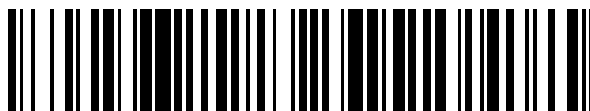


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 761 300**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/519</b>	(2006.01)
<b>C07D 487/04</b>	(2006.01)
<b>A61P 35/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 17/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 27/02</b>	(2006.01)
<b>A61P 29/00</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.05.2010 PCT/US2010/035728**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.11.2010 WO10135621**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.05.2010 E 10721227 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 2432472**

54 Título: **3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octano- o heptano-nitrilo como inhibidores de JAK**

30 Prioridad:

**22.05.2009 US 180582 P**

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

**19.05.2020**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**LI, YUN-LONG y  
RODGERS, JAMES D.**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 761 300 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

3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidina-4-ilo]-1H-pirazol-1-ilo]octano- o heptano-nitrilo como inhibidores de JAK

5 **[0001]** Esta solicitud reivindica el beneficio de solicitud de prioridad Prov. de EE.UU. N° 61/180,582, presentada el 22 de mayo de 2009.

## CAMPO DE LA INVENCÓN

10 **[0002]** La presente invención se refiere a inhibidores de quinasa Janus (JAK) de 3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidina-4-ilo]-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo o 3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidina-4-ilo]-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, así como sus composiciones y métodos de uso, que son útiles en el tratamiento de enfermedades asociadas a JAK que incluyen, p. ej., trastornos inflamatorios y autoinmunes, trastornos de la piel, cáncer y otras enfermedades.

## 15 ANTECEDENTES DE LA INVENCÓN

**[0003]** Las quinasas de proteína (PKS) regulan diversos procesos biológicos incluyendo el crecimiento celular, la supervivencia, la diferenciación, formación de órganos, morfogénesis, neovascularización, reparación de tejidos y regeneración, entre otros. Las quinasas de proteína también desempeñan funciones especializadas en una serie de enfermedades humanas, incluido el cáncer. Las citocinas, polipéptidos o glucoproteínas de bajo peso molecular, regulan muchas vías involucradas en la respuesta inflamatoria del huésped a la sepsis. Las citocinas influyen en la diferenciación celular, la proliferación y la activación, y pueden modular las respuestas tanto proinflamatorias como antiinflamatorias para permitir que el huésped reaccione adecuadamente a los patógenos. La señalización de una amplia gama de citocinas involucra a la familia de quinasa Janus (JAK) de proteínas tirosina quinasas y transductores de señal y activadores de transcripción (STAT). Existen cuatro JAK de mamíferos conocidos: JAK1 (Janus quinasa-1), JAK2, JAK3 (también conocido como quinasa Janus, leucocito; JAKL; y L-JAK) y TYK2 (proteína-tirosina quinasa 2).

30 **[0004]** Respuestas inmunes estimuladas por citocinas e inflamatorias contribuyen a la patogénesis de enfermedades: patologías tales como la inmunodeficiencia combinada grave (SCID) se derivan de la supresión del sistema inmune, mientras que una respuesta hiperactiva o inapropiada inmune/inflamatoria contribuye a la patología de enfermedades autoinmunes (p. ej., asma, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis, miocarditis) y enfermedades como la esclerodermia y la osteoartritis (Ortmann, RA, T. Cheng, et al. (2000) *Arthritis R es 2* (1): 16-32).

35 **[0005]** Las deficiencias en la expresión de JAK están asociadas con muchos estados de enfermedad. Por ejemplo, los ratones Jak1 -/- se ejecutan al nacer, no se alimentan y mueren perinatalmente (Rodig, SJ, MA Meraz, et al. (1998) *Cell* 93 (3): 373-83). Los embriones de ratón Jak2 -/- son anémicos y mueren alrededor del día 12,5 postcoitum debido a la ausencia de eritropoyesis definitiva.

40 **[0006]** La vía JAK/STAT, y en particular los cuatro JAKs, se cree que desempeñan un papel en la patogénesis de la respuesta asmática, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis y otras enfermedades inflamatorias relacionadas del tracto respiratorio inferior. Múltiples citocinas que señalan a través de JAK se han relacionado con enfermedades/afecciones inflamatorias del tracto respiratorio superior, como las que afectan la nariz y los senos paranasales (p. ej., rinitis y sinusitis), ya sean reacciones alérgicas clásicas o no. La vía JAK/STAT también se ha implicado en enfermedades/afecciones inflamatorias del ojo y respuestas alérgicas crónicas.

50 **[0007]** La activación de JAK/STAT en cánceres puede producirse mediante estimulación con citocinas (p. ej., IL-6 o GM-CSF) o mediante una reducción en los supresores endógenos de señalización de JAK tales como SOCS (supresor o señalización de citocinas) o PIAS (inhibidor de proteínas de STAT activado) (Boudny, V. y Kovarik, J., *Neoplasms* 49: 349-355, 2002). La activación de la señalización STAT, así como otras vías aguas abajo de JAK (p. ej., Akt), se ha correlacionado con un mal pronóstico en muchos tipos de cáncer (Bowman, T., et al. *Oncogene* 19: 2474-2488, 2000). Los niveles elevados de citocinas circulantes que se transmiten a través de JAK/STAT juegan un papel causal en la caquexia y/o la fatiga crónica. Como tal, la inhibición de JAK puede ser beneficiosa para los pacientes con cáncer por razones que se extienden más allá de la posible actividad antitumoral.

55 **[0008]** La tirosina quinasa JAK2 puede ser beneficiosa para pacientes con trastornos mieloproliferativos, p. ej., policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (ET), metaplasia mielóide con mielofibrosis (MMM) (Levin, et al., *Cancer Cell*, vol. 7, 2005: 387-397). La inhibición de la quinasa JAK2V617F disminuye la proliferación de células hematopoyéticas, lo que sugiere que JAK2 es un objetivo potencial para la inhibición farmacológica en pacientes con PV, ET y MMM.

60 **[0009]** La inhibición de los JAK puede beneficiar a pacientes que padecen trastornos inmunes de la piel tales como psoriasis y sensibilización de la piel. Se cree que el mantenimiento de la psoriasis depende de varias citocinas inflamatorias además de varias quimiocinas y factores de crecimiento (JCI, 113: 1664-1675), muchos de los cuales señalan a través de JAK (Adv Pharmacol. 2000; 47: 113-74).

**[0010]** Por consiguiente, se buscan ampliamente inhibidores de quinasa Januss o quinasa relacionadas. Por ejemplo, ciertos inhibidores de JAK, incluidas la pirrolopiridina y las pirrolopirimidinas, se informan en la publicación de EE.UU. N° de Serie 11/637,545, presentada el 12 de diciembre de 2006.

5 **[0011]** Así, los agentes nuevos o mejorados que inhiben quinasa, tales como JAK son continuamente necesarios para el desarrollo de nuevos y más eficaces productos farmacéuticos que están destinados al aumento o supresión de las vías inmunes e inflamatorias (tales como agentes inmunosupresores para trasplantes de órganos), así como agentes para la prevención y el tratamiento de enfermedades autoinmunes, enfermedades que implican una respuesta inflamatoria hiperactiva (*p. ej.*, eccema), alergias, cáncer (*p. ej.*, próstata, leucemia, mieloma múltiple) y algunas reacciones inmunes (*p. ej.*, erupción cutánea o dermatitis de contacto o diarrea) causadas por otras terapias. Los compuestos de la invención, así como sus composiciones y métodos de uso descritos aquí están dirigidos hacia estas necesidades y otros fines.

## RESUMEN DE LA INVENCION

15 **[0012]** La presente invención proporciona, entre otros, el inhibidor de JAK 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 **[0013]** La presente invención proporciona además 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 **[0014]** La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo o 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 **[0015]** La presente invención proporciona además métodos de tratamiento de cualquiera de las diversas enfermedades asociadas a JAK y trastornos denominados en el presente documento mediante la administración a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo o 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 **[0016]** La presente invención proporciona además 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo o 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en terapia.

40 **[0017]** La presente invención proporciona además el uso de ácido 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo o 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la producción de un medicamento para uso en terapia.

45 **[0018]** La presente invención proporciona además composiciones para la administración tópica o transdérmica, donde las composiciones comprenden 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo o 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

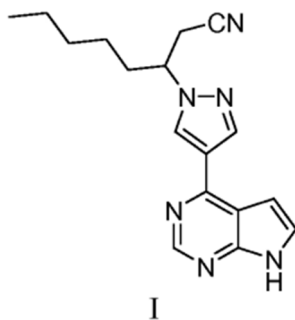
50 **[0019]** La presente invención proporciona además métodos de tratamiento de enfermedades autoinmunes, cánceres, mieloproliferativos trastornos, enfermedades inflamatorias, enfermedades virales, y trastornos de la piel en un paciente mediante la administración tópica de una terapéuticamente cantidad efectiva de 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo o 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

55 **[0020]** La presente invención proporciona además procedimientos para preparar 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo fosfórico sal o el 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo sal de ácido fosfórico.

60 **[0021]** La presente invención proporciona además compuestos intermedios, procesos para preparar los mismos, y composiciones que contienen los mismos, que son útiles en la preparación de 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo o 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

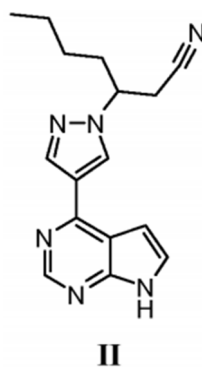
## DESCRIPCIÓN DETALLADA

65 **[0022]** La presente invención proporciona, entre otras cosas, el inhibidor de JAK 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo (Fórmula I):



15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0023] La presente invención proporciona, entre otras cosas, el inhibidor de JAK 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanonitrilo (Fórmula II):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 [0024] Los compuestos descritos en este documento pueden ser asimétricos (por ejemplo, que tienen uno o más estereocentros). Ambos enantiómeros R/S están destinados a menos que se indique lo contrario. Los compuestos de la presente invención 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, tales como por resolución de mezclas racémicas o por síntesis estereoselectiva. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I o II es el enantiómero R, opcionalmente sustancialmente aislado del enantiómero S. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I o II es el enantiómero S, opcionalmente sustancialmente aislado del enantiómero R.

45 [0025] La resolución de mezclas racémicas de compuestos puede llevarse a cabo mediante cualquiera de los numerosos métodos conocidos en la técnica. Un método de ejemplo incluye la recristalización fraccionada usando un ácido de resolución quiral que es un ácido orgánico formador de sal ópticamente activo. Los agentes de resolución adecuados para los métodos de recristalización fraccionada son, p. ej., ácidos ópticamente activos, tales como las formas D y L de ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoil tartárico, ácido mandélico, ácido málico, ácido láctico o los diversos ácidos canforsulfónicos ópticamente activos tales como ácido  $\beta$ -camporsulfónico.

50 [0026] La resolución de mezclas racémicas también se puede llevar a cabo mediante elución en una columna empaquetada con un agente de resolución ópticamente activo (por ejemplo, dinitrobenzoilofenilglicina). La composición de solvente de elución adecuada puede ser determinada por un experto en la materia.

55 [0027] El término "compuesto", como se usa aquí se entiende que incluye, a menos que se especifique lo contrario, todos los estereoisómeros y los isótopos de las estructuras representadas.

[0028] Todos los compuestos, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden encontrar junto con otras sustancias tales como agua y disolventes (p. ej., hidratos y solvatos) o se pueden aislar.

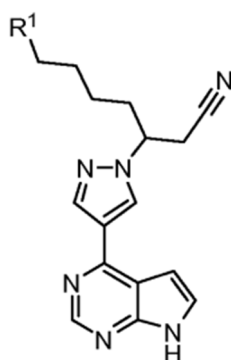
60 [0029] En algunas realizaciones, los compuestos de la invención, o una sal del mismo, están aislados sustancialmente. Por "sustancialmente aislado" se entiende que el compuesto está al menos parcial o sustancialmente separado del entorno en donde se formó o detectó. La separación parcial puede incluir, p. ej., una composición enriquecida en un compuesto de la invención. La separación sustancial puede incluir composiciones que contienen al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos

aproximadamente 97% o al menos aproximadamente el 99% en peso de un compuesto de la invención, o una sal del mismo. Los métodos para aislar compuestos y sus sales son rutinarios en la técnica.

**[0030]** La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en este documento para referirse a aquellos compuestos, formas materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico, adecuadas para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

**[0031]** Las expresiones "temperatura ambiente" y "temperatura de habitación", como se usa en este documento, se entienden en la técnica, y se refieren en general a una temperatura de, *p. ej.*, una temperatura de reacción, que es aproximadamente la temperatura ambiente en donde la reacción se lleva a cabo, *p. ej.*, una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 30°C.

