

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 553**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/00** (2006.01)

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61K 31/497** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61P 35/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.02.2015 PCT/US2015/017963**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.09.2015 WO15131031**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.02.2015 E 15710994 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.08.2018 EP 3110409**

54 Título: **Inhibidores de JAK1 para el tratamiento de síndromes mielodisplásicos**

30 Prioridad:

**28.02.2014 US 201461946124 P**

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

**05.11.2018**

73 Titular/es:

**INCYTE CORPORATION (100.0%)**

**1801 Augustine Cut-Off**

**Wilmington, DE 19803, US**

72 Inventor/es:

**VADDI, KRISHNA**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

ES 2 688 553 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Inhibidores de JAK1 para el tratamiento de síndromes mielodisplásicos

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional de Estados Unidos Nº 61/946.124, presentada el 28 de febrero de 2014.

## CAMPO TÉCNICO

10 Esta invención se refiere a inhibidores selectivos de JAK1 y su uso en el tratamiento de síndromes mielodisplásicos (MDS).

## ANTECEDENTES

15 Los síndromes mielodisplásicos (MDS), conocidos anteriormente como síndromes dismielopoéticos o preleucemia, son trastornos hematopoyéticos clónicos y heterogéneos que se caracterizan por una hematopoyesis ineficaz en uno o más de los linajes celulares mieloides principales. Los síndromes mielodisplásicos se asocian con insuficiencia de la médula ósea, citopenias de sangre periférica y una propensión a progresar a leucemia mieloide aguda (AML). Además, las anomalías citogenéticas clónicas pueden detectarse en aproximadamente el 50% de los  
20 casos con MDS. En la población general, el MDS tiene lugar en 5 por 100.000 y la incidencia aumenta con la edad, llegando a alrededor de 22 a 45 por 100.000 en individuos mayores de 70 años (Greenberg, "The myelodysplastic syndromes" en Hoffman, et al, eds. Hematology: Basic Principles and Practice (3ª ed.), Churchill Livingstone; 2000:1106-1129; Liesveld y Lichtman, Capítulo 88. "Myelodysplastic Syndromes (Clonal Cytopenias and Oligoblastic Myelogenous Leukemia)", en Prchal et al, eds. Williams Hematology. 8ª ed., New York: McGraw-Hill; 2010). A pesar  
25 de los avances científicos en nuestro conocimiento de la fisiopatología de los MDS, hay pocas opciones terapéuticas disponibles y son principalmente paliativas, especialmente cuando los pacientes afectados no son candidatos para el trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT).

El estándar de cuidado para MDS incluye cuidado paliativo que involucra observación y monitorización  
30 clínica, apoyo psicosocial y esfuerzos para mejorar la calidad de vida (Cheson, et al, Blood 2000;96:3671-3674; Venugopal et al. Cancer Treat Res 2001;108:257-265; Greenberg, Int J Ped Hem-Onc 1997;4:231-238). Además, se necesitan transfusiones de glóbulos rojos para la anemia sintomática y transfusiones de plaquetas para episodios de sangrado de trombocitopenia. Los pacientes con síndrome mielodisplásico que requieren transfusiones de glóbulos rojos pueden desarrollar complicaciones que incluyen el desarrollo de aloanticuerpos que requieren una mayor  
35 frecuencia de transfusión y sobrecarga de hierro con daño de órgano final al hígado, corazón y órganos endocrinos que requieren quelación de hierro para mantener la ferritina sérica a <1000 µg/l (Venugopal et al 2001 (*supra*), Greenberg 1997 (*supra*)). En casos con citopenia sintomática refractaria, es necesario el soporte de citoquinas hematopoyéticas, como el uso de factor estimulante de colonias de granulocitos humanos recombinantes (G-CSF) o CSF de granulocitos y monocitos (GM-CSF) para MDS neutropénico con complicaciones infecciosas, y el agente  
40 estimulante de la eritropoyesis (ESA) para la anemia sintomática ((Cheson et al 2000 (*supra*), Jädersten et al, Blood 2005;106:803-811; Schiffer, Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2006:205-210). En la etapa inicial del MDS, es decir, IPSS bajo y IPSS Intermedio-1, la anemia sintomática es la razón más común que requiere intervención terapéutica. El ESA beneficia solo a una fracción de estos pacientes con la respuesta más alta observada en  
45 pacientes que no son dependientes de transfusiones de glóbulos rojos o aquellos con un nivel de EPO endógeno bajo (<500 UI) (Cheson et al 2000 (*supra*), Jädersten et al 2005 (*supra*), Schiffer 2006 (*supra*), Fenaux, et al., Lancet Oncol 2009;10:223-232). Eventualmente, los pacientes dejan de responder a la terapia de ESA y requieren apoyo de transfusión de glóbulos rojos, aunque la ESA se continúa típicamente incluso cuando se necesitan transfusiones de glóbulos rojos y los recuentos de reticulocitos son bajos. Los requerimientos de transfusión pueden variar y pueden verse influenciados por problemas médicos concomitantes que requieren un nivel de Hgb más alto como angina,  
50 desarrollo de aloanticuerpos contra RBC, esplenomegalia, y hemorragia gastrointestinal oculta por trombocitopenia o disfunción plaquetaria (Venugopal et al 2001 (*supra*), Greenberg 1997 (*supra*), Fenaux et al 2009 (*supra*)).

La terapia de baja intensidad incluye el uso de quimioterapia de baja intensidad o modificadores de la  
55 respuesta biológica (BRM). Se ha demostrado que los agentes hipometilantes como los inhibidores de la ADN metiltransferasa 5 azacitidina y decitabina (5-aza-2'-desoxicitidina) reducen el riesgo de transformación leucémica en estudios de Fase 3 aleatorizados y mejoran la supervivencia general en una proporción de pacientes (Fenaux et al 2009 (*supra*), Silverman, J Clin Oncol 2002;20:2429-2440; Silverman, J Clin Oncol 2006;24:3895-3903). De manera similar, la decitabina ha demostrado una tasa de respuesta a la enfermedad, duración de la remisión, tiempo hasta la  
60 progresión de AML y beneficio de supervivencia más altos en pacientes con MDS con riesgo intermedio y enfermedad de alto riesgo. En adición, la decitabina demostró una mejora significativa en la calidad de vida informada por el paciente (en base a The European Organisation for Research and Treatment of Cancer [EORTC QLQ C30]) para las dimensiones de fatiga y funcionamiento físico Kantarjian, et al., Cancer 2006;106:1794-1803; Lübbert, et al., Br J Haematol 2001;114:349-357; Lübbert, et al., J Clin Oncol 2011;29:1987-1996). Tanto la 5-azacitidina como la decitabina están aprobadas para el tratamiento de MDS y proporcionan específicamente un  
65 beneficio clínico recomendado por el panel MDS de NCCN para pacientes con IPSS intermedio 2 y MDS de alto

riesgo (National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Myelodysplastic Syndromes Guidelines Versión 1. 2012. [www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp)).

5 Las moléculas inflamatorias se han implicado como señales reguladoras que impulsan la proliferación y  
 muerte apoptótica de progenitores hematopoyéticos en MDS. Se cree que la estimulación inmune crónica, junto con  
 cambios dependientes de la senescencia en tanto células madre hematopoyéticas /progenitoras (HSPC) y el  
 10 microambiente BM, son críticos para la patogénesis de la enfermedad. La evidencia creciente implica la activación  
 de la señalización inmune innata en tanto la senescencia hematopoyética como en la biopatología del MDS (Chen et  
 al., 2014). Como tales, los modificadores inmunes que incluyen inhibidores de células T como globulina antitumoral  
 (ATG), ciclosporina y talidomida y su lenalidomida análoga (Molldrem, et al., Br J Haematol 1997;99:699-705;  
 15 Sloand, et al., J Clin Oncol 2008;26:2505-2511; Raza, et al., Blood 2008; 111:86-93; Fenaux, et al., Blood  
 2011;118:3765-3776; List, et al., N Engl J Med 2005;352:549-557) se usan como agentes de baja intensidad de  
 MDS. El tratamiento de alta intensidad para MDS incluye quimioterapia de inducción intensiva, como se usa para  
 tratar AML y HSCT. Se han probado diferentes regímenes quimioterapéuticos intensivos ya que tienen el potencial  
 20 de alterar la historia natural de la enfermedad y estudios comparativos no han demostrado beneficio; este enfoque  
 sigue siendo de investigación y una posible opción para pacientes con MDS con enfermedad de alto riesgo. El HSCT  
 alogénico, la única modalidad de tratamiento curativo para MDS y preferiblemente de un donante hermano  
 compatible, es una opción preferida para pacientes con MDS de alto riesgo, pero la falta de un donante adecuado y  
 las comorbilidades relacionadas con la edad avanzada a menudo impiden a estos pacientes someterse a este  
 procedimiento NCCN 2012 (*supra*); Larson, Best Pract Res Clin Hematol 2006;19:293-300; Schiffer, Best Pract Res  
 Clin Hematol 2007;20:49-5 A. Eghtedar et al. divulga el tratamiento de síndrome mielodisplásico con el inhibidor de  
 JAK ruxolitinib (Blood, 2012; 119(2): 4614-4618).

25 Por consiguiente, hay una necesidad de desarrollar nuevas terapias para el tratamiento de los síndromes  
 mielodisplásicos. Esta solicitud aborda esta necesidad y a otras.

## SUMARIO

30 La presente solicitud proporciona un inhibidor selectivo de JAK1 como se define en las reivindicaciones  
 para su uso en un método para tratar un síndrome mielodisplásico en un paciente con necesidad de ello

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

35 El alcance de la invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia que caiga fuera del alcance  
 de las reivindicaciones se proporciona solamente con propósitos de información. Cualquier referencia en la  
 descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de  
 la presente invención para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia. Los  
 métodos descritos en la presente utilizan inhibidores selectivos de JAK1. Un inhibidor selectivo de JAK1 es un  
 40 compuesto que inhibe la actividad de JAK1 preferencialmente sobre otras Janus quinasas. La JAK1 desempeña un  
 papel central en una serie de vías de señalización de citoquinas y factores de crecimiento que, cuando se  
 desregulan, pueden dar como resultado o contribuir a estados de enfermedad. Por ejemplo, los niveles de IL-6 son  
 elevados en la artritis reumatoide, una enfermedad en la que se ha sugerido que tiene efectos perjudiciales  
 (Fonesca, et al., Autoimmunity Reviews, 8:538-42, 2009). Debido a que las señales de IL-6, por lo menos en parte,  
 45 a través de JAK1, antagonizan con IL-6 directa o indirectamente a través de la inhibición de JAK1 se espera que  
 proporcionen un beneficio clínico (Guschin, et al Embo J 14:1421, 1995; Smolen, et al. Lancet 371:987, 2008).  
 Además, en algunos cánceres, la JAK1 está mutada dando como resultado el crecimiento y la supervivencia de  
 células tumorales no deseables constitutivas (Mullighan, Proc Natl Acad Sci U S A. 106:9414-8, 2009; Flex, J Exp  
 Med. 205:751-8, 2008). En otras enfermedades autoinmunes y cánceres, los niveles sistémicos elevados de  
 50 citoquinas inflamatorias que activan la JAK1 también pueden contribuir a la enfermedad y/o síntomas asociados. Por  
 lo tanto, los pacientes con tales enfermedades pueden beneficiarse de la inhibición de JAK1. Los inhibidores  
 selectivos de JAK1 pueden ser eficaces a la vez que evitan efectos innecesarios y potencialmente indeseables de la  
 inhibición de otras JAK quinasas.

55 Los inhibidores selectivos de JAK1, en relación con otras JAK quinasas, pueden tener múltiples ventajas  
 terapéuticas sobre inhibidores menos selectivos. Con respecto a la selectividad contra JAK2, una serie de citoquinas  
 y factores de crecimiento importantes señalan a través de JAK2 incluyendo, por ejemplo, eritropoyetina (Epo) y  
 trombopoyetina (Tpo) Parganas, et al. Cell. 93:385-95, 1998). La Epo es un factor de crecimiento clave para la  
 producción de glóbulos rojos; por lo tanto, una escasez de señalización dependiente de Epo puede dar como  
 resultado un número reducido de glóbulos rojos y anemia (Kaushansky, NEJM 354:2034-45, 2006). La Tpo, otro  
 60 ejemplo de un factor de crecimiento dependiente de JAK2, desempeña un papel central en el control de la  
 proliferación y maduración de los megacariocitos - las células a partir de las cuales se producen las plaquetas  
 (Kaushansky, NEJM 354:2034-45, 2006). Como tal, la reducción de la señalización de Tpo disminuiría los números  
 de megacariocitos (megacariocitopenia) y los recuentos de plaquetas circulantes más bajos (trombocitopenia). Esto  
 puede dar como resultado sangrado no deseable y/o incontrolable. La inhibición reducida de otras JAK, como JAK3  
 65 y Tyk2, también puede ser deseable ya que se ha demostrado que los humanos que carecen de la versión funcional

de estas quinasas padecen numerosas enfermedades como inmunodeficiencia combinada grave o síndrome de hiperinmunoglobulina E (Minegishi, et al. *Immunity* 25:745-55, 2006; Macchi, et al. *Nature*, 377:65-8, 1995). Por lo tanto, un inhibidor de JAK1 con afinidad reducida para otras JAK tendría ventajas significativas sobre un inhibidor menos selectivo con respecto a efectos secundarios reducidos que implican inmunosupresión, anemia y trombocitopenia.

Las citoquinas inflamatorias desempeñan un papel significativo en la patogénesis de los MDS, lo que da como resultado citopenias y hematopoyesis displásica. Se hipotetiza que frenar la actividad de estas citoquinas inflamatorias promoverá la hematopoyesis normal y aliviará los precursores de la médula de la apoptosis prematura. Las citoquinas inflamatorias median los efectos corriente abajo por la activación de JAK que implica la yuxtaposición de las JAK de la dimerización del receptor mediado por ligandos y la trans/autofosforilación. Los heterodímeros de JAK resultantes, compuestos por JAK1 y JAK2 o JAK1 y JAK3, transducen señales y median las respuestas celulares de estas citoquinas. Además, los homodímeros de JAK, compuestos solo de JAK2, transducen señales de factores de crecimiento de la médula ósea, como EPO, que es responsable de estimular la eritropoyesis, y TPO, que es responsable de estimular la trombopoyesis. Por lo tanto, un inhibidor selectivo de JAK1 daría como resultado la abrogación de la señalización de citoquinas inflamatorias sin inhibir la eritropoyesis y la trombopoyesis mediadas por JAK2, dando como resultado el restablecimiento de la hematopoyesis normal y el alivio de las citopenias mieloides.

A pesar de los avances científicos en nuestro conocimiento de la fisiopatología de los MDS, hay pocas opciones terapéuticas disponibles y son principalmente paliativas, especialmente cuando los pacientes afectados no son candidatos para HSCT. Una serie de estudios han indicado que el MDS es una enfermedad clonal y demostraron que el clon expandido era un resultado de una proliferación excesiva de progenitores hematopoyéticos en la médula ósea. Se investigó la paradoja de un estado hiperproliferativo en la médula que conduce a citopenias periféricas y reveló que había una cantidad excesiva de muerte celular programada intramedular o apoptosis de las células hematopoyéticas. Esta apoptosis se observó en pacientes con todas las categorías de FAB pero disminuyó en pacientes con recuentos de blastos crecientes. Parecía que una población clonal se volvía progresivamente resistente a la apoptosis y obtenía una ventaja proliferativa sobre los precursores hematopoyéticos normales que lleva al aumento en los recuentos de blastos y la evolución a AML. También se hizo evidente que la apoptosis excesiva estaba mediada en gran parte por una serie de citoquinas proinflamatorias que se sobreexpresan en las médulas de pacientes con MDS. Las citoquinas que se han visto implicadas en la biopatología de MDS que incluyen el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interferón gamma (IFN  $\gamma$ ) e IL1 $\beta$ . Una concentración en plasma alta de TNF- $\alpha$ , una citoquina proapoptótica clásica, se ha observado en la sangre periférica y la médula ósea de pacientes con MDS y una mayor expresión de receptores de TNF y ácido ribonucleico mensajero (ARNm) se ha observado en células mononucleares de médula ósea derivadas de pacientes con MDS. De manera similar, se ha encontrado una cantidad incrementada de IFN  $\gamma$  e IL1 $\beta$  en células mononucleares de médula ósea de MDS e IL-1 $\beta$  se ha implicado en la evolución de AML a partir de MDS. La IL-1 $\beta$  tiene efectos reguladores variables sobre las células hematopoyéticas, ya que estimula GM-CSF e IL-3, mientras que en concentraciones más altas como se ve en estados inflamatorios, lleva a la supresión de la hematopoyesis por inducción de TNF  $\alpha$  y prostaglandina E2, la última siendo un supresor potente de la proliferación de células madre mieloides. Además, se han observado niveles elevados de IL-6, factor de crecimiento de fibroblastos, factor de crecimiento de hepatocitos y factor de crecimiento transformante  $\beta$  en células mieloides de pacientes con MDS. Además, las muchas citoquinas que suprimen la proliferación y maduración hematopoyéticas normales no ejercen este efecto proapoptótico sobre el clon anormal en evolución que da como resultado la proliferación selectiva de estas células anormales. Hay evidencias de que la fuente de estas citoquinas proinflamatorias es el microambiente alterado de la médula ósea que normalmente nutre las células hematopoyéticas normales para que proliferen y se diferencien, y puede ser también la razón para la infiltración de células reguladoras inmunes y la angiogénesis que contribuye a la patología del MDS (Raza, et al., *Blood* 1995;86:268-276; Raza, et al, *Int J Hematol* 1996a;63:265-278; Raza, et al., *Leuk Res* 1996b;20:881-890; Mundle, et al. *Am J Hematol* 1999;60:36-47; Claessens, et al., *Blood* 2002;99:1594-1601).

El concepto de que el estado proinflamatorio mediado por citoquinas es responsable de la etiología de MDS ha llevado al nuevo enfoque del tratamiento con anticitoquinas para mejorar las citopenias en MDS protegiendo las células hematopoyéticas de diferenciación de la apoptosis prematura. Se ha demostrado que los agentes anti-TNF-a como la talidomida y su lenalidomida, infliximab y etanercept análogos han sido eficaces para mejorar las citopenias en pacientes con MDS (NCCN 2012 (*supra*), Larson 2006 (*supra*), Schiffer 2007(*supra*)) En un estudio de 14 pacientes con MDS, etanercept mostró mejora hematológica eritroide en el 25% de los pacientes junto con una mejora en los recuentos de plaquetas y el ANC en el 12,5% de los pacientes evaluables. Combinando adicionalmente etanercept intermitente con ATG dio como resultado una mejora hematológica eritroide más alta y 5 de los 14 pacientes con MDS que requerían transfusión se hicieron independientes de transfusiones de glóbulos rojos y plaquetas lo que duró más de 2 años. En un estudio que investiga la talidomida en MDS, de los 83 pacientes inscritos, 51 completaron 12 semanas de terapia y 16 pacientes mostraron mejora hematológica con 10 pacientes anteriormente dependientes de transfusión que se volvieron independientes de la transfusión y la mayoría de los que respondieron estaban en el IPSS de bajo riesgo o categoría de riesgo intermedio 1 (NCCN 2012 (*supra*)). Además, los pacientes de categoría con riesgo más alto, especialmente con un porcentaje de blastos alto, tendían a interrumpir el tratamiento pronto. Otro enfoque para frenar los efectos de las citoquinas proinflamatorias es inhibir

sus respuestas celulares. Un número considerable de citoquinas y receptores de factores de crecimiento utilizan la familia JAK de TYK no receptores para transmitir el enlace del ligando extracelular en una respuesta celular mediante la señalización de STAT de los factores de transcripción.

5 Hay 4 miembros de JAK: JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2. Las JAK se asocian constitutivamente con receptores de citoquinas y factores de crecimiento y se activan como consecuencia inmediata de la dimerización del receptor inducida por ligandos, la activación de JAK tiene lugar tras la yuxtaposición posterior de las JAK y la trans/autofosforilación de tirosinas conservadas encontradas en el giro de activación del dominio catalítico de JAK. Tras la fosforilación de estas tirosinas, las JAK entran en un estado de alta actividad y son entonces capaces de fosforilar residuos de tirosina específicos en los receptores de citoquinas, que sirven como sitios de acoplamiento para proteínas múltiples, incluyendo las proteínas STAT. Las JAK son la principal familia de quinasas asociadas con la activación de STAT. Los STAT activados traslocan al núcleo donde funcionan como factores de transcripción y dirigen la expresión de múltiples genes importantes para la activación, localización, supervivencia y proliferación celular.

15 El Ruxolitinib, un inhibidor de JAK1 y JAK2, ha demostrado una marcada reducción en el tamaño del bazo en pacientes con mielofibrosis y mejora de los síntomas. Estas mejoras fueron evidentes en sujetos con y sin la presencia de la mutación V617F en JAK2 y están probablemente relacionados con la inhibición de citoquinas proinflamatorias. Los eventos adversos primarios (AE) observados con el ruxolitinib son trombocitopenia y anemia; ambos rara vez fueron la causa de la interrupción del estudio en un estudio de Fase 3, doble ciego, controlado con placebo, y ambos se deben, por lo menos en parte, a la mielosupresión mediada por JAK2. Se plantea la hipótesis, por lo tanto, de que la inhibición selectiva de JAK1 ejercería un efecto saludable de inhibición de citoquinas proinflamatorias en pacientes con MDS y daría como resultado la mejora de las citopenias que resultan de la apoptosis prematura de los precursores hematopoyéticos. Además, el ahorro de la actividad de JAK2 permitiría la actividad fisiológica de las citoquinas hematopoyéticas, concretamente, EPO y TPO, para permitir la proliferación fisiológica y la diferenciación de las células hematopoyéticas normales.

