

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 779 880**

51 Int. Cl.:

C07D 451/14 (2006.01)

C07D 451/04 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.04.2017 PCT/US2017/029796**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.11.2017 WO17189822**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2017 E 17722324 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2020 EP 3433253**

54 Título: **Compuestos de pirimidina como inhibidores de la cinasa JAK**

30 Prioridad:

28.04.2016 US 201662328737 P

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

20.08.2020

73 Titular/es:

**THERAVANCE BIOPHARMA R&D IP, LLC
(100.0%)
901 Gateway Boulevard
South San Francisco, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**HUDSON, RYAN;
KOZAK, JENNIFER;
FLEURY, MELISSA;
FATHEREE, PAUL R.;
BEAUSOLEIL, ANNE-MARIE;
PODESTO, DANTE D. y
HUANG, XIAOJUN**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 779 880 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

Compuestos de pirimidina como inhibidores de la cinasa JAK

5 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

10 La invención se refiere a compuestos de pirimidina útiles como inhibidores de la cinasa JAK. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, a métodos de uso de dichos compuestos para tratar enfermedades inflamatorias y a procesos e intermedios útiles para preparar dichos compuestos.

Estado de la técnica

15 La colitis ulcerosa es una enfermedad inflamatoria crónica del colon. La enfermedad se caracteriza por inflamación y ulceración de la capa mucosa del recto y el intestino grueso. Los síntomas habituales incluyen diarrea, heces con sangre y dolor abdominal. El curso clínico es intermitente, marcado por períodos alternos de exacerbación y remisión. La incidencia parece ser mayor en los países desarrollados que en los países en desarrollo. Se estima que 1,2 millones de personas en los principales países industrializados padecen colitis ulcerosa y se espera que los números aumenten
20 junto con el crecimiento de la población. Los pacientes con colitis ulcerosa tienen un mayor riesgo de desarrollar cáncer colorrectal (por ejemplo, Danese et al. *N Engl J Med*, 2011, 365, 1713-1725).

Aunque existe una diversidad de opciones terapéuticas para promover y mantener la remisión de la colitis ulcerosa (CU) en pacientes, ninguna es ideal. Los tratamientos relacionados con la sulfasalazina con frecuencia son eficaces
25 en la CU leve, pero mucho menos en la enfermedad moderada a grave. Con frecuencia se usan corticoesteroides para proporcionar una inducción rápida de la remisión en pacientes con CU moderada a grave. Sin embargo, se desaconseja el uso crónico de esteroides para mantener la remisión debido a que se asocian a efectos adversos a largo plazo (por ejemplo, osteoporosis y fracturas, infecciones, cataratas, cicatrización de heridas más lenta y supresión de la producción hormonal de las glándulas suprarrenales). Los inmunosupresores sistémicos tales como la azatioprina, la ciclosporina y el metotrexato tienen un inicio lento y una eficacia moderada en pacientes con CU moderada a grave, pero el uso prolongado puede ser problemático debido a las consecuencias de la inmunosupresión sistémica a largo plazo (por ejemplo, un mayor riesgo de infecciones y linfoma). Los anticuerpos anti-TNF α (por ejemplo, infliximab y adalimumab), aunque son caros y requieren la administración subcutánea o intravenosa, son eficaces en aproximadamente del 60 al 70 % de los pacientes con CU con enfermedad moderada a grave. Sin embargo, hasta un tercio de los pacientes no responden adecuadamente, mientras que otro tercio de los que sí responden inicialmente desarrollan tolerancia en pocas semanas (Allez et al., *J Crohn's Colitis*, 2010, 4, 355-366; Rutgeerts et al., *N Engl J Med*, 2005, 353, 2462-2476). La terapia para la CU aprobada más recientemente, vedolizumab, un anticuerpo anti-integrina $\alpha_4\beta_7$, es eficaz en pacientes con CU moderada a grave, aunque su vía parenteral es subóptima y las consecuencias de la inmunosupresión a largo plazo a través de este mecanismo aún no se han determinado. A pesar de las opciones terapéuticas existentes, aproximadamente del 10 al 20 % de los pacientes con CU todavía requieren colectomía a los 10 años del diagnóstico (Targownik et al., *Am J Gastroenterol*, 2012, 107, 1228-1235). Está claro que sigue existiendo la necesidad médica insatisfecha de una terapia eficaz para promover y mantener la remisión de la CU moderada a grave sin los problemas de seguridad resultado de la inmunosupresión sistémica y crónica.
45

Aunque el mecanismo subyacente a la colitis ulcerosa no se comprende totalmente, se cree que en individuos genéticamente susceptibles los factores ambientales suscitan una reacción inadecuada (excesiva) del sistema inmunitario a la microbiota intestinal, dando como resultado inflamación del colon, daño tisular y los síntomas asociados característicos de la enfermedad.
50

Aunque la patogenia precisa de la CU no está clara, es evidente que las citocinas proinflamatorias desempeñan una función fundamental en la respuesta inmunitaria (Strober et al., *Gastroenterol*, 2011, 140, 1756-1767). Muchas de las citocinas proinflamatorias elevadas más habitualmente en la CU (por ejemplo, IL-4, IL-6, IL-13, IL-15, IL-23, IL-24, IFN γ y leptina), dependen de la familia JAK de tirosina cinasas (es decir, JAK1, JAK2, JAK3 y Tyk2) para la transducción de señales. La unión de una citocina a un receptor de citocinas dependiente de JAK induce la dimerización del receptor que da como resultado la fosforilación de los restos de tirosina en la cinasa JAK, afectando a la activación de JAK. Las JAK fosforiladas, a su vez, se unen a diversas proteínas STAT y las fosforilan, estas proteínas se dimerizan, se internalizan en el núcleo celular y modulan directamente la transcripción génica, conduciendo, entre otros efectos, a los efectos corriente abajo asociados a las enfermedades inflamatorias. Las JAK por lo general se asocian con receptores de citocinas en pares como homodímeros o heterodímeros. Se asocian citocinas específicas con emparejamientos JAK específicos.
60

La dermatitis atópica (DA) es una enfermedad cutánea inflamatoria crónica habitual que afecta aproximadamente a 14 millones de personas solo en los Estados Unidos. Se estima que la DA afecta al 10-20 % de los niños y al 1-3 % de los adultos en los países desarrollados (Bao et al., *JAK-STAT*, 2013, 2, e24137) y la prevalencia está aumentando. La elevación de las citocinas proinflamatorias que dependen de la vía JAK-STAT, en particular, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12,
65

IL-13, IFN γ y TSLP se ha asociado a la DA (Bao et al., Leung et al., *The Journal of Clinical Investigation*, 2004, 113, 651-657). Además, se ha demostrado que la regulación positiva de IL-31, otra citocina que señala a través de un emparejamiento JAK, tiene una función en el prurito asociado al estado crónico de la DA (Sunkoly et al., *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2006, 117, 411-417).

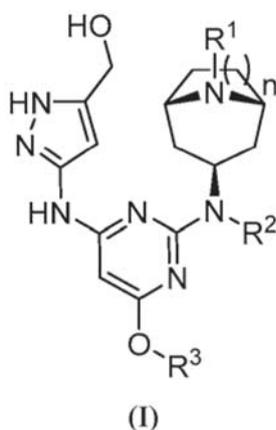
La inhibición de la familia de las enzimas JAK podría inhibir la señalización de muchas citocinas proinflamatorias clave. Por tanto, es probable que los inhibidores de JAK sean útiles en el tratamiento de la colitis ulcerosa y otras enfermedades inflamatorias gastrointestinales tales como la enfermedad de Crohn y la colitis inducida por el inhibidor del punto de control inmunitario, la dermatitis atópica y otras enfermedades inflamatorias cutáneas, la rinitis alérgica, el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Sin embargo, debido al efecto modulador de la vía JAK/STAT en el sistema inmunitario, la exposición sistémica a inhibidores de JAK puede tener un efecto inmunosupresor sistémico adverso. Sería deseable, por tanto, proporcionar nuevos inhibidores de JAK que tengan su efecto en el sitio de acción sin efectos sistémicos significativos. En particular, para el tratamiento de enfermedades inflamatorias gastrointestinales, tales como la colitis ulcerosa, sería deseable proporcionar nuevos inhibidores de JAK que puedan administrarse por vía oral y consigan una exposición terapéuticamente relevante en el tracto gastrointestinal con una exposición sistémica mínima. También sería deseable proporcionar nuevos inhibidores de JAK para el tratamiento de la dermatitis atópica, que puedan administrarse por vía tópica con una exposición sistémica mínima.

La solicitud internacional, WO 2015/094803, enseña compuestos de piridilo y pirimidinilo sustituidos, que modulan la actividad de las cinasas Janus que son útiles en el tratamiento de enfermedades proliferativas, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias, rechazo de trasplantes y otras enfermedades.

Sumario de la invención

En un aspecto, la invención proporciona compuestos novedosos que tienen actividad como inhibidores de las cinasas JAK.

En consecuencia, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I):



en donde

R¹ se selecciona entre:

(a) -S(O)₂R⁴, en donde R⁴ se selecciona entre:

alquilo C₁₋₄, en donde el alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con -CN, -O-alquilo C₁₋₃ o cicloalquilo C₃₋₆, heterociclilo que contiene de 4 a 6 átomos en el anillo incluyendo un átomo de nitrógeno, en donde cualquier heterociclilo está opcionalmente sustituido con -CN, cicloalquilo C₃₋₆, piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con flúor y fenilo;

(b) alquilo C₁₋₄, en donde el alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con -CN,



o

piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con -CN; y
(c) -C(O)R⁵, en donde R⁵ se selecciona entre:

5 alquilo C₁₋₄, en donde el alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con cicloalquilo C₃₋₆ o con uno o dos flúores, O-alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆ y morfolinilo;

R² es hidrógeno o metilo;

R³ es alquilo C₁₋₃; y *n* es 1 o 2;

10

o una sal farmacéuticamente aceptable o estereoisómero del mismo.