**[0032]** Los compuestos de la invención se pueden preparar de acuerdo con los procedimientos sintéticos descritos a continuación en la sección de Ejemplos. En otro aspecto, la presente invención proporciona un proceso para preparar una sal de ácido fosfórico de un compuesto de Fórmula III:



III

en donde R<sup>1</sup> es H o metilo, que comprende combinar un compuesto de Fórmula III con ácido fosfórico. En algunas realizaciones, la combinación se realiza en presencia de un disolvente orgánico (tal como un alcohol) a una temperatura de más de aproximadamente 20°C (*p. ej.*, más de aproximadamente 40°C, más de aproximadamente 60°C, más de aproximadamente 80°C, o mayor que aproximadamente 100°C). En algunas realizaciones, la combinación se puede realizar a aproximadamente 60°C. En algunas realizaciones, el alcohol puede ser metanol, etanol, isopropanol o butanol. En algunas realizaciones, el alcohol es isopropanol.

**[0033]** En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un proceso para preparar 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina 4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanonitrilo sal de ácido fosfórico que incluye combinar 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo con ácido fosfórico, opcionalmente en presencia de un disolvente orgánico (como un alcohol) a una temperatura de más de aproximadamente 20°C (*p. ej.*, más de aproximadamente 40°C, más de aproximadamente 60°C, más de aproximadamente 80°C o más de aproximadamente 100°C). En algunas realizaciones, la combinación se puede realizar a aproximadamente 60°C. En algunas realizaciones, el alcohol puede ser metanol, etanol, isopropanol o butanol.

**[0034]** En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un proceso para preparar 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina 4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]sal de ácido fosfórico heptanonitrilo que incluye combinar 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo con ácido fosfórico, opcionalmente en presencia de un disolvente orgánico (como un alcohol) a una temperatura de más de aproximadamente 20°C (*p. ej.*, más de aproximadamente 40°C, más de aproximadamente 60°C, más de aproximadamente 80°C o más de aproximadamente 100°C). En algunas realizaciones, la combinación se puede realizar a aproximadamente 60°C. En algunas realizaciones, el alcohol puede ser metanol, etanol, isopropanol o butanol.

**[0035]** La presente invención incluye también sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en este documento. Como se usa en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos descritos en los que el compuesto original se modifica convirtiendo un resto ácido o base existente en su forma de sal. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención incluyen las sales no tóxicas convencionales del compuesto original formado, *p. ej.*, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto original que contiene un resto básico o ácido por métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos;

generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, alcoholes (p. ej., metanol, etanol, isopropanol o butanol) o acetonitrilo (ACN). Las listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>a</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 y Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977).

5

#### Métodos

**[0036]** Los compuestos de la invención pueden modular la actividad de una o más quinasas de Janus (JAK). El término "modular" se refiere a la capacidad de aumentar o disminuir la actividad de uno o más miembros de la familia de quinasas JAK. Por consiguiente, los compuestos de la invención pueden usarse en métodos de modulación de un JAK poniendo en contacto el JAK con uno o más de los compuestos o composiciones descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención pueden actuar como inhibidores de uno o más JAK. En realizaciones adicionales, los compuestos de la invención pueden usarse para modular la actividad de un JAK en un individuo que necesita modulación del receptor administrando una cantidad moduladora de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

**[0037]** Otro aspecto de la presente invención se refiere a métodos para tratar una enfermedad o trastorno JAK asociadas en un individuo (por ejemplo, paciente) mediante la administración al individuo en necesidad de tal tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz o dosis de un compuesto de la presente invención o una composición farmacéutica de la misma. Una enfermedad asociada a JAK puede incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que esté directa o indirectamente vinculada a la expresión o actividad de JAK, incluida la sobreexpresión y/o niveles de actividad anormal. Una enfermedad asociada a JAK también puede incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que pueda prevenirse, mejorarse o curarse modulando la actividad de JAK.

**[0038]** Los ejemplos de enfermedades asociadas a JAK incluyen enfermedades que involucran el sistema inmune, que incluyen, p. ej., rechazo de trasplante de órganos (p. ej., rechazo de aloinjerto y enfermedad de injerto contra huésped).

**[0039]** Otros ejemplos de enfermedades asociadas a JAK incluyen enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple, artritis reumatoidea, artritis juvenil, artritis psoriásica, diabetes tipo I, lupus, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, miastenia gravis, nefropatías de inmunoglobulina, trastornos tiroideos autoinmunes y similares. En algunas realizaciones, la enfermedad autoinmune es un trastorno de la piel ampollosa autoinmune tal como el pénfigo vulgar (PV) o el pénfigoide ampolloso (BP).

**[0040]** Otros ejemplos de enfermedades asociadas con JAK incluyen las condiciones alérgicas tales como el asma, las alergias alimentarias, dermatitis atópica y rinitis. Otros ejemplos de enfermedades asociadas a JAK incluyen enfermedades virales como el virus Epstein Barr (EBV), hepatitis B, hepatitis C, VIH, HTLV 1, virus varicela-zoster (VZV) y virus del papiloma humano (VPH).

**[0041]** Otros ejemplos de enfermedades o condiciones asociadas a JAK incluyen trastornos de la piel tales como la psoriasis (p. ej., psoriasis vulgaris), dermatitis atópica, erupción de la piel, irritación de la piel, sensibilización de la piel (por ejemplo, dermatitis de contacto alérgica o dermatitis de contacto). Por ejemplo, ciertas sustancias que incluyen algunos productos farmacéuticos cuando se aplican tópicamente pueden causar sensibilización de la piel. En algunas realizaciones, la administración conjunta o la administración secuencial de al menos un inhibidor de JAK de la invención junto con el agente que causa la sensibilización no deseada puede ser útil en el tratamiento de dicha sensibilización o dermatitis no deseada. En algunas realizaciones, el trastorno de la piel se trata mediante la administración tópica de al menos un inhibidor de JAK de la invención.

**[0042]** En realizaciones adicionales, la enfermedad asociada a JAK es cáncer, incluyendo las caracterizadas por tumores sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer hepático, cáncer pancreático, cáncer gástrico, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cánceres de la cabeza y cuello, cáncer de tiroides, glioblastoma, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman, melanoma, etc.), cánceres hematológicos (p. ej., linfoma, leucemia como leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (LMA) o mieloma múltiple) y cáncer de piel como linfoma cutáneo de células T (CTCL) y linfoma cutáneo de células B. Los CTCL de ejemplo incluyen el síndrome de Sezary y la micosis fungoide.

**[0043]** En algunas realizaciones, los inhibidores de JAK descritos en el presente documento, así como otros inhibidores de JAK, tales como los reportados en los Estados Unidos Ser. N° 11/637,545, puede usarse para tratar cánceres asociados con inflamación. En algunas realizaciones, el cáncer está asociado con la enfermedad inflamatoria intestinal. En algunas realizaciones, la enfermedad inflamatoria intestinal es colitis ulcerosa. En algunas realizaciones, la enfermedad inflamatoria intestinal es la enfermedad de Crohn. En algunas realizaciones, el cáncer asociado a inflamación es cáncer asociado a colitis. En algunas realizaciones, el cáncer asociado a la inflamación es cáncer de colon o cáncer colorrectal. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, tumor del estroma gastrointestinal (GIST), adenocarcinoma, cáncer de intestino delgado o cáncer rectal.

65

**[0044]** Las enfermedades asociadas a JAK pueden incluir además aquellas caracterizadas por la expresión de un JAK2 mutante tal como aquellas que tienen al menos una mutación en el dominio de pseudo-quinasa (por ejemplo, JAK2V617F).

5 **[0045]** Las enfermedades asociadas con JAK pueden incluir además trastornos mieloproliferativos (MPD) tales como policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (ET), mielofibrosis con metaplasia mieloide (MMM), mielofibrosis primaria (PMF), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia mielomonocítica crónica (CMML), síndrome hipereosinofílico (HES), enfermedad de mastocitos sistémica (SMCD) y similares. En algunas realizaciones, el trastorno  
10 mieloproliferativo es mielofibrosis primaria (PMF) o policitemia vera posterior/mielofibrosis por trombocitemia esencial (MF post-PV/ET).

**[0046]** La presente invención proporciona además métodos de tratamiento de la psoriasis o de otros trastornos de la piel mediante la administración de una formulación tópica que contiene un compuesto de la invención.

15 **[0047]** La presente invención proporciona además un método de tratamiento de efectos secundarios dermatológicos de otros productos farmacéuticos mediante la administración de un compuesto de la invención. Por ejemplo, numerosos agentes farmacéuticos provocan reacciones alérgicas no deseadas que pueden manifestarse como erupción cutánea acneiforme o dermatitis relacionada. Los agentes farmacéuticos de ejemplo que tienen tales efectos secundarios indeseables incluyen fármacos contra el cáncer tales como gefitinib, cetuximab, erlotinib y similares. Los  
20 compuestos de la invención pueden administrarse sistémicamente o tópicamente (p. ej., localizados en la vecindad de la dermatitis) en combinación con (p. ej., simultánea o secuencialmente) el agente farmacéutico que tiene el efecto secundario dermatológico indeseable. En algunas realizaciones, un compuesto de la invención puede administrarse tópicamente junto con uno o más productos farmacéuticos diferentes, donde los otros productos farmacéuticos cuando se aplican tópicamente en ausencia de un compuesto de la invención causan dermatitis de contacto, sensibilización  
25 alérgica de contacto o trastorno cutáneo similar. Por consiguiente, las composiciones de la invención incluyen formulaciones tópicas que contienen un compuesto de la invención y un agente farmacéutico adicional que puede causar dermatitis, trastornos de la piel o efectos secundarios relacionados.

30 **[0048]** Otras enfermedades asociadas a JAK incluyen la inflamación y enfermedades inflamatorias. Las enfermedades inflamatorias de ejemplo incluyen enfermedades inflamatorias del ojo (p. ej., iritis, uveítis, escleritis, conjuntivitis o enfermedades relacionadas), enfermedades inflamatorias del tracto respiratorio (p. ej., el tracto respiratorio superior que incluye la nariz y los senos paranasales como rinitis o sinusitis o tracto respiratorio inferior, incluyendo bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y similares), miopatía inflamatoria como miocarditis y otras enfermedades inflamatorias.

35 **[0049]** Los inhibidores de JAK descritos en este documento pueden usarse adicionalmente para tratar lesiones de reperusión de isquemia o una enfermedad o condición relacionada con un evento isquémico inflamatorio tal como accidente cerebrovascular o detención cardíaca. Los inhibidores de JAK descritos en el presente documento se pueden usar además para tratar la anorexia, la caquexia o la fatiga, como la resultante o asociada con el cáncer. Los  
40 inhibidores de JAK descritos en este documento pueden usarse además para tratar la restenosis, la esclerodermatitis o la fibrosis. Los inhibidores de JAK descritos en el presente documento pueden usarse adicionalmente para tratar afecciones asociadas con hipoxia o astrogliosis tales como, p. ej., retinopatía diabética, cáncer o neurodegeneración. Ver, p. ej., Dudley, AC et al. *Biochem. J.* 2005, 390 (Pt 2): 427-36 y Sriram, K. et al. *J. Biol. Chem.* 2004, 279 (19): 19936-47. *Epub* 2004 Mar 2. Los inhibidores de JAK descritos en este documento pueden usarse para tratar la  
45 enfermedad de Alzheimer.

**[0050]** Los inhibidores de JAK descritos en el presente documento se pueden usar además para tratar otras enfermedades inflamatorias tales como síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y choque séptico.

50 **[0051]** Los inhibidores de JAK descritos en el presente documento se pueden usar además para tratar la gota y el aumento de tamaño de la próstata debido, p. ej., a hipertrofia prostática benigna o hiperplasia prostática benigna.

**[0052]** En algunas realizaciones, los inhibidores de JAK descritos en el presente documento se pueden usar además para tratar un trastorno del ojo seco. Como se usa en este documento, "trastorno del ojo seco" pretende abarcar los  
55 estados de enfermedad resumidos en un informe oficial reciente del Dry Eye Workshop (DEWS), que definió el ojo seco como "una enfermedad multifactorial de las lágrimas y la superficie ocular que produce síntomas de incomodidad, alteración visual e inestabilidad de la película lagrimal con daño potencial a la superficie ocular". Lemp, "The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop", *The Ocular Surface*, 5 (2), 75-92 de abril de 2007. En algunas realizaciones, el trastorno del ojo seco se selecciona de ojo seco con deficiencia de lágrima acuosa (ADDE) o trastorno de ojo seco evaporativo, o combinaciones apropiadas de los mismos.