20 Además, en pacientes con MDS tiene lugar con frecuencia sobrecarga de hierro, con datos recientes que sugieren un impacto tanto en la supervivencia global como libre de leucemia. Se ha postulado que una producción alterada de hepcidina, la hormona clave recientemente descubierta que regula la homeostasis del hierro, puede desempeñar un papel a este respecto y regularse por citoquinas inflamatorias como la IL-6. Recientemente se ha demostrado que en la MDS están elevadas tanto la hepcidina como la CRP, como un marcador de inflamación genera. Santini, et al., PLoS One, 6(8), e23109, páginas 1-8 (2011). Estos datos sugieren que la inhibición de JAK, que puede reducir los niveles de CRP y hepcidina, puede revertir la inflamación y la sobrecarga de hierro que tiene lugar en el MDS.

30 Por consiguiente, la presente solicitud proporciona, entre otros, un método para tratar un síndrome mielodisplásico en un paciente con necesidad de ello, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Como se usa en la presente, un síndrome mielodisplásico se refiere a la clasificación de MDS propuesta por la Organización Mundial de la Salud en 2008 (ver, por ejemplo, la Tabla 1). En particular, en 1997, la Organización Mundial de la Salud (OMS) junto con la Sociedad de Hematopatología (SH) y la Asociación Europea de Hematopatología (EAHP) propuso nuevas clasificaciones para neoplasmas hematopoyéticos (Harris, et al., J Clin Oncol 1999;17:3835-3849; Vardiman, et al., Blood 2002;100:2292-2302). Para el MDS, la OMS utilizó no solo los criterios morfológicos de la clasificación Francesa-Americana-Británica (FAB) sino que también incorporó las características genéticas, biológicas y clínicas disponibles para definir subconjuntos de MDS (Bennett, et al., Br J Haematol 1982;51:189-199). En 2008, la clasificación de la OMS de MDS (Tabla 1) se refinó adicionalmente para permitir una subclasificación precisa y pronósticamente relevante de la displasia de unilinaje mediante la incorporación de nueva información clínica y científica (Vardiman, et al., Blood 2009;114:937-951; Swerdlow, et al., WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4ª Edición. Lyon Francia: IARC Press; 2008:88-103; Bunning and Germing, "Myelodysplastic syndromes/neoplasms" en Capítulo 5, Swerdlow, et al, eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. (ed. 4ª edición): Lyon, Francia: IARC Press;2008:88-103)

55

60

65

**Tabla 1: Clasificación de la OMS del 2008 para el Síndrome Mielodisplásico de Nueva Aparición**

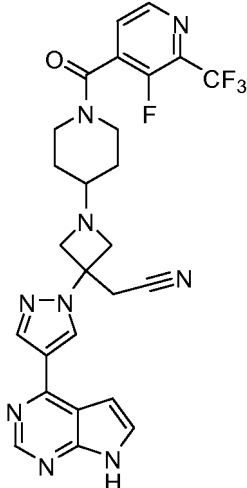
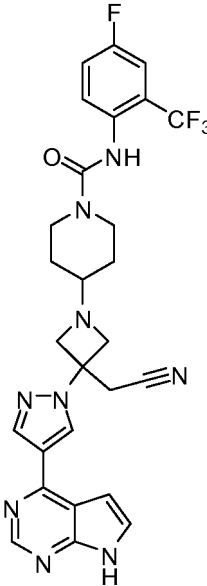
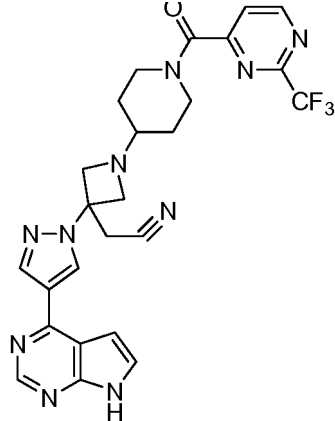
	Subtipo	Sangre	Médula Osea
5	Citopenia refractaria con displasia de unilinaje (RCUD)	Individual o Bicitopenia	Displasia en $\geq 10\%$ de línea celular 1, $< 5\%$ blasto
10	Anemia refractaria con sideroblastos en anillo (RARS)	Anemia, no blastos	$\geq 15\%$ de precursores eritroides con sideroblastos en anillo, solo displasia eritroide, $< 5\%$ blastos
15	Citopenia refractaria con displasia multilineaje	Citopenia(s), $< 1 \times 10^9/l$ monocitos	Displasia en $\geq 10\%$ de células en $\geq 2$ linajes hematopoyéticos, $\pm 15\%$ sideroblastos en anillo, $< 5\%$ blastos
20	Anemia refractaria con exceso de blastos-1 (RAEB-1)	Citopenia(s), $\leq 2\%$ a $4\%$ blastos, $< 1 \times 10^9/l$ monocitos	Displasia unilineal o multilineaje, Sin bastones de Auer, $5\%$ a $9\%$ blastos
25	Anemia refractaria con exceso de blastos-2 (RAEB-2)	Citopenia(s), $\leq 5\%$ a $19\%$ blasto, $< 1 \times 10^9/l$ monocitos	Displasia unilineal o multilineaje, $\pm$ bastones de Auer, $10\%$ a $19\%$ blastos
	Síndrome mielodisplásico, no clasificado (MDS-U)	Citopenias	Unilinaje o sin displasia, pero citogenética de MDS característica, $< 5\%$ blastos
	MDS asociado con del aislado (5q)	Anemia, plaquetas normales o aumentadas	Unilinaje eritroide. del (5q) aislado, $< 5\%$ blastos

En algunas realizaciones, el inhibidor selectivo de JAK1 es selectivo para JAK1 sobre JAK2, JAK3 y TYK2. Por ejemplo, los compuestos descritos en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, inhiben preferentemente JAK1 sobre uno o más de JAK2, JAK3 y TYK2. En algunas realizaciones, los compuestos inhiben JAK1 preferentemente sobre JAK2 (por ejemplo, tienen una relación  $IC_{50}$  de JAK1/JAK2  $>1$ ). En algunas realizaciones, los compuestos o sales son aproximadamente 10 veces más selectivos para JAK1 sobre JAK2. En algunas realizaciones, los compuestos o sales son aproximadamente 3 veces, aproximadamente 5 veces, aproximadamente 10 veces, aproximadamente 15 veces, o aproximadamente 20 veces más selectivos para JAK1 sobre JAK2 calculados midiendo  $IC_{50}$  a 1 mM de ATP (por ejemplo, ver el Ejemplo A). De acuerdo con la presente invención, el inhibidor selectivo de JAK1 es un compuesto de la Tabla 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Tabla 2

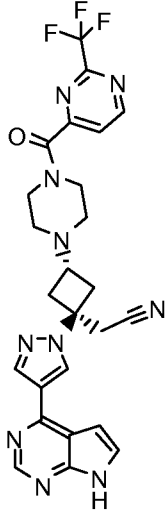
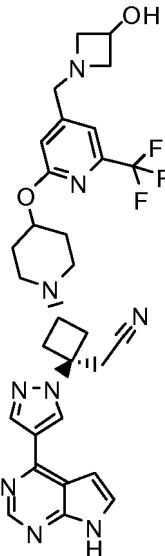
Prep en Ej.	Nombre	Estructura	JAK1 IC <sub>50</sub> (nM)	JAK2/JAK1
5 10 15	1 <sup>a</sup> 3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo		+	>10
20 25	2 3-(1-[1,3]oxazolo[5,4-b]piridin-2-ilpirrolidin-3-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo		+	>10
30 35 40	3 4-[(4-{3-ciano-2-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrilo		+	>10
45 50 55 60	4 4-[(4-{3-ciano-2-[3-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrilo		+	>10

(continuación)

Prep en Ej.	Nombre	Estructura	JAK1 IC <sub>50</sub> (nM)	JAK2/JAK1
5	5 {1-{1-[3-Fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo		+	>10
6	6 4-{3-(Cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo [2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]piperidina-1-carboxamida		+	>10
7	7 [3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-1-(1-{ [2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]carbonil}piperidin-4-il)azetidín-3-il]acetonitrilo		+	>10



(continuación)

Prep en Ej.	Nombre	Estructura	JAK1 IC <sub>50</sub> (nM)	JAK2/JAK1
8	[ <i>trans</i> -1-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-3-(4-{2-(trifluorometil)pirimidin-4-il}carbonil)piperazin-1-il)ciclobutil]acetonitrilo		+	>10
9	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4-[(3-hidroxiacetidin-1-il)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrilo		+	>10

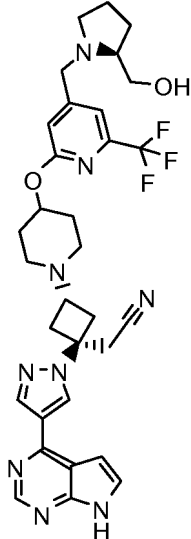
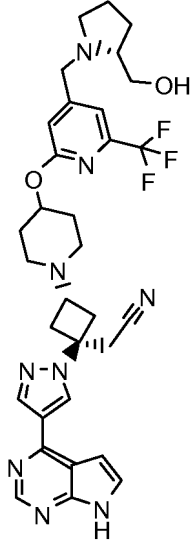
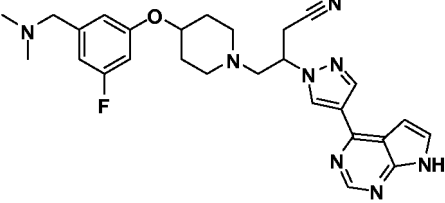
50

55

60

65

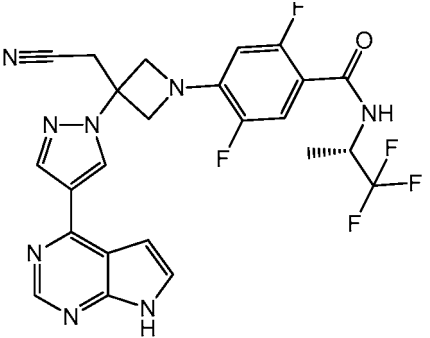
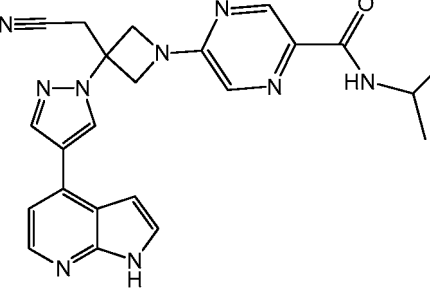
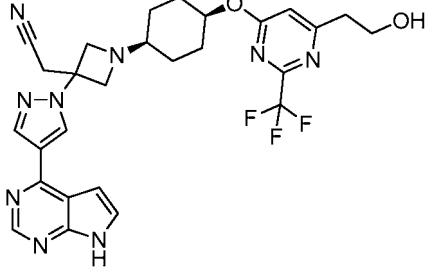
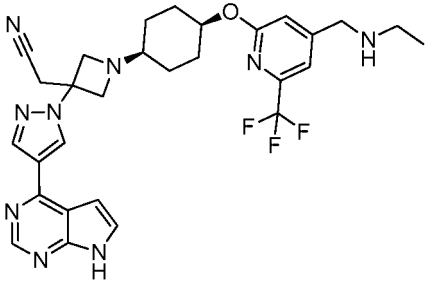
(continuación)

Prep en Ej.	Nombre	Estructura	JAK1 IC <sub>50</sub> (nM)	JAK2/JAK1
5 10 15 20 25	10 { <i>trans</i> -3-(4-{[4-{{(2 <i>S</i> )-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il]metil}-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrilo		+	>10
30 35 40 45	11 { <i>trans</i> -3-(4-{[4-{{(2 <i>R</i> )-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il]metil}-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrilo		+	>10
50 55	12 <sup>b</sup> 4-(4-{3-[(dimetilamino)metil]-5-fluorofenoxi}piperidin-1-il)-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]butanonitrilo		+	>10

60

65

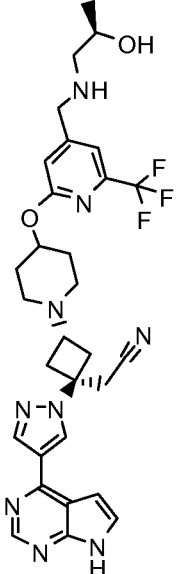
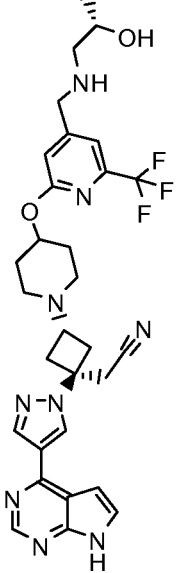
(continuación)

Prep en Ej.	Nombre	Estructura	JAK1 IC <sub>50</sub> (nM)	JAK2/JAK1
5 10 15	13 5-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo [2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carboxamida		+	>10
20 25 30	14 4-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo [2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamida		+	>10
35 40	15 5-{3-(cianometil)-3-[4-(1H-pirrolo [2,3-b]piridin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carboxamida		+	>10
45 50	16 {1-( <i>cis</i> -4-{[6-(2-hidroxietil)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo		+	>10
55 60 65	17 {1-( <i>cis</i> -4-{[4-[(etilamino)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo		+	>10

(continuación)

Prep en Ej.	Nombre	Estructura	JAK1 IC <sub>50</sub> (nM)	JAK2/JAK1
5 10 15	18 {1-( <i>cis</i> -4-{[4-(1-hidroxi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi)ciclohexil}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo		+	>10
20 25 30	19 {1-( <i>cis</i> -4-{[4-{{(3R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il}metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi)ciclohexil}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo		+	>10
35 40	20 {1-( <i>cis</i> -4-{[4-{{(3S)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il}metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi)ciclohexil}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo		+	>10
45 50 55 60 65	21 { <i>trans</i> -3-(4-{[4-{{(1S)-2-hidroxi-1-metiletil}amino}metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrilo		+	>10

(continuación)

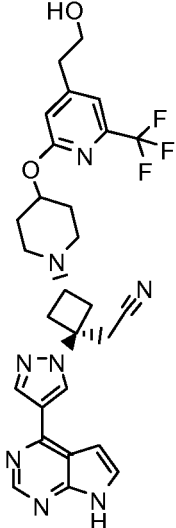
Prep en Ej.	Nombre	Estructura	JAK1 IC <sub>50</sub> (nM)	JAK2/JAK1
5 10 15 20 25	22 <i>{trans-3-(4-{{4-({{(2R)-2-hidroxi}propil}amino}metil)-6-(trifluorometil}piridin-2-il}oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il}ciclobutil}acetoneitrilo</i>		+	>10
30 35 40 45 50	23 <i>{trans-3-(4-{{4-({{(2S)-2-hidroxi}propil}amino}metil)-6-(trifluorometil}piridin-2-il}oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il}ciclobutil}acetoneitrilo</i>		+	>10

55

60

65

(continuación)

Prep en Ej.	Nombre	Estructura	JAK1 IC <sub>50</sub> (nM)	JAK2/ JAK1
24	{ <i>trans</i> -3-(4-{{4-(2-hidroxiethyl)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrilo		+	>10
+ significa <10 nM (ver Ejemplo A para condiciones de ensayo) <sup>a</sup> Datos para enantiómero 1 <sup>b</sup> Datos para enantiómero 2				

En algunas realizaciones, el inhibidor selectivo de JAK1 es sal de ácido {1-[1-[3-Fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il]-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo adipico.

En algunas realizaciones, el inhibidor selectivo de JAK1 se selecciona de (R)-3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo, (R)-3-(1-[1,3]oxazol[5,4-b]piridin-2-il)pirrolidin-3-il)-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo, (R)-4-[[4-{3-ciano-2-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propil]piperazin-1-il]carbonil]-3-fluorobenzonitrilo, (R)-4-[[4-{3-ciano-2-[3-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]propil]piperazin-1-il]carbonil]-3-fluorobenzonitrilo, o (R)-4-(4-{3-[(dimetilamino)metil]-5-fluorofenoxi}piperidin-1-il)-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]butanonitrilo; o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriormente mencionados.

En algunas realizaciones, el inhibidor selectivo de JAK1 se selecciona de (S)-3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo, (S)-3-(1-[1,3]oxazol[5,4-b]piridin-2-il)pirrolidin-3-il)-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo, (S)-4-[[4-{3-ciano-2-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propil]piperazin-1-il]carbonil]-3-fluorobenzonitrilo, (S)-4-[[4-{3-ciano-2-[3-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]propil]piperazin-1-il]carbonil]-3-fluorobenzonitrilo, o (S)-4-(4-{3-[(dimetilamino)metil]-5-fluorofenoxi}piperidin-1-il)-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]butanonitrilo; o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriormente mencionados. En un aspecto no reivindicado de la divulgación, el inhibidor selectivo de JAK1 es GLPG0634 (Galapagos).

En algunas realizaciones, los compuestos de la Tabla 2 se preparan mediante los procedimientos sintéticos descritos en la Publicación de Patente de los Estados Unidos. N° 2010/0298334, presentada el 21 de mayo de 2010, la Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2011/0059951, presentada el 31 de agosto de 2010, Publicación de patente de Estados Unidos N° 2011/0224190, presentada el 9 de marzo de 2011, Publicación de Patente de los Estados Unidos N° 2012/0149681, presentada el 18 de noviembre de 2011, Publicación de patente de Estados Unidos N° 2012/0149682, presentada el 18 de noviembre de 2011, Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2013/0018034, presentada el 19 de junio de 2012, publicación de patente de los Estados Unidos N° 2013/0045963, presentada el 17 de agosto de 2012, y publicación de patente de Estados Unidos N° 2014/0005166, presentada el 17 de mayo de 2013.

En algunos aspectos, el inhibidor de JAK1 se selecciona de los compuestos de la Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2010/0298334, presentada el 21 de mayo de 2010, Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2011/0059951, presentada el 31 de agosto de 2010, la Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2011/0224190,

presentada el 9 de marzo de 2011, Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2012/0149681, presentada el 18 de noviembre de 2011, Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2012/0149682, presentada el 18 de noviembre de 2011, Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2013/0018034, presentada el 19 de junio de 2012, Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2013/0045963, presentada el 17 de agosto de 2012, y Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2014/0005166, presentada el 17 de mayo de 2013. En algunas realizaciones, el síndrome mielodisplásico es citopenia refractaria con displasia de unilínea (RCUD).

En algunas realizaciones, el síndrome mielodisplásico es anemia refractaria con sideroblastos de anillo (RARS).

En algunas realizaciones, el síndrome mielodisplásico es citopenia refractaria con displasia multilineal.

En algunas realizaciones, el síndrome mielodisplásico es anemia refractaria con exceso de blastos-1 (RAEB-1).

En algunas realizaciones, el síndrome mielodisplásico es anemia refractaria con exceso de blastos-2 (RAEB-2).

En algunas realizaciones, el síndrome mielodisplásico es síndrome mielodisplásico, no clasificado (MDS-U).

En algunas realizaciones, el síndrome mielodisplásico es un síndrome mielodisplásico asociado con del (5q) aislado.

En algunas realizaciones, el síndrome mielodisplásico es refractario para los agentes estimulantes de la eritropoyesis (ESA). En algunas realizaciones, refractario para ESA significa que no hay mejora en Hgb de por lo menos 1,5 g/dl después de 8 semanas de por lo menos 40.000 UI/semana de eritropoyetina (EPO) (o equivalente).

En algunas realizaciones, el paciente depende de transfusiones de glóbulos rojos (RBC). En algunas realizaciones dependiente de transfusiones de glóbulos rojos significa que el paciente requiere por lo menos 4 unidades de glóbulos rojos empaquetados para un Hgb de <9 g/dl durante las 8 semanas previas al tratamiento.

En algunas realizaciones, el paciente tiene niveles de hepcidina en suero elevados en comparación con un grupo control de individuos sanos. En algunas realizaciones, el paciente tiene una concentración de proteína c-reactiva en suero (CRP) elevada en comparación con un grupo control de individuos sanos. En algunas realizaciones, una concentración en suero elevada de CRP es una que es igual o mayor que aproximadamente 10 µg/ml. En algunas realizaciones, los individuos sanos son como se define en Santini, et al., PLoS One, 6(8), e23109, páginas 1-8 (2011). En algunas realizaciones, el paciente tiene una Puntuación de Pronóstico de Glasgow modificada de 1 ó 2. La Puntuación de Pronóstico de Glasgow modificada (GPS) se describe en McMillian, Cancer Treatment Reviews, 39 (5):534-540 (2013) (y en particular, las puntuaciones como se muestran en la Tabla 1).

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se describe en cualquiera de las realizaciones de la presente, para su uso en un método para tratar cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos en la presente. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona el uso de un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se describe en cualquiera de las realizaciones de la presente, para la preparación de un medicamento para su uso en un método para tratar cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos en la presente.

