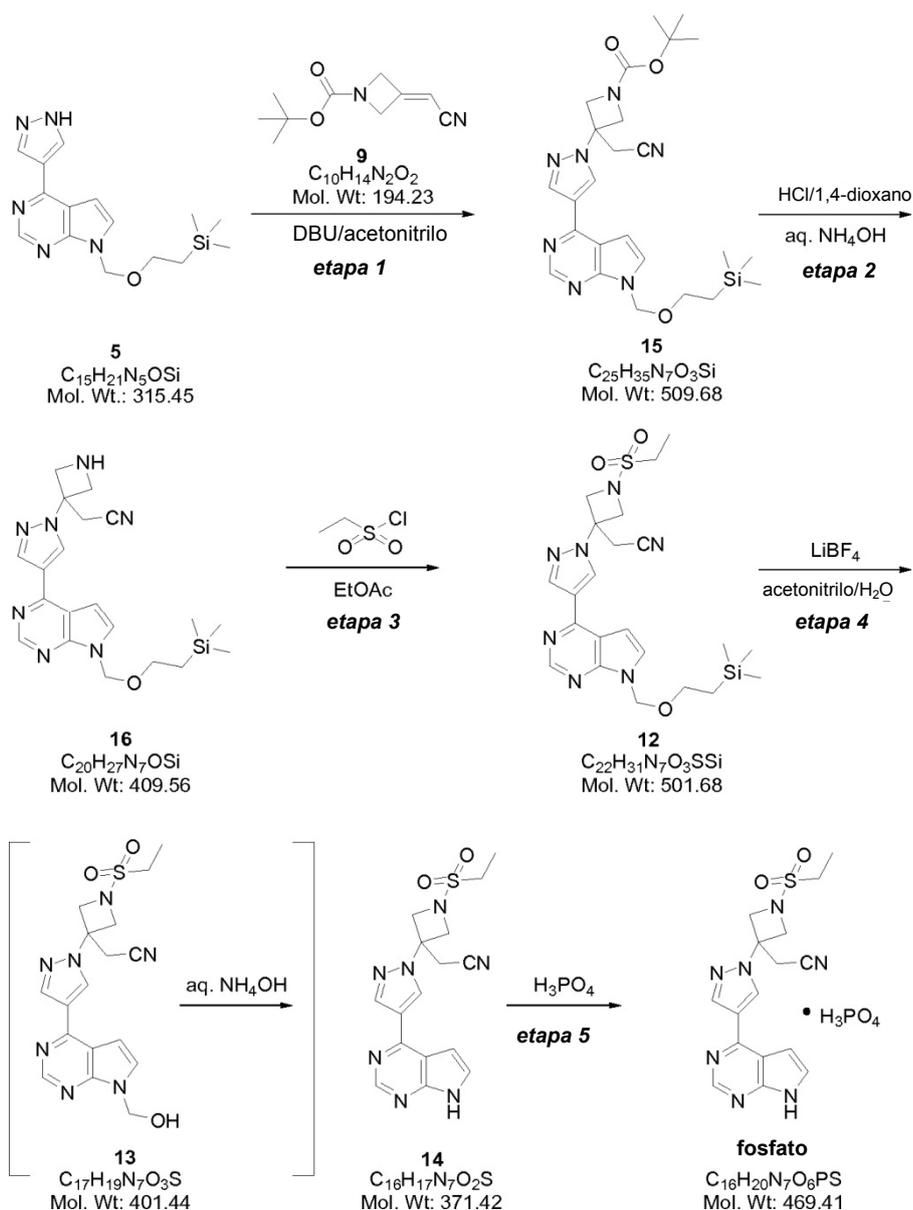
30

35

se lavaron con etanol (2 l) y heptano/etanol (2/1 v/v, 2,1 l) y se secaron en horno de vacío a 40 °C durante la noche para dar sal fosfato de 2-(3-(4-(7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il)-1*H*-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonil)azetidina-3-il)acetonitrilo (534,8 g, 595,5 g teóricos, 89,8 % de rendimiento) como sólidos cristalinos blancos. Para la **sal fosfato**: p.f.: 187 °C; análisis elemental para C₁₆H₂₀N₇O₆PS, Calc.: C, 40,94; H, 4,29; N, 20,89; Cl, 6,60; S, 6,83; hallado: C, 40,65; H, 4,22; N, 20,71; P, 6,53; S, 6,95; FTIR (vmáx, cm⁻¹): 3123 (-CH-), 2254 (CN), 1627 y 1441 (C=N heteroaromático), 1600 y 1559 (C=C heteroaromático), 1312 (-SO₂-); RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 12,19 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 7,62 (dd, 1H, *J* = 3,5, 2,3 Hz), 7,08 (dd, 1H, *J* = 3,6, 1,5 Hz), 4,60 (d, 2H, *J* = 9,3, 9,2 Hz), 4,23 (d, 2H, *J* = 9,3, 9,2 Hz), 3,69 (s, 2H), 3,23 (q, 2H, *J* = 7,2 Hz), 1,23 (t, 3H, *J* = 7,3 Hz) ppm; RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 152,3, 150,9, 149,4, 140,0, 129,7, 127,1, 122,2, 116,8, 113,1, 100,1, 58,6, 56,1, 43,3, 26,9, 7,5 ppm; C₁₆H₁₇N₂O₇S (base libre, PM, 371,42), CLEM (EI) *m* 372 (M⁺ + H).