15 Como se usa en lo sucesivo en el presente documento, la frase "compuesto de fórmula (I)" significa un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; es decir, esta frase significa un compuesto de fórmula (I) en forma de base libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable a menos que se indique lo contrario.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto particular de fórmula (I) en forma de base libre cristalina. Se ha descubierto que el 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonil)azetidina-3-carbonitrilo cristalino tiene una temperatura de fusión en el intervalo de aproximadamente 235 °C a aproximadamente 245 °C, normalmente entre aproximadamente 237 °C y aproximadamente 242 °C, y presenta cambios de peso de menos de aproximadamente el 0,4 % cuando se expone a un intervalo de humedad relativa de entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 90 % a temperatura ambiente.

25

30 La invención también proporciona un método para tratar enfermedades inflamatorias gastrointestinales, en particular, la colitis ulcerosa, en un mamífero, comprendiendo el método administrar al mamífero un compuesto o una composición farmacéutica de la invención.

30

35 En otro aspecto más del método, la invención proporciona un método para tratar enfermedades o trastornos inflamatorios de la piel, en particular, la dermatitis atópica, en un mamífero, comprendiendo el método aplicar un compuesto o una composición farmacéutica de la invención en la piel del mamífero.

35

En aspectos separados y distintos, la invención también proporciona procesos de síntesis e intermedios que se describen en el presente documento, que son útiles para preparar compuestos de la invención.

40 La invención también proporciona un compuesto de la invención como se describe en el presente documento para su uso en terapia médica, así como el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de una formulación o medicamento para tratar la enfermedad inflamatoria gastrointestinal en un mamífero. La invención proporciona adicionalmente el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de una formulación o medicamento para tratar enfermedades inflamatorias de la piel.

40

45 Breve descripción de los dibujos

Se ilustran diversos aspectos de la presente invención por referencia a los dibujos adjuntos.

50 La Figura 1 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo (DRXP) de la Forma I cristalina 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonil)azetidina-3-carbonitrilo [en lo sucesivo en el presente documento Forma I],

la Figura 2 muestra un termograma de calorimetría diferencial de barrido (CDB) de la Forma I cristalina.

La Figura 3 muestra un gráfico de análisis termogravimétrico (ATG) de la Forma I cristalina.

55 La Figura 4 muestra una isoterma de sorción de humedad dinámica (SHD) de la Forma I cristalina observada a una temperatura de aproximadamente 25 °C

La Figura 5 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo (DRXP) de la Forma II cristalina 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonil)azetidina-3-carbonitrilo [en lo sucesivo en el presente documento Forma II],

60 la Figura 6 muestra un termograma de calorimetría diferencial de barrido (CDB) de la Forma II cristalina.

La Figura 7 muestra un gráfico de análisis termogravimétrico (ATG) de la Forma II cristalina.

La Figura 8 muestra una isoterma de sorción de humedad dinámica (SHD) de la Forma II cristalina observada a una temperatura de aproximadamente 25 °C

60

65 Descripción detallada de la invención

65

Entre otros aspectos, la invención proporciona inhibidores de la cinasa JAK de fórmula (I), sales farmacéuticamente

aceptables de los mismos e intermedios para la preparación de los mismos. Los siguientes sustituyentes y valores tienen por objeto proporcionar ejemplos representativos de diversos aspectos de la presente invención. Estos valores representativos tienen por objeto definir adicionalmente dichos aspectos y no tienen por objeto excluir otros valores o limitar el alcance de la invención.

5 En un aspecto de la invención, R^1 se selecciona entre (a) $-S(O)_2R^4$, en donde R^4 se selecciona entre alquilo C_{1-4} , en donde el alquilo C_{1-4} está opcionalmente sustituido con $-CN$, $-O$ -alquilo C_{1-3} o cicloalquilo C_{3-6} ; heterociclilo que contiene de 4 a 6 átomos en el anillo incluyendo un átomo de nitrógeno, en donde cualquier heterociclilo está opcionalmente sustituido con $-CN$; cicloalquilo C_{3-6} ; piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con flúor; y fenilo; 10 (b) alquilo C_{1-4} , en donde el alquilo C_{1-4} está opcionalmente sustituido con $-CN$,



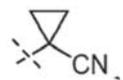
15 o piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con $-CN$; y (c) $C(O)R^5$, en donde R^5 se selecciona entre alquilo C_{1-4} , en donde el alquilo C_{1-4} está opcionalmente sustituido con cicloalquilo C_{3-6} o con uno o dos flúores; O -alquilo C_{1-4} ; cicloalquilo C_{3-6} ; y morfolinilo.

20 En otro aspecto, R^1 es $-S(O)_2R^4$, en donde R^4 se selecciona entre alquilo C_{1-4} , en donde el alquilo C_{1-4} está opcionalmente sustituido con $-CN$, $-O$ -alquilo C_{1-3} o cicloalquilo C_{3-6} ; heterociclilo que contiene de 4 a 6 átomos en el anillo incluyendo un átomo de nitrógeno en donde cualquier heterociclilo está opcionalmente sustituido con $-CN$; cicloalquilo C_{3-6} ; piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con flúor; y fenilo.

25 En otro aspecto más, R^1 es $-S(O)_2R^4$, en donde R^4 se selecciona entre alquilo C_{1-2} , en donde el alquilo C_{1-2} está opcionalmente sustituido con $-CN$, $-OCH_3$ o ciclopropilo; azetidinitilo, en donde el azetidinitilo está opcionalmente sustituido con $-CN$; pirrolidinilo; ciclopropilo; piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con flúor; y fenilo.

30 En otro aspecto más, R^1 es $-S(O)_2R^4$, en donde R^4 es metilo, etilo, azetidinitilo, pirrolidinilo, ciclopropilo, piridinilo o fenilo, en donde el etilo está opcionalmente sustituido con metoxi, el azetidinitilo está opcionalmente sustituido con $-CN$ y el piridinilo está opcionalmente sustituido con flúor.

En un aspecto, R^1 es alquilo C_{1-4} , en donde el alquilo C_{1-4} está opcionalmente sustituido con $-CN$,



35 o piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con $-CN$.

En otro aspecto, R^1 es alquilo C_{1-2} , en donde el alquilo C_{1-2} está opcionalmente sustituido con $-CN$,



40 o piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con $-CN$.

45 En un aspecto, R^1 es $-C(O)R^5$, en donde R^5 se selecciona entre alquilo C_{1-4} , en donde el alquilo C_{1-4} está opcionalmente sustituido con cicloalquilo C_{3-6} o con uno o dos flúores; O -alquilo C_{1-4} ; cicloalquilo C_{3-6} ; y morfolinilo.

En otro aspecto, R^1 es $-C(O)R^5$, en donde R^5 se selecciona entre alquilo C_{1-2} , en donde el alquilo C_{1-2} está opcionalmente sustituido con ciclopropilo o con uno o dos flúores; O -alquilo C_{1-4} ; cicloalquilo C_{3-6} ; y morfolinilo.

50 En otro aspecto más, R^1 es $-C(O)R^5$, en donde R^5 es $-CHF_2$, $-CH_2$ -ciclopropilo, $-OCH_3$, $-O$ -isobutilo, ciclobutilo, ciclopentilo o morfolinilo.

En un aspecto, R^2 es hidrógeno o metilo. En un aspecto específico, R^2 es metilo.

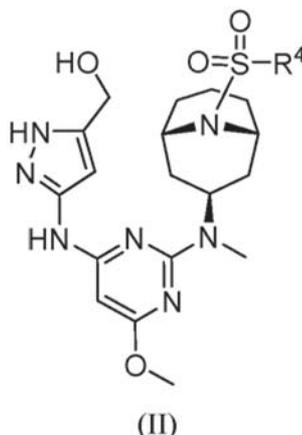
55 En un aspecto, R^3 es alquilo C_{1-3} .

En otro aspecto, R^3 es metilo.

En un aspecto, n es 1 o 2. En otro aspecto, n es 2.

60

En un aspecto determinado, la invención proporciona compuestos de fórmula (II):



5 en donde la variable R⁴ es como se define en el presente documento.

En un aspecto, la invención proporciona los compuestos de los Ejemplos 1-9 y las Tablas 1-3 a continuación.