Los inhibidores selectivos de JAK1 también incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en la presente. Como se usa en la presente, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos divulgados en los que el compuesto original se modifica convirtiendo una fracción de ácido o base existente en su forma de sal. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no están limitados a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas del compuesto original formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden sintetizarse a partir del compuesto original que contiene una fracción básica o ácida mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, isopropanol o butanol) o acetonitrilo (ACN). Listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 y Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977). En algunas realizaciones, los compuestos descritos en la presente incluyen las formas de N-óxido.

Los compuestos descritos en la presente pueden ser asimétricos (por ejemplo, que tienen uno o más

estereocentros). Se prevén Todos los estereoisómeros, como enantiómeros y diastereómeros, a menos que se indique lo contrario. Los compuestos descritos en la presente que contienen átomos de carbono asimétricamente sustituidos pueden aislarse en formas ópticamente activas o racémicas. Los métodos sobre cómo preparar formas ópticamente activas a partir de materiales de partida ópticamente inactivos son conocidos en la técnica, como mediante resolución de mezclas racémicas o mediante síntesis estereoselectiva. Muchos isómeros geométricos de olefinas, dobles enlaces C=N y similares también pueden estar presentes en los compuestos descritos en la presente, y todos estos isómeros estables se contemplan en la presente invención. Los isómeros geométricos *cis* y *trans* de los compuestos de la presente invención se describen y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isómeras separadas.

La resolución de mezclas racémicas de compuestos se puede llevar a cabo mediante cualquiera de los numerosos métodos conocidos en la técnica. Un método de ejemplo incluye la recristalización fraccional usando un ácido de resolución quiral que es un ácido orgánico formador de sales ópticamente activo. Los agentes de resolución adecuados para métodos de recristalización fraccional son, por ejemplo, ácidos ópticamente activos, como las formas D y L de ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico, ácido láctico o los varios ácidos canforsulfónicos ópticamente activos como el ácido  $\beta$ -canforsulfónico. Otros agentes de resolución adecuados para métodos de cristalización fraccional incluyen formas estereoisoméricamente puras de  $\alpha$ -metilbencilamina (por ejemplo, formas S y R, o formas diastereoméricamente puras), 2-fenilglicinol, norefedrina, efedrina, N-metilefedrina, ciclohexiletilamina, 1,2-diaminociclohexano, y similares.

La resolución de mezclas racémicas también puede llevarse a cabo mediante elución en una columna preparada con un agente de resolución ópticamente activo (por ejemplo, dinitrobenzoilfenilglicina). La composición del solvente de elución adecuada puede ser determinada por un experto en la técnica.

Los compuestos descritos en la presente también incluyen formas tautoméricas. Las formas tautoméricas son el resultado del intercambio de un enlace simple con un enlace doble 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 tautómeros prototrópicos de ejemplo incluyen pares de cetona-enol, pares de amida-ácidos imídicos, pares de lactama-lactima, pares de enamina-imina, y formas anulares donde un protón puede ocupar dos o más posiciones de un sistema heterocíclico, por ejemplo, 1H-y 3H-imidazol, 1H-, 2H-y 4H-1,2,4-triazol, 1H-y 2H-isoindol, y 1H-y 2H-pirazol. Las formas tautoméricas pueden estar en equilibrio o bloquearse estéricamente en una forma mediante sustitución apropiada.

Los compuestos de la invención también pueden incluir todos los isótopos de átomos que aparecen en los compuestos intermedios o finales. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números de masa. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio.

El término "compuesto", como se usa en la presente, se pretende que incluya todos los estereoisómeros, isómeros geométricos, tautómeros e isótopos de las estructuras representadas. Además, los compuestos identificados en la presente por nombre o estructura como una forma tautomérica particular se pretende que incluyan otras formas tautoméricas a menos que se especifique lo contrario.

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

En algunas realizaciones, los compuestos descritos en la presente, o sales de los mismos, están sustancialmente aislados. Por "sustancialmente aislado" se entiende que el compuesto está por lo menos parcialmente sustancialmente separado del entorno en el que se formó o detectó. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en los compuestos de la invención. La separación sustancial puede incluir composiciones que contienen por lo menos aproximadamente el 50%, por lo menos aproximadamente el 60%, por lo menos aproximadamente el 70%, por lo menos aproximadamente el 80%, por lo menos aproximadamente el 90%, por lo menos aproximadamente el 95%, por lo menos aproximadamente el 97%, o al por lo menos aproximadamente el 99% en peso de los compuestos de la invención, o sal de los mismos. Los métodos para aislar compuestos y sus sales son rutinarios en la técnica.

Como se usa en la presente, el término "individuo" o "paciente", usado indistintamente, se refiere a cualquier animal, incluidos mamíferos, preferiblemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, caballos o primates, y más preferiblemente humanos.

Como se usa en la presente, la frase "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o medicinal que se busca en un tejido, sistema, animal, individuo o ser humano por un investigador, veterinario, doctor médico u otro practicante clínico. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz es de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 4 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 1000 mg, o de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 500



mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz es 4 mg, 6 mg o 10 mg QD.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen juicio médico, son adecuados 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 relación beneficio/riesgo razonable.

Como se usa en la presente, 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 presentando la patología o la sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, frenando un desarrollo adicional de la patología y/o sintomatología); y (3) mejorar la enfermedad; por ejemplo, mejorar una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o presentando la patología o la sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o sintomatología) como disminuir la gravedad de la enfermedad.

#### *Terapias de Combinación*

Los métodos descritos en la presente pueden comprender además administrar uno o más agentes terapéuticos adicionales. El uno o más agentes terapéuticos adicionales puede administrarse a un paciente simultánea o secuencialmente.

En algunas realizaciones, el método comprende además administrar un agente terapéutico adicional seleccionado de IMiDs, un agente anti-IL-6, un agente anti-TNF- $\alpha$ , un agente hipometilante y un modificador de la respuesta biológica (BRM).

Generalmente, un BRM es una sustancia elaborada a partir de organismos vivos para tratar enfermedades, que pueden tener lugar de manera natural en el cuerpo o pueden elaborarse en el laboratorio. Los ejemplos de BRM incluyen IL-2, interferón, varios tipos de factores estimulantes de colonias (CSF, GM-CSF, G-CSF), anticuerpos monoclonales como abciximab, etanercept, infliximab, rituximab, trastuzumab, y ascorbato de dosis altas.

En algunas realizaciones, el agente anti-TNF- $\alpha$  es infliximab y etanercept.

En algunas realizaciones, el agente de hipometilación es un inhibidor de ADN metiltransferasa. En algunas realizaciones, el inhibidor de ADN metiltransferasa se selecciona de 5 azacitidina y decitabina.

En general, los IMiDs son como agentes inmunomoduladores. En algunas realizaciones, el IMiD se selecciona de talidomida, lenalidomida, pomalidomida, CC-11006 y CC-10015.

En algunas realizaciones, el método comprende además administrar un agente terapéutico adicional seleccionado de globulina anti-timocito, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) humano recombinante, CSF de granulocitos y monocitos (GM-CSF), un agente estimulante de la eritropoyesis (ESA), y ciclosporina.

En algunas realizaciones, el método comprende además administrar un inhibidor de JAK adicional al paciente. En algunas realizaciones, el inhibidor de JAK adicional es tofacitinib o ruxolitinib.

Uno o más agentes terapéuticos adicionales pueden incluir agentes quimioterapéuticos, agentes antiinflamatorios, esteroides, inmunosupresores, así como inhibidores de Bcr-Abl, Flt-3, RAF y FAK quinasa como, por ejemplo, los descritos en la WO 2006/056399, u otros agentes puedan usarse en combinación con los compuestos descritos en la presente.

Ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen inhibidores de proteosomas (por ejemplo, bortezomib), talidomida, revlimida y agentes que dañan el ADN como melfalán, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, etopósido, carmustina y similares.

Ejemplos de esteroides incluyen corticosteroides como dexametasona o prednisona.

Ejemplos de inhibidores de Bcr-Abl incluyen los compuestos, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, de los géneros y especies descritos en la Patente de Estados Unidos N° 5.521.184, la WO 04/005281 y N° de Serie de Estados Unidos 60/578.491. Ejemplos de inhibidores de Flt-3 adecuados incluyen los compuestos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, como se divulgan en la WO 03/037347, WO 03/099771 y WO 04/046120. Ejemplos de inhibidores de RAF adecuados incluyen los compuestos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, como se divulgan en la WO 00/09495 y WO 05/028444. Ejemplos de inhibidores de FAK adecuados incluyen

compuestos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, como se divulgan en la WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595, y WO 01/014402 . En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos de la invención pueden usarse en combinación con uno o más de otros inhibidores de quinasas incluyendo imatinib, particularmente para tratar pacientes resistentes a imatinib u otros inhibidores de quinasas.

5 En algunas realizaciones, un agente quimioterapéutico adecuado puede seleccionarse de agentes antimetabolitos, inhibidores de topoisomerasa 1, análogos de platino, taxanos, antraciclinas e inhibidores de EGFR, y combinaciones de los mismos.

10 En algunas realizaciones, los agentes antimetabolitos incluyen capecitabina, gemcitabina y fluorouracilo (5-FU).

15 En algunas realizaciones, los taxanos incluyen paclitaxel, Abraxane® (partículas unidas a proteínas de paclitaxel para suspensión inyectable) y Taxotere® (docetaxel).

En algunas realizaciones, los análogos de platino incluyen oxaliplatino, cisplatino y carboplatino.

En algunas realizaciones, los inhibidores de topoisomerasa 1 incluyen irinotecan y topotecan.

20 En alguna realización, las antraciclinas incluyen doxorubicina o formulaciones liposomales de doxorubicina.

25 En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico es FOLFIRINOX (5-FU, lecovorina, irinotecán y oxaliplatino). En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico es gemcitabina y Abraxane® (partículas unidas a proteína de paclitaxel para suspensión inyectable).

30 En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es melfalán, melfalán más prednisona [MP], doxorubicina, dexametasona y Velcade (bortezomib). Otros agentes adicionales usados en el tratamiento del mieloma múltiple incluyen inhibidores de Bcr-Abl, Flt-3, RAF y FAK quinasa. Los agentes pueden combinarse con los presentes compuestos en una forma de dosificación única o continua, o los agentes pueden administrarse simultánea o secuencialmente como formas de dosificación separadas.

35 En algunas realizaciones, se administra un corticosteroide como dexametasona a un paciente en combinación con por lo menos un inhibidor selectivo de JAK1 donde la dexametasona se administra intermitentemente en lugar de continuamente.

40 En algunas realizaciones adicionales, pueden administrarse combinaciones de uno o más inhibidores selectivos de JAK1 con otros agentes terapéuticos a un paciente antes, durante y/o después de un trasplante de médula ósea o de un trasplante de células madre.

En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es acetónido de fluocinolona (Retisert®) o rimexolona (AL-2178, Vexol, Alcon).

45 En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es ciclosporina (Restasis®).

En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un corticosteroide. En algunas realizaciones, el corticosteroide es triamcinolona, dexametasona, fluocinolona, cortisona, prednisolona o flumetrolona.

50 En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional se selecciona de Dehydrex™ (Holles Labs), Civamide (Opko), hialuronato de sodio (Vismed, Lantibio/TRB Chemedica), ciclosporina (ST-603, Sirion Therapeutics), ARG101(T) (testosterona, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), ecabet sodio (Senju-Ista), gefarnato (Santen), ácido 15-(s)-hidroxieicosatetraenoico (15(S)-HETE), cevilemina, doxiciclina (ALTY-0501, Alacrity), minociclina, iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), ciclosporina A (Nova22007, Novagali), oxitetraciclina (Duramycin, MOLI1901, Lantibio), CF101 (2S,3S,4R,5R)-3,4-dihidroxi-5-[6-[(3-yodofenil) metilamino] purin-9-il]-N-metil-oxolano-2-carbamilo, Can-Fite Biopharma), voclosporina (LX212 o LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (análogo de resolvina sintético, Resolvix), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), rivoglitazone (DE011, Daiichi Sanko), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Opthalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), 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), loteprednol etabonato, rituximab, diquafosol tetrasodio (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), deshidroepiandrosterona, anakinra, efalizumab, micofenolato sodio, etanercept (Embrel®), hidroxiclo-roquina, NGX267 (TorreyPines Therapeutics), actemra, gemcitabina, oxaliplatino, L-asparaginasa o talidomida.

65 En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un agente antiangiogénico, un agonista colinérgico, un modulador del receptor TRP-1, un bloqueador del canal de calcio, un secretagogo de mucina, un

estimulante de MUC1, un inhibidor de calcineurina, un corticosteroide, un agonista del receptor de P2Y2, un agonista del receptor muscarínico, un inhibidor de mTOR, otro inhibidor de JAK, inhibidor de quinasa Bcr-Abl, inhibidor de quinasa FIt-3, inhibidor de quinasa RAF, e inhibidor de quinasa FAK como, por ejemplo, los descritos en la WO 2006/056399. En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un derivado de tetraciclina (por ejemplo, minociclina o doxiciclina). En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional se une a FKBP12.

En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un agente alquilante o un agente de reticulación de ADN; un agente antimetabolito/desmetilante (por ejemplo, 5-fluorouracilo, capecitabina o azacitidina); una terapia antihormonal (por ejemplo, antagonistas de los receptores hormonales, SERM, o inhibidor de la aromatasas); un inhibidor mitótico (por ejemplo, vincristina o paclitaxel); un inhibidor de topoisomerasa (I o II) (por ejemplo, mitoxantrona e irinotecán); un inductor apoptótico (por ejemplo, ABT-737); una terapia de ácidos nucleicos (por ejemplo, antisentido o ARNi); ligandos de receptores nucleares (por ejemplo, agonistas y/o antagonistas: ácido retinoico todo-trans o bexaroteno); agentes de dirección epigenéticos tales como inhibidores de la histona deacetilasa (por ejemplo, vorinostat), agentes hipometilantes (por ejemplo, decitabina); reguladores de la estabilidad proteica como inhibidores de Hsp90, ubiquitina y/o moléculas de conjugación o desconjugación tipo ubiquitina; o un inhibidor de EGFR (erlotinib).

#### *Formulaciones Farmacéuticas y Formas de Dosificación*

Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los inhibidores selectivos de JAK1 pueden administrarse en forma de composiciones farmacéuticas. Estas composiciones pueden prepararse de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica, y pueden administrarse por una variedad de vías, dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico y de la zona a ser tratada. La administración puede ser tópica (incluyendo transdérmica, epidérmica, oftálmica y a las membranas mucosas incluyendo administración intranasal, vaginal y rectal), pulmonar (por ejemplo, mediante inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, incluyendo mediante nebulizador, intratraqueal o intranasal), oral o parenteral. La administración parenteral incluye administración intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal, intramuscular o inyección o infusión; o intracraneal, por ejemplo, intratecal o intraventricular. La administración parenteral puede ser en forma de una dosis de bolo individual, o puede ser, por ejemplo, mediante una bomba de perfusión continua. Las composiciones y formulaciones farmacéuticas para administración tópica pueden incluir parches transdérmicos, pomadas, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, espráis, líquidos y polvos. Pueden ser necesarios o deseables portadores farmacéuticos convencionales, bases acuosas, en polvo u oleosas, espesantes y similares.

Esta invención también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como ingrediente activo, el inhibidor selectivo de JAK1 descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más portadores (excipientes) farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, la composición es adecuada para administración tópica. Al elaborar las composiciones, el ingrediente activo se mezcla típicamente con un excipiente, se diluye por un excipiente, o se encierra dentro de dicho portador en forma de, por ejemplo, una cápsula, bolsita, papel u otro recipiente. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido, que actúa como un vehículo, portador o medio para el ingrediente activo. Por tanto, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, grajeas, bolsitas, obleas, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un medio líquido), pomadas que contienen, por ejemplo, hasta el 10% en peso del compuesto activo, capsulas de gelatina blandas y duras, supositorios, soluciones inyectables estériles, y polvos envasados estériles.

Al preparar una formulación, el compuesto activo puede molerse para proporcionar el tamaño de partícula apropiado antes de combinarlo con los otros ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, puede molerse a un tamaño de partícula de menos de 200 mesh. Si el compuesto activo es sustancialmente soluble en agua, el tamaño de partícula puede ajustarse moliendo para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo, de aproximadamente 40 mesh.

Los inhibidores selectivos de JAK1 pueden molerse usando procedimientos de molienda conocidos como molienda en húmedo para obtener un tamaño de partícula apropiado para la formación de comprimidos y para otros tipos de formulación. Las preparaciones finamente divididas (nanoparticuladas) de los inhibidores selectivos de JAK1 pueden prepararse mediante procesos conocidos en la técnica, por ejemplo, ver la Solicitud Internacional N° WO 2002/000196.

Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma acacia, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe, y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: agentes lubricantes como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; agentes conservantes como metil- y propilhidroxi-benzoatos; agentes edulcorantes; y agentes aromatizantes. Las composiciones pueden formularse para proporcionar liberación rápida, sostenida o retardada del ingrediente activo después de la administración al paciente empleando procedimientos conocidos en la técnica.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende celulosa microcristalina silicificada (SMCC) y por lo menos un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, la celulosa microcristalina silicificada comprende aproximadamente el 98% de celulosa microcristalina y aproximadamente el 2% de dióxido de silicio p/p.

En algunas realizaciones, la composición es una composición de liberación sostenida que comprende por lo menos un inhibidor selectivo de JAK1 descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y por lo menos un portador farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición comprende por lo menos un inhibidor selectivo de JAK1 descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y por lo menos un componente seleccionado de celulosa microcristalina, monohidrato de lactosa, hidroxipropil metilcelulosa y óxido de polietileno. En algunas realizaciones, la composición comprende por lo menos un inhibidor selectivo de JAK1 descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y celulosa microcristalina, monohidrato de lactosa e hidroxipropil metilcelulosa. En algunas realizaciones, la composición comprende por lo menos un inhibidor selectivo de JAK1 descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y celulosa microcristalina, monohidrato de lactosa y óxido de polietileno. En algunas realizaciones, la composición comprende además estearato de magnesio o dióxido de silicio. En algunas realizaciones, la celulosa microcristalina es Avicel PH102™. En algunas realizaciones, el monohidrato de lactosa es Fast-flo 316™. En algunas realizaciones, la hidroxipropil metilcelulosa es hidroxipropil metilcelulosa 2208 K4M (por ejemplo, Methocel K4 M Premier™) y/o hidroxipropil metilcelulosa 2208 K100LV (por ejemplo, Methocel K00LV™). En algunas realizaciones, el óxido de polietileno es óxido de polietileno WSR 1105 (por ejemplo, Polyox WSR 1105™)

En algunas realizaciones, se usa un proceso de granulación en húmedo para producir la composición. En algunas realizaciones, se usa un proceso de granulación en seco para producir la composición.

Las composiciones pueden formularse en una forma de dosificación unitaria, cada dosificación conteniendo de aproximadamente 5 a aproximadamente 1.000 mg (1 g), más habitualmente de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg, del ingrediente activo. En algunas realizaciones, cada dosificación contiene aproximadamente 10 mg del ingrediente activo. En algunas realizaciones, cada dosificación contiene aproximadamente 50 mg del ingrediente activo. En algunas realizaciones, cada dosificación contiene aproximadamente 25 mg del ingrediente activo. El término "formas de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, cada unidad conteniendo una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

En algunas realizaciones, las composiciones contienen de aproximadamente 2 mg a aproximadamente 10 mg, o de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 50 mg del ingrediente activo. Un experto en la técnica apreciará que esto incluye compuestos o composiciones que contienen de aproximadamente 2 mg a aproximadamente 10 mg, de 5 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 15 mg, de aproximadamente 15 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 25 mg, de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 30 mg, de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 35 mg, de aproximadamente 35 mg a aproximadamente 40 mg, de aproximadamente 40 mg a aproximadamente 45 mg, o de aproximadamente 45 mg a aproximadamente 50 mg del ingrediente activo.

En algunas realizaciones, las composiciones contienen de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 500 mg del ingrediente activo. Un experto en la técnica apreciará que esto incluye compuestos o composiciones que contienen de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 150 mg a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 250 mg, de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 300 mg, de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 350 mg, de aproximadamente 350 mg a aproximadamente 400 mg, o de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 500 mg del ingrediente activo.

En algunas realizaciones, las composiciones contienen de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 1.000 mg del ingrediente activo. Un experto en la técnica apreciará que esto incluye compuestos o composiciones que contienen de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 550 mg, de aproximadamente 550 mg a aproximadamente 600 mg, de aproximadamente 600 mg a aproximadamente 650 mg, de aproximadamente 650 mg a aproximadamente 700 mg, de aproximadamente 700 mg a aproximadamente 750 mg, de aproximadamente 750 mg a aproximadamente 800 mg, de aproximadamente 800 mg a aproximadamente 850 mg, de aproximadamente 850 mg a aproximadamente 900 mg, de aproximadamente 900 mg a aproximadamente 950 mg, o de aproximadamente 950 mg a aproximadamente 1.000 mg del ingrediente activo.

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

Para preparar composiciones sólidas como comprimidos, el ingrediente activo principal se mezcla con un excipiente farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, el ingrediente activo está típicamente dispersado uniformemente en toda la composición de tal manera que la composición se puede subdividir fácilmente en formas de dosificación unitarias igualmente eficaces como comprimidos, píldoras y cápsulas. Esta preformulación sólida se subdivide luego en formas de dosificación unitaria del tipo descrito anteriormente que contienen, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000 mg del ingrediente activo de la presente invención.