Ejemplo 72. 3-(cianometil)-3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il)-1*H*-pirazol-1-il)azetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (15).

A una suspensión de 3-(cianometil)azetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (**9**, 417,2 g, 2,15 mol, 1,05 equiv.) y 4-(1*H*-pirazol-4-il)-7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (5, 645 g, 2,04 mol) en acetonitrilo (4,9 l) se le añadió gota a gota DBU (30,5 ml, 0,204 mol, 0,1 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agitó después a temperatura ambiente durante 3 h. Después de aproximadamente 1 h, se obtuvo una solución clara, de color marrón. Cuando la CLEM mostró que no quedaba material de partida, se le añadió de gel de sílice (SiO₂, 1 kg) y la mezcla se concentra hasta sequedad a presión reducida. Este material, que contiene el producto en bruto deseado (**15**), luego se cargó en una columna prerrellenada de sílice (SiO₂, 2,5 kg) y la columna se eluyó con un 60 - 80 % de acetato de etilo/heptano. Las fracciones que contenían el producto deseado puro (**15**) se combinaron y se concentraron a presión reducida para dar el producto deseado como un aceite espeso que después se agitó en heptano a temperatura ambiente hasta que se produjo la cristalización. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con heptano para dar 3-(cianometil)-3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-il)-1*H*-pirazol-1-il)azetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (**15**, 1014,9 g, 1039,7 g teóricos, 97,6 % de rendimiento) como sólidos blancos. Para 15: RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 8,93 (s, 1H), 8,77 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 7,80 (d, 1H, *J* = 3,8 Hz), 7,20 (d, 1H, *J* = 3,7 Hz), 5,63 (s, 2H), 4,50 (d, 2H, *J* = 9,3 Hz), 4,21 (d, 2H, *J* = 9,3 Hz), 3,66 (s, 2H), 3,52 (t, 2H, *J* = 7,8 Hz), 1,40 (s, 9H), 0,82 (t, 2H, *J* = 8,1 Hz), -0,12 (s, 9H) ppm; C₂₅H₃₅N₃O₇Si (PM, 509,68), CLEM (EI) *m/e* 510 (M⁺ + H) y 532 (M⁺ + Na).



Ejemplo 73. 2-(3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidina-3-il)acetronitrilo (16).

5 A una solución de 3-(cianometil)-3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (**15**, 389,6 g, 0,765 mol) en diclorometano (CH₂Cl₂, 7 l) se le añadió gota a gota una solución de cloruro de hidrógeno (HCl) en dioxano (4 M, 1,15 l, 4,6 mol, 6,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. Cuando la CLEM mostró que todo el material de partida se había consumido, la mezcla de reacción se transfirió en partes a un embudo de separación de 22 l que contenía hidróxido de amonio acuoso (NH₄OH, aproximadamente un 4 % v/v, 2,5 l). Se desprendió gas, pero el embudo permaneció frío al tacto. Se añadieron periódicamente cubitos de hielo como medida de precaución. Una vez que se añadió toda la mezcla de reacción, se continuó la agitación durante aproximadamente 15 min. Se encontró que el pH de la capa acuosa estaba cerca de 11. Las dos capas se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera (2 l), se secó sobre sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄) y se concentró a presión reducida hasta un volumen mínimo. Se añadió heptano (aproximadamente 3 l) al residuo y la suspensión resultante se concentró hasta sequedad a presión reducida para dar 2-(3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidina-3-il)acetronitrilo (**16**, 268,2 g, 313,3 g teóricos, 85,6 % de rendimiento) como un aceite naranja que se usó directamente para la reacción posterior sin purificación adicional. Para **16** en bruto: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,92 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 7,47 (d, 1H), 6,87 (d, 1H), 5,74 (s, 2H), 4,36 (d, 2H), 3,95 (d, 2H), 3,77 (s, 2H), 3,62 (t, 2H), 1,9 (s, 1H), 0,99 (t, 2H), 0,01 (s, 9H) ppm; C₂₀H₂₇N₇OSi (PM, 409,56), CLEM (EI) *m* 410 (M⁺ + H).

10

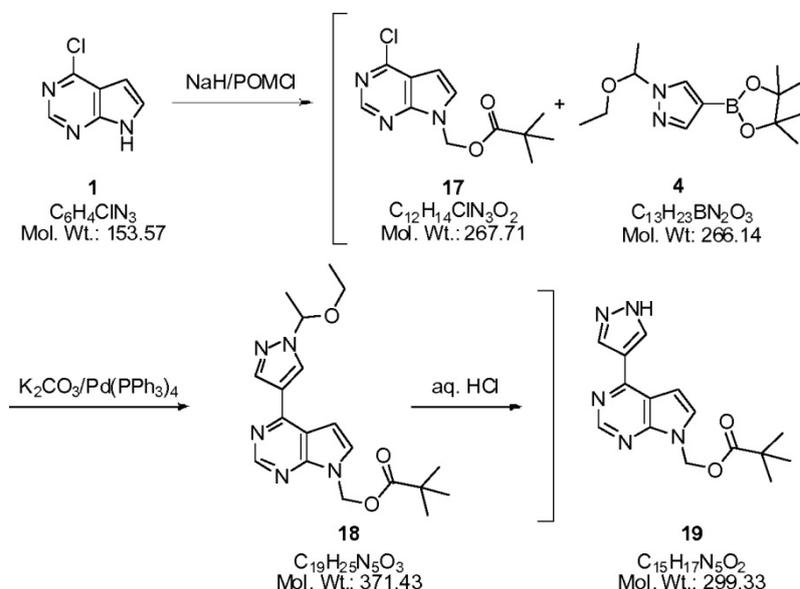
15

20

Ejemplo 75. 2-(1-(etilsulfonil)-3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-

il)azetidín-3-il)acetonitrilo (12).