En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto seleccionado entre:

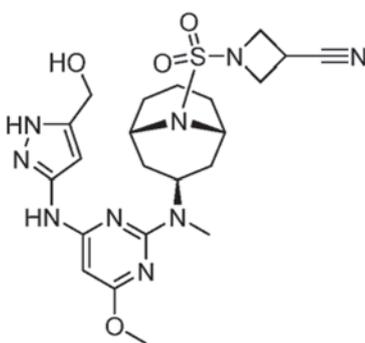
- 10 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo,
- 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo,
- 15 (3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(metilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
- (3-((6-metoxi-2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(2-metoxietil)sulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
- 20 3-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-il)propanonitrilo,
- 5-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)metil)picolinonitrilo,
- 5-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)metil)nicotinonitrilo,
- 25 (1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de isobutilo,
- 2,2-difluoro-1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)etan-1-ona,
- 3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(azetidín-1-ilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
- 30 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo,
- (3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(5-fluoropiridin-3-il)sulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
- 35 (3-((6-metoxi-2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(fenilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
- (3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(etilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
- (3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(ciclopropilmetil)sulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
- 40 (3-((6-metoxi-2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(piridin-3-ilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
- 3-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)-sulfonyl)propanonitrilo,
- 45 (3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(pirrolidin-1-ilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
- (3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(ciclopropilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
- (3-((6-methoxy-2-(methyl((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(piridin-3-ilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
- 50 (3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(fenilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-

pirazol-5-il)metanol,
 (3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(azetidín-1-il sulfonil)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
 (3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-((ciclopropilmetil)sulfonil)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
 (3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-((5-fluoropiridin-3-il)sulfonil)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
 4-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-9-il)metil)picolinonitrilo,
 (3-((6-metoxi-2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(piridin-3-ilmetil)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
 3-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-9-il)propanonitrilo,
 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-9-il)metil)ciclopropano-1-carbonitrilo,
 (3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(piridin-4-ilmetil)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
 4-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-9-il)metil)picolinonitrilo,
 2,2-difluoro-1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-9-il)etan-1-ona,
 (1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de isobutilo,
 (1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de metilo,
 ((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxi-pirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-9-il)(morfolino)metanona,
 2-ciclopropil-1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-9-il)etan-1-ona,
 ciclopentil((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-9-il)metanona,
 y ciclobutil((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-9-il)metanona,

35 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

Las estructuras químicas se nombran en el presente documento de acuerdo con las convenciones de la IUPAC implementadas en el software ChemDraw (PerkinElmer, Inc., Cambridge, MA). Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo 2:

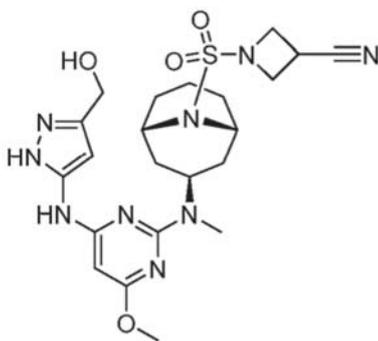
40



se designa como 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabíciclo[3.3.1]nonán-9-il)sulfonil)azetidina-3-carbonitrilo. La notación (1*R*,3*S*,5*S*) describe la orientación *exo* del grupo pirimidinilamino con respecto al grupo 9-azabíciclo[3.3.1]nonano y de manera similar para los compuestos que contienen un grupo 8-azabíciclo[3.2.1] (es decir, variable $n = 1$). Todos los compuestos de la invención están en la orientación *exo*.

Además, el resto pirazolilo de los compuestos de fórmula (I) existe en forma tautomérica. Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo 2 puede representarse de manera equivalente como:

50



De acuerdo con la convención de la IUPAC, estas representaciones dan lugar a una numeración diferente de los átomos de la porción pirazolilo. La representación anterior se designa 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((3-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-5-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo, donde el subrayado identifica dónde el nombre difiere del de la primera representación. Se comprenderá que aunque las estructuras se muestran o nombran, en una forma particular, la invención también incluye el tautómero de las mismas.

Los compuestos de la invención contienen uno o más centros quirales y, por tanto, dichos compuestos (e intermedios de los mismos) pueden existir en forma de mezclas racémicas; estereoisómeros puros (es decir, enantiómeros o diastereómeros); mezclas enriquecidas en estereoisómeros y similares. Los compuestos quirales que se muestran o se nombran en el presente documento sin una estereoquímica definida en un centro quiral tienen por objeto incluir cualquiera o todas las posibles variaciones de estereoisómeros en el estereocentro sin definir a menos que se indique lo contrario. La representación o nombramiento de un estereoisómero particular significa que el estereocentro indicado tiene la estereoquímica designada con la comprensión de que también puede haber presentes cantidades menores de otros estereoisómeros a menos que se indique lo contrario, a condición de que la utilidad del compuesto representado o nombrado no se elimine por la presencia de otro estereoisómero.

Los compuestos de fórmula (I) también contienen varios grupos básicos (por ejemplo, grupos amino) y, por tanto, dichos compuestos pueden existir en forma de la base libre o en diversas formas de sal, tal como una forma de sal monoprotónada, una forma de sal diprotónada, una forma de sal triprotónada o mezclas de las mismas. Todas estas formas se incluyen dentro del alcance de la presente invención, a menos que se indique lo contrario.

La presente invención también incluye compuestos de fórmula (I) marcados isotópicamente, es decir, compuestos de fórmula (I) donde se ha reemplazado un átomo o se ha enriquecido con un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica que predomina en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en un compuesto de fórmula (I) incluyen, pero sin limitación, ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S y ^{18}F . Son de particular interés compuestos de fórmula (I) enriquecidos en tritio o carbono-14, compuestos que pueden usarse, por ejemplo, en estudios de distribución de tejidos. También son de particular interés compuestos de fórmula (I) enriquecidos en deuterio, especialmente en un sitio de metabolismo, cuyos compuestos se espera que tengan una mayor estabilidad metabólica. Adicionalmente son de particular interés compuestos de fórmula (I) enriquecidos en un isótopo emisor de positrones, tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , compuestos que pueden usarse, por ejemplo, en estudios de Tomografía por Emisión de Positrones (TEP).

Definiciones

Cuando se describe la presente invención incluyendo sus diversos aspectos y realizaciones, los siguientes términos tienen los siguientes significados, a menos que se indique lo contrario.

El término "alquilo" significa un grupo hidrocarbonado saturado monovalente que puede ser lineal o ramificado o combinaciones del mismo. A menos que se defina lo contrario, dichos grupos alquilo contienen normalmente de 1 a 10 átomos de carbono. Los grupos alquilo representativos incluyen, a modo de ejemplo, metilo (Me), etilo (Et), n-propilo (n-Pr) o (nPr), isopropilo (i-Pr) o (iPr), n-butilo (n-Bu) o (nBu), sec-butilo, isobutilo, *terc*-butilo (t-Bu) o (tBu), n-pentilo, n-hexilo, 2,2-dimetilpropilo, 2-metilbutilo, 3-metilbutilo, 2-etil butilo, 2,2-dimetilpentilo, 2-propilpentilo y similares.

Cuando se prevé un número específico de átomos de carbono para un término particular, el número de átomos de carbono se muestra precediendo al término. Por ejemplo, la expresión "alquilo C₁₋₃" significa un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono en donde los átomos de carbono están en cualquier configuración químicamente aceptable, incluyendo configuraciones lineales o ramificadas.

El término "alcoxi" significa el grupo monovalente -O-alquilo, donde alquilo se define como anteriormente. Los grupos alcoxi representativos incluyen, a modo de ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi y similares.

El término "cicloalquilo" significa un grupo carbocíclico saturado monovalente que puede ser monocíclico o multicíclico. A menos que se defina lo contrario, dichos grupos cicloalquilo normalmente contienen de 3 a 10 átomos de carbono. Los grupos cicloalquilo representativos incluyen, a modo de ejemplo, ciclopropilo (cPr), ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, adamantilo y similares.

El término "heterociclilo", "heterociclo", "heterocíclico" o "anillo heterocíclico" significa un grupo no aromático cíclico monovalente saturado o parcialmente insaturado, que tiene de 4 a 6 átomos totales en el anillo, en donde el anillo contiene de 3 a 5 átomos de carbono en el anillo y un átomo de nitrógeno. Los grupos heterocíclicos pueden ser monocíclicos o multicíclicos (es decir, condensados o unidos). Los grupos heterocíclicos representativos incluyen, a modo de ejemplo, pirrolidinilo, piperidinilo, indolin-3-ilo, 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-2-ilo, quinuclidinilo, 7-azanorbornanilo, nortropanilo y similares, donde el punto de unión está en cualquier átomo de carbono o nitrógeno disponible en el anillo. Cuando el contexto hace evidente el punto de unión del grupo heterocíclico, dichos grupos pueden denominarse como alternativa especies no valentes, es decir, pirrolidina, piperidina, etc.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad suficiente para efectuar el tratamiento cuando se administra a un paciente que necesite tratamiento.

El término "tratamiento" como se usa en el presente documento significa el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección médica (tal como una enfermedad inflamatoria gastrointestinal), en un paciente, tal como un mamífero (en particular, un ser humano) que incluye uno o más de los siguientes:

(a) prevenir la aparición de la enfermedad, trastorno o afección médica, es decir, prevenir la reaparición de la enfermedad o afección médica o el tratamiento profiláctico de un paciente predispuesto a la enfermedad o afección médica;

(b) mejorar la enfermedad, trastorno o afección médica, es decir, eliminar o provocar la regresión de la enfermedad, trastorno o afección médica en un paciente, incluyendo contrarrestar los efectos de otros agentes terapéuticos;

(c) suprimir la enfermedad, trastorno o afección médica, es decir, ralentizar o detener el desarrollo de la enfermedad, trastorno o afección médica en un paciente; o

(d) aliviar los síntomas de la enfermedad, trastorno o afección médica en un paciente.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" significa una sal que es aceptable para la administración a un paciente o un mamífero, tal como un ser humano (por ejemplo, sales que tienen una seguridad aceptable en mamíferos para una pauta de dosificación dada). Las sales farmacéuticamente aceptables representativas incluyen las sales de los ácidos acético, ascórbico, benenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, edisílico, fumárico, genticónico, glucónico, glucurónico, glutámico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, lactobiónico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múxico, naftalenosulfónico, naftaleno-1,5-disulfónico, naftaleno-2,6-disulfónico, nicotínico, nítrico, orótico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico y xinafoico, y similares.