Las comprimidos o píldoras pueden recubrirse o componerse de otra manera para proporcionar una forma de dosificación que ofrezca la ventaja de una acción prolongada. Por ejemplo, el comprimido o píldora puede comprender una dosificación interna y un componente de dosificación externo, el último estando en forma de una envoltura sobre el primero. Los dos componentes pueden separarse mediante una capa entérica que sirve para resistir la disgregación en el estómago y permitir que el componente interno pase intacto al duodeno o se retrase su liberación. Pueden usarse una variedad de materiales para tales capas o recubrimientos entéricos, tales materiales incluyendo una serie de 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 pueden incorporarse para administración oral o por inyección incluyen soluciones acuosas, jarabes adecuadamente aromatizados, suspensiones acuosas u oleosas, y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles 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 solventes acuosos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se ha descrito anteriormente. En algunas realizaciones, las composiciones se administran por vía respiratoria oral o nasal para efecto local o sistémico. Las composiciones pueden nebulizarse 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 tienda de máscaras faciales, o a una máquina de respiración a presión positiva intermitente. Las composiciones en solución, suspensión o polvo pueden administrarse oral o nasalmente de dispositivos que administran la formulación de una manera apropiada.

Las formulaciones tópicas pueden contener uno o más portadores convencionales. En algunas realizaciones, las pomadas pueden contener agua y uno o más portadores hidrófobos seleccionados de, por ejemplo, parafina líquida, polioxietileno alquil éter, propilenglicol, vaselina blanca, y similares. Las composiciones de cremas portadoras pueden basarse en agua en combinación con glicerol y uno o más de otros componentes, por ejemplo, monoestearato de glicerina, monoestearato de PEG-glicerina y alcohol cetilestearílico. Los geles pueden formularse usando alcohol isopropílico y agua, de manera adecuada en combinación con otros componentes como, por ejemplo, glicerol, hidroxietil celulosa y similares. En algunas realizaciones, las formulaciones tópicas contienen por lo menos aproximadamente 0,1, por lo menos aproximadamente 0,25, por lo menos aproximadamente 0,5, por lo menos aproximadamente 1, por lo menos aproximadamente 2, o por lo menos aproximadamente el 5% en peso del compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Las formulaciones tópicas pueden envasarse adecuadamente en tubos de, por ejemplo, 100 g que están asociados opcionalmente con instrucciones para el tratamiento de la indicación seleccionada, por ejemplo, psoriasis u otras afecciones de la piel.

La cantidad de compuesto o composición administrada a un paciente variará dependiendo de lo que se está administrando, el propósito de la administración, como profilaxis o terapia, el estado del paciente, la manera 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 por lo menos frenar parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Las dosis eficaces dependerán de la afección de la enfermedad que se está tratando, así como del juicio del practicante clínico tratante, dependiendo de factores como la gravedad de la enfermedad, la edad, el peso y el estado general del paciente, y similares.

Las composiciones administradas a un paciente pueden estar en la forma de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales, o pueden esterilizarse mediante filtración. Las soluciones acuosas pueden envasarse para usar tal cual, o liofilizarse, la preparación liofilizada combinándose con un portador acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones de los compuestos estará típicamente entre 3 y 11, más preferiblemente entre 5 y 9 y lo más preferible entre 7 y 8. Se entenderá que el uso de algunos de los excipientes, portadores o estabilizadores anteriores dará como resultado la formación de sales farmacéuticas.

La dosificación terapéutica de un inhibidor selectivo de JAK1 descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede variar de acuerdo con, por ejemplo, el uso particular para el que se realiza el tratamiento, la forma de administración del compuesto, la salud y el estado del paciente, y el juicio del

médico que prescribe. La proporción o concentración de un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una composición farmacéutica puede variar dependiendo de una serie de factores que incluyen la dosificación, las características químicas (por ejemplo, hidrofobicidad) y la vía de administración. Por ejemplo, el inhibidor selectivo de JAK1 puede proporcionarse en una solución de tampón fisiológico acuosa que contiene de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 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 algunas realizaciones, el intervalo de dosis es de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día. Es probable que la dosificación dependa de variables tales como el tipo y el grado de progresión de la enfermedad o trastorno, el estado general de salud del paciente particular, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su vía de administración. Las dosis eficaces pueden extrapolarse de curvas de respuesta a la dosis derivadas de sistemas de ensayo *in vitro* o de modelo animal.

Las composiciones de la invención pueden incluir adicionalmente uno o más agentes farmacéuticos adicionales como un agente quimioterapéutico, esteroide, compuesto antiinflamatorio o inmunosupresor, ejemplos de los cuales se enumeran anteriormente en la presente.

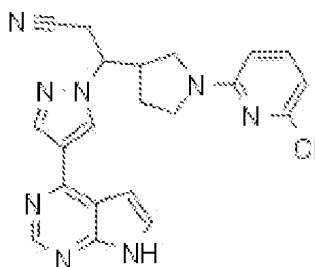
#### Kits

La presente invención también incluye kits farmacéuticos útiles, por ejemplo, en el tratamiento o prevención de un síndrome mielodisplásico, que incluyen uno o más recipientes que contienen una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Tales kits pueden incluir además, si se desea, uno o más de varios componentes de kits farmacéuticos convencionales como, por ejemplo, recipientes con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, recipientes adicionales, etc., como será fácilmente evidente para los expertos en la técnica. También pueden incluirse en el kit instrucciones, ya sea como inserciones o como etiquetas, que indican las cantidades de los componentes que se administrarán, las pautas para la administración y/o las pautas para mezclar los componentes.

#### EJEMPLOS

La invención se describirá con mayor detalle a modo de ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se ofrecen con propósitos ilustrativos. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente una variedad de parámetros no críticos que pueden cambiarse o modificarse para producir esencialmente los mismos resultados. Se ha descubierto que los compuestos de los Ejemplos son inhibidores de JAK de acuerdo con por lo menos un ensayo descrito en la presente.

#### **Ejemplo 1. 3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo (dos aislados de enantiómeros diferentes)**



**Paso 1. bencil3-[2-ciano-1-[4-(1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]etil]pirrolidina-1-carboxilato**

Se disolvió 3-[2-cianovinil] pirrolidina-1-carboxilato de bencilo (,3 g, 0,017 mol, mezcla de isómeros E y Z preparados como se describe en la WO 2007/070514 Ej.742) en acetonitrilo (270 ml). Se añadió 1,8-diazabicyclo[5.4.0] undec-7-eno (5,02 ml, 0,0336 mol), seguido de 4-(1H-pirazol-4-il)-7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (5,6 g, 0,017 mol, preparado como se describe en la WO 2007/070514, Ej.65). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se eliminó por evaporación rotatoria, y el residuo se volvió a disolver en acetato de etilo. La solución se lavó sucesivamente con 1N HCl, agua, bicarbonato de sodio saturado y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de 0-100% de acetato de etilo en hexanos para proporcionar el diastereómero 1 (primero en eluir) (3,5 g, 36%) y el diastereómero 2 (segundo en eluir) (2,5 g, 25%). LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 572,2.

**Paso 2. 3-pirrolidin-3-il-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo**

Se disolvió 3-{2-ciano-1-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]etil}pirrolidina-1-carboxilato de bencilo (3,5 g, 6,1 mmol) (diastereómero 1 del Ejemplo 1, Paso 1) en 100 ml de metanol, y se añadió una cantidad catalítica de Pd-C al 10%. La mezcla se agitó bajo 50 psi de hidrógeno durante 24 h. La mezcla se filtró a continuación y el solvente se eliminó al vacío. El producto se usó sin purificación adicional. LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 438.2.

**Paso 3.** 3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(1-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo

Se calentó una mezcla de 3-pirrolidin-3-il-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo (150 mg, 0,27 mmol) y 2,6-dicloropiridina (48,7 mg, 0,329 mmol) en NMP (1,6 ml) y N,N-diisopropiletilamina (96 microl, 0,55 mmol) a 135° C durante 20 minutos en el microondas. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente del 0-80% de acetato de etilo en hexanos, proporcionó el producto del título (28 mg, 18%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.85 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.41 (d, 1H), 7.37 (dd, 1H), 6.79 (d, 1H), 6.57 (d, 1H), 6.22 (d, 1H), 5.68 (s, 2H), 4.45 (dt, 1H), 3.91 (dd, 1H), 3.57-3.46 (m, 3H), 3.39-3.29 (m, 2H), 3.24 (dd, 1H), 3.13-3.01 (m, 1H), 3.01 (dd, 1H), 1.98-1.88 (m, 1H), 1.82-1.69 (m, 1H), 0.95-0.88 (m, 2H), -0.06 (s, 9H); LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 549.1.

Este producto racémico se separó en sus enantiómeros por HPLC quiral ((Chiral Technologies Chiralcel OJ-H., 5 μ, 30 x 250 mm, 45% de EtOH/Hexanos, 20 ml/min) para proporcionar el enantiómero 1 (primero en eluir, tiempo de retención 40,7 min) y el enantiómero 2 (segundo en eluir, tiempo de retención 51,6 minutos), que se desprotejeron por separado en los Pasos 4a/4b.

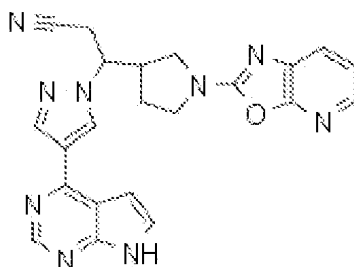
**Paso 4a.** 3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo (enantiómero 1)

Se agitó 3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo (enantiómero 1 del Paso 3) en una solución que contenía TFA/DCM 1:1 (2 ml) durante 2 h, y luego se concentró. El residuo se disolvió en 1 ml de MeOH y se añadieron 0,2 ml de EDA. La purificación mediante HPLC preparativa/EM (columna C18 eluyendo con un gradiente de ACN/H<sub>2</sub>O que contenía NH<sub>4</sub>OH al 0,15%) proporcionó el producto. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.44 (br s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.37 (s, 2H), 7.39 (dd, 1H), 7.38 (dd, 1H), 6.79 (dd, 1H), 6.58 (d, 1H), 6.22 (d, 1H), 4.46 (dt, 1H), 3.92 (dd, 1H), 3.55-3.48 (m, 1H), 3.39-3.31 (m, 2H), 3.25 (dd, 1H), 3.13-3.02 (m, 1H), 3.02 (dd, 1H), 2.00-1.88 (m, 1H), 1.84-1.71 (m, 1H); LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 419.1.

**Paso 4b.** 3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-yl]propanonitrilo (enantiómero 2)

Realizado como en el paso 4a, usando el enantiómero 2 del Paso 3: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.59 (br s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.37 (s, 2H), 7.40 (dd, 1H), 7.38 (dd, 1H), 6.79 (dd, 1H), 6.58 (d, 1H), 6.22 (d, 1H), 4.46 (dt, 1H), 3.92 (dd, 1H), 3.55-3.48 (m, 1H), 3.39-3.31 (m, 2H), 3.25 (dd, 1H), 3.14-3.02 (m, 1H), 3.02 (dd, 1H), 1.99-1.90 (m, 1H), 1.83-1.72 (m, 1H); LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 419.1

**Ejemplo 2.** 3-(1-[1,3]oxazolo[5,4-b]piridin-2-il)pirrolidin-3-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo (un aislado de enantiómero)



**Paso 1.** 3-(1-[1,3]oxazolo[5,4-b]piridin-2-il)pirrolidin-3-il)-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metilo}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo

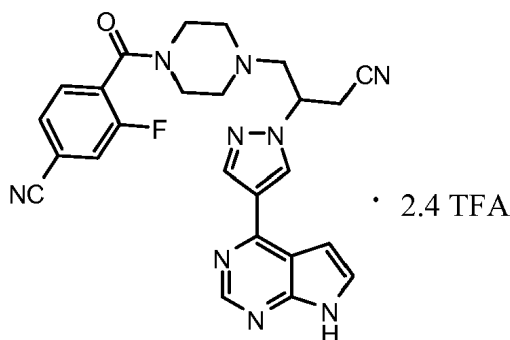
Se calentó oxazolo [5,4-b] piridina-2 (1H)-tione (1,17 g, 7,68 mmol, preparado como en el Ejemplo 33 de la US 2010/0298334 , Paso 4) y 3-pirrolidin-3-il-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo (2,80 g, 6,40 mmol del Ejemplo 15, Paso 3) en 1,4-dioxano (30 ml) a 70° C durante 2 h. El solvente se eliminó a vacío. El producto bruto se reconstituyó en etanol (40 ml) y se trató con nitrato de plata (3 g, 15 mmol) e hidróxido de amonio acuoso (6 ml) en porciones durante el transcurso de 20 h. A la reacción se añadió

agua, IN NaOH y salmuera. El material insoluble se eliminó por filtración. Se separaron las capas del filtrado. Se extrajo la porción acuosa con tres porciones de acetato de etilo. Los extractos se secaron sobre sulfato de sodio, se decantaron y se concentraron. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con MeOH/DCM al 10% para proporcionar el producto como una espuma blanquecina (2,84 g, 80%). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.83 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.92 (dd, 1H), 7.57 (dd, 1H), 7.40 (d, 1H), 7.13 (dd, 1H), 6.78 (d, 1H), 5.67 (s, 2H), 4.52 (dt, 1H), 4.05 (dd, 1H), 3.82 (ddd, 1H), 3.67-3.44 (m, 4H), 3.25 (dd, 1H), 3.24-3.09 (m, 1H), 2.98 (dd, 1H), 2.06-1.74 (m, 2H), 0.97-0.88 (m, 2H), -0.06 (s, 9H); LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 556.1.

**Paso 2.** 3-(1-[1,3]oxazolo[5,4-b]piridin-2-ilpirrolidin-3-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo

Se agitó 3-(1-[1,3]oxazolo[5,4-b]piridin-2-ilpirrolidin-3-il)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo (5,35 g, 9,63 mmol, preparado por el método del Paso 1) en una mezcla 2:1 de DCM y TFA (60 ml) durante 6 h. Los solventes se eliminaron mediante evaporación rotatoria. El residuo bruto se disolvió en metanol (50 ml) que contenía EDA (5,15 ml, 77,0 mmol) y se agitó durante la noche. Después de la eliminación del solvente, el producto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de MeOH/DCM al 0-15% (3,59 g, 88%). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.72 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.89 (dd, 1H), 7.54 (dd, 1H), 7.36 (d, 1H), 7.12 (dd, 1H), 6.75 (d, 1H), 4.56 (dt, 1H), 4.01 (dd, 1H), 3.80 (ddd, 1H), 3.60 (ddd, 1H), 3.48 (dd, 1H), 3.26 (dd, 1H), 3.21-3.06 (m, 1H), 3.02 (dd, 1H), 2.03-1.76 (m, 2H); LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 426.1.

**Ejemplo 3. Sal de trifluoroacetato de 4-[(4-{3-ciano-2-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrilo (aislado de enantiómero individual)**



**Paso 1.** (4-{3-ciano-2-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propil}piperazina-1-carboxilato de (R)-y (S)-terc-butilo

Se añadió 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (5,5 ml, 0,037 mol) a una solución de 4-(3-cianoalil)piperazina-1-carboxilato de (E)-y (Z)-terc-butilo (11,1 g, 0,0441 mol, preparado como en el Ejemplo 1 de la US 2011/0059951, Pasos 1-2) y 4-(1H-pirazol-4-il)-7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (11,6 g, 0,0368 mol), preparado como se describe en la WO2007/070514, Ejemplo 65) en acetonitrilo (70 ml). La mezcla se agitó a 50° C durante 15 horas. Los solventes se eliminaron al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua (3 veces) y salmuera (una vez), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. La cromatografía en columna ultrarrápida, seguida de HPLC-MS preparativa (eluyendo con un gradiente de MeCN/H<sub>2</sub>O que contenía NH<sub>4</sub>OH al 10%) proporcionó el producto como una espuma blanca (8,20 g, 39%).

Se usó HPLC quiral para separar la mezcla racémica en enantiómeros individuales (Phenomenex Lux-Cellulose-2, 21,2 x 250 mm, 5 μm, eluyendo con 30% de EtOH/70% de hexanos, a 20 ml/min). Pico 1 (primero en eluir): 4,0 g y pico 2 (segundo en eluir): 4,0 g. <sup>1</sup>H NMR Pico 1 (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.84 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.40 (d, 1H), 6.79 (d, 1H), 5.68 (s, 2H), 4.70-4.62 (m, 1H), 3.58-3.51 (m, 2H), 3.44-3.35 (br m, 4H), 3.16 (dd, 1H), 3.10 (dd, 1H), 2.99 (dd, 1H), 2.89 (dd, 1H), 2.50-2.40 (br m, 4H), 1.44 (s, 9H), 0.95-0.89 (m, 2H), -0.06 (s, 9H); LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 567.3. <sup>1</sup>H NMR Pico 2 (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.84 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.40 (d, 1H), 6.79 (d, 1H), 5.68 (s, 2H), 4.70-4.62 (m, 1H), 3.58-3.51 (m, 2H), 3.45-3.34 (br m, 4H), 3.16 (dd, 1H), 3.10 (dd, 1H), 2.99 (dd, 1H), 2.90 (dd, 1H), 2.50-2.40 (br m, 4H), 1.44 (s, 9H), 0.95-0.89 (m, 2H), -0.06 (s, 9H); LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 567.3.

**Paso 2.** Sal de clorhidrato de 4-piperazin-1-il-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]butanonitrilo

Se disolvió 4-{3-ciano-2-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propil}piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (4,0 g, 7,0 mmol; Pico 2 del Paso 1) en 1,4-dioxano (40 ml), y se añadieron 4,0 M de HCl en dioxano (25 ml, 100 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 80 minutos. El solvente se eliminó al vacío para proporcionar el producto como la sal de clorhidrato. LCMS (M+H)<sup>+</sup>:

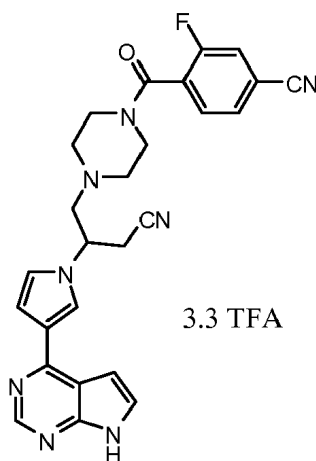


467.3.

**Paso 3. Sal de trifluoroacetato de 4-[(4-{3-ciano-2-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrilo**

Se agitó una mezcla de ácido 4-ciano-2-fluorobenzoico (138 mg, 0,836 mmol, Alfa Aesar), hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (254 mg, 0,669 mmol) y trietilamina (0,466 ml, 3,34 mmol) en THF (10,0 ml) a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió clorhidrato de 4-piperazin-1-il-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]butanonitrilo (0,33 g, 0,56 mmol, del Paso 2). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La reacción se diluyó con acetato de etilo y agua. Se separaron las capas y la capa orgánica se lavó sucesivamente con agua, NaOH 0,1 N y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El residuo se disolvió en una mezcla 2:1 de DCM:TFA, se agitó durante 3 horas, se concentró, luego en una mezcla de 8 ml de metanol a la que se añadieron 0,8 ml de etilendiamina. Después de agitar durante una hora, el producto se purificó por HPLC-MS, eluyendo con un gradiente de MeCN y H<sub>2</sub>O que contiene 0,2% de TFA. El eluyente se congeló y liofilizó para proporcionar un polvo blanco (200 mg, 47%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, d<sub>6</sub>-dmsO): δ 12.64 (br s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.99 (dd, 1H), 7.82-7.76 (m, 2H), 7.61 (t, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 5.13 (br m, 1H), 3.82-2.37 (br, 12H); <sup>19</sup>F NMR (400 MHz, d<sub>6</sub>-dmsO): δ -74.97 (s, 7.2 F), -114.49 (br s, 1F); LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 484.2.

**Ejemplo 4. Sal de trifluoroacetato de 4-[(4-{3-ciano-2-[3-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrilo (aislado de enantiómero individual)**



**Paso 1. 4-{3-ciano-2-[3-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]propil}piperazina-1-carboxilatode terc-butilo**

A una mezcla de 4-(3-cianoalil) piperazin-1-carboxilato de (E)- y (Z)-terc-butilo (4,0 g, 0,016 mol; preparado como en el Ejemplo 1 de la US 2011/0059951, Pasos 1-2) y 4-(1H-pirrol-3-il)-7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (4,2 g, 0,013 mol, preparada como en la WO2009/114512, Ejemplo 82) en N,N-dimetilformamida (25 ml) se añadió carbonato de potasio (5,540 g, 0,0401 mol). La mezcla se agitó a 60° C durante 17 horas. Se añadió 4-(3-cianoalil) piperazin-1-carboxilato de (E)-y (Z)-terc-butilo adicional (4,0 g, 0,016 mol) y la reacción se agitó a 60° C durante 24 horas. Se añadió una porción adicional de 4-(3-cianoalil)piperazin-1-carboxilato de (E)-y (Z)-terc-butilo (4,0 g, 0,016 mol). Después de 3 noches de calentamiento, la mayoría del material de partida se había convertido en el producto deseado como se determinó por LCMS. Luego se filtró la mezcla, se diluyó con EtOAc, se lavó con agua (3 veces), salmuera (una vez), se secó sobre sulfato de sodio, se decantó y se concentró. La purificación mediante HPLC-MS preparativa (eluyendo con un gradiente de MeCN/H<sub>2</sub>O que contenía NH<sub>4</sub>OH al 0,15%) proporcionó una espuma marrón (4,20 g, 55%). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.81 (s, 1H), 7.66 (t, 1H), 7.34 (d, 1H), 6.97 (dd, 1H), 6.89 (t, 1H), 6.84 (d, 1H), 5.66 (s, 2H), 4.47-4.36 (m, 1H), 3.57-3.50 (m, 2H), 3.45-3.37 (m, 4H), 3.06 (dd, 1H), 3.00-2.90 (m, 2H), 2.83 (dd, 1H), 2.57-2.35 (m, 4H), 1.45 (s, 9H), 0.96-0.86 (m, 2H), -0.06 (s, 9H); LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 566.3.