Procedimiento B. A una solución de 2-(3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidín-3-il)acetonitrilo (**16**, 423,7 g, 1,03 mol) en acetato de etilo (EtOAc, 6,5 l) a 0-5 °C se le añadió gota a gota una solución de cloruro de etanosulfonilo (ETSO₂Cl, 117 ml, 1,23 mol, 1,2 equiv.) en acetato de etilo (110 ml). La mezcla de reacción resultante se dejó calentar gradualmente hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Cuando el análisis por CLEM mostró que no quedaba material de partida, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo de separación de 22 l y se lavó con agua (4 l), salmuera (2 l) y solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (NaHCO₃, 2 l). La capa acuosa combinada se extrajo de nuevo con acetato de etilo (EtOAc, 2l). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio (Na₂SO₄) y se concentraron a presión reducida. El material en bruto se purificó sobre gel de sílice eluyendo con diclorometano/acetato de etilo (100/0 a 0/100). Las fracciones que contenían el producto deseado puro (**12**) se combinaron y se concentraron a presión reducida hasta un volumen mínimo antes de ser tratarlas con heptano a temperatura ambiente. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con heptano para dar 2-(1-(etilsulfonil)-3-(4-(7-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidín-3-il)acetonitrilo (**12**, 397 g, 516,7 g teóricos, 76,8 % de rendimiento) como sólidos blancos, que se encontró que era idéntico al material preparado por el procedimiento A en todos los aspectos comparables. Para 12: RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz), δ 8,86 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,43 (d, 1H), 6,80 (d, 1H), 5,68 (s, 2H), 4,65 (d, 2H), 4,27 (d, 2H), 3,55 (s, 2H), 3,4 (t, 2H), 3,07 (m, 2H), 1,42 (m, 3H), 0,92 (m, 2H), - 0,05 (s, 9H) ppm; C₂₂H₃₁N₇O₃SSi (PM, 501,68), CLEM (EI) *m/e* 502 (M⁺ + H).

**Ejemplo 76. pivalato de [4-(1H-pirazol-4-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]metilo (19).**

A un matraz de fondo redondo de 3 l con 4 bocas, secado al horno, equipado con una barra de agitación, un tabique, un termopar, un embudo de adición de 500 ml y la entrada de nitrógeno, se le cargó hidruro de sodio sólido (NaH, 60 % en peso en aceite mineral, 32,82 g, 0,82 mol, 1,20 equiv.) y 1,2-dimetoxietano anhidro (DME, 500 ml, 4,8 mol) y la mezcla resultante se enfrió hasta 0-3 °C. A un matraz de fondo redondo de 1 l secado al horno se le cargó 4-cloro-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (**1**, 105,0 g, 0,684 mol) y 1,2-dimetoxietano (DME, 750 ml, 7,2 mol) y la suspensión resultante se añadió entonces en partes a la suspensión de hidruro de sodio en DME mediante una cánula de diámetro grande durante 30 minutos a 5 - 12 °C. La mezcla de reacción resultante era heterogénea. Después de la adición, el baño frío se retiró y la mezcla se calentó gradualmente hasta temperatura ambiente y se dejó agitar a temperatura ambiente durante 1 hora antes de enfriarla hasta 0-5 °C. Después se añadió gota a gota pivalato de clorometilo (cloruro de pivaloioximetilo, POM-Cl, 112 ml, 0,752 mol, 1,1 equiv.) a la mezcla de reacción durante 30 minutos con agitación a 0-5 °C. La adición de pivalato de clorometilo era ligeramente exotérmica y la temperatura de reacción llegó tan alta como 14 °C. Después de la adición de pivalato de clorometilo, el baño de refrigeración se retiró y la mezcla de reacción se dejó volver hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 90 min. Cuando la reacción se consideró completa después de confirmarse por HPLC, la mezcla de reacción se inactivó cuidadosamente con agua (100 ml) y esta mezcla de reacción inactivada, que contiene clorodesazapurina protegida con POM en bruto (**17**), se usó directamente en la posterior reacción de acoplamiento de Suzuki sin tratamiento adicional y purificación.