65 **[0053]** En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método de tratamiento de conjuntivitis, uveitis (incluyendo crónica uveitis), chorioiditis, retinitis, ciclitis, scleritis, epiescleritis, o iritis, tratar la inflamación o el dolor relacionado con el trasplante de córnea, LASIK (queratomileusis in situ asistida por láser), queratectomía fotorrefractiva

o LASEK (queratomileusis subepitelial asistida por láser); inhibición de la pérdida de agudeza visual relacionada con trasplante de córnea, LASIK, queratectomía fotorrefractiva o LASEK; o inhibir el rechazo del trasplante en un paciente que lo necesite, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 **[0054]** Además, un compuesto de la invención, así como otros inhibidores de JAK, tales como los reportados en los Estados Unidos N° de Ser. 11/637,545, se puede usar para tratar la disfunción respiratoria o la falla asociada con la infección viral, como la gripe y el SARS.

10 **[0055]** En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto o sal de la invención para su uso en uno de los métodos de tratamiento como se describe aquí. En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto o sal de la invención para la preparación de un medicamento para su uso en uno de los métodos de tratamiento como se describe en el presente documento.

15 **[0056]** Tal como se utiliza aquí, el término "poner en contacto" se refiere a la unión de restos indicados en un sistema *in vitro* o un sistema *in vivo*. Por ejemplo, "poner en contacto" un JAK con un compuesto de la invención incluye la administración de un compuesto de la presente invención a un individuo o paciente, tal como un ser humano, que tiene un JAK, así como, p. ej., introducir un compuesto de la invención en una muestra que contiene una preparación celular o purificada que contiene el JAK.

20 **[0057]** Tal como se utiliza aquí, el término "individuo" o "paciente", se usa de forma intercambiable, se refiere a cualquier animal, incluyendo mamíferos, preferiblemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, ganado vacuno, ovejas, caballos, o primates, y lo más preferiblemente humanos.

25 **[0058]** Tal como se utiliza aquí, la frase "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o medicinal que está siendo buscada en un tejido, sistema, animal, individuo o humano por un investigador, veterinario, médico u otro clínico.

30 **[0059]** Como se usa en el presente documento, el término "tratar" o "tratamiento" se refiere a uno o más de (1) prevenir la enfermedad; p. ej., 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) inhibición de la enfermedad; p. ej., inhibir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, deteniendo un mayor desarrollo de la patología y/o sintomatología); y (3) mejorar la enfermedad; p. ej., mejorar una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o sintomatología), como disminuir la gravedad de la enfermedad.

#### Terapias de combinación

40 **[0060]** Uno o más agentes farmacéuticos adicionales tales como, p. ej., agentes quimioterapéuticos, agentes anti-inflamatorios, esteroides, inmunosupresores, así como inhibidores de quinasa Bcr-Abl, Flt-3, RAF y FAK tales como, p. ej., los descritos en el documento WO 2006/056399 u otros agentes pueden usarse en combinación con el compuesto de la presente invención para el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones asociadas con JAK. El uno o más agentes farmacéuticos adicionales se pueden administrar a un paciente de forma simultánea o secuencial.

50 **[0061]** Los ejemplos de quimioterapia incluyen inhibidores de proteosomas (p. ej., Bortezomib), talidomida, revlimid y agentes dañinos para el ADN tales como melfalano, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, etopósido, carmustina y similares.

**[0062]** Los esteroides de ejemplo incluyen corticosteroides tales como dexametasona o prednisona.

55 **[0063]** Los inhibidores de Bcr-Abl de ejemplo incluyen los compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables de los géneros y especies descritas en la patente de EE.UU. 5,521,184, WO 04/005281, EP2005/009967, EP2005/010408 y N° de Ser. de EE.UU. 60/578,491.

60 **[0064]** Los ejemplos de inhibidores de Flt-3 adecuados incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, como se describe en los documentos WO 03/037347, WO 03/099771 y WO 04/046120.

65 **[0065]** Los ejemplos de inhibidores RAF adecuados incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, como se describe en los documentos WO 00/09495 y WO 05/028444.



**[0066]** Los ejemplos de inhibidores de FAK adecuados incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, como se describe en WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 y WO 01/014402.

5 **[0067]** En algunas realizaciones, un compuesto de la invención se puede usar en combinación con uno o más inhibidores de quinasas que incluyen imatinib, particularmente para el tratamiento de pacientes resistentes a imatinib u otros inhibidores de quinasas.

10 **[0068]** En algunas realizaciones, un compuesto de la invención puede usarse en combinación con un quimioterapéutico en el tratamiento del cáncer, como el mieloma múltiple, y puede mejorar la respuesta al tratamiento en comparación con la respuesta al agente quimioterapéutico solo, sin exacerbar sus efectos tóxicos. Los ejemplos de agentes farmacéuticos adicionales utilizados en el tratamiento del mieloma múltiple, p. ej., pueden incluir, sin limitación, melfalano, melfalano más prednisona [MP], doxorubicina, dexametasona y Velcade (bortezomib). Otros agentes adicionales utilizados en el tratamiento del mieloma múltiple incluyen los inhibidores de la quinasa Bcr-Abl, Flt-3, RAF y FAK. Los efectos aditivos o sinérgicos son resultados deseables de combinar un inhibidor de JAK de la presente invención con un agente adicional. Además, la resistencia de las células de mieloma múltiple a agentes como la dexametasona puede ser reversible tras el tratamiento con el inhibidor de JAK de la presente invención. Los agentes pueden combinarse con el presente compuesto en una forma de dosificación única o continua, o los agentes pueden administrarse simultánea o secuencialmente como formas de dosificación separadas.

20 **[0069]** En algunas realizaciones, un ejemplo de corticosteroides como la dexametasona se administra a un paciente en combinación con un compuesto de la invención en donde se administra la dexametasona de forma intermitente en lugar de continua.

25 **[0070]** En algunas realizaciones adicionales, las combinaciones de un compuesto de la invención con otros agentes terapéuticos pueden administrarse a un paciente antes de, durante y/o después de un trasplante de médula ósea o trasplante de células madre.

#### *Formulaciones farmacéuticas y formas de dosificación*

30 **[0071]** Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los compuestos de la invención se pueden administrar 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 rutas, dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico y del área a tratar. La administración puede ser tópica (incluidas las membranas transdérmicas, epidérmicas, oftálmicas y mucosas, incluyendo el suministro intranasal, vaginal y rectal), pulmonar (por ejemplo, por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, incluso por nebulizador; intratraqueal o intranasal), oral o parenteral. La administración parenteral incluye intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal intramuscular o inyección o infusión; o administración intracraneal, p. ej., intratecal o intraventricular. La administración parenteral puede ser en forma de una sola dosis en bolo, o puede ser, p. ej., mediante una bomba de perfusión continua. Las composiciones y formulaciones farmacéuticas para administración tópica pueden incluir parches transdérmicos, pomadas, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, aerosoles, líquidos y polvos. Los portadores farmacéuticos convencionales, bases acuosas, en polvo o aceitosas, espesantes y similares pueden ser necesarios o deseables. Los condones recubiertos, guantes y similares también pueden ser útiles.

45 **[0072]** Esta invención también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como ingrediente activo, un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables (excipientes). En algunas realizaciones, la composición es adecuada para administración tópica. Al hacer las composiciones de la invención, el ingrediente activo se mezcla típicamente con un excipiente, se diluye con un excipiente o se encierra dentro de dicho vehículo en forma de, p. ej., una cápsula, bolsita, papel u otro recipiente. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido, que actúa como vehículo, portador o medio para el ingrediente activo. Por lo tanto, las composiciones pueden estar en forma de tabletas, píldoras, polvos, pastillas, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un medio sólido o líquido), ungüentos que contienen, p. ej., hasta 10% en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blandas y duras, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles.

55 **[0073]** En la preparación de 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, se puede moler a un tamaño de partícula de menos de 200 mallas. Si el compuesto activo es sustancialmente soluble en agua, el tamaño de partícula se puede ajustar mediante molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, p. ej., aproximadamente 40 mallas.

65 **[0074]** Un compuesto de la invención puede molerse usando procedimientos de molienda conocidos tales como molienda en húmedo para obtener un tamaño de partícula apropiado para la formación de comprimidos y para otros tipos de formulación. Las preparaciones finamente divididas (nanoparticuladas) del compuesto de la invención pueden prepararse mediante procesos conocidos en la técnica, p. ej., véase la aplicación internacional. N° WO 2002/000196.

5 [0075] Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma de acacia, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, microcristalina celulosa, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: agentes lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; agentes conservantes tales como metilo y propilhidroxibenzoatos; agentes edulcorantes; y agentes aromatizantes. Las composiciones de la invención pueden formularse para proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada del ingrediente activo después de la administración al paciente empleando procedimientos conocidos en la técnica.

10 [0076] Las composiciones se pueden formular en una forma de dosificación unitaria, conteniendo cada dosis de aproximadamente 5 a aproximadamente 1000 mg (1 g), más habitualmente de aproximadamente 100 a aproximadamente 500 mg, del ingrediente activo. El término "formas de dosificación unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

15 [0077] El compuesto activo puede ser eficaz en un amplio intervalo de dosificación y se administra generalmente en una cantidad farmacéuticamente eficaz. Sin embargo, se entenderá que la cantidad del compuesto administrado realmente será determinada generalmente por un médico, de acuerdo con las circunstancias relevantes, incluida la afección a tratar, la ruta de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, peso y respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

20 [0078] Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, el ingrediente activo principal se mezcla con un producto farmacéutico excipiente para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, el ingrediente activo se dispersa típicamente de manera uniforme en toda la composición, de modo que la composición se puede subdividir fácilmente en formas de dosificación unitarias igualmente eficaces, tales como tabletas, píldoras y cápsulas. Esta preformulación sólida se subdivide luego en formas de dosificación unitarias del tipo descrito anteriormente que contienen, p. ej., de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000 mg del ingrediente activo de la presente invención.

25 [0079] Los comprimidos o píldoras de la presente invención pueden recubrirse o componerse de otra manera para proporcionar una forma de dosificación que proporcione la ventaja de una acción prolongada. Por ejemplo, la tableta o píldora puede comprender una dosificación interna y un componente de dosificación externa, esta última en forma de una envoltura sobre la primera. Los dos componentes pueden estar separados por una capa entérica que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permite que el componente interno pase intacto al duodeno o se retrase su liberación. Se puede usar una variedad de materiales para tales capas o recubrimientos entéricos, tales materiales que incluyen varios ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como goma laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

30 [0080] Las formas líquidas en las que el compuesto y las composiciones de la presente invención pueden incorporarse para administración oral o por inyección incluyen soluciones acuosas, jarabes adecuadamente aromatizados, suspensiones acuosas u oleosas, y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, sésamo aceite, aceite de coco o aceite de maní, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares.

35 [0081] Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en disolventes 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 describe anteriormente. En algunas realizaciones, las composiciones se administran por vía respiratoria oral o nasal para un efecto local o sistémico. Las composiciones se pueden nebulizar mediante el uso de gases inertes. Las soluciones nebulizadas se pueden respirar directamente desde el dispositivo de nebulización o el dispositivo de nebulización se puede conectar a una tienda de máscaras faciales o una máquina de respiración de presión positiva intermitente. Las composiciones de solución, suspensión o polvo pueden administrarse por vía oral o nasal desde dispositivos que administran la formulación de manera apropiada.

40 [0082] Las formulaciones tópicas pueden contener uno o más portadores convencionales. En algunas realizaciones, los ungüentos pueden contener agua y uno o más vehículos hidrófobos seleccionados de, p. ej., parafina líquida, polioxietilenoéter, propilenglicol, vaselina blanca y similares. Las composiciones portadoras de cremas pueden basarse en agua en combinación con glicerol y uno o más componentes, p. ej., monoestearato de glicerina, monoestearato de glicerina PEG y alcohol cetilsteárico. Los geles pueden formularse usando alcohol isopropílico y agua, adecuadamente en combinación con otros componentes tales como, p. ej., glicerol, hidroxietilcelulosa y similares. En algunas realizaciones, las formulaciones tópicas contienen al menos aproximadamente 0,1, al menos aproximadamente 0,25, al menos aproximadamente 0,5, al menos aproximadamente 1, al menos aproximadamente 2 o al menos aproximadamente 5% en peso de un compuesto de la invención. Las formulaciones tópicas se pueden

empaquetar adecuadamente en tubos de, p. ej., 100 g que se asocian opcionalmente con instrucciones para el tratamiento de la indicación seleccionada, p. ej., psoriasis u otra afección de la piel.