Se usó HPLC quiral para separar el racemato en enantiómeros individuales (Chiral Technologies ChiralPAK IA 20x250mm, 5 μm, fase móvil 30% de EtOH/70% de hexanos, caudal 12 ml/min). Pico 1 (primer enantiómero en eluir), 1,8 g; Pico 2 (segundo enantiómero en eluir): 1,9 g.

**Paso 2. sal de clorhidrato de 4-piperazin-1-il-3-[3-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo [2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]butanonitrilo**

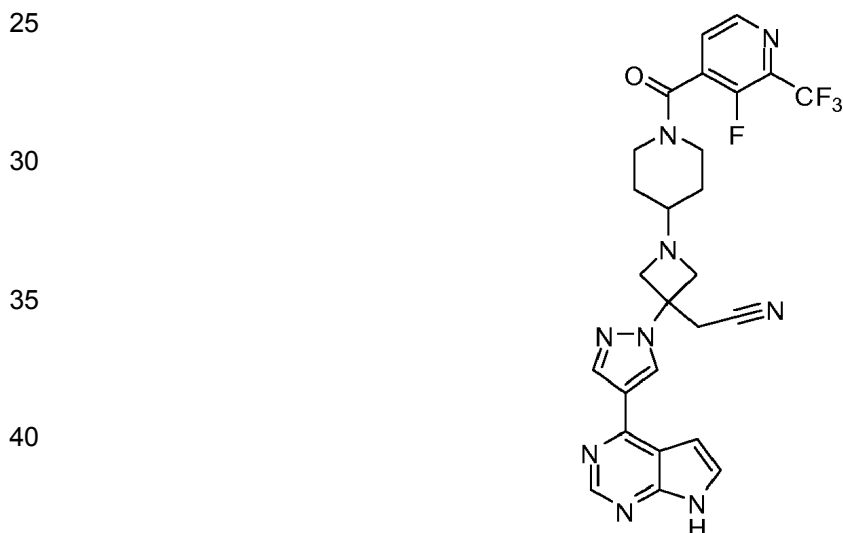
A una solución de 4-{3-ciano-2-[3-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-

il]propil}piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,9 g, 0,0034 mol; pico 2 del Paso 1) en 1,4-dioxano (20 ml) se añadieron 4,0 M de HCl en *p*-dioxano (12 ml, 48 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 80 minutos. El solvente se eliminó al vacío, para proporcionar el producto como un sólido amarillo claro (1,90 g, 100%). LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 466,3.

5 **Paso 3. Sal de trifluoroacetato de 4-[(4-{3-ciano-2-[3-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrilo**

10 Se agitó una mezcla de ácido 4-ciano-2-fluorobenzoico (44 mg, 0,26 mmol, Alfa Aesar), Hexafluorofosfato de N,N,N',N'-Tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (93 mg, 0,24 mmol) y trietilamina (171  $\mu$ l, 1,22 mmol) en THF (2,4 ml) a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió sal de clorhidrato de 4-piperazin-1-il-3-[3-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]butanonitrilo (110 mg, 0,20 mmol, del Paso 2). La reacción se agitó durante 2 horas. Se añadieron acetato de etilo y agua. Se separaron las capas y la capa orgánica se lavó sucesivamente con agua, 1N NaOH y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El residuo se disolvió primero en una mezcla 1:1 de DCM:TFA durante 1 hora, se concentró, luego se agitó en metanol (2 ml) que contenía etilendiamina (0,2 ml) durante una hora. La purificación por HPLC-MS preparatoria (eluyendo con un gradiente de MeCN/H<sub>2</sub>O que contenía 0,1% de TFA proporcionó el producto como la sal de 3,3xTFA (84 mg, 48%). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, d<sub>6</sub>-dmsó):  $\delta$  13,22 (br s, 1H), 8,90 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,00 (dd, 1H), 7,97-7,93 (m, 1H), 7,80 (dd, 1H), 7,61 (t, 1H), 7,35 (s, 2H), 7,18-7,13 (m, 1H), 5,00-4,80 (m, 1H), 3,75-3,49 (br m, 2H), 3,35-2,33 (m, 10H); <sup>19</sup>F NMR (300 MHz, d<sub>6</sub>-dmsó):  $\delta$  -74,82 (s, 10F), -114,53 (s, 1F); LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 483,2.

20 **Ejemplo 5. {1-{1-[3-Fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-ilo)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-il}acetonitrilo**



45 **Paso A: 3-Oxoazetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo**

50 A una mezcla de 3-hidroxiacetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (10,0 g, 57,7 mmol), dimetilsulfóxido (24,0 ml, 338 mmol), trietilamina (40 ml, 300 mmol) y cloruro de metileno (2,0 ml) se añadió complejo de azufre trióxido-piridina (40 g, 200 mmol) en porciones a 0° C. La mezcla se agitó durante 3 horas, se inactivó con salmuera y se extrajo con cloruro de metileno. Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron, y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (0-6% de acetato de etilo (EtOAc) en hexanos) para dar 3-oxoazetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (5,1 g, 52% de rendimiento).

55 **Paso B: 3-(cianometileno) azetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo**

60 Un matraz de fondo redondo de 4 bocas, provisto de barra de agitación, tabiques, entrada de nitrógeno, embudo de adición de 250 ml y termopar de 1 l secado al horno se cargó con hidruro de sodio (5,6 g, 0,14 mol) y tetrahidrofurano (THF) (140 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfrió a 3° C, y luego se cargó con cianometilfosfonato de dietilo (22,4 ml, 0,138 mol) gota a gota a través de una jeringuilla durante 20 minutos. La solución se volvió una lechada amarillo claro. Luego la reacción se agitó durante 75 minutos mientras se calentaba a 18,2 ° C. Se preparó una solución de 3-oxoazetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (20 g, 0,1 mol) en tetrahidrofurano (280 ml) en un fondo redondo secado al horno, se cargó en el embudo de adición a través de una cánula, luego se añadió gota a gota a la mezcla de reacción durante 25 minutos. La solución de reacción se volvió de color rojo. Se permitió que la reacción se agitase durante la noche. La reacción se verificó después de 24 horas mediante TLC (70% de hexano/EtOAc) y se descubrió que estaba completa. La reacción se diluyó con 200 ml de salmuera al 20%

y 250 ml de EtOAc. La solución se dividió y la fase acuosa se extrajo con 250 ml de EtOAc. La fase orgánica combinada se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y se filtró, se evaporó a presión reducida, y se purificó por cromatografía ultrarrápida (0% a 20% de EtOAc/hexanos, 150 g columna ultrarrápida) para dar el producto deseado, 3-(cianometileno)azetidina-1-carboxilato de terc-butilo (15 g, 66,1% de rendimiento).

5

*Paso C: 4-Cloro-7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina*

A una suspensión de hidruro de sodio (36,141 g, 903,62 mmol) en N,N-dimetilacetamida (118 ml) a -5° C (baño de hielo/sal) se añadió una solución oscura de 4-cloropirrolo[2,3-d]pirimidina (119,37 g, 777,30 mmol) en N,N-dimetilacetamida (237 ml) lentamente. El matraz y el embudo de adición se enjuagaron con N,N-dimetilacetamida (30 ml). Una gran cantidad de gas se desarrolló de inmediato. La mezcla se convirtió en una mezcla naranja ligeramente turbia. La mezcla se agitó a 0° C durante 60 minutos para dar una mezcla turbia de color marrón claro. A la mezcla se añadió lentamente cloruro de [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (152,40 g, 914,11 mmol) y la reacción se agitó a 0° C durante 1 h. La reacción se inactivó mediante la adición de 12 ml de H<sub>2</sub>O lentamente. Se añadió más agua (120 ml) seguido de metil *terc*-butil éter (MTBE) (120 ml). La mezcla se agitó durante 10 min. Se separó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con otra porción de MTBE (120 ml). Los extractos orgánicos se combinaron, se lavaron con salmuera (120 ml x 2) y se concentraron bajo presión reducida para dar el producto bruto 4-cloro-7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina como un aceite oscuro. Rendimiento: 85,07 g (97%); LC-MS: 284.1 (M+H)<sup>+</sup>. Fue llevado a la siguiente reacción sin purificación.

20

*Paso D: 4-(1H-Pirazol-4-il)-7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina*

Se cargó un matraz de fondo redondo de 1000 ml con 4-cloro-7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (10,00 g, 35,23 mmol), 1-butanol (25,0 ml), 1-(1-etoxietil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (15,66 g, 52,85 mmol), agua (25,0 ml) y carbonato de potasio (12,17 g, 88,08 mmol). Esta solución se desgasificó 4 veces, llenando con nitrógeno cada vez. A la solución se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (4,071 g, 3,523 mmol). La solución se desgasificó 4 veces, llenando con nitrógeno cada vez. La mezcla se agitó durante la noche a 100° C. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla se filtró a través de un lecho de celite y el celite se enjuagó con acetato de etilo (42 ml). El filtrado se combinó, y se separó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se combinaron y se concentraron al vacío con una temperatura de baño de 30-70° C para dar el compuesto final 4-(1H-pirazol-4-il)-7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina. Rendimiento: 78%. LC-MS: 316.2 (M+H)<sup>+</sup>.

25

*Paso E: 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*

35

Un matraz de fondo redondo de 2 l equipado con agitación superior, tabiques y entrada de nitrógeno se cargó con 3-(cianometileno)azetidina-1-carboxilato de terc-butilo (9,17 g, 0,0472 mol), 4-(1H-pirazol-4-il)-7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (14,9 g, 0,0472 mol) y acetonitrilo (300 ml). La solución resultante fue heterogénea. A la solución se le añadió 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (8,48 ml, 0,0567 mol) en porciones a través de una jeringuilla durante 3 minutos a temperatura ambiente. La solución se volvió lentamente homogénea y de color amarillo. Se permitió que la reacción agitase a temperatura ambiente durante 3 h. La reacción se completó por HPLC y LC/MS y se concentró mediante evaporación rotatoria para eliminar el acetonitrilo (~150 ml). Se añadió EtOAc (100 ml) seguido de 100 ml de salmuera al 20%. Se dividieron las dos fases. La fase acuosa se extrajo con 150 ml de EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron para producir un aceite naranja. La purificación por cromatografía ultrarrápida (150 gramos de sílice, 60% de EtOAc/hexanos, cargada con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) produjo el compuesto del título 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 como un aceite amarillo (21,1 g, 88% de rendimiento). LC-MS: [M+H]<sup>+</sup>= 510.3.

40

*Paso F: diclorhidrato de {3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-il}acetónitrilo*

45

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 (2 g, 3,9 mmol) en 10 ml de THF se añadieron 10 ml de HCl 4N en dioxano. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y se concentró al vacío para proporcionar 1,9 g (99%) del compuesto del título como un sólido en polvo blanco, que se usó para la reacción siguiente sin purificación. LC-MS: [M+H]<sup>+</sup>= 410.3.

50

*Paso G: 4-{3-(cianometil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-1-il}piperidina-1-carboxilato de terc-butilo*

55

En la solución de diclorhidrato de {3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]deazetidina-3-il}acetónitrilo (2,6 g, 6,3 mmol), 4-oxo-1-piperidinacarboxilato de *terc*-butilo (1,3 g, 6,3 mmol) en THF (30 ml) se añadieron N,N-diisopropiletilamina (4,4 ml, 25 mmol) y triacetoxiborohidruro sódico (2,2 g, 10

60

65

mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de añadir 20 ml de salmuera, la solución se extrajo con EtOAc. El extracto se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró. El residuo se purificó mediante columna combiflash eluyendo con 30-80% de EtOAc en hexanos para dar el producto deseado, 4-{3-(cianometil)-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il]piperidina-1-carboxilato de *terc.*-butilo. Rendimiento: 3,2 g (86%); LC-MS: [M+H]<sup>+</sup> = 593,3.

*Paso H: triclórhidrato de {1-piperidín-4-il-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidín-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo*

Aun asolución de 4-{3-(cianometil)-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidín-4-yl)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il]piperidina-1-carboxilato de *terc-butilo* (3,2 g, 5,4 mmol) en 10 ml de THF se añadieron 10 ml de HCl 4 N en dioxano. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La eliminación de solventes bajo presión reducida produjo 3,25 g (100%) de triclórhidrato de {1-piperidín-4-il-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidín-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo como un sólido en polvo blanco, que se usó directamente en la siguiente reacción. LC-MS: [M+H]<sup>+</sup> = 493,3. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9,42 (s, 1H), 9,21 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,39 (d, 1H), 5,68 (s, 2H), 4,96 (d, 2H), 4,56 (m, 2H), 4,02-3,63 (m, 2H), 3,55 (s, 2H), 3,53 (t, 2H), 3,49-3,31 (3, 3H), 2,81 (m, 2H), 2,12 (d, 2H), 1,79 (m, 2H), 0,83 (t, 2H), -0,10 (s, 9H).

*Paso I: {1-[1-[3-Fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidín-4-il]-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidín-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo*

Una mezcla de triclórhidrato de {1-piperidín-4-il-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidín-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo (1,22 g, 2,03 mmol), ácido 3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotínico (460 mg, 2,2 mmol), hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio (1,07 g, 2,42 mmol) y trietilamina (2,0 ml, 14 mmol) en dimetilformamida (DMF) (20,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. LS-MS mostró que la reacción estaba completa. Se añadieron a la mezcla de reacción EtOAc (60 ml) y solución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> saturada (60 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 10 minutos, la fase orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con EtOAc tres veces. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida. La purificación por cromatografía ultrarrápida proporcionó el producto deseado {1-[1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidín-4-il]-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidín-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo. LC-MS: 684,3 (M+H)<sup>+</sup>.

*Paso J: {1-[1-[3-Fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidín-4-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidín-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo*

En una solución de {1-[1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidín-4-il]-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidín-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo (56 mg, 0,1 mmol) en cloruro de metileno (1,5 ml) se añadió ácido trifluoroacético (1,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de eliminar los solventes al vacío, el residuo se disolvió en una solución de metanol que contenía un 20% de etilendiamina. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la solución se purificó por HPLC (método B) para dar el compuesto del título. LC-MS: 554,3 (M+H)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 9,71 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,55 (d, J=4,6 Hz, 1H), 8,39 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 7,52 (t, J=4,6 Hz, 1H), 7,39 (dd, J<sub>1</sub>=3,4 Hz, J<sub>2</sub>=1,5 Hz, 1H), 6,77 (dd, J<sub>1</sub>=3,6 Hz, J<sub>2</sub>=0,7 Hz, 1H), 4,18 (m, 1H), 3,75 (m, 2H), 3,63 (dd, J<sub>1</sub>=7,8 Hz, J<sub>2</sub>=3,7 Hz, 2H), 3,45 (m, 2H), 3,38 (s, 2H), 3,11 (m, 1H), 2,57 (m, 1H), 1,72 (m, 1H), 1,60 (m, 1H), 1,48 (m, 1H), 1,40 (m, 1H).

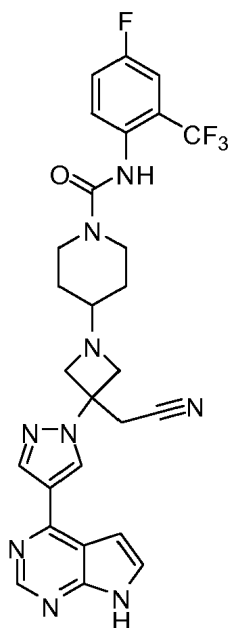
**Ejemplo 6. 4-{3-(Cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidín-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]piperidina-1-carboxamida**

5

10

15

20



25 **Paso A:** 4-{3-(Cianometil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]piperidina-1-carboxamida

30 A una solución de triclorhidrato de {1-piperidin-4-il-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo (500 mg, 1 mmol) en tetrahidrofurano (30 ml) se le añadieron trietilamina (0,29 g, 2,8 mmol) y 4-fluoro-1-isocianato-2-(trifluorometil)benceno (190 mg, 0,95 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El solvente se eliminó bajo presión reducida. La purificación mediante combi-flash usando 30-100% de EtOAc/hexanos dio 4-{3-(cianometil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]piperidina-1-carboxamida como un polvo. LC-MS: 698.1 (M+H)<sup>+</sup>.

35

**Paso B:** 4-{3-(Cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]piperidina-1-carboxamida

40 Se disolvió 4-{3-(Cianometil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]piperidina-1-carboxamida (210 mg, 0,3 mmol) en una solución 50 M de ácido trifluoroacético en cloruro de metileno (20 ml). Después de agitarse a temperatura ambiente durante una hora, los solventes se eliminaron bajo presión reducida. El residuo se disolvió en metanol (20 ml) y etilendiamina (1,0 g, 17 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante una hora, la mezcla se purificó por HPLC (método B) para dar 4-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]piperidina-1-carboxamida como un polvo blanco. LC-MS: 568.1 (M+H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12.10 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.55 (d, J=3.6 Hz, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 7.01 (d, J=3.6 Hz, 1H), 3.79 (m, 2H), 3.67 (d, J=8 Hz, 2H), 3.51 (m, 4H), 2.92 (m, 2H), 2.38 (m, 1H), 1.62 (m, 2H), 1.09 (m, 2H).

50 **Ejemplo 7.** [3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-1-(1-[[2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]carbonil]piperidin-4-il)azetidín-3-il]acetonitrilo

55

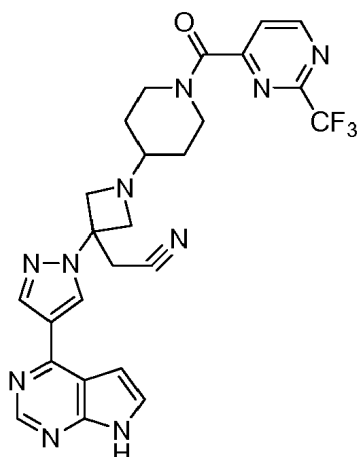
60

65

5

10

15



20

El compuesto del título se preparó mediante un método análogo al usado para preparar el Ejemplo 5. LC-MS (M+H)<sup>+</sup>: 537.2.

20

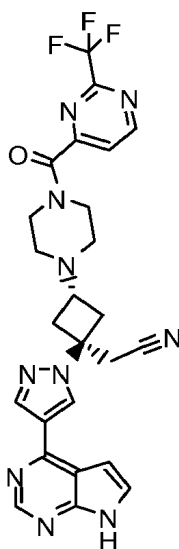
**Ejemplo 8.** [*trans*-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-3-(4-{[2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]carbonil}piperazin-1-il)ciclobutil]acetonitrilo

25

30

35

40



45

50

55

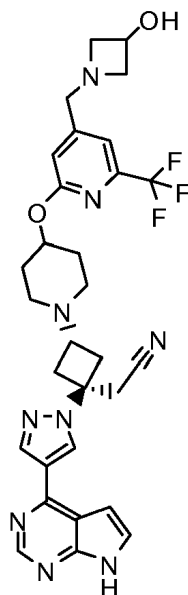
60

65

Una mezcla de ácido 2-(trifluorometil)pirimidina-4-carboxílico (0,225 g, 1,17 mmol, preparada por hidrólisis del éster metílico obtenido de Apollo como se describe en la WO2006/067445), hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,29 g, 0,76 mmol, Aldrich) y trietilamina (0,26 ml, 1,9 mmol) en tetrahidrofurano (6 ml) se preagitó durante 15 minutos, seguido de la adición de {*trans*-3-piperazin-1-il-1-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil]acetonitrilo (0,188 g, 0,380 mmol, preparado como en el Ejemplo 1b de la US 2012/0149681, Paso 1) en tetrahidrofurano (10 ml). La reacción se agitó durante la noche. El THF se eliminó al vacío. El residuo se dividió entre bicarbonato de sodio saturado y acetato de etilo. La porción acuosa se extrajo un total de tres veces. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se decantaron y se concentraron. La cromatografía ultrarrápida, eluyendo con un gradiente de 0-10% de MeOH en DCM se usó para purificar el intermedio protegido por SEM. La desprotección se efectuó agitando primero con ácido trifluoroacético (10 ml) en cloruro de metileno (10 ml) durante 2 horas, seguido de evaporación del solvente al vacío, luego agitación con metanol (6 ml, 200 mmol) que contenía etilendiamina (0,5 ml, 7 mmol) durante la noche. La mezcla de reacción se dividió entre agua y acetato de etilo, y la porción acuosa se extrajo dos veces más con acetato de etilo. Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. Se usó cromatografía ultrarrápida para purificar el producto, eluyendo con un gradiente de 0-10% de MeOH en DCM. El producto se volvió a purificar con HPLC-MS preparativa (C18, eluyendo con un gradiente de H<sub>2</sub>O/MeCN que contenía TFA al 0,1%). El acetonitrilo se eliminó del eluyente que contenía la masa deseada mediante evaporación rotativa, luego la solución acuosa restante se neutralizó mediante la adición de bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo varias veces. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El producto se volvió a purificar por HPLC-MS preparativa (C18, eluyendo con un gradiente de H<sub>2</sub>O/MeCN que contenía un 0,15% de NH<sub>4</sub>OH). El eluyente que contenía la masa deseada se congeló y se liofilizó

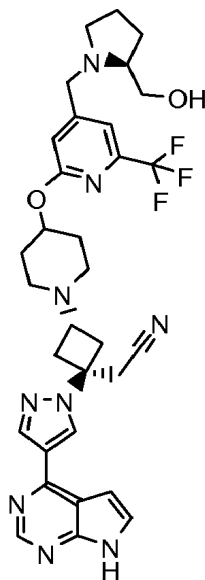
para proporcionar el producto como la base libre (99 mg, 48%).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  9.13 (d, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.88 (d, 1H), 7.50 (d, 1H), 6.98 (d, 1H), 3.89-3.81 (m, 2H), 3.59-3.52 (m, 2H), 3.34 (s, 2H), 3.13-3.03 (m, 2H), 2.97 (tt, 1H), 2.59-2.42 (m, 6H);  $^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$ -72.43 (s, 3F); LCMS (M+H) $^+$ : 537.0.