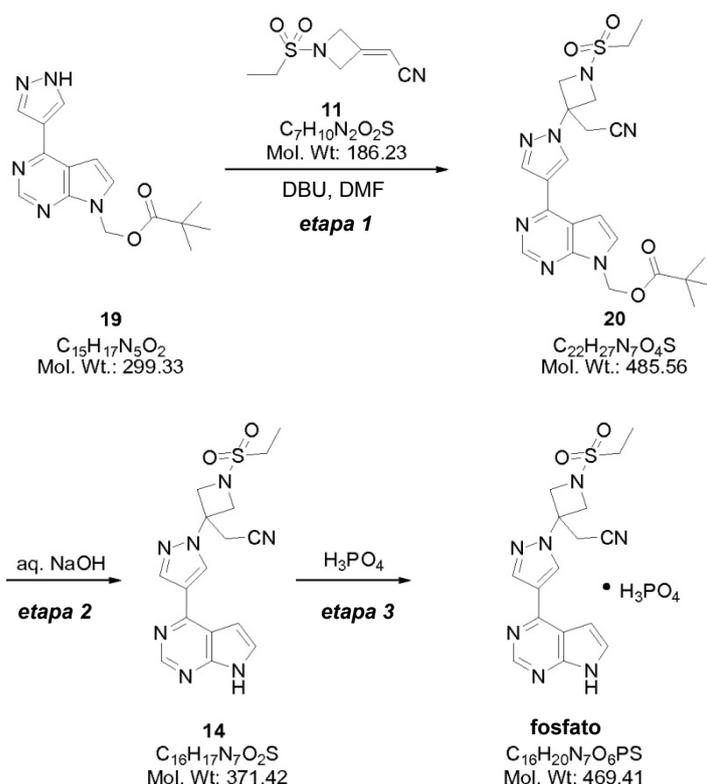
A la mezcla de reacción inactivada, que contiene clorodesazapurina protegida con POM en bruto (**17**) preparada como se describe anteriormente, se le añadió 1-(1-etoxietil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (**4**, 200 g, 0,75 mol, 1,10 equiv.) y carbonato de potasio sólido (K₂CO₃, 189 g, 1,37 mol, 2,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó pasando una corriente de nitrógeno a través de la solución durante 15

minutos antes de tratarla con tetraakis(trifenilfosfina)paladio (0) (Pd(PPh₃)₄, 7,9 g, 0,68 mmol, 0,01 equiv.) y la mezcla de reacción resultante se calentó a reflujo (aproximadamente 82 °C) durante 10 horas. Cuando la reacción se consideró completa por TLC (hexanos/acetato de etilo 1:1) y CLEM, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (2 l) y agua (1 l). Las dos capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (500 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 1 l) y salmuera (1 l) antes de concentrarlas a presión reducida para dar pivalato de {4-[1-(1-etoxietil)-1*H*-pirazol-4-il]-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-7-il]metilo (**18**) como un aceite amarillo pálido, que se usó directamente en la posterior reacción de desprotección sin purificación adicional.

Una solución de **18** en THF (1 l, 12,3 mol) se trató con una solución 4 N de HCl acuoso (500 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agitó posteriormente a temperatura ambiente durante 5 h. Cuando la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se enfrió hasta 0-5 °C antes de que el pH se ajustara a 9-10 con una solución acuosa de hidróxido sódico 1 M (NaOH) (2 l). Después, la mezcla se concentró a presión reducida para retirar la mayor parte del THF y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con agua (3 x 500 ml) y se secaron en horno de vacío para dar pivalato de [4-(1*H*-pirazol-4-il)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-7-il]metilo (**19**, 157,5 g, 204,43 g teóricos, 77 % de rendimiento para tres etapas) como sólidos blanquecinos, que se encontró que era suficientemente puro (> 98 % de área por HPLC) para hacer la posterior reacción sin purificación adicional. Para **19**: RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 13,42 (s a, 1H), 8,76 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 7,68 (d, 1H, *J* = 3,8 Hz), 7,11 (d, 1H, *J* = 3,8 Hz), 6,21 (s, 2H), 1,06 (s, 9H) ppm; RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 177,74, 152,31, 152,09, 151,91, 139,52, 130,39, 120,51, 113,93, 101,91, 67,26, 38,98, 27,26 ppm; C₁₅H₁₇N₅O₂ (PM, 299,33), CLEM (EI) *m/e* 300 (M⁺ + H).

Ejemplo 77. pivalato de (4-(1-(3-(cianometil)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)-1*H*-pirazol-4-il)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-7-il]metilo (20**).**

A una suspensión de pivalato de [4-(1*H*-pirazol-4-il)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-7-il]metilo (**19**, 10,0 g, 33,4 mmol) y 2-(1-(etilsulfonil)azetidín-3-ilidén)acetonitrilo (**11**, 6,22 g, 33,4 mmol, 1,0 equiv.) en *N,N*-dimetilformamida (DMF, 20 ml) se le añadió gota a gota DBU (254 mg, 1,67 mmol, 0,05 equiv.) para mantener la temperatura de reacción entre 15 - 25 °C. Después de añadir DBU, la mezcla de reacción se volvió homogénea en 90 min. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. Cuando la HPLC mostró que la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se inactivó con agua (120 ml) y acetonitrilo (80 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min adicionales. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con una mezcla de acetonitrilo y agua (2/3 en volumen, 2 x 20 ml) y se secaron en horno de vacío a 40 - 45 °C durante 24 h para dar pivalato de (4-(1-(3-(cianometil)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)-1*H*-pirazol-4-il)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-7-il]metilo en bruto (**20**, 14,5 g, 16,2 g teóricos, 89,5 % de rendimiento) como sólidos blancos, que se encontró que era suficientemente puro (> 98,0 % por HPLC) para la posterior reacción sin purificación adicional. Para **20**: RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz), δ 8,87 (s, 1H), 8,43 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 7,51 (d, 1H, *J* = 3,6 Hz), 6,76 (d, 1H, *J* = 3,6 Hz), 6,26 (s, 2H), 4,64 (d, 2H, *J* = 9,6 Hz), 4,25 (d, 2H, *J* = 9,6 Hz), 3,41 (s, 2H), 3,09 (c, 2H, *J* = 7,6 Hz), 1,42 (t, 3H, *J* = 7,6 Hz), 1,17 (s, 9H) ppm; C₂₂H₂₇N₄O₇S (PM, 485,56), CLEM (EI) *m/e* 486 (M⁺ + H).