5 **[0083]** La invención proporciona además una formulación farmacéutica para la aplicación tópica de la piel, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 **[0084]** En algunas realizaciones, la formulación farmacéutica comprende: una emulsión aceite-en-agua; y una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

**[0085]** En algunas realizaciones, la emulsión contiene agua, un componente de aceite, y un componente emulsionante.

15 **[0086]** Tal como se utiliza aquí, el término "componente emulsionante" se refiere, en un aspecto, a una sustancia, o mezclas de sustancias que mantiene un elemento o de partículas en suspensión dentro de un medio fluido. En algunas realizaciones, el componente emulsionante permite que una fase oleosa forme una emulsión cuando se combina con agua. En algunas realizaciones, el componente emulsionante se refiere a uno o más tensioactivos no iónicos.

20 **[0087]** En algunas realizaciones, el componente de aceite está presente en una cantidad de aproximadamente 10% a aproximadamente 40% en peso del formulación.

**[0088]** En algunas realizaciones, el componente de aceite comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de vaselinas, alcoholes grasos, aceites minerales, triglicéridos y aceites de silicona.

25 **[0089]** En algunas realizaciones, el componente de aceite comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de vaselina blanca, alcohol cetílico, alcohol estearílico, aceite mineral ligero, triglicéridos de cadena media y dimeticona.

**[0090]** En algunas realizaciones, el componente de aceite comprende un componente de agente oclusivo.

30 **[0091]** En algunas realizaciones, el componente de agente oclusivo está presente en una cantidad de aproximadamente 2% a aproximadamente 15% en peso de la formulación.

35 **[0092]** Tal como se utiliza aquí, el término "componente de agente oclusivo" se refiere a un agente hidrófobo o mezclas de hidrófobos agentes que forman una película oclusiva sobre la piel que reduce la pérdida de agua transepidérmica (TEWL) mediante la prevención de la evaporación del agua de la capa córnea.

40 **[0093]** En algunas realizaciones, el componente de agente oclusivo comprende una o más sustancias seleccionadas de entre ácidos grasos (p. ej., ácido de lanolina), alcoholes grasos (p. ej., alcohol de lanolina), los aceites de hidrocarburos y ceras (p. ej., vaselina), polivalentes alcoholes (p. ej., propilenglicol), siliconas (p. ej., dimeticona), esteroides (p. ej., colesterol), grasa vegetal o animal (p. ej., manteca de cacao), cera vegetal (p. ej., cera de carnauba) y éster de cera (p. ej., cera de abejas).

45 **[0094]** En algunas realizaciones, el componente del agente oclusivo comprende una o más sustancias seleccionadas de alcoholes de grasos ácidos de lanolina, alcohol de lanolina, vaselina, propilenglicol, dimeticona, colesterol, manteca de cacao, cera de carnauba y cera de abejas.

**[0095]** En algunas realizaciones, el componente del agente oclusivo comprende vaselina.

50 **[0096]** En algunas realizaciones, el componente del agente oclusivo comprende vaselina blanca.

**[0097]** En algunas realizaciones, el componente de aceite comprende un componente de agente endurecedor.

55 **[0098]** En algunas realizaciones, el componente del agente endurecedor está presente en una cantidad de aproximadamente 2% a aproximadamente 8% en peso de la formulación.

**[0099]** Como se usa en este documento, el término "componente de agente de rigidez" se refiere a una sustancia o mezcla de sustancias que aumenta la viscosidad y/o consistencia de la formulación o mejora la reología de la formulación.

60 **[0100]** En algunas realizaciones, el componente del agente endurecedor comprende una o más sustancias independientemente seleccionadas de alcoholes grasos.

**[0101]** En algunas realizaciones, el componente del agente endurecedor comprende una o más sustancias independientemente seleccionadas de alcoholes grasos C<sub>12-20</sub>.

65

- 5
- [0102] En algunas realizaciones, el agente de refuerzo componente una o más sustancias seleccionadas independientemente de alcoholes grasos C<sub>16-18</sub>.
- [0103] En algunas realizaciones, el componente del agente endurecedor comprende una o más sustancias independientemente seleccionadas de alcohol cetílico y alcohol estearílico.
- [0104] En algunas realizaciones, el componente de aceite comprende un componente emoliente.
- 10
- [0105] En algunas realizaciones, el componente emoliente está presente en una cantidad de aproximadamente 5% a aproximadamente 15% en peso de la formulación.
- [0106] Como se usa en este documento, el término "componente emoliente" se refiere a un agente que suaviza la piel o alivia una superficie interna irritada.
- 15
- [0107] En algunas realizaciones, el componente emoliente comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de aceites minerales y triglicéridos.
- [0108] En algunas realizaciones, el componente emoliente comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de aceite mineral ligero y triglicéridos de cadena media.
- 20
- [0109] En algunas realizaciones, el componente emoliente comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de aceite mineral ligero, triglicéridos de cadena media y dimeticona.
- [0110] En algunas realizaciones, el agua está presente en una cantidad de aproximadamente 35% a aproximadamente 65% en peso de la formulación.
- 25
- [0111] En algunas realizaciones, el componente emulsionante está presente en una cantidad de aproximadamente 1% a aproximadamente 9% en peso de la formulación.
- 30
- [0112] En algunas realizaciones, el componente emulsionante comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de ésteres grasos de glicerilo y ésteres grasos de sorbitán.
- [0113] En algunas realizaciones, el componente emulsionante comprende una o más sustancias seleccionadas de forma independiente a partir de estearato de glicerilo, y polisorbato 20.
- 35
- [0114] En algunas realizaciones, la formulación farmacéutica comprende además un componente de agente estabilizante.
- [0115] En algunas realizaciones, el componente del agente estabilizante está presente en una cantidad de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% en peso de la formulación.
- 40
- [0116] Como se usa en este documento, el término "componente de agente estabilizador" se refiere a una sustancia o mezcla de sustancias que mejora la estabilidad de la formulación farmacéutica y/o la compatibilidad de los componentes en la formulación. En algunas realizaciones, el componente de agente estabilizante evita la aglomeración de la emulsión y estabiliza las gotitas en la emulsión de aceite en agua.
- 45
- [0117] En algunas realizaciones, el componente del agente estabilizante comprende una o más sustancias independientemente seleccionadas de polisacáridos.
- 50
- [0118] En algunas realizaciones, el componente del agente estabilizante comprende goma de xantano.
- [0119] En algunas realizaciones, la formulación farmacéutica comprende además un componente disolvente.
- [0120] En algunas realizaciones, el componente disolvente está presente en una cantidad de aproximadamente 10% a aproximadamente 35% en peso de la formulación.
- 55
- [0121] Como se usa en el presente documento, el término "componente disolvente" es una sustancia líquida o mezcla de sustancias líquidas capaces de disolver un compuesto de la invención u otras sustancias en la formulación. En algunas realizaciones, el componente disolvente es una sustancia líquida o una mezcla de sustancias líquidas en las que un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tiene una solubilidad razonable.
- 60
- [0122] En algunas realizaciones, el componente disolvente comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de alquilenglicoles y polialquilenglicoles.
- 65

- 5 **[0123]** En algunas realizaciones, el componente disolvente comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de propilenglicol y polietilenglicol.
- 5 **[0124]** En algunas realizaciones, el compuesto de la invención está presente en una cantidad de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2,0% en peso de la formulación en base libre.
- 10 **[0125]** En algunas realizaciones, el compuesto de la invención está presente en una cantidad de aproximadamente 0,5% en peso de la formulación sobre una base libre.
- 10 **[0126]** En algunas realizaciones, el compuesto de la invención está presente en una cantidad de aproximadamente 1% en peso de la formulación sobre una base libre.
- 15 **[0127]** En algunas realizaciones, el compuesto de la invención está presente en una cantidad de aproximadamente 1,5% en peso de la formulación sobre una base libre.
- 15 **[0128]** En algunas realizaciones, el compuesto de la invención está presente en una cantidad seleccionada de aproximadamente 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9 y 2,0% en peso de la formulación en base libre.
- 20 **[0129]** En algunas realizaciones, la formulación farmacéutica comprende: agua; un componente de aceite; un componente de emulsionante; un componente solvente; un componente de agente estabilizante; y de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2,0% de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en peso de la formulación en una base libre.
- 25 **[0130]** En algunas realizaciones, la formulación farmacéutica comprende:  
de aproximadamente 35% a aproximadamente 65% de agua en peso de la formulación;  
de aproximadamente 10% a aproximadamente 40% de un componente oleoso en peso de la formulación;  
de aproximadamente 1% a aproximadamente 9% de un componente emulsionante en peso de la formulación;  
30 de aproximadamente 10% a aproximadamente 35% de un componente disolvente en peso de la formulación;  
de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% de un componente de agente estabilizante en peso de la formulación; y  
de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2,0% de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en peso de la formulación en una base libre.
- 35 **[0131]** En algunas realizaciones:  
el componente oleoso comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de vaselinas,  
40 el componente emulsionante comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de ésteres grasos de glicerilo y ésteres grasos de sorbitán;  
el componente disolvente comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de alquilenglicoles y polialquilenglicoles;  
y el componente de agente estabilizante comprende una o más sustancias seleccionadas  
45 independientemente de polisacáridos.
- [0132]** En algunas realizaciones:  
50 el componente de aceite comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de vaselina blanca, alcohol cetílico, alcohol estearílico, aceite mineral ligero, cadena media triglicéridos y dimeticona;  
el componente emulsionante comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de estearato de glicerilo y polisorbato 20;  
55 el componente disolvente comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de propilenglicol y polietilenglicol;  
y el componente del agente estabilizante comprende goma de xantano.
- [0133]** En algunas realizaciones, la formulación farmacéutica comprende:  
60 de aproximadamente 35% a aproximadamente 65% de agua en peso de la formulación;  
de aproximadamente 2% a aproximadamente 15% de un componente de agente oclusivo en peso de la formulación;  
de aproximadamente 2% a aproximadamente 8% de un componente de agente endurecedor en peso de la formulación;  
65 de aproximadamente 5% a aproximadamente 15% de un componente emoliente en peso de la formulación;  
de aproximadamente 1% a aproximadamente 9% de un componente emulsionante en peso de la formulación;

de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 5% de un componente de agente estabilizante en peso de la formulación;  
 de aproximadamente 10% a aproximadamente 35% de un componente disolvente en peso de la formulación;  
 y de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2,0% de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en peso de la formulación en una base libre.

**[0134]** En algunas realizaciones:

el componente del agente oclusivo comprende una vaselina;  
 el componente de agente endurecedor una o más sustancias seleccionadas independientemente de uno o más alcoholes grasos;  
 el componente emoliente comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de aceites minerales y triglicéridos;  
 el componente emulsionante comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de ésteres grasos de glicerilo y ésteres grasos de sorbitán;  
 el componente de agente estabilizante comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de polisacáridos; y  
 el componente disolvente comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de alquilenglicoles y polialquilenglicoles.

**[0135]** En algunas realizaciones:

el componente del agente oclusivo comprende vaselina blanca;  
 el componente del agente endurecedor comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de alcohol cetílico y alcohol estearílico;  
 el componente emoliente comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de aceite mineral ligero, triglicéridos de cadena media y dimeticona;  
 el componente emulsionante comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de estearato de glicerilo y polisorbato 20;  
 el componente del agente estabilizante comprende goma de xantano; y  
 el componente disolvente comprende una o más sustancias seleccionadas independientemente de propilenglicol y polietilenglicol.

**[0136]** En algunas realizaciones, la formulación farmacéutica comprende además un componente conservante antimicrobiano.

**[0137]** En algunas realizaciones, el componente conservante antimicrobiano está presente en una cantidad de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 3% en peso de la formulación.

**[0138]** Como se usa en el presente documento, la frase "componente conservante antimicrobiano" es una sustancia o mezclas de sustancias que el crecimiento microbiano en la formulación.

**[0139]** En algunas realizaciones, el componente conservante antimicrobiano comprende una o más sustancias independientemente seleccionadas de parabenos de alquilo y fenoxietanol.

**[0140]** En algunas realizaciones, el componente conservante antimicrobiano comprende una o más sustancias independientemente seleccionadas de parabeno de metilo, parabeno de propilo y fenoxietanol.

**[0141]** En algunas realizaciones, la formulación farmacéutica comprende además un componente de agente quelante.

**[0142]** Como se usa en este documento, la frase "componente de agente quelante" se refiere a un compuesto o mezclas de compuestos que tienen la capacidad de unirse fuertemente con iones metálicos.

**[0143]** En algunas realizaciones, el componente de agente quelante comprende edetato disódico.

**[0144]** Como se usa en este documento, "% en peso de la formulación" significa el porcentaje de concentración del componente en la formulación es en base de peso/peso. Por ejemplo, 1% p/p del componente A = [(masa del componente A) / (masa total de la formulación)] x 100.

**[0145]** Como se usa en el presente documento, "% en peso de la formulación en base libre" de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo" significa que el % p/p se calcula en base al peso de la base libre del compuesto de la invención en la formulación total.