**Ejemplo 9.** {*trans*-3-(4-[[4-[(3-hidroxiacetidin-1-il)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil)acetronitrilo



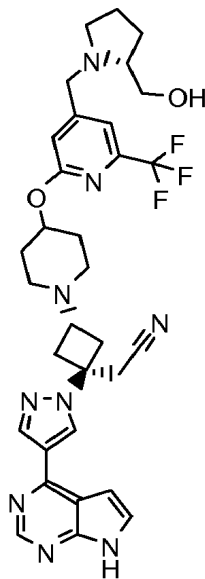
Se siguió el procedimiento del Ejemplo 153 de la US 2012/0149681, usando N,N-diisopropiletilamina (64  $\mu\text{l}$ , 0,37 mmol) y clorhidrato de acetidin-3-ol (30 mg, 0,3 mmol, Oakwood) en el paso de desplazamiento. Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, se añadió metanol (0,20 ml) para proporcionar una solución homogénea, que se agitó durante 2,5 horas adicionales a temperatura ambiente y se trató de acuerdo con las condiciones de desprotección y purificación dadas en el Ejemplo 153 de la US 2012/0149681 para proporcionar el producto como la base libre (9.7 mg, 44%).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, dmsó)  $\delta$  12.12 (br s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.59 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.06 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 6.93 (s, 1H), 5.34 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 1H), 5.05 - 4.77 (m, 1H), 4.19 (h,  $J$  = 6.1 Hz, 1H), 3.60 (s, 2H), 3.50 (td,  $J$  = 6.1, 2.0 Hz, 2H), 3.40 (s, 2H), 3.06 - 2.92 (m, 2H), 2.86 - 2.71 (m, 3H), 2.68 - 2.53 (m, 2H), 2.38 - 2.22 (m, 2H), 2.22-2.07 (br m, 2H), 2.05-1.95 (br m, 2H), 1.75 - 1.48 (m, 2H);  $^{19}\text{F}$  NMR (376 MHz, dmsó)  $\delta$ -67.36 (s); LCMS (M+H) $^+$ : 608.2.

**Ejemplo 10.** {*trans*-3-(4-[[4-[[[(2S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]piperidina-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil)acetronitrilo



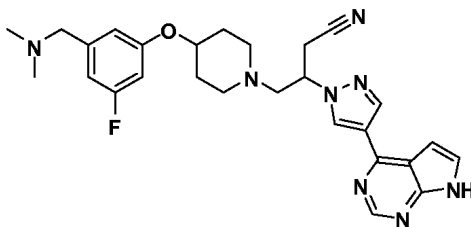
Se siguió el método del Ejemplo 158 de la US 2012/0149681, excepto que el desplazamiento del mesilato con amina se llevó a cabo usando (2S)-pirrolidín-2-ilmetanol (20  $\mu$ l, 0.2 mmol, Aldrich), a temperatura ambiente durante la noche (8.3 mg, 59%).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO)  $\delta$  12.09 (br s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.59 (d,  $J$  = 3.5 Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.06 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 5.00 (tt,  $J$  = 8.4, 3.9 Hz, 1H), 4.48 (s, 1H), 4.12 (d,  $J$  = 14.8 Hz, 1H), 3.45 (d,  $J$  = 15.0 Hz, 1H), 3.41 (s, 2H), 3.42-3.25 (m, 2H), 3.06 - 2.97 (m, 2H), 2.87 - 2.77 (m, 2H), 2.69 - 2.62 (m, 2H), 2.59 (dddd,  $J$  = 5.8, 5.8, 5.8, 8.1 Hz, 1H), 2.41 - 2.31 (m, 2H), 2.22 - 2.09 (m, 3H), 2.08 - 1.95 (m, 2H), 1.83 (dddd,  $J$  = 8.1, 8.1, 8.3, 12.2 Hz, 1H), 1.75 - 1.46 (m, 5H);  $^{19}\text{F}$  NMR (376 MHz, dmsO)  $\delta$  -67.24 (s); LCMS (M+H) $^+$ : 636.3.

**Ejemplo 11.** {*trans*-3-(4-{[4-{{(2*R*)-2-(hidroximetil)pirrolidín-1-il]metil}-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidín-1-il)-1-[4-(7H-pirroló[2,3-*d*]pirimidín-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrilo



Se siguió el método del Ejemplo 158 de la US 2012/0149681, excepto que el desplazamiento del mesilato con amina se lleva a cabo usando (2*R*)-pirrolidín-2-ilmetanol (20  $\mu$ l, 0.2 mmol, Aldrich) a temperatura ambiente durante la noche (8,3 mg, 59%).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, dmsO)  $\delta$  12.14 (br s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.60 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.08 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 5.04 - 4.94 (m, 1H), 4.52 (t,  $J$  = 5.4 Hz, 1H), 4.12 (d,  $J$  = 14.9 Hz, 1H), 3.52 - 3.22 (m, 5H), 3.09 - 2.92 (m, 2H), 2.86 - 2.73 (m, 2H), 2.70 - 2.53 (m, 3H), 2.42 - 2.27 (m, 2H), 2.22 - 2.09 (m, 3H), 2.06 - 1.87 (m, 2H), 1.82 (dddd,  $J$  = 8.0, 8.0, 8.4, 11.9 Hz, 1H), 1.77 - 1.37 (m, 5H);  $^{19}\text{F}$  NMR (376 MHz, dmsO)  $\delta$  -67.24 (s); LCMS (M+H) $^+$ : 636.3.

**Ejemplo 12.** 4-(4-{3-[(dimetilamino)metil]-5-fluorofenoxi}piperidín-1-il)-3-[4-(7H-pirroló[2,3-*d*]pirimidín-4-il)-1H-pirazol-1-il]butanonitrilo (quiral)



*Paso 1.* 3-fluoro-5-hidroxibenzaldehído

A una suspensión de 3-fluoro-5-hidroxibenzonitrilo (1,00 g, 7,29 mmol) en tolueno (60,0 ml a -78° C) se añadió hidruro de diisobutilaluminio 1.0 M en tolueno (18,2 ml, 18,2 mmol). La mezcla resultante se agitó a -78° C durante 1 hora y se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió la mezcla 1:1 de metanol y agua (10 ml) y se agitó durante 35 minutos. El sólido se filtró y se lavó con acetato de etilo. Los filtrados se lavaron con agua y salmuera, luego se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron. El producto bruto se purificó con columna de gel de sílice (eluyendo con 10-50% de acetato de etilo/hexanos) para dar el producto deseado (0,77 g, 75%).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.49 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 7.10 (m, 2H), 6.87 (d, 1H).



**Paso 2. 3-[(dimetilamino metil)-5-fluorofenol**

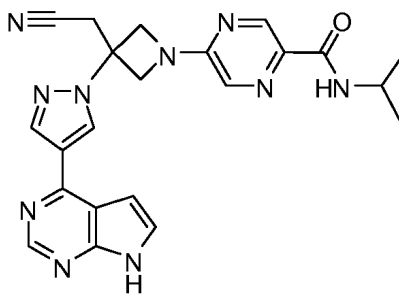
A una mezcla de clorhidrato de dimetilamina (160 mg, 1,96 mmol) y 3-fluoro-5-hidroxibenzaldehído (250,0 mg, 1,784 mmol) en cloruro de metileno (9.0 ml) se añadió trietilamina (323  $\mu$ l, 2,32 mmol) y resina de triacetoxiborohidruro de sodio (1,1 g, 2,7 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche, luego se filtró y se concentró. El producto en bruto se purificó mediante columna de gel de sílice (eluyendo con 0-15% de metanol/DCM) para dar el producto deseado (0,21 g, 70%).  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  6.55 (m, 2H), 6.42 (d, 1H), 2.15 (s, 6H), 1.89 (s, 2H). LCMS (M+H) $^+$ : 170.1.

**Paso 3. 4-(4-{3-[(dimetilamino)metil]-5-fluorofenoxi}piperidin-1-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ilo)-1H-pirazol-1-il]butanonitrilo**

A una mezcla de 3-[(dimetilamino)metil]-5-fluorofenol (158 mg, 0,934 mmol) en cloruro de metileno (9 ml) se le añadió Resina de trifetilfosfina (578 mg, 1,37 mmol) y azodicarboxilato de di-*tert*-butilo (229 mg, 0,996 mmol). La mezcla se agitó durante 20 minutos antes de añadir una solución de 4-(4-hidroxipiperidin-1-il)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]butanonitrilo (300 mg, 0,6 mmol) en cloruro de metileno (2 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió resina de trifetilfosfina adicional (0,5 g), azodicarboxilato de di-*tert*-butilo (0,23 g) y DCM (8 ml) y se agitó durante 2 horas adicionales. El vial y la resina se lavaron con DCM y se filtraron. Los filtrados se lavaron con 10% de solución de NaOH acuosa. La capa orgánica se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró, y se concentró. El producto bruto se purificó mediante columna de gel de sílice (eluida con 0-15% de metanol/DCM) para dar el producto protegido de SEM. LCMS (M+H) $^+$ : 633.5. Al producto purificado se añadió cloruro de metileno (1,5 ml) y ácido trifluoroacético (1,5 ml, 19 mmol) y se agitó durante 2 horas. Los solventes se evaporaron antes de añadir metanol (3,5 ml) y etilendiamina (0,70 ml, 10 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 1 hora y luego se concentró. El concentrado se recogió en DCM y se lavó con agua, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró para dar el producto bruto que se purificó mediante HPLC preparatoria quiral (columna Chiralcel OJ-H, 4,6 x 250 mm, 5  $\mu$ , 60% de etanol/Hex, 0,5 ml/min) para proporcionar 2 enantiómeros.

enantiómero 1 (primero en eluir): LCMS (M+H) $^+$ : 503.3.

enantiómero 2 (segundo en eluir):  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.78 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.59 (d, 1H), 6.96 (d, 1H), 6.64 (t, 3H), 4.94 (m, 1H), 4.36 (m, 1H), 3.39 (m, 2H), 3.19 (d, 3H), 2.77 (m, 3H), 2.60 (m, 1H), 2.32 (m, 2H), 2.10 (s, 6H), 1.83 (m, 2H), 1.54 (m, 2H). LCMS (M+H) $^+$ : 503.3.

**Ejemplo 13. 5-{3-(Cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carboxamida****Paso 1: 5-{3-(cianometil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}pirazina-2-carboxilato de metilo**

Se añadió (R)-(+)-2,2'-Bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (0,065 g, 0,10 mmol) a una mezcla de diclorhidrato de {3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo (0,50 g, 1,0 mmol), 5-cloropirazina-2-carboxilato de metilo (0,18 g, 1,0 mmol) (Ark Pharm, Inc., N $^{\circ}$  de Cat.: AK-23920), y carbonato de cesio (1.0 g, 3.1 mmol) en tolueno (15.0 ml) bajo nitrógeno, seguido por acetato de paladio (0,023 g, 0,10 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a 120 $^{\circ}$  C durante 3 h. Después de enfriar a temperatura ambiente la mezcla de la reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice con acetato de etilo en diclorometano (0-70%) para proporcionar el producto deseado (0,31 g, 55%). LCMS (M+H) $^+$ : m/z = 546.3.

**Paso 2: ácido 5-{3-(cianometil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}pirazina-2-carboxílico**

Se agitó durante la noche una mezcla de 5-{3-(cianometil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-

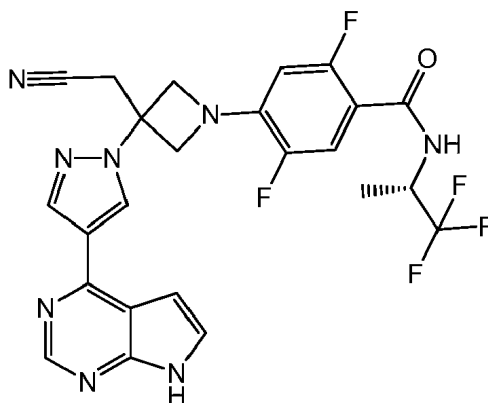
d]pirimidin-4-ilo]-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il]pirazina-2-carboxilato (0,31 g, 0,57 mmol), monohidrato de hidróxido de litio (0,060 g, 1,4 mmol) en metanol (6,0 ml) y agua (2,5 ml) a 30° C. La mezcla se ajustó a pH = 4 con HCl acuoso y se concentró bajo presión reducida para eliminar el MeOH. El sólido resultante se filtró, se lavó con agua y éter, y luego se secó al vacío para proporcionar el producto deseado (0,25 g, 83%). LCMS (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 532.3.

**Paso 3:** 5-[3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo [2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il] azetidín-1-yl]-N-isopropilpirazina-2-carboxamida

Se añadió trietilamina (15 µl, 0,11 mmol) a una mezcla de ácido 5-[3-(cianometil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il]pirazina-2-carboxílico (19,4 mg, 0,0365 mmol) y hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio (19 mg, 0,044 mmol) y 2-propanamina (3,2 mg, 0,055 mmol) en cloruro de metileno (1,3 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se trató con NaHCO<sub>3</sub> acuoso, y se extrajo con cloruro de metileno (2 x 2 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (1 ml) y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se usó para el paso siguiente sin purificación adicional. LCMS (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 573.3.

Se añadieron cloruro de metileno (1,3 ml) y ácido trifluoroacético (0,6 ml) al producto intermedio anterior. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. La mezcla se concentró bajo presión reducida. El residuo se disolvió en metanol (1,3 ml). A la solución se añadió etilendiamina (0,086 ml). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y se purificó por RP-HPLC (pH = 10) para proporcionar el producto deseado. LCMS (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 443.2. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12.15 (br, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.63 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.12 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.60 (dd, J = 3.3, 2.4 Hz, 1H), 7.07 (dd, J = 3.4, 1.7 Hz, 1H), 4.81 (d, J = 9.8 Hz, 2H), 4.53 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 4.13-4.02 (m, 1H), 3.78 (s, 2H), 1.14 (d, J = 6.8 Hz, 6H).

**Ejemplo 14.** 4-[3-(Cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamida



**Paso 1:** 4-cloro-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamida

Se añadió cloruro de 4-cloro-2,5-difluorobenzoilo (29,6 mg, 0,140 mmol) (Oakwood, N° de Cat.: 001628) a una mezcla de clorhidrato de (2S)-1,1,1-trifluoropropan-2-amina (20,0 mg, 0,134 mmol) (SynQuest Lab, N° de Cat.: 3130-7-S1) y diisopropiletilamina (58 µl, 0,33 mmol) en diclorometano (4,0 ml) a 0° C. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se trató con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado, y se extrajo con diclorometileno (3x10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proporcionar el producto deseado que se utilizó directamente en el paso de reacción siguiente sin purificación adicional. LCMS (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 288.0/290.0.

**Paso 2:** 4-[3-(cianometil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamida

Se añadió (R)-(+)-2,2'-Bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (8,3 mg, 0,013 mmol) a una mezcla de diclorhidrato de {3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo (65 mg, 0,13 mmol), 4-cloro-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamida (0,14 mmol), y carbonato de cesio (0,13 g, 0,40 mmol) en tolueno (4,0 ml) bajo N<sub>2</sub>, seguido por acetato de paladio (3,0 mg, 0,013 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a 130° C durante 5 h. Después de que la mezcla de la reacción se enfriara a temperatura ambiente, la mezcla se trató con agua, y se extrajo con acetato de etilo (3x10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para

proporcionar el producto bruto que se usó directamente en el paso de reacción siguiente sin purificación adicional. LCMS (M+H)<sup>+</sup> : m/z = 661.2.

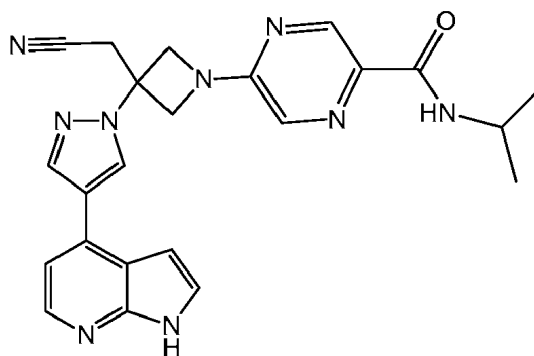
5 **Paso 3:** 4-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamida

Se añadió éterato de trifluoruro de boro (0,051 ml, 0,40 mmol) a una solución de 4-{3-(cianometil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamida en acetonitrilo (1,0 ml) a 0° C bajo N<sub>2</sub>. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. (LCMS (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 561.3). Luego la mezcla se enfrió a 0° C, se añadió agua (0,13 ml). Después de 30 minutos, se añadió lentamente hidróxido de amonio 5.0 M en agua (0,2 ml, 1 mmol) a 0° C durante 5 minutos. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, y se purificó por RP-HPLC (pH = 10) para proporcionar el producto deseado. LCMS (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 531.0. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12.62 (br, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.51 (dd, J = 8.8, 1.2 Hz, 1H), 7.78 (br, 1H), 7.35 (dd, J = 12.6, 6.5 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.65 (dd, J = 11.9, 7.3 Hz, 1H), 4.76 (m, 1H), 4.70 (d, J = 9.3 Hz, 2H), 4.44 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 3.76 (s, 2H), 1.30 (d, J = 7.1 Hz, 3H).

20 **Ejemplo 15. 5-{3-(Cianometil)-3-[4-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carboxamida**

20

25



30

35 **Paso 1:** 5-{3-(cianometil)-3-[4-(1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}pirazina-2-carboxilato de metilo

Se añadió N, N-diisopropiletilamina (1,0 ml, 6,0 mmol) a una mezcla de diclorhidrato de {3-[4-(1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo (0,96 g, 2,0 mmol) y 5-cloropirazina-2-carboxilato de metilo (0,34 g, 2,0 mmol) en 1,4-dioxano (15 ml). La mezcla de la reacción se agitó a 120° C durante la noche. La mezcla se trató con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado, y se extrajo con diclorometileno (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice con acetato de etilo en hexanos (0-60%) para proporcionar el producto deseado (0,13 g, 12%). LCMS (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 545.2.

45 **Paso 2:** ácido 5-{3-(cianometil)-3-[4-(1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}pirazina-2-carboxílico

Una mezcla de la reacción de 5-{3-(cianometil)-3-[4-(1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}pirazina-2-carboxilato (0,13 g, 0,24 mmol), monohidrato de hidróxido de litio (0,025 g, 0,60 mmol) en metanol (4,0 ml), THF (2,0 ml) y agua (1,0 ml) se agitó a 40° C durante 3 h. La mezcla se ajustó a pH = 4 con solución acuosa de HCl 2.0 N y se concentró bajo presión reducida para eliminar el MeOH y THF. El precipitado formado se filtró, se lavó con agua y éter, y se secó al vacío para proporcionar el producto deseado (0,100 g, 79%). LCMS (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 531.4.

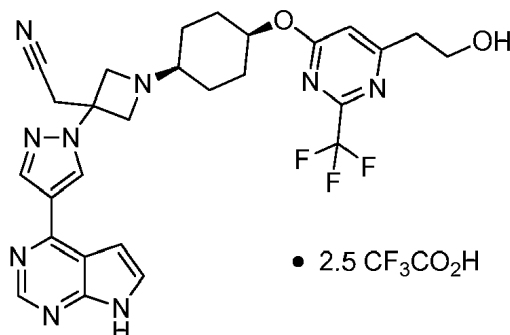
55 **Paso 3:** 5-{3-(cianometil)-3-[4-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carboxamida

Se añadió N, N-diisopropiletilamina (19 µl, 0,11 mmol) a una mezcla de ácido 5-{3-(cianometil)-3-[4-(1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il}pirazina-2-carboxílico (19,4 mg, 0,0365 mmol), hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio (19 mg, 0,044 mmol) y 2-propanamina (3,2 mg, 0,055 mmol) en DMF (1,0 ml). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de la reacción se trató con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado, y se extrajo con diclorometileno (3x20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y concentraron bajo presión

65

reducida. El residuo se trató con cloruro de metileno (1,3 ml) y TFA (1,3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h, y se concentró bajo presión reducida. El residuo se disolvió en metanol (1,3 ml) y se trató con etilendiamina (0,086 ml, 1,3 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y luego se purificó mediante RP-HPLC (pH = 10) para proporcionar el producto deseado. LCMS (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 442.1. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12.19 (br, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.66 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.32 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 8.14 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.00 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 7.67 (dd, J = 3.2, 2.7 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 7.09 (dd, J = 3.5, 2.7 Hz), 4.82 (d, J = 10.0 Hz, 2H), 4.56 (d, J = 10.0 Hz, 2H), 4.10 (m, 1H), 3.79 (s, 2H), 1.17 (d, J = 6.4 Hz, 6H).