**Ejemplo 78. 2-(3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)acetonitrilo (14).**

Procedimiento B. Una suspensión de pivalato de (4-(1-(3-(cianometil)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)-1H-pirazol-4-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il)metilo (**20**, 1,0 g, 2,06 mmol) en metanol (MeOH, 5 ml) y tetrahidrofurano (THF, 20 ml) se trató con una solución 1 M acuosa de hidróxido de sodio (NaOH, 2,3 ml, 2,3 mmol, 1,12 equiv.) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2-3 h. Cuando la HPLC mostró que la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se inactivó con agua (10 ml) y una solución acuosa de HCl 1 N (0,2 ml) para ajustar el pH a 7 - 7,5 a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min antes de recoger los sólidos por filtración. Los sólidos se lavaron con una mezcla de acetonitrilo y agua (2/3 en volumen, 2 x 4 ml) y se secaron al vacío a 40 - 45 °C durante 24 h para dar 2-(3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)acetonitrilo (**14**, 658 mg, 765 mg teóricos, 86 % de rendimiento) como sólidos blanquecinos, que encontró que era idéntico al material preparado por el procedimiento A. Para **14** en bruto: RMN de ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) δ 12,15 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,09 (d, 1H), 4,62 (d, 2H), 4,25 (d, 2H), 3,71 (s, 2H), 3,24 (c, 2H), 1,26 (t, 3H) ppm; C₁₆H₁₇N₇O₂S (PM, 371,42), CLEM (IE) m/e 372 (M+ + H).

Procedimiento C. De forma alternativa, una suspensión de pivalato de (4-(1-(3-(cianometil)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)-1H-pirazol-4-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il)metilo (**20**, 10,0 g, 20,6 mmol) e hidróxido de litio monohidrato (2,59 g, 61,8 mmol) en acetonitrilo (CH₃CN 40 ml) y alcohol isopropílico (10 ml) se calentó a 45 - 50 °C durante 6 horas. Cuando la HPLC mostró que la reacción se consideró completa, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se le añadió una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 M (41 ml) para ajustar el pH a 6 - 7 a una temperatura por debajo de 25 °C. Después de la adición de ácido, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y los precipitados se aislaron por filtración. La torta húmeda se lavó con agua (50 ml) y se secó al horno de vacío a 50 °C para dar 2-(3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(etilsulfonil)azetidín-3-il)acetonitrilo en bruto (14, 6,0 g, 7,65 g teóricos, 78 % de rendimiento) como sólidos blanquecinos, que se encontró que era idéntico al material preparado por el procedimiento A.

Ejemplo A: Ensayo *in vitro* de cinasa JAK

El compuesto del presente documento se sometió a prueba para la actividad inhibidora de dianas JAK de acuerdo con el siguiente ensayo *in vitro* descrito en Park et al., Analytical Biochemistry 1999, 269, 94-104. Los dominios catalíticos de JAK1 humana (aa 837-1142), JAK2 (aa 828-1132) y JAK3 (aa 781-1124) con una marca His N-terminal se expresaron usando baculovirus en células de insecto y se purificaron. La actividad catalítica de JAK1, JAK2 o JAK3 se ensayó midiendo la fosforilación de un péptido biotinilado. El péptido fosforilado se detectó por fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo (HTRF). Se midieron las CI₅₀ de los compuestos para cada cinasa en las reacciones que contienen la enzima, ATP y péptido 500 nM en tampón Tris 50 mM (pH 7,8) con NaCl 100 mM, DTT 5 mM, y 0,1 mg/ml de BSA (0,01 %). La concentración de ATP en las reacciones fue 90 μM para Jak1, 30 μM para Jak2 y 3 μM para Jak3. Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente durante 1 h y luego se

detuvieron con 20 μ l de EDTA 45 mM, SA-APC 300 nM, Eu-PY20 6 nM en tampón de ensayo (Perkin Elmer, Boston, MA). La unión al anticuerpo marcado con europio tuvo lugar durante 40 minutos y la señal de HTRF se midió en un lector de placa Fusion (Perkin Elmer, Boston, MA). Se encontró que el compuesto del ejemplo 1 tenían un valor de CI_{50} de menos de 60 nM para al menos uno de JAK1, JAK2 y JAK3.

5 Ejemplo B: Ensayos celulares

El compuesto del presente documento se puede someter a prueba para la actividad inhibidora de dianas JAK de acuerdo con al menos uno de los siguientes ensayos celulares.

10 Líneas celulares cancerosas dependientes de citocinas y, por lo tanto, de la transducción de señales de JAK/STAT, para el crecimiento, se sembraron a 6000 células por pocillo (formato de placa de 96 pocillos) en RPMI 1640, FBS al 10 % y 1 ng/ml de la citocina apropiada. El compuesto se añadió a las células en DMSO/medio (concentración final de DMSO al 0,2 %) y se incubaron durante 72 horas a 37 °C, 5 % de CO_2 . El efecto del compuesto sobre la viabilidad celular se evaluó usando el ensayo de viabilidad celular CellTiter-Glo Luminescent (Promega) seguido de cuantificación TopCount (Perkin Elmer, Boston, MA). Los posibles efectos fuera de la diana de los compuestos se midieron en paralelo usando una línea celular no dirigida por JAK con la misma lectura del ensayo. Todos los
15 experimentos se realizaron por duplicado.