**[0146]** En algunas realizaciones, los componentes están presentes exactamente en los intervalos especificados (p. ej., el término "aproximadamente" no está presente). En algunas realizaciones, "aproximadamente" significa más o menos 10% del valor.

**[0147]** Como se apreciará, algunos componentes de las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden tener múltiples funciones. Por ejemplo, una sustancia dada puede actuar tanto como un componente de agente emulsionante como un agente estabilizante. En algunos casos, la función de un componente dado puede considerarse singular, aunque sus propiedades pueden permitir múltiples funciones. En algunas realizaciones, cada componente de la formulación comprende una sustancia o mezcla de sustancias diferente.

**[0148]** Como se usa en este documento, el término "componente" puede significar una sustancia o una mezcla de sustancias.

**[0149]** Tal como se utiliza aquí, el término "ácido graso" se refiere a un ácido alifático que es saturado o insaturado. En algunas realizaciones, el ácido graso es una mezcla de diferentes ácidos grasos. En algunas realizaciones, el ácido graso tiene entre aproximadamente ocho y aproximadamente treinta carbonos en promedio. En algunas realizaciones, el ácido graso tiene aproximadamente 12 a 20, 14-20 o 16-18 carbonos en promedio. Los ácidos grasos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácido cetílico, ácido esteárico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido erúxico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido cáprico, ácido caprílico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido hidroxisteárico, ácido 12-hidroxisteárico, ácido cetostearico, ácido isoesteárico, ácido sesquioleico, ácido sesqui-9-octadecanoico, ácido sesquiisooctadecanoico, ácido behénico, ácido isobenénico y ácido araquidónico, o mezclas de los mismos.

**[0150]** Como se usa en el presente documento, el término "alcohol graso" se refiere a un alcohol alifático que está saturado o insaturado. En algunas realizaciones, el alcohol graso es una mezcla de diferentes alcoholes grasos. En algunas realizaciones, el alcohol graso tiene entre aproximadamente 12 y aproximadamente 20, aproximadamente 14 y aproximadamente 20, o aproximadamente 16 y aproximadamente 18 carbonos en promedio. Los alcoholes grasos adecuados incluyen, pero no se limitan a, alcohol estearílico, alcohol laurílico, alcohol palmítico, alcohol cetílico, alcohol caprílico, alcohol caprílico, alcohol oleílico, alcohol linolenílico, alcohol araquidónico, alcohol behenílico, alcohol isobenílico, alcohol selaquílico, alcohol chimílico, y alcohol linoleílico, o mezclas de los mismos.

**[0151]** Como se usa en este documento, el término "polialquilenglicol", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un polímero que contiene unidades monoméricas de oxialquileno, o copolímero de unidades de monómero diferentes de oxialquileno, en donde el grupo alquileno tiene de 2 a 6, 2 a 4, o 2 a 3 átomos de carbono. Como se usa en el presente documento, el término "oxialquileno", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo de fórmula -O-alquileno-. En algunas realizaciones, el polialquilenglicol es polietilenglicol.

**[0152]** Tal como se utiliza aquí, el término "éster graso de sorbitán" incluye los productos derivados de sorbitán o sorbitol y grasos unidades de ácidos y, opcionalmente, poli (etilenglicol), incluyendo ésteres de sorbitán y ésteres de sorbitán polietoxilados. En algunas realizaciones, el éster graso de sorbitán es un éster de sorbitán polietoxilado.

**[0153]** Como se usa en el presente documento, el término "éster de sorbitán" se refiere a un compuesto, o mezcla de compuestos, derivado de la esterificación de sorbitol y al menos un ácido graso. Los ácidos grasos útiles para derivar los ésteres de sorbitán incluyen, pero no se limitan a, los descritos aquí. Los ésteres de sorbitán adecuados incluyen, pero no se limitan a, la serie Span™ (disponible de Uniqema), que incluye Span 20 (monolaurato de sorbitán), 40 (monopalmitato de sorbitán), 60 (monoestearato de sorbitán), 65 (tristearato de sorbitán), 80 (monooleato de sorbitán) y 85 (trioleato de sorbitán). Otros ésteres de sorbitán adecuados incluyen los enumerados en RC Rowe y PJ Shesky, Handbook of pharmaceutical excipients, (2006), 5ª ed.

**[0154]** Como se usa en este documento, el término "éster de sorbitán polietoxilado" se refiere a un compuesto, o mezcla de los mismos, deriva de la etoxilación de un éster de sorbitán. La porción de polioxietileno del compuesto puede estar entre el éster graso y el resto sorbitano. Como se usa en el presente documento, el término "éster de sorbitán" se refiere a un compuesto, o mezcla de compuestos, derivado de la esterificación de sorbitol y al menos un ácido graso. Los ácidos grasos útiles para derivar los ésteres de sorbitán polietoxilados incluyen, pero no se limitan a, los descritos aquí. En algunas realizaciones, la porción de polioxietileno del compuesto o mezcla tiene aproximadamente 2 a aproximadamente 200 unidades de oxietileno. En algunas realizaciones, la porción de polioxietileno del compuesto o mezcla tiene aproximadamente 2 a aproximadamente 100 unidades de oxietileno. En algunas realizaciones, la porción de polioxietileno del compuesto o mezcla tiene aproximadamente 4 a aproximadamente 80 unidades de oxietileno. En algunas realizaciones, la porción de polioxietileno del compuesto o mezcla tiene aproximadamente 4 a aproximadamente 40 unidades de oxietileno. En algunas realizaciones, la porción de polioxietileno del compuesto o mezcla tiene aproximadamente 4 a aproximadamente 20 unidades de oxietileno. Los ésteres de sorbitán polietoxilados adecuados incluyen, entre otros, la serie Tween™ (disponible de Uniqema), que incluye Tween 20 (monolaurato de sorbitán POE (20)), 21 (monolaurato de sorbitán POE (4)), 40 (POE (20) monopalmitato de sorbitán), 60 (POE (20) monoestearato de sorbitán), 60K (POE (20) monoestearato de sorbitán), 61 (POE (4) monoestearato de sorbitán), 65 (POE (20) tristearato de sorbitán), 80 (POE (20) monooleato de sorbitán), 80K (monooleato de sorbitán POE (20)), 81 (monooleato de sorbitán POE (5) y 85 (trioleato de sorbitán POE (20)). Como se usa en el presente documento, la abreviatura "POE" se refiere a polioxietileno. El número que sigue a la abreviatura POE se refiere al número de unidades repetidas de oxietileno en el compuesto. Otros ésteres de sorbitán polietoxilados adecuados incluyen los ésteres de ácido graso de sorbitán polioxietileno enumerados en RC Rowe y

PJ Shesky, Handbook of pharmaceutical excipients, (2006), 5ª ed. En algunas realizaciones, el éster de sorbitán polietoxilado es un polisorbato. En algunas realizaciones, el éster de sorbitán polietoxilado es polisorbato 20.

**[0155]** Como se usa en este documento, el término "ésteres grasos de glicerilo" se refiere a mono-, di- o triglicéridos de ácidos grasos. Los ésteres grasos de glicerilo pueden estar opcionalmente sustituidos con grupos de ácido sulfónico, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los ácidos grasos adecuados para derivar glicéridos de ácidos grasos incluyen, pero no se limitan a, los descritos aquí. En algunas realizaciones, el éster graso de glicerilo es un monoglicérido de un ácido graso que tiene de 12 a 18 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el éster graso de glicerilo es estearato de glicerilo.

**[0156]** Como se usa en el presente documento, el término "triglicéridos" se refiere a un triglicérido de un ácido graso. En algunas realizaciones, el triglicérido es triglicéridos de cadena media.

**[0157]** Como se usa en el presente documento, el término "alquilenglicol" se refiere a un grupo de fórmula -O-alkileno-, en donde el grupo alquileo tiene 2 a 6, 2 a 4, o 2 a 3 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el alquilenglicol es propilenglicol (1,2-propanodiol).

**[0158]** Como se usa en este documento, el término "polietilenglicol" se refiere a un polímero que contiene unidades de monómero de etilenglicol de fórmula -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-. Los polietilenglicoles adecuados pueden tener un grupo hidroxilo libre en cada extremo de la molécula de polímero, o pueden tener uno o más grupos hidroxilo eterificados con un alquilo inferior, p. ej., un grupo metilo. También son adecuados los derivados de polietilenglicoles que tienen grupos carboxi esterificables. Los polietilenglicoles útiles en la presente invención pueden ser polímeros de cualquier longitud de cadena o peso molecular, y pueden incluir ramificación. En algunas realizaciones, el peso molecular promedio del polietilenglicol es de aproximadamente 200 a aproximadamente 9000. En algunas realizaciones, el peso molecular promedio del polietilenglicol es de aproximadamente 200 a aproximadamente 5000. En algunas realizaciones, el peso molecular promedio del polietilenglicol es de aproximadamente 200 a aproximadamente 900. En algunas realizaciones, el peso molecular promedio del polietilenglicol es de aproximadamente 400. Los polietilenglicoles adecuados incluyen, pero no se limitan a, polietilenglicol-200, polietilenglicol-300, polietilenglicol-400, polietilenglicol-600 y polietilenglicol-900. El número que sigue al guión en el nombre se refiere al peso molecular promedio del polímero.

**[0159]** Las formulaciones de crema de aceite en agua se pueden sintetizar de acuerdo con un mezclador superior con cuchillas mezcladoras de alto y bajo cizallamiento. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la formulación puede sintetizarse mediante el siguiente procedimiento.

1. Se puede preparar una fase conservante antimicrobiana mezclando al menos una porción del componente conservante antimicrobiano con una porción de un componente disolvente.
2. A continuación, se prepara una fase de agente estabilizante mezclando un componente de agente estabilizante con una porción del componente disolvente.
3. Luego se prepara una fase oleosa mezclando un componente emoliente, un componente emulsionante, un componente agente oclusivo y un componente agente endurecedor. La fase de aceite se calienta a 70-80°C para fundir y formar una mezcla uniforme.
4. Luego se prepara una fase acuosa mezclando agua purificada, el resto del componente disolvente y un componente de agente quelante. La fase se calienta a 70-80°C.
5. La fase acuosa del paso 4, la fase conservante antimicrobiana del paso 1, y el compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se combinan para formar una mezcla.
6. La fase del agente estabilizante del paso 2 se añadió luego a la mezcla del paso 5.
7. La fase oleosa del paso 3 se combinó bajo alta mezcla de cizallamiento con la mezcla del paso 6 para formar una emulsión.
8. Finalmente, se puede agregar un componente conservante antimicrobiano adicional a la emulsión del paso 7. Se continúa la mezcla, y luego se enfría el producto bajo una mezcla de bajo cizallamiento.

**[0160]** La cantidad de compuesto o composición administrada a un paciente variará dependiendo de lo que se esté administrando, el propósito de la administración, tal como profilaxis o terapia, el estado del paciente, la forma de administración y similares. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se pueden administrar a un paciente que ya padece una enfermedad en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Las dosis efectivas dependerán de la condición de la enfermedad que se está tratando, así como del juicio del médico tratante, dependiendo de factores tales como la gravedad de la enfermedad, la edad, el peso y el estado general del paciente, y similares.

**[0161]** Las composiciones administradas a un paciente pueden estar en forma de composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales, o pueden filtrarse estérilmente. Las soluciones acuosas pueden envasarse para su uso tal cual, o liofilizarse, la preparación liofilizada se combina con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones de compuestos típicamente estará entre 3 y 11, más preferiblemente de 5 a 9 y lo más preferiblemente de 7 a 8. Se entenderá que el uso de ciertos excipientes, vehículos o estabilizadores anteriores dará como resultado la formación de sales farmacéuticas.



**[0162]** La dosis terapéutica del compuesto de la presente invención puede variar según, p. ej., el uso particular para el que se hace el tratamiento, la manera de administración del compuesto, la salud y condición del paciente, y el juicio del médico que prescribe. La proporción o concentración de un compuesto de la invención en una composición farmacéutica puede variar dependiendo de una serie de factores que incluyen dosis, características químicas (p. ej., hidrofobicidad), y la ruta de administración. Por ejemplo, un compuesto de la invención puede proporcionarse en una solución tampón fisiológica acuosa que contiene aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10% p/v del compuesto para administración parenteral. Algunos rangos 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 dosis dependa de variables tales como el tipo y el grado de progresión de la enfermedad o trastorno, el estado general de salud del paciente en particular, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su vía de administración. Las dosis efectivas se pueden extrapolar a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de prueba *in vitro* o de modelos animales.

**[0163]** Las composiciones de la invención pueden incluir además uno o más agentes farmacéuticos adicionales tales como un quimioterapéutico, esteroide, compuesto antiinflamatorio o inmunosupresor, ejemplos de los cuales se enumeran anteriormente.