La expresión "sal del mismo" significa un compuesto formado cuando el hidrógeno de un ácido se reemplaza por un catión, tal como un catión metálico o un catión orgánico y similares. Por ejemplo, el catión puede ser una forma protonada de un compuesto de fórmula (I), es decir, una forma en la que uno o más grupos amino han sido protonados por un ácido. Normalmente, la sal es una sal farmacéuticamente aceptable, aunque esto no es necesario para sales de compuestos intermedios que no están destinadas a la administración al paciente.

La expresión "grupo protector de amino" significa un grupo protector adecuado para prevenir reacciones no deseadas en un nitrógeno de amino. Los grupos protectores de amino representativos incluyen, pero sin limitación, formilo; grupos acilo, por ejemplo, grupos alcanóilo, tales como acetilo y tri-fluoroacetilo; grupos alcoxicarbonilo, tales como *tert*-butoxicarbonilo (Boc); grupos arilmtoxycarbonilo, tales como benciloxycarbonilo (Cbz) y 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc); grupos arilmetilo, tales como bencilo (Bn), tritilo (Tr) y 1,1-di-(4'-metoxifenil)metilo; grupos sililo, tales como trimetilsililo (TMS), triisopropilsililo (TIPS), *tert*-butildimetilsililo (TBS o TBDMS), [2-(trimetilsilil)-etoxi]metilo (SEM); y similares. Se describen numerosos grupos protectores y su introducción y retirada, en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, tercera edición, Wiley, Nueva York

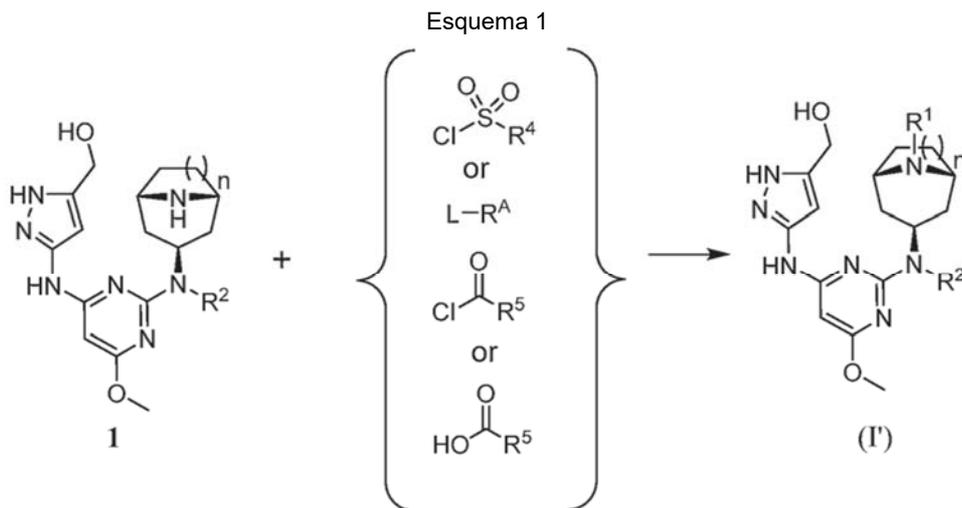
Procedimientos de síntesis generales

Los compuestos de la presente invención, e intermedios de los mismos, pueden prepararse de acuerdo con los siguientes métodos y procedimientos generales que usan materiales de partida y reactivos disponibles en el mercado o preparados habitualmente. Los sustituyentes y variables (por ejemplo, R¹, R², R³, R⁴, etc.) utilizados en los siguientes esquemas tienen los mismos significados que los que se definen en otra parte del presente documento, a menos que se indique lo contrario. Adicionalmente, los compuestos que tienen un átomo ácido o básico o un grupo funcional pueden usarse o pueden producirse en forma de una sal a menos que se indique lo contrario (en algunos casos, el uso de una sal en una reacción particular requerirá la conversión de la sal en una forma no de sal, por ejemplo, una base libre, usando procedimientos habituales antes de realizar la reacción).

Aunque puede mostrarse o describirse una realización particular de la presente invención en los siguientes

procedimientos, los expertos en la materia reconocerán que también pueden prepararse otras realizaciones o aspectos de la presente invención usando dichos procedimientos o mediante el uso de otros métodos, reactivos y materiales de partida conocidos por los expertos en la materia. En particular, se apreciará que los compuestos de la invención pueden prepararse mediante una diversidad de vías de proceso en las que los reactivos se combinan en diferentes órdenes para proporcionar diferentes intermedios en la vía para producir productos finales.

Un método general de preparación de compuestos finales de la invención utiliza un intermedio clave 1 como se ilustra en el Esquema 1. Las variables R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y n se definen como en la fórmula (I), R^A representa un alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido y L es un grupo saliente. El esquema muestra compuestos en los que la variable R^3 es metilo. Pueden prepararse de forma análoga compuestos en los que R^3 es alquilo C_{2-3} .



Los compuestos de sulfonamida en los que R^1 se define como $-S(O)_2R^4$ como en la opción (a) se preparan normalmente poniendo en contacto el intermedio 1 con entre aproximadamente 1 y aproximadamente 1,1 equivalentes de un cloruro de sulfonilo de la forma $Cl-S(O)_2R^4$ en presencia de un exceso de base a una temperatura del orden de $0^\circ C$. La reacción se realiza normalmente durante entre aproximadamente 1 y aproximadamente 24 horas o hasta que la reacción se complete sustancialmente.

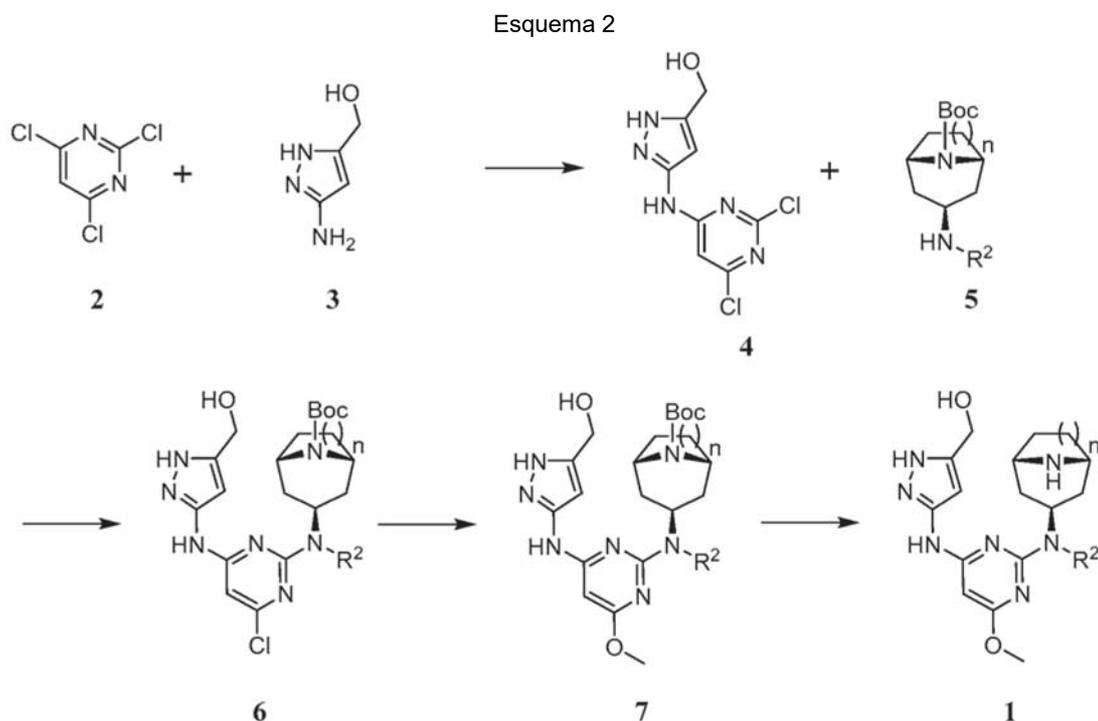
Para preparar compuestos en los que R^1 es un grupo alquilo opcionalmente sustituido como se define en la opción (b), la reacción de alquilación normalmente usa un grupo saliente halo L, principalmente cloro o bromo. La reacción se realiza normalmente poniendo en contacto el intermedio 1 con un exceso del reactivo $L-R^A$ en un diluyente inerte en presencia de un exceso de base. La reacción se realiza normalmente a una temperatura de entre aproximadamente $20^\circ C$ y aproximadamente $60^\circ C$ durante entre aproximadamente 10 y aproximadamente 24 horas o hasta que la reacción se complete sustancialmente.

Como alternativa, la reacción de adición de Michael puede usarse para preparar compuestos en los que R^1 es un grupo cianoetilo. Por ejemplo, como se describe en los ejemplos a continuación, para preparar un compuesto en el que R^1 es $-(CH_2)_2CN$, el intermedio 1 se pone en contacto con entre aproximadamente 1 y aproximadamente 1,5 equivalentes de acrilonitrilo en presencia de un exceso de base, por ejemplo, diisopropiltilamina o diazobiscicoundeceno. La reacción se realiza normalmente a temperatura ambiente durante entre aproximadamente 3 y aproximadamente 24 horas o hasta que la reacción se complete sustancialmente.