Las líneas celulares anteriores también se pueden usar para examinar los efectos del compuesto sobre la fosforilación de las cinasas JAK o posibles sustratos corriente abajo tales como proteínas STAT, Akt, SHP2 o Erk. Estos experimentos se pueden realizar después de una privación de citocinas durante la noche, seguido de una
20 breve preincubación con el compuesto (2 horas o menos) y estimulación de citocinas de aproximadamente 1 hora o menos. Las proteínas se extraen entonces de las células y se analizan por técnicas familiares para los versados en la técnica incluyendo transferencia de Western o ELISA usando anticuerpos que pueden diferenciar entre la proteína fosforilada y total. Estos experimentos pueden utilizar células normales o cancerosas para investigar la actividad de los compuestos sobre la biología de supervivencia de las células tumorales o sobre mediadores de enfermedad inflamatoria. Por ejemplo, con respecto a lo último, se pueden usar citocinas tales como IL-6, IL-12, IL-23 o IFN para
25 estimular la activación de JAK produciendo fosforilación de una o más proteínas STAT y potencialmente perfiles de transcripción (evaluado por matriz o tecnología qPCR) o la producción y/o secreción de proteínas, tales como IL-17. La capacidad del compuesto de inhibir estos efectos mediados por citocinas se puede medir usando técnicas comunes para los versados en la técnica.

El compuesto del presente documento también puede someterse a prueba en modelos celulares diseñados para
30 evaluar su potencia y actividad contra JAK mutantes, por ejemplo, la mutación JAK2V617F encontrada en trastornos proliferativos mieloides. Estos experimentos a menudo utilizan células dependientes de citocinas de linaje hematológico (por ejemplo, BaF/3) en el que las cinasas JAK naturales o mutantes se expresan de forma ectópica (James, C., et al. Nature 434: 1144-1148; Staerk, J., et al. PNAS 280:41893-41899). Los puntos finales incluyen los efectos de los compuestos sobre la supervivencia celular, la proliferación y las proteínas JAK, STAT, Akt, o Erk fosforiladas.
35

El compuesto del presente documento se puede evaluar por su actividad inhibidora de la proliferación de linfocitos T. Dicho ensayo se puede considerar un ensayo de proliferación dirigido por una segunda citocina (es decir, JAK) y también un ensayo de simplista de la supresión inmunitaria o inhibición de la activación inmunitaria. Lo siguiente es un breve resumen del modo en que pueden realizarse dichos experimentos. Se preparan células mononucleares de
40 sangre periférica (PBMC) a partir de muestras de sangre completa humana usando el procedimiento de separación con Ficoll Hypaque y pueden obtenerse linfocitos T (fracción 2000) a partir de las PBMC por elutriación. Los linfocitos T humanos recién aislados se pueden mantener en medio de cultivo (RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal al 10 %, 100 U/ml de penicilina, 100 mg/ml de estreptomina) a una densidad de 2×10^6 células/ml a 37 °C durante un máximo de 2 días. Para análisis de proliferación celular estimulada por IL-2, primer se tratan linfocitos
45 T con fitohemaglutinina (PHA) a una concentración final de 10 mg/ml durante 72 h. Después de lavar una vez con PBS, se siembran 6000 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se tratan con compuestos a diferentes concentraciones en el medio de cultivo en presencia de 100 U/ml de IL-2 (ProSpec-Tany TechnoGene; Rehovot, Israel). Las placas se incuban a 37 °C durante 72 h y se evalúa el índice de proliferación usando reactivos de CellTiter-Glo Luminescent siguiendo el protocolo sugerido por el fabricante (Promega; Madison, WI).

50 Ejemplo C: Eficacia antitumoral *in vivo*

El compuesto del presente documento se puede evaluar en modelos de xenoinjerto de tumores humanos en ratones inmunodeprimidos. Por ejemplo, una variante tumorigénica de la línea celular de plasmacitoma INA-6 se puede usar para inocular ratones SCID por vía subcutánea (Burger, R., et al. Hematol J. 2:42-53, 2001). Los animales
55 portadores de tumores se pueden asignar aleatoriamente en grupos de tratamiento con fármaco o vehículo y las diferentes dosis de los compuestos se pueden administrar por cualquiera de varias rutas habituales incluyendo infusión oral, i.p. o continua usando bombas implantables. Se hace seguimiento del crecimiento tumoral en el tiempo usando calibres. Además, las muestras de tumores se pueden recoger en cualquier momento después del inicio del tratamiento para el análisis como se describe anteriormente (ejemplo B) para evaluar los efectos del compuesto sobre la actividad de JAK y las rutas de señalización corriente abajo. Además, la selectividad del compuesto o

compuestos se puede evaluar usando modelos de tumores de xenoinjerto que está dirigidos por otras cinasas conocidas (por ejemplo, Bcr-Abl), tal como el modelo de tumor K562.

Ejemplo D: Prueba de respuesta de hipersensibilidad retardada por contacto con piel murina

5 El compuesto del presente documento también se puede someter a prueba para su eficacia (de inhibir dianas de JAK) en el modelo murino de prueba de hipersensibilidad retardada dirigida por linfocitos T. La respuesta de hipersensibilidad de tipo retardado (DTH) por contacto con piel murina se considera que es un modelo válido de dermatitis clínica por contacto y otros trastornos inmunitarios de la piel mediados por linfocitos T, tales como psoriasis (Immunol Today. 1998 Ene;19(1): 37-44). La DTH murina comparte múltiples características con la psoriasis, incluyendo el infiltrado inmunitario, el consiguiente aumento en las citocinas inflamatorias y la hiperproliferación de queratinocitos. Además, muchas clases de agentes que son eficaces en el tratamiento de la psoriasis en clínica también son inhibidores eficaces de la respuesta DTH en ratones (Agents Actions. 1993 Ene; 38(1-2): 116-21).