#### 20 *Compuestos marcados y métodos de ensayo*

**[0164]** Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos marcados de la invención (radio-marcado, fluorescentelabeled, etc.) que serían útiles no sólo en las técnicas de imagen, sino también en ensayos, tanto *in vitro* y *en vivo*, para localizar y cuantificar JAK en muestras de tejido, incluido el humano, y para identificar ligandos de JAK mediante la inhibición de la unión de un compuesto marcado. Por consiguiente, la presente invención incluye ensayos JAK que contienen tales compuestos marcados. La presente invención incluye además compuestos de la invención marcados isotópicamente. Un compuesto "isotópico" o "radiomarcado" es un compuesto de la invención donde uno o más átomos son reemplazados o sustituidos por un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa diferente de la masa atómica o número de masa que se encuentra típicamente en la naturaleza (es decir, de origen natural). Los radionucleidos adecuados que pueden incorporarse en los compuestos de la presente invención incluyen, pero sin limitación, <sup>2</sup>H (también escrito como D para deuterio), <sup>3</sup>H (también escrito como T para tritio), <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C, <sup>13</sup>N, <sup>15</sup>N, <sup>15</sup>O, <sup>17</sup>O, <sup>18</sup>O, <sup>18</sup>F, <sup>35</sup>S, <sup>36</sup>C<sub>1</sub>, <sup>82</sup>Br, <sup>75</sup>Br, <sup>76</sup>Br, <sup>77</sup>Br, <sup>123</sup>I, <sup>124</sup>I, <sup>125</sup>I y <sup>131</sup>I. El radionúclido que se incorpora en el presente compuesto radiomarcado dependerá de la aplicación específica de ese compuesto radiomarcado. Por ejemplo, para el marcado *in vitro* JAK y los ensayos de competición, los compuestos que incorporan <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>82</sup>Br, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>35</sup>S o generalmente serán los más útiles. Para aplicaciones de radioimagen, <sup>11</sup>C, <sup>18</sup>F, <sup>125</sup>I, <sup>123</sup>I, <sup>124</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>75</sup>Br, <sup>76</sup> Br o <sup>77</sup>Br generalmente serán las más útiles.

**[0165]** Se entiende que un "compuesto radiomarcado" o "marcado" es un compuesto que ha incorporado al menos un radionúclido. En algunas realizaciones, el radionúclido se selecciona del grupo que consiste en <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>125</sup>I, <sup>35</sup>S y <sup>82</sup>Br.

**[0166]** La presente invención puede incluir, además, métodos sintéticos para incorporar radioisótopos en compuestos de la invención. Los métodos sintéticos para incorporar radioisótopos en compuestos orgánicos son bien conocidos en la técnica, y un experto en la materia reconocerá fácilmente los métodos aplicables a los compuestos de la invención.

**[0167]** Un compuesto marcado de la invención puede usarse en un ensayo de selección para identificar/evaluar compuestos. Por ejemplo, un compuesto recién sintetizado o identificado (es decir, el compuesto de prueba) que está marcado puede evaluarse por su capacidad para unirse a un JAK mediante el monitoreo de su variación de concentración al contactar con el JAK, a través del seguimiento del etiquetado. Por ejemplo, un compuesto de prueba (marcado) puede evaluarse por su capacidad para reducir la unión de otro compuesto que se sabe que se une a un JAK (es decir, un compuesto estándar). En consecuencia, la capacidad de un compuesto de prueba para competir con el compuesto estándar para unirse al JAK se correlaciona directamente con su afinidad de unión. Por el contrario, en algunos otros ensayos de detección, el compuesto estándar está marcado y los compuestos de prueba no están etiquetados. Por consiguiente, la concentración del compuesto estándar marcado se controla para evaluar la competencia entre el compuesto estándar y el compuesto de prueba, y de este modo se determina la afinidad de unión relativa del compuesto de prueba.

#### *Kits*

**[0168]** La presente invención también incluye kits farmacéuticos útiles, p. ej., en el tratamiento o prevención de enfermedades asociadas con JAK o trastornos, como el cáncer, que incluyen uno o más recipientes que contienen una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención. Dichos kits pueden incluir además, si se desea, uno o más de varios componentes de kit farmacéutico convencionales, tales como, p. ej., recipientes con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, recipientes adicionales, etc., como será fácilmente evidente para los expertos en la técnica. Las instrucciones, ya sea como insertos o como

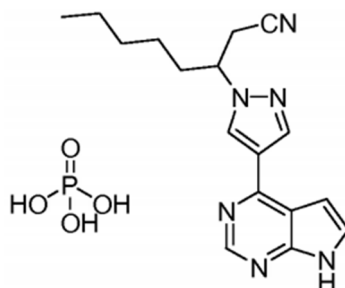
etiquetas, que indican las cantidades de los componentes a administrar, las pautas para la administración y/o las pautas para mezclar los componentes, también se pueden incluir en el kit.

[0169] La invención se describirá con mayor detalle por medio de ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos, y no pretenden limitar la invención de ninguna manera. Los expertos en la materia reconocerán fácilmente una variedad de parámetros no críticos que se pueden cambiar o modificar para obtener esencialmente los mismos resultados.

## EJEMPLOS

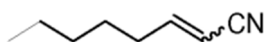
### Ejemplo 1. 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo sal de ácido fosfórico

[0170]



Paso 1: oct-2-enenitrilo

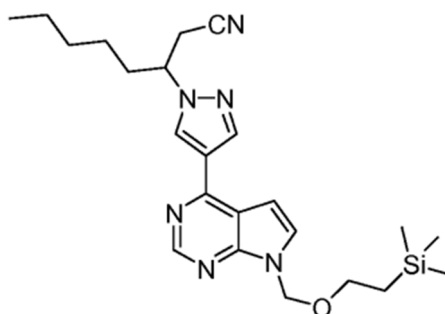
[0171]



[0172] A una solución de 1,0 M de terc-butóxido de potasio en tetrahidrofurano (165 ml, 0,165 mol) a 0°C se añadió gota a gota una solución de dietilo cianometilfosfonato (27 ml, 0,17 mol) en tetrahidrofurano (100 ml). La reacción se calentó a temperatura ambiente y luego se enfrió nuevamente a 0°C después de agitar durante 30 minutos. A la mezcla de reacción se le añadió una solución de hexanal (18 ml, 0,15 mol) en tetrahidrofurano (150 ml). La reacción se agitó durante la noche, se dejó calentar a temperatura ambiente. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo con acetato de etilo (EtOAc). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se concentraron, y se purificaron sobre gel de sílice (eluyendo con 0 a 15% EtOAc en hexanos) para proporcionar el producto deseado (~ 17 g, 92%) como una mezcla de cis e isómeros trans. MS calculada para C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>N (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 124,113; Encontrado: 124,3.

Paso 2: 3-[4-(7-[[2-(trimetilsililo)etoxi]metilo]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo

[0173]

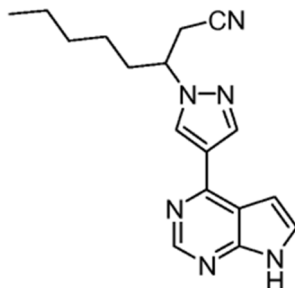


[0174] Una mezcla de 4-(1H-pirazol-4-ilo)-7-[[2-(trimetilsililo)etoxi]metilo]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (preparada sustancialmente como se describe en el Ejemplo 65 de la solicitud de publicación de patente de los EE.UU. N° 2007/0135461 o solicitud internacional N° PCT/US2006/047369 (publicada como WO 2007/070514); 12 g, 0,038 mol), oct-2-enenitrilo (6,0 g, 0,049 mol) y 1,8- diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (DBU, 4,6 ml, 0,030 mol) en acetonitrilo (120 ml, 2,3 mol) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de concentrarse al vacío, el residuo resultante se purificó en gel de sílice (eluyendo con 0 a 40% de EtOAc en hexanos) para dar el producto deseado (15 g, 89,89%). Los enantiómeros (primer tiempo de retención máximo 11,02 min, segundo tiempo de retención máximo 14,10 min)

se separaron en una columna ChiralCel OD-H (30 X 250 mm, 5  $\mu$ M), eluyendo con una fase móvil de etanol al 15% y hexano al 85% a 25 ml/min. MS calculada para  $C_{23}H_{35}N_6OSi$  (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 439,264; Encontrado: 439,4. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8,91 (1H, s), 8,38 (1H, s), 8,37 (1H, s), 7,46 (1H, d, J = 3,8 Hz), 6,86 (1H, d, J = 3,8 Hz), 5,73 (2H, s), 4,59 (1H, m), 3,60 (2H, t, J = 8,3 Hz), 3,06 (2H, td, J = 16,8 y 7,5 Hz), 2,21 (1H, m), 2,01 (1H, m), 1,40-1,21 (6H, m), 0,98 (2H, t, J = 8,3 Hz), 0,91 (3H, t, J = 6,3 Hz), 0,00 (9H, s) ppm.

Paso 3: 3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo

[0175]



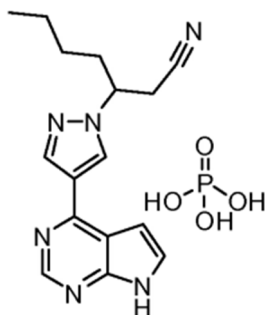
[0176] A una solución de 3-[4-(7-[[2-(trimetilsililo)etoxi]metilo]-7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo (13 g, 0,030 mol) (pico 2 de la separación quiral en el Paso 2) en acetonitrilo (200,0 mL, 3,829 mol) y agua (16,0 mL, 0,888 mol, < 8% de acetonitrilo/agua) se añadió tetrafluoroborato de litio (28,4 g, 0,297 mol). La reacción se calentó a reflujo a 100°C durante la noche. La mezcla se enfrió y se añadieron 7,2 M de hidróxido de amonio en agua (17 ml, 0,12 mol) en porciones durante un período de 5 minutos a temperatura ambiente, ajustando el pH a 9-10 con agitación durante 2 h. El sólido se eliminó por filtración y el filtrado se diluyó con acetonitrilo, agua y MeOH para la purificación por LCMS preparativa (columna XBridge C18, eluyendo con un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía 0,15% de NH<sub>4</sub>OH) para dar el producto deseado (5,9 g, 64%). MS calculada para  $C_{17}H_{21}N_6$ (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 309,183; Encontrado: 309,3. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  12,10 (1H, s), 8,78 (1H, s), 8,66 (1H, s), 8,36 (1H, s), 7,58 (1H, m), 6,97 (1H, m), 4,71 (1H, m), 3,18 (1H, m), 3,16 (1H, br s), 1,93 (1H, m), 1,81 (1H, m), 1,19 (5H, m), 0,97 (1H, m), 0,78 (3H, t, J = 6,3 Hz) ppm.

Paso 4. 3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo sal de ácido fosfórico

[0177] A una solución de 3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo (del paso 3, 4,50 g, 0,0146 mol) en alcohol isopropílico (80 mL, 1 mol) una mezcla de ácido fosfórico (1,43 g, 0,0146 mol) en isopropanol (5,0 ml) mientras la solución se mantuvo a 60°C. La sal de ácido fosfórico precipitó. El calentamiento continuó pero no afectó la disolución. Después de enfriarse a temperatura ambiente, las sales de ácido fosfórico se filtraron, se secaron al aire, luego se enjuagaron con algo de éter dietílico y se secaron al aire. MS calculado para la base,  $C_{17}H_{21}N_6$ (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 309,183; Encontrado: 309,3. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  12,10 (1H, s), 8,79 (1H, s), 8,66 (1H, s), 8,36 (1H, s), 7,58 (1H, d, J = 3,6 Hz), 6,97 (1H, d, J = 3,6 Hz), 4,71 (1H, m), 3,17 (2H, m), 1,94 (1H, m), 1,81 (1H, m), 1,18 (5H, m), 0,97 (1H, m), 0,78 (3H, t, J = 6,8 Hz). Se confirmó que el producto era 99,9% puro en tres corridas diferentes en la columna de HPLC de fase inversa, y que tenía un exceso enantiomérico del 99,7% en seis corridas diferentes en la columna de HPLC quiral.