Pueden prepararse compuestos en los que R^1 se define como $-C(O)R^5$ usando un cloruro de carbonilo de la forma $Cl-C(O)R^5$, específicamente un cloroformiato cuando R^5 se define como $-O$ -alquilo C_{1-4} . Normalmente, el intermedio 1 se pone en contacto con aproximadamente un equivalente del cloruro de carbonilo en presencia de un exceso de base a una temperatura del orden de $0^\circ C$. La reacción se realiza normalmente entre aproximadamente 1 y aproximadamente 3 horas o hasta que la reacción se complete sustancialmente.

Como alternativa, pueden prepararse compuestos en los que R^1 se define como $-C(O)R^5$ poniendo en contacto el intermedio 1 con un exceso modesto de reactivo de ácido carboxílico $HO-C(O)-R^5$ en condiciones normales de acoplamiento de amida. La reacción se realiza normalmente en presencia de un exceso de base utilizando un agente activador tal como hexafluorofosfato de N,N,N',N' -tetrametil-O-(7-aza-benzotriazol-1-il)uronio (HATU). La reacción se realiza normalmente a temperatura ambiente durante entre aproximadamente 3 y aproximadamente 24 horas o hasta que la reacción se complete sustancialmente.

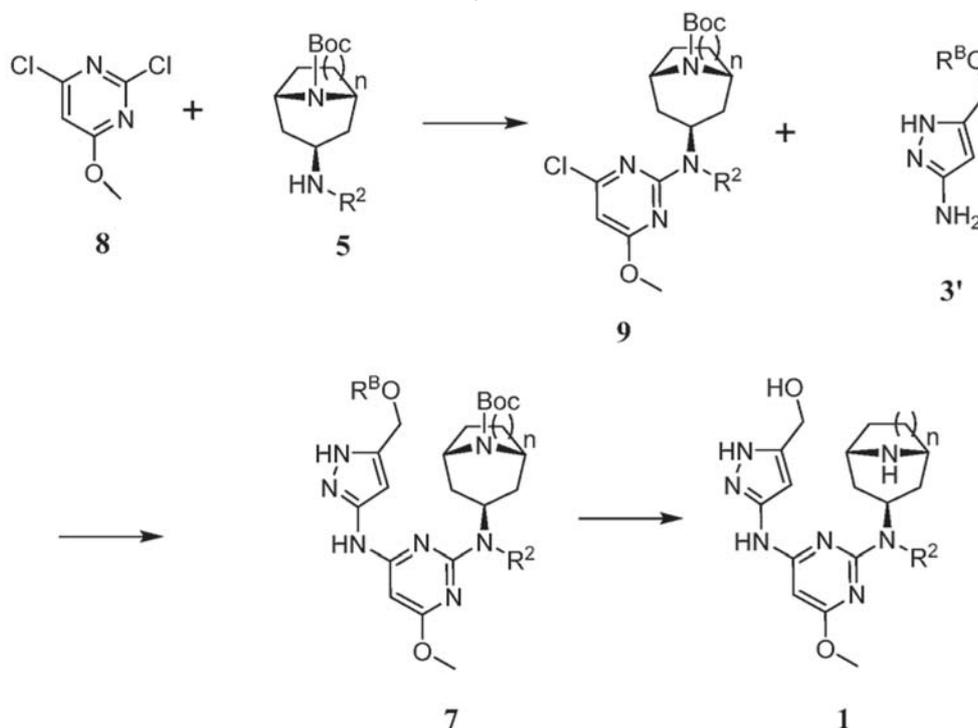
En el Esquema 2 se ilustra una reacción de ejemplo para la preparación de intermedio 1 en el que la variable R^3 es metilo.



- 5 En la reacción de sustitución aromática de la etapa 1, la tricolorpirimidina 2 se hace reaccionar con un exceso del intermedio 3 de amino-pirazol-metanol en presencia de base para proporcionar intermedio 4. El intermedio 5 de amino-aza-biciclo protegido con Boc se hace reaccionar después con intermedio 4 para proporcionar intermedio 6. Por ejemplo, se combina intermedio 4 con entre aproximadamente 1 y aproximadamente 1,5 equivalentes del intermedio 5 de aza-biciclo en presencia de un exceso de base, tal como diisopropiletilamina. La reacción se realiza normalmente a temperatura elevada, entre aproximadamente 85 °C y aproximadamente 120 °C durante entre aproximadamente 6 y aproximadamente 12 horas o hasta que la reacción se complete sustancialmente. La reacción de intermedio 6 con metóxido de sodio proporciona intermedio 7. La reacción se realiza normalmente en un tubo sellado a temperatura elevada, entre aproximadamente 85 °C y aproximadamente 120 °C durante entre aproximadamente 4 y aproximadamente 10 horas o hasta que la reacción se complete sustancialmente. En la última etapa, el grupo Boc puede retirarse mediante tratamiento convencional con un ácido, normalmente ácido clorhídrico, para proporcionar intermedio 1.

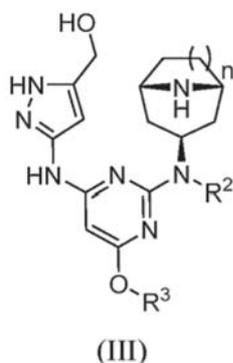
Como alternativa, puede prepararse intermedio 1 mediante la secuencia de etapas ilustrada en el Esquema 3.

Esquema 3



- 5 donde R^B es hidrógeno o un grupo sililo protector de oxígeno, tal como triisopropilsililo (TIPS) o *tert*-butildimetilsililo (TBS). El grupo amino-aza-biciclo protegido con Boc 5 se combina con el intermedio 8 de dicloro-metoxipirimidina para formar intermedio 9. La reacción se realiza normalmente a temperatura elevada en presencia de una base. Después se hace reaccionar intermedio 9 con intermedio 3' de amino-pirazol en condiciones de Buchwald convencionales para proporcionar intermedio 7. Por ejemplo, se combina intermedio 9 con entre aproximadamente 1 y aproximadamente 1,5 equivalentes del intermedio 3' de pirazol en presencia de una base tal como carbonato de cesio o carbonato de potasio y un catalizador de paladio. La reacción se realiza normalmente a temperatura elevada, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 110 °C, durante entre aproximadamente 8 y aproximadamente 24 horas o hasta que la reacción se complete sustancialmente. En la etapa final, el grupo protector Boc se retira como en el Esquema 2. Cuando R^B es un grupo protector sililo, los grupos sililo y Boc pueden retirarse simultáneamente.
- 15 En consecuencia, en un aspecto del método, la invención proporciona un método para preparar un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, comprendiendo el método:

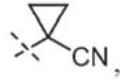
hacer reaccionar un compuesto de fórmula (III):



20

con

- 25 (i) Cl-S(O)₂R⁴,
 (ii) un compuesto de fórmula L-R^A en donde L es un grupo saliente y R^A es alquilo C₁₋₄, en donde el alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con -CN,



- 5 o piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con -CN;
 (iii) Cl-C(O)R⁵ o
 (iv) HO-C(O)R⁵

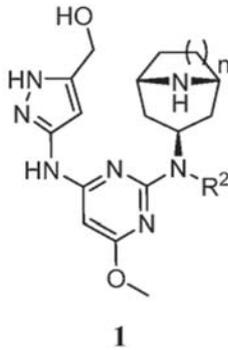
en donde R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y *n* son como se han definido anteriormente y opcionalmente formar una sal farmacéuticamente aceptable

10 para proporcionar un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En aspectos separados y distintos, la invención proporciona un compuesto de fórmula (III) en donde las variables toman cualquiera de los valores descritos anteriormente y un compuesto de fórmula (III) en donde R² y R³ son cada uno metilo y *n* es 1 o 2.

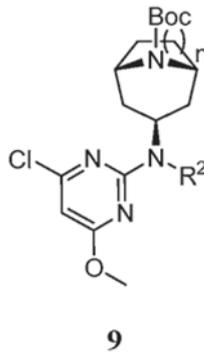
15

En otro aspecto del método, la invención proporciona un método para preparar un compuesto de fórmula 1



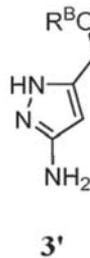
20 en donde R² y *n* son como se han definido anteriormente, comprendiendo el método:

- (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula 9:

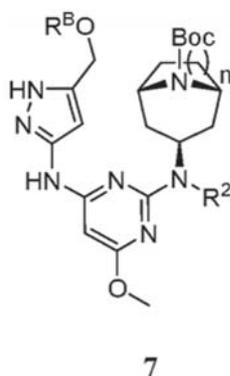


25

con un compuesto de fórmula 3:



30 en donde R^B es hidrógeno o un grupo sililo protector de oxígeno para formar un compuesto de fórmula 7:



y

- 5 (b) retirar el grupo o grupos protectores del compuesto de fórmula 7 para proporcionar el compuesto de fórmula 1.

Formas cristalinas

10 En otro aspecto, la invención proporciona 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo (véanse los Ejemplos 2 y 10-13) en Forma I y Forma II de base libre cristalina.