15 En el día 0 y 1, los ratones Balb/c se sensibilizan con una aplicación tópica, a su abdomen afeitado con el antígeno 2,4, dinitro-fluorobenceno (DNFB). En el día 5, las orejas se miden para el grosor usando un micrómetro de ingeniero. Esta medición se registra y se usa como un valor de referencia. Ambas orejas de los animales a continuación se expusieron por una aplicación tópica de DNFB en un total de 20 µl (10 µl en el pabellón auditivo interno y 10 µl en el pabellón auditivo externo) a una concentración del 0,2 %. Veinticuatro a setenta y dos horas después de la exposición, las orejas se midieron de nuevo. El tratamiento con los compuestos de prueba se administraron a lo largo de las fases de sensibilización y exposición (día -1 al día 7) o antes y durante la fase de exposición (habitualmente la tarde del día 4 al día 7). El tratamiento de los compuestos de prueba (en diferentes concentraciones) se administró de forma sistémica o tópica (aplicación tópica del tratamiento para los oídos). La eficacia de los compuestos de prueba se indica mediante una reducción de la hinchazón de la oreja en comparación con la situación sin el tratamiento. Los compuestos que provocaban una reducción de un 20 % o más se consideraron eficaces. En algunos experimentos, los ratones se expusieron pero no se sensibilizaron (control negativo).

25 El efecto inhibitor (inhibición de la activación de las rutas de JAK-STAT) del compuesto de prueba se puede confirmar por análisis inmunohistoquímico. La activación de la ruta o rutas de JAK-STAT produce la formación y la traslocación de factores de transcripción funcionales. Además, la afluencia de células inmunitarias y la proliferación aumentada de queratinocitos también deben proporcionar cambios únicos del perfil de expresión en el oído que se pueden investigar y cuantificar. Secciones del oído fijadas con formalina e incrustadas en parafina (recogidas después de la fase de exposición en el modelo DTH) se someten a análisis inmunohistoquímico usando un anticuerpo que interacciona específicamente con STAT3 fosforilado (clon 58E12, Cell Signaling Technologies). Las orejas de ratón se tratan con los compuestos de prueba, vehículo o dexametasona (un tratamiento clínicamente eficaz para la psoriasis) o sin ningún tratamiento, en el modelo DTH para las comparaciones. Los compuestos de prueba y la dexametasona pueden producir cambios transcripcionales similares tanto cualitativa como cuantitativamente, y tanto los compuestos de prueba como la dexametasona pueden reducir el número de células infiltrantes. Tanto la administración sistémica como la tópica del compuesto de prueba puede producir efectos inhibidores, es decir, la reducción en el número de células infiltrantes y la inhibición de los cambios transcripcionales.

Ejemplo E: Actividad antiinflamatoria *in vivo*

40 El compuesto del presente documento se puede evaluar en modelos de roedores o no roedores diseñados para replicar una respuesta de inflamación simple o compleja. Por ejemplo, los modelos de roedores de artritis se pueden usar para evaluar el potencial terapéutico de los compuestos dosificados de forma preventiva o terapéutica. Estos modelos incluyen, pero no se limitan a artritis inducida por colágeno en ratón o rata, artritis inducida por adyuvante en rata y artritis inducida por anticuerpos contra colágeno. Las enfermedades autoinmunitarias que incluyen, pero no se limitan a, esclerosis múltiple, diabetes mellitus tipo I, uveorretinitis, tiroiditis, miastenia grave, nefropatías por inmunoglobulina, miocarditis, sensibilización de las vías respiratorias (asma), lupus o colitis también se pueden usar para evaluar el potencial terapéutico de compuestos del presente documento. Estos modelos están bien establecidos en la comunidad de investigación y son familiares para los versados en la técnica (Current Protocols in Immunology, Vol 3., Coligan, J.E. et al., Wiley Press.; Methods in Molecular Biology: Vol. 225, Inflammation Protocols., Winyard, P.G. y Willoughby, D.A., Humana Press, 2003.).

Ejemplo F: Modelos animales para el tratamiento de xerosis oftálmica, uveítis y conjuntivitis

55 El compuesto se puede evaluar en uno o más modelos preclínicos de xerosis oftálmica conocidos para los versados en la técnica incluyendo, pero no limitados a, el modelo de glándula lagrimal de concaivalina A (ConA) de conejo, el modelo de escopolamina de ratón (subcutánea o transdérmica), el modelo dev glándula lagrimal de ratón de Botulinum o cualquiera de varios modelos autoinmunitarios de roedores espontáneos que producen disfunción de las glándulas oculares (por ejemplo NOD-SCID, MRL/lpr o NZB/NZW) (Barabino et al., Experimental Eye Research 2004, 79, 613-621 y Schrader et al., Developmental Ophthalmology, Karger 2008, 41, 298-312, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). Los puntos finales en estos modelos pueden incluir la histopatología de las glándulas oculares y el ojo (córnea, etc.) y, posiblemente, la prueba de

Schirmer clásica o versiones modificadas de la misma (Barabino et al.) que miden la producción de lágrimas. La actividad se puede evaluar por dosificación a través de múltiples rutas de administración (por ejemplo, sistémicas o tópicas) que puede comenzar antes o después de que exista enfermedad medible.