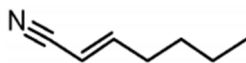
Ejemplo 2. 3-[-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo sal de ácido fosfórico

[0178]



Paso 1. Hept-2-enenitrilo

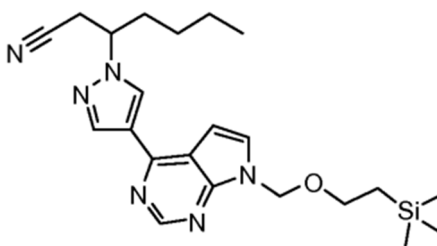
[0179]



5 **[0180]** A una solución de 1,00 M de *terc*-butóxido de potasio en tetrahidrofurano (49,3 ml, 49,3 mmol) a 0°C se añadió gota a gota una solución de cianometilfosfonato de dietilo (8,37 ml, 51,7 mmol) en tetrahidrofurano (63 ml). La reacción se calentó a temperatura ambiente y luego se enfrió a 0°C nuevamente. A la mezcla de reacción se le añadió una solución de pentanal (5,0 ml, 47 mmol) en tetrahidrofurano (12,6 ml). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Después de apagar con agua, la mezcla se extrajo con éter. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron y se evaporaron a sequedad. La mezcla cruda se usó directamente en el siguiente paso. LCMS calculada para C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>N (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 110,1; Encontrado: 110,3.

Paso 2. 3-[4-(7-[[2-(trimetilsililo)etoxi]metilo]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo

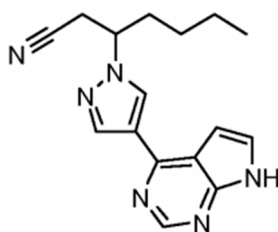
15 **[0181]**



20 **[0182]** A una solución de 4-(1H-pirazol-4-ilo)-7-[[2-(trimetilsililo)etoxi]metilo]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (6,1 g, 19 mmol) en acetonitrilo (58 ml) se añadieron en hept-2-enenitrilo bruto (2,6 g, 23 mmol), seguido de 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (3,49 ml, 23,4 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante el fin de semana y luego se evaporó a sequedad. El residuo se purificó sobre gel de sílice, eluyendo con 0 a 50% de acetato de etilo en hexano, para dar el producto deseado (6,90 g, 84%). LCMS calculado para C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>N<sub>6</sub>OSi (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 425,2; Encontrado: 425,4. La mezcla racémica se aplicó en una columna OD-H (3x25 cm, 5 μm), eluyendo con etanol al 15% y mezcla de hexano al 85% a una velocidad de flujo de 28 ml/min para dar los dos enantiómeros deseados. Primer tiempo de retención máximo de 9,46 min; tiempo de retención del segundo pico (3,45 g) de 12,35 min.

Paso 3. 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo

40 **[0183]**



45 **[0184]** En un matraz de fondo redondo de 500 ml equipado con la barra de agitación, el fusionador y la entrada de nitrógeno se cargaron acetonitrilo (58 ml), agua (5,0 ml), 3-[4-(7-[[2-(trimetilsililo)etoxi]metilo]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo (2° pico de separación quiral en el paso 2, 3,50 g, 8,24 mmol), y tetrafluoroborato de litio (7,88 g, 82,4 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante la noche. A la mezcla de reacción se le cargaron 7,2 M de hidróxido de amonio en agua (4,3 ml, 31 mmol) en porciones durante un período de 5 minutos a temperatura ambiente ajustando el pH a 9-10. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 hs a temperatura ambiente. El sólido se eliminó por filtración y el filtrado se purificó en RP-HPLC (columna XBridge C18, 30 x 100 mm 5 μm; con volumen de inyección 5 ml y velocidad de flujo 60 ml/min; a un gradiente de agua y acetonitrilo y 0,15% de NH<sub>4</sub>OH) para dar el producto deseado (1,79 g, 74%). LCMS calculada para C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub> (M+H)<sup>+</sup>: m/z = 295,2; Encontrado: 295,2.

Paso 4. 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]fosfato de heptanenitrilo

50 **[0185]** A una solución de 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo (0,363 g, 1,23 mmol) en alcohol isopropílico (8,0 mL) se añadió ácido fosfórico (0,133 g, 1,36 mmol) en 1,0 ml de alcohol isopropílico a 60°C. La mezcla se calentó a 60°C durante 1 h, luego se enfrió a temperatura ambiente. El precipitado se filtró y se secó al

aire, se enjuagó con éter etílico y luego se secó al aire adicionalmente para proporcionar la sal de ácido fosfórico deseada (418 mg, 86,5%). <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 12,10 (1H, s), 8,78 (1H, s), 8,66 (1H, s), 8,36 (1H, s), 7,58 (1H, m), 6,97 (1H, m), 4,71 (1H, m), 3,18 (1H, m), 3,17 (1H, m), 1,93 (1H, m), 1,82 (1H, m), 1,21 (3H, m), 0,95 (1H, m), 0,78 (3H, t, J = 7,2 Hz) ppm.

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

**[0186]** Los compuestos de la invención se ensayaron para la actividad inhibidora de dianas JAK de acuerdo con el siguiente ensayo *in vitro* descrito en Park et al, Analytical Biochemistry 1999, 269, 94-104. Los dominios catalíticos de JAK1 humano (a.a. 837-1142), JAK2 (a.a. 828-1132) y JAK3 (a.a. 781-1124) con una etiqueta His N-terminal se expresaron usando baculovirus en células de insecto y se purificaron. La actividad catalítica de JAK1, JAK2 o JAK3 se analizó midiendo la fosforilación de un péptido biotinilado. El péptido fosforilado se detectó por fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo (HTRF). Se midió la CI<sub>50</sub> para cada quinasa en las reacciones de 40 µL que contienen la enzima, ATP y péptido 500 nM en tampón Tris (pH 7,8) 50 mM con NaCl 100 mM, DTT 5 mM y 0,1 mg/ml (0,01%) BSA. La concentración de ATP en las reacciones fue de 90 µM para Jak1, 30 µM para Jak2 y 3 µM para Jak3. Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente durante 1 h y luego se detuvieron con 20 µL 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 Europium tuvo lugar durante 40 minutos y se midió la señal de HTRF en un lector de placa de fusión (Perkin Elmer, Boston, MA).

**[0187]** Se encontró que los compuestos de la invención que son inhibidores de JAK potentes. Para el Ejemplo 1, se descubrió que el enantiómero derivado del pico 2 del paso de separación quiral tenía un valor de CI<sub>50</sub> inferior a 10 nM para JAK2. La forma de sal fosfórica del mismo enantiómero fue igualmente activa. También para el Ejemplo 1, también se encontró que el enantiómero derivado del pico 1 del paso de separación quiral tenía un valor de CI<sub>50</sub> menor que 10 nM para JAK2, aunque no era tan potente como el otro enantiómero.

**Tabla 1**

Ejemplo	JAK1 CI <sub>50</sub> (nM) en Km ATP	JAK2 CI <sub>50</sub> (nM) en Km ATP
1, primer pico (base libre)	3,9	2,2
1, segundo pico (base libre)	0,34	0,26
1, segundo pico (sal de fosfato)	0,63	0,29
2, primer pico (base libre)	1,8	1,4
2, segundo pico (base libre)	0,57	0,3
2, segundo pico (sal de fosfato)	2	0,65

#### Ejemplo B: Ensayos celulares

**[0188]** Las líneas celulares de cáncer que dependen de las citocinas y, por lo tanto, la transducción de señales JAK/STAT, para el crecimiento (p. ej., INA-6), se colocan en placas a 6000 células por pocillo (formato de placa de 96 pocillos) en RPMI 1640, 10 % De FBS y 1 ng/ml de citocina apropiada. Los compuestos se agregan a las células en DMSO/medio (concentración final de DMSO al 0,2%) y se incuban durante 72 horas a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>. El efecto del compuesto sobre la viabilidad celular se evalúa utilizando 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 controlada por JAK con la misma lectura de ensayo. Todos los experimentos se realizan típicamente por duplicado.

**[0189]** Las líneas celulares anteriores se usan para examinar los efectos de los compuestos sobre la fosforilación de las quinasas JAK o sustratos potenciales posteriores tales como proteínas STAT, Akt, Shp2 o Erk. Estos experimentos se llevan a cabo después de una inanición nocturna de citocinas, seguido de una breve incubación previa con el compuesto (2 horas o menos) y estimulación con citocinas de aproximadamente 1 hora o menos. Luego se extraen proteínas de las células y se analizan mediante técnicas familiares para aquellos educados en la técnica, incluyendo transferencia Western o ELISA que usan anticuerpos que pueden diferenciar entre proteínas fosforiladas y proteínas totales. Estos experimentos utilizan células normales o cancerosas para investigar la actividad de los compuestos en la biología de supervivencia de las células tumorales o en mediadores de enfermedades inflamatorias. Por ejemplo, con respecto a este último, las citocinas como IL-6, IL-12, IL-23 o IFN se usan para estimular la activación de JAK, lo que resulta en la fosforilación de proteínas STAT y potencialmente en perfiles transcripcionales (evaluados por matriz o tecnología qPCR) o producción y/o secreción de proteínas, como IL-17. La capacidad de los compuestos para inhibir estos efectos mediados por citoquinas se mide utilizando técnicas comunes a los expertos en la materia.

**[0190]** Los compuestos de la invención pueden ser probados en modelos celulares diseñados para evaluar su potencia y actividad contra JAK mutantes, p. ej., la mutación JAK2V617F se encuentra en trastornos proliferativos mieloides. Estos experimentos a menudo utilizan células dependientes de citocinas de linaje hematológico (p. ej., BaF/3) en las

que las quinasas JAK mutantes o de tipo silvestre se expresan ectópicamente (James, C. y col. Nature 434: 1144-1148; Staerk, J., y col., 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.

5 **[0191]** Los compuestos de la invención pueden ser evaluados por su actividad inhibidora de la proliferación de células T. Tal ensayo puede considerarse un segundo ensayo de proliferación dirigido por citocinas (es decir, JAK) y también un ensayo simplista de supresión inmune o inhibición de la activación inmune. El siguiente es un breve resumen de cómo se realizan tales experimentos. Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) se preparan a partir de  
10 muestras de sangre entera humana usando el método de separación Ficoll Hypaque y las células T (fracción 2000) se obtienen de PBMC por elutriación. Las células T humanas recién aisladas se mantienen en medio de cultivo (RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal al 10%, penicilina 100 U/ml, estreptomycin 100 µg/ml) a una densidad de  $2 \times 10^6$  células/ml a 37°C por 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 µg/ml durante 72 h. Después de lavar una vez con PBS, 6000 células/pocillo se cultivan en placas de 96 pocillos y se tratan con compuestos a diferentes concentraciones en el medio de cultivo en presencia de 100 U/ml de IL-2 humana (ProSpec-Tany TechnoGene; Rehovot, Israel). Las placas se incuban a 37°C durante 72 H y el índice de proliferación se evalúa utilizando reactivos luminiscentes CellTiter-Glo siguiendo el protocolo sugerido por el fabricante (Promega; Madison, WI).

#### 20 **Ejemplo C: Eficacia antitumoral *in vivo***

**[0192]** Los compuestos de la invención pueden evaluarse en modelos de xenoinjerto de tumor humano en ratones inmunocomprometidos. Por ejemplo, una variante tumorigénica de la línea celular de plasmacitoma INA-6 puede usarse para inocular ratones SCID por vía subcutánea (Burger, R., y col. Hematol J. 2: 42-53, 2001). Los animales portadores de tumores se aleatorizaron luego en grupos de tratamiento con fármacos o vehículos y se pueden administrar diferentes dosis de compuestos por cualquier número de las rutas habituales, incluida la infusión oral, i.p. o continúa usando bombas implantables. El crecimiento tumoral se puede seguir con el tiempo usando calibradores. Además, las muestras tumorales se pueden recolectar en cualquier momento después del inicio del tratamiento para el análisis como se describe anteriormente (Ejemplo B) para evaluar los efectos compuestos sobre la actividad de JAK y las vías de señalización aguas abajo. Además, la selectividad del compuesto se puede evaluar utilizando modelos tumorales de xenoinjerto que son impulsados por otras quinasas conocidas (p. ej., Bcr-Abl) como el modelo tumoral K562.

#### 30 **Ejemplo D: Prueba de respuesta de hipersensibilidad retardada por contacto con la piel murina**

35 **[0193]** Los compuestos de la invención también pueden analizarse para determinar la eficacia (de inhibir objetivos JAK) en el modelo de prueba de hipersensibilidad retardada murina dirigida por células T. La respuesta de hipersensibilidad de tipo retardado por contacto con la piel murina (DTH) se considera un modelo válido de dermatitis de contacto clínica y otros trastornos inmunes de la piel mediados por linfocitos T, como la psoriasis (Immunol Today. 1998 enero; 19 (1): 37-44). La DTH murina comparte múltiples características con la psoriasis, incluido el infiltrado inmune, el aumento de las citocinas inflamatorias y la hiperproliferación de queratinocitos. Además, muchas clases de agentes que son eficaces en el tratamiento de la psoriasis en la clínica también son inhibidores eficaces de la respuesta DTH en ratones (Agents Actions. 1993 enero; 38 (1-2): 116-21).