**Ejemplo 16: tris(trifluoroacetato) de {1-(*cis*-4-{[6-(2-hidroxietyl)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo**



**Paso 1: [6-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-iloxi)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]malonato de dietilo**

A una mezcla de tetrahidrofurano (40 ml) y NaH en aceite mineral (1,1 g, 28 mmol) a 0° C se añadió malonato de etilo (4,2 ml, 28 mmol), gota a gota. Se añadió luego 4-cloro-6-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-iloxi)-2-(trifluorometil)pirimidina (descrito en el Ejemplo 1 de la US 2013/0045963, Paso 1) (3,75 g, 11,1 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a 64° C. Después de 3 horas, el análisis por HPLC y LCMS mostró una finalización de la reacción del 70%. Se calentó durante otras 6 horas, y luego se enfrió a 20° C. Solo se formó un trazo de producto de descarboxilación. La reacción se diluyó con bicarbonato acuoso y se extrajo con EtOAc. El extracto de EtOAc se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se evaporó al vacío para proporcionar 8,5 g de aceite (incluye exceso de malonato de etilo y aceite mineral). El producto bruto se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice de 120 g, usando solvente A = hexano; solvente B = EtOAc; flujo 60 ml/min; A, 3 min; Gradiente a 40% B en 40 min; detector configurado a 254 nm; recogidas fracciones de 47 ml; tiempo de retención, 28 min. Las fracciones combinadas se evaporaron para dar 4,6 g de aceite incoloro, 90% de rendimiento. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.05 (s, 1H); 5.30 (m, 1H, OCH); 4.85 (s, 1H, CH); 4.25 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>); 3.95 (s, 4H, OCH<sub>2</sub>); 1.6-2.1 (m, 8H); 1.28 (t, 3H, CH<sub>3</sub>).

**Paso 2: [6-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-iloxi)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]acetato de etilo**

Se disolvió [6-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-iloxi)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]malonato de dietilo (4,60 g, 9,95 mmol) en etanol (46 ml). Se añadieron agua (18 µl, 1,0 mmol) y etóxido de sodio al 21% en etanol (0,37 ml, 1,0 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a 75° C durante 1 hora. El análisis por HPLC y LCMS mostró una descarboxilación del 60%. El calentamiento se continuó durante otras 2 horas (finalización de la reacción). La reacción se diluyó con bicarbonato acuoso y se extrajo con EtOAc. El extracto de EtOAc se lavó con salmuera, después se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se evaporó al vacío a 3,4 g de aceite (88% de rendimiento). LCMS, HPLC y RMN mostraron que estaba lo suficientemente limpio como para proceder. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*D*<sub>6</sub>): δ 7.20 (s, 1H); 5.20 (m, 1H, OCH); 4.10 (q, 2H, OCH<sub>2</sub>); 3.89 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 3.85 (s, 4H, OCH<sub>2</sub>); 1.5-2.0 (m, 8H); 1.15 (t, 3H, CH<sub>3</sub>). HPLC mostró que tenía un UV<sub>max</sub> 222 & 252nm.

**Paso 3: 2-[6-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-iloxi)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]etanol**

Se disolvió [6-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-iloxi)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]acetato de etilo [3,0 g] en tetrahidrofurano (40 ml) y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió tetrahidroborato sódico (884 mg, 23,4 mmol) seguido de metanol (4,8 ml, 120 mmol), en porciones. La mezcla de la reacción se agitó durante 20 minutos, se retiró el baño de hielo y se agitó a 21° C durante 0,5 horas. El HPLC y LCMS no mostraron ningún éster restante, y mostraron conversión al M+H 349 deseado; y también mostraron varios productos de reducción en exceso (por lo menos uno de los cuales no tiene absorbancia de UV). La mezcla de reacción se inactivó con agua y se evaporó. La mezcla de reacción se diluyó con bicarbonato acuoso y EtOAc, y se agitó durante 0,5 horas. La capa de EtOAc se lavó con salmuera, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se evaporó para dar 3,0 g de aceite. El producto se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice de 120 g, usando solvente A = hexano; solvente B = 3% de iPA/EtOAc; flujo 60 ml/min; A, 3 min; Gradiente a 50% B en 30 min, luego 50% B durante 15 min; detector

configurado a 254 nm; recogidas fracciones de 47 ml; tiempo de retención, 34 min. se evaporó para producir 1,5 g, un aceite viscoso amarillo claro, 56% de rendimiento. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): δ7.10 (s, 1H); 5.20 (m, 1H, OCH); 4.71 (t, 1H, OH); 3.85 (s, 4H, OCH<sub>2</sub>); 3.72 (q, 2H, OCH<sub>2</sub>); 2.85 (t, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.5-2.0 (m, 8H).

5 **Paso 4:** 4-[[6-(2-hidroxietyl)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi]ciclohexanona

Se disolvió 2-[6-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-iloxi)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]etanol en acetona (60 ml, 900 mmol) y cloruro de hidrógeno 5,0 M en agua (20 ml, 98 mmol) y se agitó durante 17 horas. El análisis de LCMS y HPLC mostró una conversión casi completa a M+H 305. Se añadió bicarbonato acuoso y la mezcla de la reacción se agitó, luego se concentró. Esta mezcla se extrajo con EtOAc. El EtOAc se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se evaporó al vacío para proporcionar 1,3 g de aceite viscoso amarillo claro (usado en la siguiente reacción sin purificación). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ6.80 (s, 1H); 5.60 (m, 1H, OCH); 4.06 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>); 3.04 (t, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.61 (m, 2H); 2.45 (m, 2H); 2.25 (m, 2H).

15 **Paso 5:** {1-(4-[[6-(2-hidroxietyl)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi]ciclohexil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsililo)]etoxi]metil]-7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo

Se agitaron diclorhidrato de {3-[4-(7-[[2-(trimetilsililo)]etoxi]metil]-7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo (1,9 g, 3,9 mmol), y 4-[[6-(2-hidroxietyl)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi]ciclohexanona (1,3 g, 4,3 mmol), en tetrahidrofurano seco (36 ml) durante 15 minutos bajo nitrógeno. A continuación, se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (1,7 g, 8,2 mmol). La mezcla se agitó a 20° C durante 16 horas. Los análisis de HPLC y LCMS mostraron una conversión limpia a los productos *trans* y *cis* (M+H 698, relación 1:1). La reacción se inactivó con agua, se concentró, se agitó con KHCO<sub>3</sub> al 20% y se extrajo con acetato de etilo, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó para dar 2,8 g. Los productos isómeros se separaron mediante LCMS preparatoria usando un instrumento Waters y una columna Xbridge C18 de 30 mm x 100 mm; 60 ml/min; 55% de CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O (0,1% de NH<sub>4</sub>OH); 0,5min; 4,5 gradiente a 72%; 24 ejecuciones; tiempo de retención isómero *trans*, 4,6 minutos; isómero *cis*, 5,4 min. El isómero *cis* aislado contenía <1% de isómero *trans* residual. Rendimiento 1,00 g de isómero *cis*, 37% de rendimiento. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>; also COSY, HSQC, and HMBC): δ8.83 (s, 1H); 8.40 (s, 1H); 8.28 (s, 1H); 7.40 (m, 1H); 6.80 (m, 1H); 6.67 (s, 1H); 5.64 (s, 2H, SEM); 5.17 (m, 1H, OCH); 4.01 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>); 3.74 (s, 2H, NCH); 3.59 (m, 2H, NCH); 3.55 (t, 2H, SEM); 3.38 (s, 2H, CH<sub>2</sub>CN); 2.95 (t, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.30 (m, 1H, NCH); 2.15 (m, 2H); 1.84 (m, 2H); 1.50 (m, 2H); 1.30 (m, 2H); 0.90 (t, 2H, SEM); -0.92 (s, 9H, SEM).

35 **Paso 6:** tris(trifluoroacetato) de {1-(*cis*-4-[[6-(2-hidroxietyl)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi]ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo

Se disolvió isómero de {1-(4-[[6-(2-hidroxietyl)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi]ciclohexil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsililo)]etoxi]metil]-7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo en cloruro de metileno (18 ml) y ácido trifluoroacético (TFA, 18 ml, 230 mmol) y se agitó durante 1,0 hora. La solución se concentró para eliminar el TFA. La LCMS mostró la conversión al intermedio hidroximetilo, M+H 598, algo de su éster de TFA, M+H 694, y <5% de SEM residual. El residuo se disolvió en metanol (36 ml) y se añadió hidróxido de amonio 15,0 M en agua (9,0 ml, 130 mmol). La solución se agitó a 21° C durante 18 horas. El HPLC y LCMS no mostraron un pico de M+H 598 o éster de TFA restante. La solución se evaporó. El trifluoroacetato de amonio se eliminó mediante la adición de bicarbonato acuoso y la extracción del producto con EtOAc. El extracto de EtOAc combinado se evaporó para dar 0,96 g. Esto se disolvió en 70 ml de 10% de H<sub>2</sub>O/ACN que contenía 1,5 equivalentes de TFA (180 μl). El producto se aisló mediante LCMS preparatoria usando un instrumento Waters Fraction-Linx y una columna Sunfire C18 de 30 mm x 100 mm; 60 ml/min; 15% de ACN-H<sub>2</sub>O (0,1% de TFA), 0,5 min; 4,5 min de gradiente al 33%; detector configurado en m/z 568; 14 ejecuciones; tiempo de retención 5,0 min. La HPLC mostró un UV<sub>max</sub> de 224, 252, 294 y 318 nm. Las fracciones combinadas se congelaron en seco. Rendimiento 1,0 g de sólido blanco (80% de rendimiento). La RMN mostró que era la sal de TFA 2,5 <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>CN; also COSY, HSQC, and HMBC): δ10.84 (s, 1H, NH); 9.00 (s, 1H); 8.90 (s, 1H); 8.56 (s, 1H); 7.66 (m, 1H); 7.10 (m, 1H); 6.86 (s, 1H); 5.39 (m, 1H, OCH); 4.86 (brs, 2H, NCH); 4.66 (m, 2H, NCH); 3.90 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>); 3.78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>CN); 3.39 (m, 1H, NCH); 2.92 (t, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.20 (m, 2H); 1.92 (m, 2H); 1.76 (m, 4H). <sup>19</sup>F NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>): δ-69.8 (s); -74.8 (s, TFA); LCMS calculated for C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>F<sub>3</sub>N<sub>9</sub>O<sub>2</sub>(M+H)<sup>+</sup>: m/z =568.24.

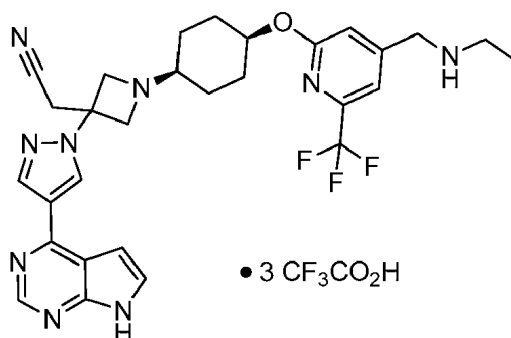
55 **Ejemplo 17:** tris(trifluoroacetato) de {1-(*cis*-4-[[4-(etilamino)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo

60

65

5

10



15 **Paso 1:** metanosulfonato de [2-[(*cis*-4-{3-(cianometil)-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il]ciclohexil)oxi]-6-(trifluorometil)piridin-4-il]metilo

Se disolvió {1-(*cis*-4-{[4-(hidroximetil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}ciclohexil)-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo (del Ejemplo 64 de la US 2013/0045963, 145,0 mg, 0,2124 mmol) en cloruro de metileno (2,93 ml) y se enfrió a 0° C. A eso se añadió N,N-diisopropiletilamina (60,5 µl, 0,347 mmol) seguido de cloruro de metanosulfonilo (23 µl, 0,30 mmol). La reacción se agitó a 0° C durante 1 hora. Luego, la mezcla de la reacción se trató con EtOAc y se usó en la reacción siguiente. MS(ES): 761(M+1).

25 **Paso 2:** tris(trifluoroacetato) de (1-(*cis*-4-{[4-(etilamino)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo

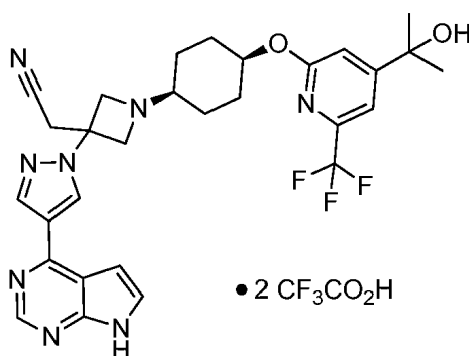
Se disolvió metanosulfonato de [2-[(*cis*-4-{3-(cianometil)-3-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-1-il]ciclohexil)oxi]-6-(trifluorometil)piridin-4-il]metilo (50 mg, 0,06571 mmol) en 1,4-dioxano (2,5 ml) y se añadieron 2,0 ml de etilamina en THF (300 µl, 0,6 mmol). La reacción se agitó a 25° C durante 16 horas, momento en el que el análisis de LCMS mostró principalmente producto. El producto se purificó por LC, se evaporó y se desprotegió como en el Ejemplo 1 de la US 2013/0045963 y se purificó por LC para dar el producto. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 9.08 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.25 (d, 1H), 7.13 (s, 1H), 5.38 (m, 1H), 5.08 (d, 2H), 4.80 (d, 2H), 4.27 (s, 2H), 3.74 (s, 2H), 3.50 (m, 1H), 3.16 (q, 2H), 2.24 (m, 2H), 2.01 (m, 2H), 1.76 (m, 4H), 1.34 (t, 3H). <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ -70.52 (s), -77.49 (s). MS(ES): 580(M+1).

40

**Ejemplo 18:** bis(trifluoroacetato) de {1-(*cis*-4-{[4-(1-hidroxi-1-metiletíl)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo

45

50



55

**Paso 1:** ácido 2-cloro-6-(trifluorometil)isonicotínico

60

Se disolvió 2-cloro-6-(trifluorometil)piridina (1,0 g, 5,51 mmol, Oakwood Products) en tetrahidrofurano (20 ml) y se añadió cloruro de litio 1.0 M - cloro(2,2,6,6-tetrametilpiperidín-1-il)magnesio (1:1) en THF (6,610 ml, 6,610 mmol, Aldrich Co.) a 25° C. La reacción se agitó a 25° C durante 1 hora y se enfrió a -78° C. La reacción se agitó a -78° C durante 1 hora y se dejó calentar a temperatura ambiente, se inactivó con agua, y se dividió entre IN NaOH y éter. Las fases se separaron y la fase acuosa se lavó con éter adicional y se acidificó con HCl concentrado a pH~1 y se extrajo con éter. La fase orgánica combinada se lavó con agua, NaCl saturado, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó hasta la sequedad para proporcionar el producto bruto. El análisis de NMR mostró que consistía en una mezcla ~2:1 de los ácidos para y meta carboxílicos. La mezcla se llevó a la reacción siguiente. 440 MHz NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 8.17 (s, 1H), 8.11 (s, 1H).

65

*Paso 2: 2-cloro-6-(trifluorometil)isonicotinato de etilo y 2-cloro-6-(trifluorometil)nicotinato de etilo*

En un vial, se disolvieron ácido 2-cloro-6-(trifluorometil)nicotínico (0,98 g, 4,4 mmol) y ácido 2-cloro-6-(trifluorometil)isonicotínico (1,85 g, 8,2 mmol) en ortoformiato de etilo (5,0 ml, 30,1 mmol) y se calentó a 120° C durante 5 horas, momento en el que el análisis de TLC mostró que la mayoría del material de partida se había consumido y se habían formado los productos. La mezcla de la reacción se evaporó al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice usando 10% de EtOAc/hexanos para dar los dos productos de éster etílico. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.14 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 4.47 (q, 2H), 1.44 (t, 3H).

*Paso 3: 2-[2-cloro-6-(trifluorometil)piridin-4-il]propan-2-ol*

Se disolvió 2-cloro-6-(trifluorometil)isonicotinato de etilo (0,35 g, 1,4 mmol) en tetrahidrofurano (13,8 ml) y se enfrió a -78° C, luego se añadió bromuro de metilmagnesio 3.0 M en éter (1,4 ml, 4,1 mmol). La reacción se agitó a -78° C durante 3 horas, momento en el que el análisis de LCMS mostró la ausencia de material de partida. La reacción se inactivó con NH<sub>4</sub>Cl saturado y se dividió entre agua/HCl 1N y EtOAc, las fases se separaron y la fase acuosa se lavó con EtOAc adicional. La fase orgánica combinada se lavó con agua, NaCl saturado, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó hasta la sequedad para proporcionar el producto bruto. El análisis de NMR mostró que consistía en una mezcla ~1:1 del alcohol y el intermedio de metilcetona. El material bruto se usó en la siguiente reacción sin purificación. NMR 400 MHz NMR(CDCl<sub>3</sub>): δ 7.70 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 1.60 (s, 6H).

*Paso 4: 2-[2-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-ol)-6-(trifluorometil)piridin-4-il]propan-2-ol*

Se disolvieron 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-ol (0,25 g, 1,58 mmol) y 2-[2-cloro-6-(trifluorometil)piridin-4-il]propan-2-ol (0,2 g, 0,835 mmol) en tetrahidrofurano (2 ml) y se enfriaron a 0° C y se añadió una mezcla al 60% de hidruro de sodio (70,0 mg, 1,75 mmol) en aceite mineral y la reacción se agitó durante 30 minutos a 0° C y a 25° C durante 60 horas en cuyo momento el análisis de TLC indicó la presencia de algún producto. La reacción se inactivó con agua, y se extrajo con acetato de etilo y los extractos orgánicos se lavaron con agua, NaCl saturado, se secaron (MgSO<sub>4</sub>), y se evaporaron al vacío. El residuo se purificó por LC (pH 2) para dar el producto. MS(ES):362 (M+1).

*Paso 5: 4-[[4-(1-hidroxi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexanona*

Se disolvió 2-[2-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-ol)-6-(trifluorometil)piridin-4-il]propan-2-ol (0,049 g, 0,14 mmol) en acetona (3,7 ml). Se añadió una solución de cloruro de hidrógeno 12.0 M en agua (0,43 ml, 5,2 mmol) y se agitó a 25° C durante 16 horas, momento en el que el LCMS mostró que se había completado aproximadamente el 70% de la reacción. Se añadió cloruro de hidrógeno 12,0 M adicional en agua (0,43 ml, 5,2 mmol) y se agitó durante 3 horas; LCMS mostró que se había completado ~90% de la reacción y se inactivó con NaHCO<sub>3</sub> en exceso, se extrajo con EtOAc y el extracto orgánico se evaporó para dar el producto. Este se usó en la reacción siguiente sin purificación. MS(ES):318 (M+1).

*Paso 5: {1-(cis-4-[[4-(1-hidroxi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo*

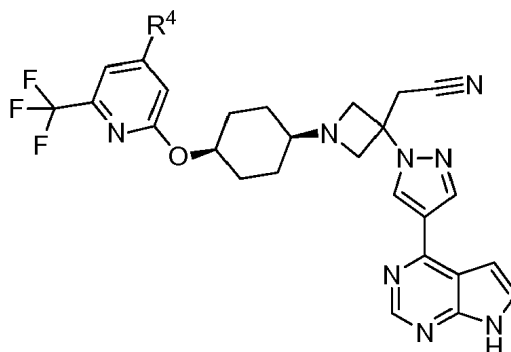
Se disolvieron diclorhidrato de {3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo (55,3 mg, 0,115 mmol) y 4-[[4-(1-hidroxi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexanona en 1,2-dicloroetano seco (1,38 ml) y se agitó durante 5 minutos y se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (86,1 mg, 0,406 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a 25° C durante 16 h, momento en el que el análisis de LCMS mostró principalmente los dos productos diastereoméricos. La reacción se inactivó con agua, se neutralizó con NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo con acetato de etilo y se evaporó el solvente. El residuo se purificó mediante LCMS (pH 10) y las fracciones que contenían el segundo pico se combinaron y se evaporaron para dar {1-(cis-4-[[4-(1-hidroxi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo. El primer pico también se aisló para dar {1-(trans-4-[[4-(1-hidroxi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo. MS(ES):712 (M+1).