15 En un aspecto, la Forma I de base libre cristalina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (DRXP) que tiene picos de difracción significativos, entre otros picos, a valores de 2θ de $8,89 \pm 0,20$, $12,99 \pm 0,20$, $13,44 \pm 0,20$ y $20,16 \pm 0,20$. La Forma I puede caracterizarse adicionalmente por un patrón de DRXP que tiene dos o más picos de difracción adicionales, incluyendo tres o más y cuatro o más picos de difracción adicionales a valores de 2θ seleccionados entre $10,64 \pm 0,20$, $10,99 \pm 0,20$, $15,02 \pm 0,20$, $15,74 \pm 0,20$, $16,47 \pm 0,20$, $20,93 \pm 0,20$, $22,22 \pm 0,20$ y $26,25 \pm 0,20$. En otro aspecto, la Forma I se caracteriza por un patrón de DRXP que tiene picos de difracción a valores de 2θ de $8,89 \pm 0,20$, $10,64 \pm 0,20$, $10,99 \pm 0,20$, $12,99 \pm 0,20$, $13,44 \pm 0,20$, $15,02 \pm 0,20$, $15,74 \pm 0,20$, $16,47 \pm 0,20$, $20,16 \pm 0,20$, $20,93 \pm 0,20$, $22,22 \pm 0,20$ y $26,25 \pm 0,20$.

20 Como es bien sabido en el campo de la difracción de rayos X de polvo, las posiciones de los picos de los patrones de DRXP son relativamente menos sensibles a los detalles experimentales, tales como los detalles de la preparación de muestras y la geometría del instrumento, que las alturas máximas relativas. Por tanto, en un aspecto, la Forma I cristalina se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo en el que las posiciones de los picos están sustancialmente de acuerdo con las que se muestran en la Figura 1.

25 En otro aspecto, la Forma I cristalina se caracteriza por su comportamiento cuando se expone a temperatura alta. Como se demostró en la Figura 2, el trazo de la calorimetría diferencial de barrido (CDB) registrado a una velocidad de calentamiento de $10\text{ }^\circ\text{C}$ por minuto presenta un pico en el flujo de calor endotérmico, identificado como una transición de fusión, en el intervalo de aproximadamente $235\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $245\text{ }^\circ\text{C}$, incluyendo entre aproximadamente $237\text{ }^\circ\text{C}$ y aproximadamente $242\text{ }^\circ\text{C}$. El trazo del análisis termogravimétrico (ATG) de la Figura 3 presenta un inicio de pérdida de peso correspondiente a una descomposición post-fusión.

35 Se ha demostrado que la Forma I cristalina tiene un perfil reversible de sorción/desorción con una propensión excepcionalmente pequeña a la higroscopia. La Forma I mostró menos de aproximadamente 0. un aumento de peso del 4 % en el intervalo de humedad relativa del 5 % al 90 %. No se observó histéresis en dos ciclos de sorción y desorción. Se considera que la Forma I no es higroscópica.

40 Además, se ha demostrado que la Forma I cristalina es estable a la micronización. No pudo observarse diferencia entre el patrón de difracción de rayos X de polvo del material que no se había micronizado y el patrón del material de la Forma I después de la micronización.

45 La Forma II de base libre cristalina se caracteriza por el patrón de DRXP de la Figura 5 y, adicionalmente, por su comportamiento cuando se expone a temperaturas altas. Como se demostró en la Figura 6, el trazo de la calorimetría diferencial de barrido (CDB) registrado a una velocidad de calentamiento de $10\text{ }^\circ\text{C}$ por minuto presenta un pico ancho en el flujo de calor endotérmico en el intervalo de aproximadamente $205\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $240\text{ }^\circ\text{C}$, que, junto con el trazo del análisis termogravimétrico (ATG) de la Figura 7, puede interpretarse como una transición de fusión y una descomposición fusionadas. La Forma II es un sólido ligeramente higroscópico que mostró una histéresis pequeña entre dos ciclos de sorción y desorción. La Forma II mostró un aumento de peso de aproximadamente el 1,2 % en el intervalo de humedad relativa del 5 % al 90 %.

Como se describe en los Ejemplos 11 y 12, Puede prepararse Forma I disolviendo el compuesto en *N*-metilpirrolidona

(NMP) o dimetilformamida (DMF) y añadiendo acetona y agua como antisolventes en una relación de acetona:agua de aproximadamente 1:1,5 a 1:1,75. La mezcla de reacción resultante se agita durante aproximadamente 4 horas y aproximadamente 24 horas, se filtra, se lava con una mezcla de acetona y agua, tal como una mezcla 1:1,4 de acetona y agua, y se seca para proporcionar Forma I cristalina. Un proceso para preparar Forma II cristalina se describe en el Ejemplo 13.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para preparar Forma I cristalina, comprendiendo el método: (a) disolver 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo en un diluyente seleccionado entre *N*-metilpirrolidona y dimetilformamida para formar una mezcla de reacción; (b) añadir acetona y agua a la mezcla de reacción; y (c) aislar la Forma I cristalina de la mezcla de reacción.

Composiciones farmacéuticas

Los compuestos de la invención y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se usan normalmente en forma de una composición o formulación farmacéutica. Dichas composiciones farmacéuticas pueden administrarse a un paciente por cualquier vía de administración aceptable incluyendo, pero sin limitación, modos de administración oral, tópica (incluyendo transdérmica), rectal, nasal, inhalada y parenteral.

En consecuencia, en uno de sus aspectos de composición, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable y un compuesto de fórmula (I), donde, como se ha definido anteriormente, "compuesto de fórmula (I)" significa un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Opcionalmente, dichas composiciones farmacéuticas pueden contener otros agentes terapéuticos y/o de formulación si se desea. Cuando se analizan composiciones y usos de las mismas, el "compuesto de la invención" también puede denominarse en el presente documento el "agente activo". Como se usa en el presente documento, la expresión "compuesto de la invención" tiene por objeto incluir todos los compuestos abarcados por la fórmula (I) así como las especies realizadas en la fórmula (II) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas de la invención normalmente contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención. Los expertos en la materia reconocerán, sin embargo, que una composición farmacéutica puede contener más de una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, composiciones a granel, o menos de una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, dosis unitarias individuales diseñadas para la administración múltiple para conseguir una cantidad terapéuticamente eficaz.

Normalmente, dichas composiciones farmacéuticas contendrán de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 95 % en peso del agente activo; incluyendo de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 70 % en peso del agente activo.

Puede usarse cualquier vehículo o excipiente convencional en las composiciones farmacéuticas de la invención. La elección de un vehículo o excipiente particular, o combinaciones de vehículos o excipientes, dependerá del modo de administración que se use para tratar a un paciente o tipo de afección médica o patología particular. A este respecto, la preparación de una composición farmacéutica adecuada para un modo particular de administración está bien dentro del alcance de los expertos en las técnicas farmacéuticas. Adicionalmente, los vehículos o excipientes utilizados en las composiciones farmacéuticas de la presente invención están disponibles en el mercado. A modo de ilustración adicional, se describen técnicas de formulación convencionales en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20ª edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); y H.C. Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7ª edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Los ejemplos representativos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, los siguientes: azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa, tal como celulosa microcristalina y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido alginico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones de tampón de fosfato; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en composiciones farmacéuticas.

Las composiciones farmacéuticas se preparan normalmente mezclando o combinando completa e íntimamente el agente activo con un vehículo farmacéuticamente aceptable y uno o más ingredientes opcionales. Después, la mezcla resultante combinada uniformemente puede conformarse o cargarse en comprimidos, cápsulas, píldoras y similares, usando procedimientos y equipos convencionales.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se envasan preferentemente en una forma farmacéutica unitaria. La

expresión "forma farmacéutica unitaria" se refiere a una unidad físicamente aislada adecuada para administrar a un paciente, es decir, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de agente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, ya sea sola o en combinación con una o más unidades adicionales. Por ejemplo, dichas formas farmacéuticas unitarias pueden ser cápsulas, comprimidos, píldoras y similares, o envases unitarios adecuados para la administración parenteral.

En una realización, las composiciones farmacéuticas de la invención son adecuadas para la administración oral. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración oral pueden estar en forma de cápsulas, comprimidos, píldoras, pastillas para chupar, obleas, grageas, polvos, gránulos; o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o agua en aceite; o como un elixir o jarabe; y similares; cada una conteniendo una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención como principio activo.

Cuando se prevé la administración oral en una forma farmacéutica sólida (es decir, en forma de cápsulas, comprimidos, píldoras y similares), las composiciones farmacéuticas de la invención comprenderán normalmente el agente activo y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Opcionalmente, dichas formas farmacéuticas sólidas pueden comprender: cargas o diluyentes, tales como almidones, celulosa microcristalina, lactosa, fosfato dicálcico, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; aglutinantes, tales como carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábiga; humectantes, tales como glicerol; agentes disgregantes, tales como croscarmelosa de sodio, agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y/o carbonato de sodio; agentes retardadores de la disolución, tales como parafina; aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes, tales como alcohol cetílico y/o monoestearato de glicerol; absorbentes, tales como caolín y/o arcilla de bentonita; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y/o mezclas de los mismos; agentes colorantes; y agentes tamponantes.