45 **[0194]** En los días 0 y 1, los ratones Balb/c se sensibilizan con una aplicación tópica, a su abdomen afeitado con el antígeno 2,4, dinitrofluorobenceno (DNFB). El día 5, se mide el grosor de las orejas utilizando un micrómetro de ingeniero. Esta medida se registra y se utiliza como línea de base. Las dos orejas de los animales son desafiadas por una aplicación tópica de DNFB en un total de 20 µL (10 µL en el pinna interno y 10 µL en el pinna externo) a una concentración de 0,2%. Veinticuatro a setenta y dos horas después del desafío, las orejas se miden nuevamente. El tratamiento con el compuesto de prueba se administró durante las fases de sensibilización y desafío (día -1 al día 7) o antes y durante la fase de desafío (generalmente la tarde del día 4 al día 7). El tratamiento del compuesto de prueba (en diferentes concentraciones) se administró de forma sistémica o tópica (aplicación tópica del tratamiento en los oídos). La eficacia del compuesto de prueba está indicada por una reducción en la inflamación del oído en comparación con la situación sin el tratamiento. Si el compuesto causa una reducción del 20% o más, se considera eficaz. En algunos experimentos, los ratones son desafiados pero no sensibilizados (control negativo).

55 **[0195]** El efecto inhibitor de los compuestos de prueba (activación de las rutas JAK-STAT de inhibición) se puede confirmar mediante análisis inmunohistoquímico. La activación de la(s) vía(s) JAK-STAT da como resultado la formación y translocación de factores de transcripción funcionales. Además, la afluencia de células inmunes y la mayor proliferación de queratinocitos también deberían proporcionar cambios únicos en el perfil de expresión en el oído que pueden investigarse y cuantificarse. Las secciones de oreja fijadas en formal y embebidas en parafina (cosechadas después de la fase de desafío en el modelo DTH) se someten a análisis inmunohistoquímico utilizando un anticuerpo que interactúa específicamente con STAT3 fosforilado (clon 58E12, Cell Signaling Technologies). Las orejas de los ratones se tratan con compuesto de prueba, vehículo o dexametasona (un tratamiento clínicamente eficaz para la psoriasis), o sin ningún tratamiento, en el modelo DTH para las comparaciones. El compuesto de prueba y la dexametasona pueden producir cambios transcripcionales similares tanto cualitativa como cuantitativamente, y tanto el compuesto de prueba como la dexametasona pueden reducir el número de células infiltrantes. La administración

tanto sistémica como tópica del compuesto de prueba puede producir efectos inhibitorios, es decir, reducción en el número de células infiltrantes e inhibición de los cambios transcripcionales.

#### **Ejemplo E: Actividad antiinflamatoria *in vivo***

**[0196]** Los compuestos de la invención pueden evaluarse en modelos de roedores o no roedores diseñados para replicar una respuesta de inflamación única o compleja. Por ejemplo, los modelos de artritis en roedores pueden usarse para evaluar el potencial terapéutico de los compuestos dosificados de forma preventiva o terapéutica. Estos modelos incluyen, entre otros, artritis inducida por colágeno en ratas o ratones, artritis inducida por adyuvante en ratas y artritis inducida por anticuerpos contra colágeno. Las enfermedades autoinmunes que incluyen, entre otras, la esclerosis múltiple, diabetes mellitus tipo I, uveoretinitis, tiroditis, miastenia gravis, nefropatías por inmunoglobulina, miocarditis, sensibilización de las vías respiratorias (asma), lupus o colitis también pueden usarse para evaluar el potencial terapéutico de compuestos en este documento. Estos modelos están bien establecidos en la comunidad de investigación y son familiares para los expertos en la materia (Current Protocols in Immunology, Vol. 3, Coligan, JE et al, Wiley Press; Methods in Molecular Biology: Vol. 225, Inflammation Protocols., Winyard, PG y Willoughby, DA, Humana Press, 2003.).

#### **Ejemplo F: Modelos animales para el tratamiento del ojo seco, la uveítis y la conjuntivitis**

**[0197]** Los agentes se pueden evaluar en uno o más modelos preclínicos de ojo seco conocidos por los expertos en la técnica, que incluyen, entre otros, el modelo de glándula lagrimal de concaivalina A de conejo. (ConA), el modelo de ratón de escopolamina (subcutáneo o transdérmico), el modelo de glándula lagrimal de ratón Botulinum, o cualquiera de una serie de modelos autoinmunes de roedores espontáneos que resultan en disfunción de la glándula ocular (p. ej., NOD-SCID, MRL/lpr, o NZB/NZW) (Barabino et al., Experimental Eye Research 2004, 79, 613-621 y Schrader et al., Ophthalmology Developmental, Karger 2008, 41, 298-312). Los puntos finales en estos modelos pueden incluir histopatología de las glándulas oculares y los ojos (córnea, etc.) y posiblemente la prueba clásica de Schirmer o versiones modificadas de la misma (Barabino *et al.*) que miden la producción de lágrimas. La actividad puede evaluarse mediante la dosificación a través de múltiples vías de administración (p. ej., sistémica o tópica) que pueden comenzar antes o después de que exista una enfermedad medible.

**[0198]** Los agentes pueden evaluarse en uno o más modelos preclínicos de uveítis conocidos por los expertos en la materia. Estos incluyen, entre otros, modelos de uveítis autoinmune experimental (EAU) y uveítis inducida por endotoxina (EIU). Los experimentos de EAU se pueden realizar en conejos, ratas o ratones y pueden implicar inmunización pasiva o activada. Por ejemplo, se puede usar cualquiera de varios antígenos de la retina para sensibilizar a los animales a un inmunógeno relevante después de lo cual los animales pueden ser desafiados ocularmente con el mismo antígeno. El modelo EIU es más agudo e implica la administración local o sistémica de lipopolisacárido a dosis subletales. Los puntos finales para los modelos EIU y EAU pueden incluir examen fundoscópico, histopatología, entre otros. Estos modelos son revisados por Smith et al. (Immunology and Cell Biology 1998, 76, 497-512). La actividad se evalúa mediante la dosificación a través de múltiples vías de administración (p. ej., sistémica o tópica) que pueden comenzar antes o después de que exista una enfermedad medible. Algunos modelos enumerados anteriormente también pueden desarrollar escleritis/epiescleritis, corioiditis, ciclitis o iritis y, por lo tanto, son útiles para investigar la actividad potencial de los compuestos para el tratamiento terapéutico de estas enfermedades.

**[0199]** Los agentes también pueden evaluarse en uno o más modelos preclínicos de conjuntivitis conocidos por aquellos educados en la técnica. Estos incluyen, entre otros, modelos de roedores que utilizan cobayas, ratas o ratones. Los modelos de conejillo de indias incluyen aquellos que utilizan protocolos de inmunización activa o pasiva y/o de desafío inmune con antígenos tales como ovoalbúmina o ambrosía (revisado en Groneberg, DA, et al., Allergy 2003, 58, 1101-1113). Los modelos de rata y ratón son similares en diseño general a los del conejillo de indias (también revisado por Groneberg). La actividad puede evaluarse mediante la dosificación a través de múltiples vías de administración (p. ej., sistémica o tópica) que pueden comenzar antes o después de que exista una enfermedad medible. Los puntos finales para tales estudios pueden incluir, p. ej., análisis histológico, inmunológico, bioquímico o molecular de tejidos oculares tales como la conjuntiva.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto, que se selecciona de:

- 5           3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo; y  
3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo;  
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, que es:

- 10           (a) 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo, o una sal farmacéuticamente  
aceptable del mismo;  
(b) (3R)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo, o una sal farmacéuticamente  
aceptable del mismo;  
15           (c) (3S)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo, o una sal farmacéuticamente  
aceptable del mismo;  
(d) 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo sal de ácido fosfórico;  
(e) (3R)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo, sal de ácido fosfórico;  
(f) (3S)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]octanenitrilo, sal de ácido fosfórico;  
20           (g) 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, o una sal farmacéuticamente  
aceptable del mismo;  
(h) (3R)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, o una sal farmacéuticamente  
aceptable del mismo;  
(i) (3S)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo, o una sal farmacéuticamente  
25           aceptable del mismo;  
(j) 3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo sal de ácido fosfórico;  
(k) (3R)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo sal de ácido fosfórico; o  
(l) (3S)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo sal de ácido fosfórico.

30           3. Una composición que comprende el compuesto o sal de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, y al menos un  
vehículo farmacéuticamente aceptable.

4. La composición de la reivindicación 3 que es adecuada para

- 35           (a) administración tópica; o  
(b) para administración transdérmica.

5. La composición de la reivindicación 4 (b) que está en forma de un parche transdérmico, pomada, loción, crema o  
gel.

40           6. El compuesto o sal de la reivindicación 1 o la reivindicación 2 para uso en el tratamiento de una enfermedad en un  
paciente, en donde dicha enfermedad está asociada con la actividad de JAK.

7. El compuesto o sal de la reivindicación 1 o la reivindicación 2 para uso en el tratamiento de

- 45           (a) una enfermedad autoinmune;  
(b) cáncer;  
(c) un trastorno mieloproliferativo;  
(d) una enfermedad inflamatoria;  
50           (e) una enfermedad viral;  
(f) rechazo de trasplante de órgano;  
(g) lesión por reperusión de isquemia o una enfermedad relacionada con un evento isquémico inflamatorio;  
(h) anorexia o caquexia;  
(i) fatiga;  
55           (j) rechazo de aloinjerto o enfermedad de injerto contra huésped;  
(k) artritis reumatoide;  
(l) psoriasis;  
(m) dermatitis;  
(n) iritis;  
60           (o) uveítis;  
(p) escleritis; o  
(q) conjuntivitis.

8. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 7(a) en donde dicha enfermedad autoinmune es:

65



- (a) un trastorno de la piel, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriásica artritis, artritis juvenil, diabetes tipo I, lupus, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, miastenia gravis, nefropatías por inmunoglobulina, miocarditis o trastorno tiroideo autoinmune;  
 (b) un trastorno cutáneo bulloso;  
 (c) artritis reumatoide; o  
 (d) un trastorno de la piel.

9. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 8 (b) en donde dicho trastorno de la piel ampollosa es el pénfigo vulgar (PV) o el penfigoide ampolloso (BP).

10. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 8 (d) en donde dicho trastorno de la piel es

- (a) dermatitis atópica o psoriasis; o  
 (b) sensibilización de la piel, irritación de la piel, erupción cutánea, dermatitis de contacto o sensibilización alérgica de contacto.

11. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 7(b) en donde dicho cáncer es

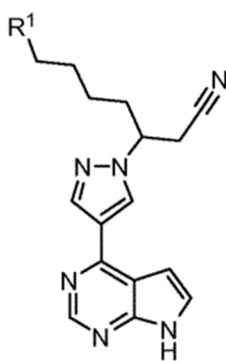
- (a) un tumor sólido;  
 (b) cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer hepático, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de tiroides, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman o cáncer pancreático;  
 (c) linfoma, leucemia o mieloma múltiple; o  
 (d) linfoma cutáneo de células T o linfoma cutáneo de células B.

12. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 7(c) en donde dicho trastorno mieloproliferativo es policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (ET), mielofibrosis primaria (PMF), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia mielomonocítica crónica (CMML), síndrome hipereosinofílico (HES), mielofibrosis idiopática (FMI) o enfermedad de mastocitos sistémica (SMCD).

13. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 7 (d) en donde dicha enfermedad inflamatoria es iritis, uveítis, escleritis, conjunctivitis, enfermedad inflamatoria del tracto respiratorio, miopatía inflamatoria o miocarditis.

14. El compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 7(e) en donde dicha enfermedad viral es el virus de Epstein Barr (EBV), hepatitis B, hepatitis C, VIH, HTLV 1, virus Varicell-Zoster (VZV) o virus del papiloma humano (VPH).

15. Un proceso para preparar una sal de ácido fosfórico de un compuesto de Fórmula III:



III

en donde R<sup>1</sup> es H o metilo, que comprende combinar un compuesto de Fórmula III con ácido fosfórico.

16. El proceso de la reivindicación 15, en donde dicho proceso es un proceso de preparación de:

- (a) 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]sal de ácido octanenitrilo fosfórico; o  
 (b) 3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4-ilo)-1H-pirazol-1-ilo]heptanenitrilo sal de ácido fosfórico.

17. El proceso de la reivindicación 15 o la reivindicación 16, en donde dicha combinación se lleva a cabo en presencia de un disolvente orgánico.

5

18. El proceso de la reivindicación 17, en donde el disolvente orgánico es un alcohol.

19. El proceso de la reivindicación 18, en donde el alcohol se selecciona del grupo que consiste en metanol, etanol, isopropanol y butanol.

10

20. El proceso de la reivindicación 15 o la reivindicación 16, en donde la combinación se realiza a una temperatura de

- (a) mayor que aproximadamente 20°C; o
- (b) 60°C

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60