5 El compuesto se puede evaluar en uno o más modelos preclínicos de uveítis conocidos para los versados en la técnica. Estos incluyen, pero no se limitan a, modelos de uveítis autoinmunitaria experimental (EAU) y uveítis inducida por endotoxina (EIU). Los experimentos de EAU se pueden realizar en conejo, rata o ratón y pueden implicar inmunización pasiva o activa. Por ejemplo, se puede usar cualquiera de varios antígenos de la retina para sensibilizar a los animales a un inmunógeno relevante después de lo cual los animales se pueden exponer de forma ocular con el mismo antígeno. El modelo de EIU es más agudo e implica administración local o sistémica de lipopolisacárido a dosis subletales. Los puntos finales, para los modelos tanto de EIU como de EAU pueden incluir el examen de fondo del ojo, histopatología entre otros. Estos modelos están resumidos por Smith et al. (Immunology and Cell Biology 1998, 76, 497-512, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). La actividad se evalúa por dosificación a través de múltiples rutas de administración (por ejemplo, sistémicas o tópicas) que puede comenzar antes o después de que exista enfermedad medible. Algunos modelos enumerados anteriormente también pueden desarrollar escleritis/epiescleritis, corioditis, ciclitis o iritis y, por lo tanto, son útiles en la investigación de la actividad potencial de los compuestos para el tratamiento terapéutico de estas enfermedades.

10 El compuesto se puede evaluar también en uno o más modelos preclínicos de conjuntivitis conocidos para los versados en la técnica. Estos incluyen, pero no se limitan a, modelos de roedores usando cobaya, rata o un ratón. Los modelos de cobaya incluyen los que utilizan inmunización activa o pasiva y/o protocolos de exposición inmunitaria con antígenos tales como ovoalbúmina o ambrosia (resumido en Groneberg, D.A., et al., Allergy 2003, 58, 1101-1113, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). Los modelos de rata y ratón son similares en el diseño general a los de cobaya (también resumido por Groneberg). La actividad se puede evaluar por dosificación a través de múltiples rutas de administración (por ejemplo, sistémicas o tópicas) que puede comenzar antes o después de que exista enfermedad medible. Los puntos finales para dichos estudios pueden incluir, por ejemplo, análisis histológico, inmunológico, bioquímico o molecular de los tejidos oculares tales como la conjuntiva.

Ejemplo G: Datos comparativos

La tabla 3 proporciona a continuación los datos de potencia para el compuesto del ejemplo 1 en comparación con otros inhibidores de JAK descritos en la publicación de solicitud de patente de EE. UU. n.º 2007/0135461.

30

Tabla 3

Compuesto	CI ₅₀ de JAK2 (nM)	CI ₅₀ de JAK1 (nM)	CI ₅₀ de INA-6 (nM)
Ejemplo 1	0,3	1,1	148
Comparativo 1	1,4	7,6	1138
Comparativo 2	1,2	2,2	505
Comparativo 3	22	93	1900
Comparativo 4	2,4	6,3	431
Comparativo 5	3,7	1	2250

Los datos de JAK1 y JAK2 de la tabla 3 se obtuvieron usando los procedimientos de ensayo *in vitro* descritos en el ejemplo A anterior. Los datos de INA-6 de la tabla 3 se obtuvieron usando el procedimiento de ensayo celular del ejemplo B anterior, en el que las células cancerosas usadas fueron células INA-6 (Burger et al., The Hematology Journal (2001), 2, 42-53). El comparativo 1 corresponde al compuesto {1-[4-(1H-pirrol-2,3-b) piridin-4-il]-1H-pirazol-1-il}ciclopentil}acetoniitrilo; el comparativo 2 corresponde al compuesto {1-[4-(7H-pirrol-2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il}ciclopentil}acetoniitrilo; el comparativo 3 corresponde al compuesto 3-{1-[4-(7H-pirrol-2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il}ciclopentil}propanoniitrilo; el comparativo 4 corresponde al compuesto {1-[4-(7H-pirrol-2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il}ciclohexil}acetoniitrilo; y el comparativo 5 corresponde al compuesto N'-ciano-4-(cianometil)-4-[4-(7H-pirrol-2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]piperidina-1-carboximidamida.

40

REIVINDICACIONES

1. {1-(Etilsulfonil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que es la sal del ácido trifluoroacético del mismo.
- 5 3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que es la sal fosfato del mismo.
4. Una composición que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.
5. La composición de la reivindicación 4, que es adecuada para administración tópica.
- 10 6. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria.
7. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicha enfermedad autoinmunitaria es un trastorno de la piel, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis juvenil, diabetes de tipo I, lupus, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, miastenia grave, nefropatías por inmunoglobulina, miocarditis o trastorno autoinmunitario de la tiroides.
- 15 8. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicha enfermedad autoinmunitaria es artritis reumatoide.
9. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicha enfermedad autoinmunitaria es un trastorno de la piel, y es dermatitis atópica, psoriasis, sensibilización de la piel, irritación de la piel, erupción cutánea, dermatitis por contacto o sensibilización alérgica por contacto.
- 20 10. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria.
11. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, para su uso en el tratamiento del cáncer.
12. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que dicho cáncer es cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer hepático, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de tiroides, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman o cáncer pancreático.
- 25 13. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que dicho cáncer es linfoma, leucemia o mieloma múltiple.