También puede haber presentes agentes de liberación, agentes humectantes, agentes de recubrimiento, edulcorantes, agentes aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes en las composiciones farmacéuticas de la invención. Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes hidrosolubles, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfato de sodio, sulfito de sodio y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares; y agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiamina tetraacético, sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares. Los agentes de recubrimiento para comprimidos, cápsulas, píldoras y similares, incluyen los utilizados para recubrimientos entéricos, tales como ftalato de acetato de celulosa, ftalato de acetato de polivinilo, ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, ácido metacrílico, copolímeros de éster del ácido metacrílico, trimelitato de acetato de celulosa, carboximetil etil celulosa, acetato succinato de hidroxipropil metil celulosa y similares.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del agente activo usando, a modo de ejemplo, hidroxipropil metilcelulosa en proporciones variables; u otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Además, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden formularse de manera que liberen el principio activo solamente o, preferentemente, en una determinada porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones embebidas que pueden utilizarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El agente activo también puede estar en forma microencapsulada, si es adecuado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas farmacéuticas líquidas adecuadas para la administración oral incluyen, a modo de ilustración, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Las formas farmacéuticas líquidas comprenden normalmente el agente activo y un diluyente inerte, tal como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (especialmente, aceites de semillas de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), ácido oleico, glicerol, alcohol tetrahidrofúrico, polietilenglicoles y ésteres de sorbitano de ácidos grasos y mezclas de los mismos. Como alternativa, determinadas formulaciones líquidas pueden convertirse, por ejemplo, mediante secado por pulverización, en un polvo, que se usa para preparar formas farmacéuticas sólidas mediante procedimientos convencionales.

Las suspensiones, además del principio activo, pueden contener agentes de suspensión tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitano, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y goma de tragacanto, y mezclas de los mismos.

Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse por vía parenteral (por ejemplo, mediante inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal). Para la administración parenteral, el agente activo se mezcla normalmente con un vehículo adecuado para la administración parenteral incluyendo, a modo de ejemplo, soluciones acuosas estériles, solución salina, alcoholes de bajo peso molecular tales como propilenglicol,

polietilenglicol, aceites vegetales, gelatina, ésteres de ácidos grasos tales como oleato de etilo y similares. Las formulaciones parenterales también pueden contener uno o más antioxidantes, solubilizantes, estabilizantes, conservantes, agentes humectantes, emulsionantes, agentes tamponantes o agentes dispersantes. Estas formulaciones pueden volverse estériles mediante el uso de un medio inyectable estéril, un agente esterilizante, filtración, irradiación o calor.

Como alternativa, las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan para la administración por inhalación. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración por inhalación estarán normalmente en forma de un aerosol o un polvo. Dichas composiciones se administran generalmente usando dispositivos de entrega bien conocidos, tales como un inhalador de dosis medida, un inhalador de polvo seco, un nebulizador o un dispositivo de entrega similar.

Cuando se administren por inhalación usando un recipiente presurizado, las composiciones farmacéuticas de la invención comprenderán normalmente el principio activo y un propulsor adecuado, tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. Adicionalmente, la composición farmacéutica puede estar en forma de una cápsula o cartucho (hecho, por ejemplo, de gelatina) que comprende un compuesto de la invención y un polvo adecuado para su uso en un inhalador de polvo. Las bases en polvo adecuadas incluyen, a modo de ejemplo, lactosa o almidón.

Los compuestos de la invención también pueden formularse para la administración tópica en la piel en forma de una pomada o crema. Las formulaciones en pomada son preparaciones semisólidas que tienen una base de un material oleoso o grasoso que normalmente es transparente. Los materiales oleosos adecuados para su uso en formulaciones en pomada incluyen vaselina (vaselina líquida), cera de abeja, manteca de cacao, manteca de karité y alcohol cetílico. Opcionalmente, las pomadas pueden incluir adicionalmente emolientes y potenciadores de la penetración, si se desea.

Las formulaciones en crema pueden prepararse como emulsiones que comprenden una fase oleosa y una fase acuosa, incluyendo normalmente agua purificada. Los componentes de las formulaciones en crema pueden incluir: bases oleosas, tales como vaselina, aceites minerales, aceites vegetales y animales, y triglicéridos; bases de crema, tales como alcoholes de lanolina, ácido esteárico y alcohol cetosteárico; una base de gel, tal como alcohol polivinílico; disolventes, tales como, propilenglicol y polietilenglicol; emulsionantes, tales como polisorbatos, estearatos, tales como estearato de glicerilo, octilhidroxiestearato, estearato de polioxilo, PEG estearil éteres, palmitato de isopropilo y monoestearato de sorbitano; estabilizantes, tales como polisacáridos y sulfito de sodio; emolientes (es decir, humectantes), tales como triglicéridos de cadena media, miristato de isopropilo y dimeticona; agentes de rigidez, tales como alcohol cetílico y alcohol estearílico; agentes antimicrobianos, tales como metilparabeno, propilparabeno, fenoxietanol, ácido sórbico, diazolidinil urea e hidroxianisol butilado; potenciadores de la penetración, tales como *N*-metilpirrolidona, propilenglicol, monolaurato de polietilenglicol y similares; y agentes quelantes, tales como edetato disódico.

Los siguientes ejemplos no limitantes ilustran composiciones farmacéuticas representativas de la presente invención.

Forma farmacéutica sólida oral en comprimido

Un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se combina en seco con celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona y croscarmelosa de sodio en una relación de 4:5:1:1 y se comprime en comprimidos para proporcionar una dosis unitaria de, por ejemplo, 5 mg, 20 mg o 40 mg de agente activo por comprimido.

Forma farmacéutica sólida oral en cápsula

Un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se combina con celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona y croscarmelosa de sodio en una relación de 4:5:1:1 mediante granulación húmeda y se cargan en cápsulas de gelatina o hidroxipropil metilcelulosa para proporcionar una dosis unitaria de, por ejemplo, 5 mg, 20 mg o 40 mg de agente activo por cápsula.

Formulación líquida

Se forma una formulación líquida que comprende un compuesto de la invención (0,1 %), agua (98,9 %) y ácido ascórbico (1,0 %) mediante la adición de un compuesto de la invención a una mezcla de agua y ácido ascórbico.

Forma farmacéutica oral con recubrimiento entérico

Un compuesto de la invención se disuelve en una solución acuosa que contiene polivinilpirrolidona y se aplica como recubrimiento mediante pulverización sobre celulosa microcristalina o perlas de azúcar en una relación de 1:5 p/p de agente activo:perlas y, después, se aplica un aumento de peso de aproximadamente el 5 % de un recubrimiento entérico que comprende un copolímero acrílico, por ejemplo, una combinación de copolímeros acrílicos disponible con los nombres comerciales Eudragit-L® y Eudragit-S® o succinato de acetato de hidroxipropil metilcelulosa. Las perlas con recubrimiento entérico se cargan en cápsulas de gelatina o hidroxipropil metilcelulosa para proporcionar una dosis

unitaria de, por ejemplo, 30 mg de agente activo por cápsula.

Forma farmacéutica oral con recubrimiento entérico

5 Un recubrimiento entérico que comprende una combinación de Eudragit-L® y Eudragit-S® o succinato de acetato de hidroxipropil metilcelulosa se aplica a una forma farmacéutica oral en comprimido o una forma farmacéutica oral en cápsula descrita anteriormente.

Formulación en pomada para la administración tópica

10 Un compuesto de la invención se combina con vaselina, triglicérido C₈-C₁₀, octilhidroxiestearato y *N*-metilpirrolidona en una relación para proporcionar una composición que contiene del 0,05 % al 5 % de agente activo en peso.

Formulación en pomada para la administración tópica

15 Un compuesto de la invención se combina con vaselina blanca, propilenglicol, mono y diglicéridos, parafina, hidroxitolueno butilado y edetato de calcio disódico en una relación para proporcionar una composición que contiene del 0,05 % al 5 % de agente activo por peso.

Formulación en pomada para la administración tópica

20 Un compuesto de la invención se combina con aceite mineral, parafina, carbonato de propileno, vaselina blanca y cera blanca para proporcionar una composición que contiene del 0,05 % al 5 % de agente activo en peso.

Formulación en crema para la administración tópica

25 Se combina aceite mineral con un compuesto de la invención, propilenglicol, palmitato de isopropilo, polisorbato 60, alcohol cetílico, monoestearato de sorbitano, estearato de polioxilo 40, ácido sórbico, metilparabeno y propilparabeno para formar una fase oleosa, que se combina con agua purificada mediante combinación por cizalla para proporcionar una composición que contiene del 0,05 % al 5 % de agente activo en peso.

Formulación en crema para la administración tópica

35 Una formulación en crema que comprende un compuesto de la invención, alcohol bencílico, alcohol cetílico, ácido cítrico anhidro, mono y diglicéridos, alcohol oleílico, propilenglicol, cetostearyl sulfato de sodio, hidróxido de sodio, alcohol estearílico, triglicéridos y agua contiene del 0,05 % al 5 % de agente activo en peso.

Formulación en crema para la administración tópica

40 Una formulación en crema que comprende un compuesto de la invención, alcohol cetostearyl, miristato de isopropilo, propilenglicol, cetomacrogol 1000, dimeticona 360, ácido cítrico, citrato de sodio y agua purificada, con imidurea, metilparabeno y propilparabeno, como conservantes, contiene del 0,05 % al 5 % de agente activo en peso.

Utilidad

45 Se ha demostrado que los compuestos de la invención son inhibidores potentes de la familia de enzimas JAK: JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2. La inhibición de la familia de las enzimas JAK podría inhibir la señalización de muchas citocinas proinflamatorias clave. Por tanto, se espera que los inhibidores de JAK de la invención sean útiles en el tratamiento de enfermedades inflamatorias tales como colitis ulcerosa y otras enfermedades inflamatorias gastrointestinales tales como la enfermedad de Crohn y la colitis inducida por el inhibidor del punto de control inmunitario. También se espera que los presentes inhibidores de JAK sean útiles en el tratamiento de la dermatitis atópica y otras enfermedades cutáneas inflamatorias y pruriginosas y en el tratamiento de afecciones respiratorias tales como rinitis alérgica, el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

Enfermedad inflamatoria gastrointestinal

55 Además de proporcionar una potente inhibición de las enzimas JAK, los compuestos de la invención se han diseñado para que se absorban poco para minimizar la exposición sistémica. Los compuestos seleccionados sometidos a ensayo en ratas cateterizadas mostraron baja biodisponibilidad oral. Además, los compuestos se diseñan para que tengan su efecto en el sitio de acción, por ejemplo, en el colon. Como se describe en los Ensayos 6 y 7 a continuación, el compuesto del Ejemplo 2 presentó una biodisponibilidad oral en ratas de menos de aproximadamente el 5 % y una relación de exposición en el colon a exposición en plasma tras la administración oral superior a aproximadamente 250.