*Paso 6: bis(trifluoroacetato) de {1-(cis-4-[[4-(1-hidroxi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo*

Se desprotegió {1-(cis-4-[[4-(1-hidroxi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexil)-3-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo como se describe en el Ejemplo 1 de la US 2013/0045963 y se purificó por cromatografía líquida (pH 2) para dar bis (trifluoroacetato) de 1-(cis-4-[[4-(1-hidroxi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo. De manera similar se preparó y se caracterizó bis(trifluoroacetato) de {1-(trans-4-[[4-(1-hidroxi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetónitrilo. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 9.07 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.78 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.24 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 5.35 (s, 1H), 5.09 (d, J = 12.2 Hz, 2H), 4.82 (d, J = 12.2 Hz,

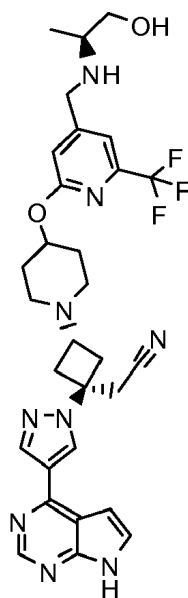
2H), 3.72 (s, 2H), 3.5 (m, 1H), 2.27 (m, 2H), 2.0 (m, 2H), 1.74 (m, 4H), 1.50 (s, 6H). MS(ES): 581(M+1).

Los ejemplos 19 y 20 siguientes se prepararon análogamente al procedimiento del Ejemplo 17.



Ejemplo N°	R4	MS (M+H) <sup>+</sup>	Nombre
19		622	pentakis(trifluoroacetato) de {1-( <i>cis</i> -4-[[4-[[[(3R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexil]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetonitrilo
20		622	tris(trifluoroacetato) de {1-( <i>cis</i> -4-[[4-[[[(3S)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]ciclohexil]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il]acetonitrilo

**Ejemplo 21.** {*trans*-3-(4-[[4-[[[(1S)-2-hidroxi-1-metiletil]amino]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil]acetonitrilo

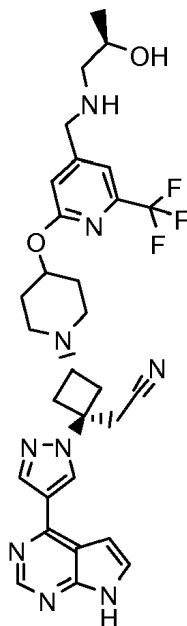


Se añadieron N, N-diisopropiletilamina (9,4  $\mu$ l, 0,054 mmol) y anhídrido metanosulfónico (7,9 mg, 0,045 mmol) a una solución de {*trans*-3-(4-[[4-(hidroximetil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi]piperidin-1-il)-1-[4-(7-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil]acetonitrilo (10,0 mg, 0,018 mmol, Pico 1 del Ejemplo intermedio A2 de la US 2014/0005166, Paso F) en cloruro de metileno (0,30 ml), y la formación del mesilato se agitó durante 30 minutos. El solvente se eliminó al vacío y el residuo se volvió a disolver en una mezcla de tetrahidrofurano (0,30 ml) y metanol (0,10 ml) y se añadió (2S)-2-aminopropan-1-ol (20  $\mu$ l, 0,27 mmol, Acros). La mezcla de la reacción se agitó a 40° C durante la noche. El solvente se eliminó al vacío y el producto bruto se desprotegió mediante agitación con TFA:DCM 1:1 durante una hora, luego se concentró y se agitó con etilendiamina



(0,10 ml) en metanol (1,0 ml) hasta que se completó la desprotección como se determinó por LCMS. El producto se purificó usando HPLC-MS preparativa (C18 eluyendo con un gradiente de MeCN/H<sub>2</sub>O que contenía 0,15% de NH<sub>4</sub>OH). El eluyente se congeló y liofilizó para proporcionar el producto como la base libre (6,0 mg, 54%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.74 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.51 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.00 - 6.97 (m, 2H), 5.23 - 5.00 (m, 1H), 3.90 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 3.81 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 3.50 (dd, *J* = 10.9, 4.9 Hz, 1H), 3.41 (dd, *J* = 10.9, 6.9 Hz, 1H), 3.31 (s, 2H), 3.16 - 3.05 (m, 2H), 2.95 (p, *J* = 7.5 Hz, 1H), 2.83 - 2.63 (m, 3H), 2.56 - 2.42 (m, 2H), 2.39 - 2.23 (m, 2H), 2.19 - 2.04 (m, 2H), 1.93 - 1.75 (m, 2H), 1.05 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H). <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ -70.30 (s). LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 610.3

**Ejemplo 22. {trans-3-(4-{[4-({[(2R)-2-hidroxiopropil]amino}metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrilo**



Se siguió el procedimiento del Ejemplo 9 de la US 2014/0005166, usando (2R)-1-aminopropan-2-ol (12 µl, 0,15 mmol, Aldrich) en el paso de desplazamiento, que se llevó a cabo a 50° C durante 2 horas. El producto se obtuvo como la base libre (8,7 mg, 46%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ 12.13 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.60 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.08 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 5.11 - 4.90 (m, 1H), 4.49 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 3.76 (s, 2H), 3.67 (tt, *J* = 10.3, 5.6 Hz, 1H), 3.42 (s, 2H), 3.11 - 2.96 (m, 2H), 2.81 (p, *J* = 7.5 Hz, 1H), 2.74 - 2.56 (m, 2H), 2.46 - 2.25 (m, 4H), 2.24 - 2.09 (m, 2H), 2.09 - 1.90 (m, 2H), 1.81 - 1.51 (m, 2H), 1.03 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H). <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ -67.29 (s). LCMS (M+H)<sup>+</sup>: 610.3.

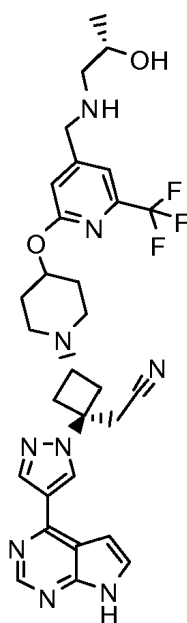
**Ejemplo 23. {trans-3-(4-{[4-({[(2S)-2-hidroxiopropil]amino}metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrilo**

5

10

15

20



25

30

Se siguió el procedimiento del Ejemplo 9 de la US 2014/0005166 usando (2S)-1-aminopropan-2-ol (12  $\mu$ l, 0.15 mmol, Aldrich) en el paso de desplazamiento, que se llevó a cabo a 50° C durante 2 horas (7.9 mg, 42%).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  12.13 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.60 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.08 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 5.27 - 4.71 (m, 1H), 4.49 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 1H), 3.76 (s, 2H), 3.72 - 3.62 (m, 1H), 3.42 (s, 2H), 3.09 - 2.96 (m, 2H), 2.81 (p,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 2.72 - 2.55 (m, 2H), 2.43 - 2.25 (m, 4H), 2.25 - 2.08 (m, 2H), 2.08 - 1.96 (m, 2H), 1.78 - 1.57 (m, 2H), 1.03 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H).  $^{19}\text{F}$  NMR (376 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  -67.29 (s). LCMS (M+H) $^+$ : 610.3.

35

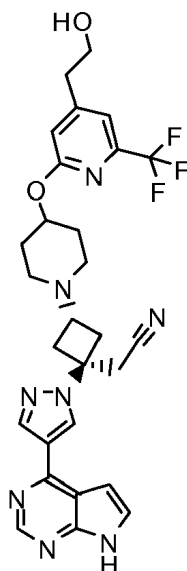
**Ejemplo 24.** {trans-3-(4-{[4-(2-hidroxietil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo)[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrilo

40

45

50

55



60

65

Se desprotegió y purificó por agitación {trans-3-(4-{[4-(2-hidroxietil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrilo (9,0 mg, 0,013 mmol, Pico 2 del ejemplo intermedio A4 de la US 2014/0005166, Paso 3) en una mezcla de cloruro de metileno (0,50 ml) y ácido trifluoroacético (0,50 ml) durante una hora. Los solventes se eliminaron al vacío y el residuo se agitó en metanol (0,1 ml) que contenía etilendiamina (0,1 ml). La purificación mediante HPLC-MS preparativa (C18 eluyendo con un gradiente de MeCN/H $_2$ O que contenía 0,15% de NH $_4$ OH) proporcionó el producto como la base libre (5,8 mg, 79%).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  12.12 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.60 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.08 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 4.99 (tt,  $J$  = 8.2, 4.1 Hz, 1H), 4.73

(t,  $J = 4.9$  Hz, 1H), 3.66 (q,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.42 (s, 2H), 3.11 - 2.95 (m, 2H), 2.90 - 2.71 (m, 3H), 2.71 - 2.56 (m, 2H), 2.44 - 2.30 (m, 2H), 2.15 (t,  $J = 9.2$  Hz, 2H), 2.09 - 1.82 (m, 2H), 1.83 - 1.58 (m, 2H).  $^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz,  $\text{d}_6\text{-DMSO}$ )  $\delta$  - 67.26 (s). LCMS (M+H) $^+$ : 567.2.

## 5 Ejemplo A: Ensayo de JAK quinasa *in vitro*

Los compuestos de la presente se probaron para la actividad inhibitoria de objetivos 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 (a.a. 837-1142), JAK2 (a.a. 828-1132) y JAK3 (a.a. 781-1124) con un marcador 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 mediante fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo (HTRF). Se midieron los  $\text{IC}_{50}$  de los compuestos para cada quinasa en las reacciones de 40 microl que contenían 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 (0,01%) de BSA. Para las mediciones de  $\text{IC}_{50}$  1mM, la concentración de ATP en las reacciones fue de 1 mM. Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente durante 1 hora y luego se detuvieron con 20  $\mu\text{l}$  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 placas Fusion (Perkin Elmer, Boston, MA). Ver la Tabla 2 para los datos para los compuestos de los ejemplos como se probaron mediante el ensayo del Ejemplo A a 1 mM de ATP.

## Ejemplo B: Ensayos celulares

Las líneas celulares cancerígenas dependientes de citoquinas y, por tanto, la transducción de señal de JAK/STAT, para crecimiento, pueden colocarse en placas a 6000 células por pocillo (formato de placa de 96 pocillos) en RPMI 1640, 10% de FBS y 1 nG/ml de citoquina apropiada. Los compuestos pueden añadirse a las células en DMSO/medio (concentración final de 0,2% de DMSO) e incubarse durante 72 horas a 37° C, 5% de  $\text{CO}_2$ . El efecto del compuesto sobre la viabilidad celular se evalúa usando el Ensayo de Viabilidad Celular Luminiscente CellTiter-Glo (Promega) seguido de la cuantificación TopCount (Perkin Elmer, Boston, MA). Los efectos potenciales fuera del objetivo de los compuestos se miden en paralelo usando una línea celular no activada por JAK con la misma lectura del ensayo. Todos los experimentos se realizan típicamente por duplicado.

Las líneas celulares anteriores también se pueden usar para examinar los efectos de los compuestos sobre la fosforilación de las JAK quinasa o sustratos potenciales corriente abajo como las proteínas STAT, Akt, Shp2, o Erk. Estos experimentos pueden realizarse después de un ayuno de citoquinas nocturno, seguido de una preincubación breve con el compuesto (2 horas o menos) y estimulación con citoquinas de aproximadamente 1 hora o menos. Las proteínas se extraen luego de las células y se analizan mediante técnicas familiares para los expertos en la técnica incluyendo transferencia Western o ELISA usando anticuerpos que pueden diferenciar entre proteína fosforilada y total. Estos experimentos pueden utilizar células normales o cancerosas para investigar la actividad de compuestos sobre la biología de supervivencia de células tumorales o sobre mediadores de enfermedades inflamatorias. Por ejemplo, con respecto a este último, pueden usarse citoquinas como IL-6, IL-12, IL-23, o IFN para estimular la activación de JAK dando como resultado la fosforilación de proteína(s) STAT y potencialmente en perfiles transcripcionales (evaluados mediante tecnología de matrices o qPCR) o producción y/o secreción de proteínas, como IL-17. La capacidad de los compuestos para inhibir estos efectos mediados por citoquinas puede medirse usando técnicas comunes para los expertos en la técnica.

Los compuestos de la presente invención también pueden probarse en modelos celulares diseñados para evaluar su potencia y actividad contra JAK mutantes, por ejemplo, la mutación JAK2V617F encontrada en trastornos proliferativos mieloides. Estos experimentos utilizan a menudo células dependientes de citoquinas de linaje hematológico (por ejemplo, BaF/3) en las que las JAK quinasa de origen natural o mutantes se expresan ectópicamente (James, C., et al. Nature 434:1144-1148; Staerk, J., et al. JBC 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.

Ciertos compuestos de la presente pueden evaluarse para determinar su actividad inhibiendo la proliferación de células T. Tal ensayo puede considerarse un segundo ensayo de proliferación dirigido por citoquinas (es decir, JAK) y también un ensayo simplista de supresión inmune o inhibición de la activación inmune. Lo siguiente es un breve resumen de cómo se pueden realizar tales experimentos. Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) se preparan a partir de muestras de sangre completa humana usando el método de separación Ficoll Hypaque y las células T (fracción 2000) pueden obtenerse a partir de PBMC por elutriación. Las células T humanas recién aisladas pueden mantenerse en medio de cultivo (RPMI 1640 suplementado con 10% de suero bovino fetal, 100 U/ml de penicilina, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de estreptomina) a una densidad de  $2 \times 10^6$  células/ml a 37° C durante hasta 2 días. Para el análisis de proliferación celular estimulada por IL-2, las células T se tratan primero con Fitohemaglutinina (PHA) a una concentración final de 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  durante 72 horas. Después de lavar una vez con PBS, se colocaron en placas 6000 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se trataron con compuestos a diferentes concentraciones en el medio de cultivo en presencia de 100 U/ml de IL-2 humana (PProSpec-Tany TechnoGene;

Rehovot, Israel) . Las placas se incuban a 37° C durante 72 h y el índice de proliferación se evalúa usando reactivos Luminiscentes CellTiter-Glo siguiendo el protocolo sugerido por la fábrica (Promega, Madison, WI).

**Ensayo C. Modelo de ratón transgénico S100A9**

5 Se ha demostrado anteriormente que los ratones transgénicos *S100A9* muestran acumulación en médula ósea de MDSC acompañada de desarrollo de citopenias multilíneas progresivas y displasia citológica similar a MDS. Además, la maduración temprana forzada de MDSC por cualquiera del tratamiento con ácido *all-trans-retinoico* o la interrupción de proteína adaptadora (DAP12) que transporta motivo (transportadora de ITAM) de la activación basada en tirosina del inmunoreceptor activo de la señalización de CD33 rescató el fenotipo hematológico y mitigó la enfermedad. Este sistema puede ser útil para probar los efectos sobre la inhibición de JAK1 en enfermedad similar a MDS en un modelo preclínico. *J. Clin. Invest.*, 123(11):4595-4611 (2013). Por consiguiente, un inhibidor selectivo de JAK1 se dosifica por sonda oral. Se monitoriza la capacidad del compuesto para reducir las citopenias y la displasia citológica observada en los ratones transgénicos *S100A9*.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

## REIVINDICACIONES

## 1. Un inhibidor selectivo de JAK1 seleccionado de:

- 5 3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo;  
3-(1-[1,3]oxazol[5,4-b]piridin-2-il)pirrolidin-3-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrilo;  
4-[(4-{3-ciano-2-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrilo;
- 10 4-[(4-{3-ciano-2-[3-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrilo;  
{1-{1-[3-Fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidid-3-il}acetoneitrilo;  
4-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidid-1-il}-N-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]piperidina-1-carboxamida;
- 15 [3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-1-(1-{[2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]carbonil}piperidin-4-il)azetidid-3-il}acetoneitrilo;  
[*trans*-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-3-(4-{[2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]carbonil}piperazin-1-il)ciclobutil]acetoneitrilo;
- 20 {*trans*-3-(4-{[4-{(3-hidroxi)azetidid-1-il]metil}-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrilo;  
{*trans*-3-(4-{[4-{(2S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il]metil}-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrilo;
- 25 {*trans*-3-(4-{[4-{(2R)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il]metil}-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrilo;  
4-(4-{3-[(dimetilamino)metil]-5-fluorofenoxi}piperidin-1-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]butanenitrilo;
- 5-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidid-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carboxamida;
- 30 4-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidid-1-il}-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamida;  
5-{3-(cianometil)-3-[4-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidid-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carboxamida;
- 35 {1-(*cis*-4-{[6-(2-hidroxi)etil]-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]oxi}ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidid-3-il} acetoneitrilo;  
{1-(*cis*-4-{[4-{(etilamino)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidid-3-il} acetoneitrilo;
- 40 {1-(*cis*-4-{[4-(1-hidroxi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidid-3-il} acetoneitrilo;  
{1-(*cis*-4-{[4-{[(3R)-3-hidroxi]pirrolidin-1-il]metil}-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidid-3-il} acetoneitrilo;
- 45 {1-(*cis*-4-{[4-{[(3S)-3-hidroxi]pirrolidin-1-il]metil}-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}ciclohexil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidid-3-il} acetoneitrilo;  
{*trans*-3-(4-{[4-{[(1S)-2-hidroxi-1-metiletil]amino}metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrilo;
- 50 {*trans*-3-(4-{[4-{[(2R)-2-hidroxi]propil]amino}metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrilo; y  
{*trans*-3-(4-{[4-(2-hidroxi)etil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrilo;
- o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,  
para uso en un método para tratar un síndrome mielodisplásico en un paciente con necesidad de ello, el método comprendiendo administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el inhibidor selectivo de JAK1 es selectivo para JAK1 sobre JAK2, JAK3 y TYK2.

60 3. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho síndrome mielodisplásico es citopenia refractaria con displasia unilinjaje (RCUD).

65 4. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho síndrome mielodisplásico es anemia refractaria con sideroblastos de anillo (RARS).

5. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho síndrome mielodisplásico es citopenia refractaria con displasia multilinjaje.
- 5 6. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho síndrome mielodisplásico es anemia refractaria con exceso de blastos-1 (RAEB-1).
- 10 7. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho síndrome mielodisplásico es anemia refractaria con exceso de blastos-2 (RAEB-2).
- 15 8. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho síndrome mielodisplásico es un síndrome mielodisplásico, no clasificado (MDS-U).
- 20 9. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho síndrome mielodisplásico es un síndrome mielodisplásico asociado con del(5q) aislado.
- 25 10. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho síndrome mielodisplásico es refractario para agentes estimulantes de la eritropoyesis.
- 30 11. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que dicho paciente es dependiente de transfusiones de glóbulos rojos.
- 35 12.. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el método comprende además administrar un agente terapéutico adicional seleccionado de un IMiD, un agente anti-IL-6, un agente anti-IL-6 Agente TNF-a, un agente hipometilante o un modificador de respuesta biológica (BRM).
- 40 13. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dicho agente anti-TNF-a se selecciona de infliximab y etanercept.
- 45 14. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dicho agente hipometilante es un inhibidor de ADN metiltransferasa.
- 50 15. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en el que dicho inhibidor de ADN metiltransferasa se selecciona de 5 azacitidina y decitabina.
- 55 16. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dicho IMiD se selecciona de talidomida, lenalidomida, pomalidomida, CC-11006 y CC-10015.
- 60 17. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el método comprende además administrar un agente terapéutico adicional seleccionado de globulina antitumoral, factor estimulante de colonias de granulocitos humanos recombinante (G-CSF), CSF de granulocitos-monocitos (GM-CSF), un agente estimulante de la eritropoyesis (ESA), y ciclosporina.
- 65 18. Un Inhibidor selectivo de JAK1 que es {1-{1-[3-Fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método para tratar un síndrome mielodisplásico en un paciente con necesidad de ello.
19. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en el que dicho síndrome mielodisplásico es citopenia refractaria con displasia unilinjaje (RCUD).
20. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en el que dicho síndrome mielodisplásico es anemia refractaria con sideroblastos de anillo (RARS).
21. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en el que dicho síndrome mielodisplásico es citopenia refractaria con displasia multilinjaje.

22. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en el que dicho síndrome mielodisplásico es anemia refractaria con exceso de blastos-1 (RAEB-1).
- 5 23. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en el que dicho síndrome mielodisplásico es anemia refractaria con exceso de blastos-2 (RAEB-2).
24. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en el que dicho síndrome mielodisplásico es un síndrome mielodisplásico, no clasificado (MDS-U).
- 10 25. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en el que dicho síndrome mielodisplásico es un síndrome mielodisplásico asociado con del(5q) aislado.
- 15 26. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en el que dicho síndrome mielodisplásico es refractario para agentes estimulantes de la eritropoyesis.
- 20 27. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 18 a 26, en el que dicho paciente es dependiente de transfusiones de glóbulos rojos.
- 25 28. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 18 a 27, en el que el método comprende además administrar un agente terapéutico adicional seleccionado de un IMiD, un agente anti-IL-6, un agente anti-IL-6, un agente anti-TNF-a, un agente hipometilante o un modificador de respuesta biológica (BRM).
- 30 29. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 28, en el que dicho agente anti-TNF-a se selecciona de infliximab y etanercept.
- 35 30. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 28, en el que dicho agente hipometilante es un inhibidor de ADN metiltransferasa.
- 40 31. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 30, en el que dicho inhibidor de ADN metiltransferasa se selecciona de 5 azacitidina y decitabina.
- 45 32. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 28, en el que dicho IMiD se selecciona de talidomida, lenalidomida, pomalidomida, CC-11006 y CC-10015.
- 50 33. El inhibidor selectivo de JAK1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 18 a 27, en el que el método comprende además administrar un agente terapéutico adicional seleccionado de globulina anti-timocito, factor estimulante de colonias de granulocitos humanos recombinante (G-CSF), CSF de granulocitos-monocitos (GM-CSF), un agente estimulante de la eritropoyesis (ESA), y ciclosporina.
- 55
- 60
- 65