65 La colitis inducida por oxazolona es un modelo experimental que tiene un parecido histológico con la colitis ulcerosa humana. Como se describe a continuación, el compuesto del Ejemplo 2, entre otros compuestos de la invención, mostró actividad en el modelo de colitis inducida por oxazolona en ratones. Adicionalmente, cuando se sometió a

ensayo en un modelo de inmunosupresión en ratones, que sondea la actividad funcional sistémica, el compuesto mostró un efecto mínimo de inmunosupresión a la misma dosis requerida para mostrar eficacia en el modelo de oxazolona. Por tanto, el compuesto mostró actividad anticólitis sin presentar efectos sistémicos en modelos preclínicos.

5 Se espera que una relación alta de colon a plasma proporcione una actividad antiinflamatoria robusta, luminal, sin efectos adversos asociados sistémicos. Se espera que dichos compuestos sean útiles para una diversidad de indicaciones inflamatorias gastrointestinales que incluyen, pero sin limitación, colitis ulcerosa (proctosigmoiditis, pancolitis, proctitis ulcerosa y colitis del lado izquierdo), enfermedad de Crohn, colitis colágena, colitis linfocítica, enfermedad de Behcet, enfermedad celíaca, colitis inducida por el inhibidor del punto de control inmunitario, ileítis, esofagitis eosinofílica, colitis relacionada con la enfermedad de injerto contra hospedador y colitis infecciosa. La colitis ulcerosa (Reimund et al., *J Clin Immunology*, 1996, 16, 144-150), la enfermedad de Crohn (Woywodt et al., *Eur J Gastroenterology Hepatology*, 1999, 11, 267-276), la colitis colágena (Kumawat et al., *Mol Immunology*, 2013, 55, 355-364), la colitis linfocítica (Kumawat et al., 2013), la esofagitis eosinofílica (Weinbrand-Goichberg et al., *Immunol Res*, 2013, 56, 249-260), la colitis relacionada con la enfermedad de injerto contra hospedador (Coghill et al., *Blood*, 2001, 117, 3268-3276), la colitis infecciosa (Stallmach et al., *Int J Colorectal Dis*, 2004, 19, 308-315), la enfermedad de Behcet (Zhou et al., *Autoimmun Rev*, 2012, 11, 699-704), la enfermedad celíaca (de Nitto et al., *World J Gastroenterol*, 2009, 15, 4609-4614), la colitis inducida por inhibidor del punto de control inmunitario (por ejemplo, la colitis inducida por inhibidor de CTLA-4; (Yano et al., *J Translation Med*, 2014, 12, 191), la colitis inducida por inhibidor de PD-1 o PD-L1) y la ileítis (Yamamoto et al., *Dig Liver Dis*, 2008, 40, 253-259) se caracterizan por la elevación de determinados niveles de citocinas proinflamatorias. Como muchas citocinas proinflamatorias señalizan a través de la activación de JAK, los compuestos que se describen en la presente solicitud pueden ser capaces de aliviar la inflamación y proporcionar alivio de los síntomas.

25 En particular, se espera que los compuestos de la invención sean útiles para la inducción y el mantenimiento de la remisión de la colitis ulcerosa y para el tratamiento de la enfermedad de Crohn, la colitis inducida por el inhibidor del punto de control inmunitario y los efectos adversos gastrointestinales en la enfermedad de injerto contra hospedador.

30 En un aspecto, por tanto, la invención proporciona un método para tratar una enfermedad inflamatoria gastrointestinal en un mamífero (por ejemplo, un ser humano), comprendiendo el método administrar al mamífero un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la invención.

35 La invención proporciona adicionalmente un método para tratar la colitis ulcerosa en un mamífero, comprendiendo el método administrar al mamífero un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la invención.

40 Cuando se usa para tratar la colitis ulcerosa, los compuestos de la invención normalmente se administrarán por vía oral en una sola dosis diaria o en múltiples dosis por día, aunque pueden usarse otras formas de administración. La cantidad de agente activo administrada por dosis o la cantidad total administrada por día normalmente será determinada por un médico, a la luz de las circunstancias pertinentes, incluyendo la afección que ha de tratarse, la vía de administración elegida, el compuesto real administrado y su actividad relativa, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

45 Se espera que las dosis adecuadas para el tratamiento de la colitis ulcerosa y otros trastornos inflamatorios gastrointestinales varíen de aproximadamente 1 a aproximadamente 400 mg/día de agente activo, incluyendo de aproximadamente 5 a aproximadamente 300 mg/día y de aproximadamente 20 a aproximadamente 70 mg por día de agente activo para un ser humano promedio de 70 kg.

50 Terapia de combinación

Los compuestos de la invención también pueden usarse en combinación con uno o más agentes que actúan mediante el mismo mecanismo o mediante mecanismos diferentes para efectuar el tratamiento de trastornos inflamatorios gastrointestinales. Las clases útiles de agentes para la terapia de combinación incluyen, pero sin limitación, aminosalicilatos, esteroides, inmunosupresores sistémicos, anticuerpos anti-TNF α , anticuerpos anti-VLA-4, anticuerpos anti-integrina $\alpha_4\beta_7$, agentes antibacterianos y medicamentos antidiarreicos.

60 Los aminosalicilatos que pueden usarse en combinación con los presentes compuestos inhibidores de JAK incluyen, pero sin limitación, mesalamina, osalazina y sulfasalazina. Los ejemplos de esteroides incluyen, pero sin limitación, prednisona, prednisolona, hidrocortisona, budesonida, beclometasona y fluticasona. Los inmunosupresores sistémicos útiles para el tratamiento de trastornos inflamatorios incluyen, pero sin limitación, ciclosporina, azatioprina, metotrexato, 6-mercaptopurina y tacrolimus. Adicionalmente, pueden usarse en terapia de combinación anticuerpos anti-TNF α , que incluyen, pero sin limitación, infliximab, adalimumab, golimumab y certolizumab. Los compuestos útiles que actúan mediante otros mecanismos incluyen anticuerpos anti-VLA-4, tales como natalizumab, anticuerpos anti-integrina $\alpha_4\beta_7$, tales como vedolizumab, agentes antibacterianos, tales como rifaximina y medicamentos antidiarreicos, tales como loperamida. (Mozaffari et al. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2014, 14, 583-600; Danese, *Gut*, 2012, 61, 918-932;

Lam et al., *Immunotherapy*, 2014, 6, 963-971).

En otro aspecto, por tanto, la invención proporciona una combinación terapéutica para su uso en el tratamiento de trastornos inflamatorios gastrointestinales, comprendiendo la combinación un compuesto de la invención y uno o más agentes terapéuticos útiles para tratar trastornos inflamatorios gastrointestinales. Por ejemplo, la invención proporciona una combinación que comprende un compuesto de la invención y uno o más agentes seleccionados entre aminosalicilatos, esteroides, inmunosupresores sistémicos, anticuerpos anti-TNF α , anticuerpos anti-VLA-4, anticuerpos anti-integrina $\alpha_4\beta_7$, agentes antibacterianos y medicamentos antidiarreicos. El agente o agentes secundarios, cuando se incluyen, están presentes en una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, en cualquier cantidad que produzca un efecto terapéuticamente beneficioso cuando se coadministran con un compuesto de la invención.

También se proporciona, por tanto, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y uno o más agentes terapéuticos útiles para tratar trastornos inflamatorios gastrointestinales.

Adicionalmente, en un aspecto del método, la invención proporciona un método para tratar trastornos inflamatorios gastrointestinales, comprendiendo el método administrar al mamífero un compuesto de la invención y uno o más agentes terapéuticos útiles para tratar trastornos inflamatorios gastrointestinales.

Cuando se usan en terapia de combinación, los agentes pueden formularse en una única composición farmacéutica, como se ha desvelado anteriormente, o los agentes pueden proporcionarse en composiciones separadas que se administran simultáneamente o en momentos separados, por la misma o por diferentes vías de administración. Cuando se administran por separado, los agentes se administran suficientemente cerca en el tiempo para proporcionar un efecto terapéutico deseado. Dichas composiciones pueden envasarse por separado o pueden envasarse juntas en forma de un kit. Los dos o más agentes terapéuticos en el kit pueden administrarse por la misma vía de administración o por vías de administración diferentes.

Enfermedad inflamatoria cutánea

La dermatitis atópica, por ejemplo, se ha asociado a la elevación de las citocinas proinflamatorias que dependen de la vía JAK-STAT, en particular, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 e IFN γ . Puesto que los compuestos de la invención presentan una inhibición potente en las cuatro enzimas JAK, se espera que inhiban potentemente las citocinas proinflamatorias características de la dermatitis atópica y otras enfermedades inflamatorias cutáneas. En particular, el compuesto 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo, que se desvela en el Ejemplo 2, presentó valores de CI_{50} de 50 nM o menos para la inhibición de IL-4, IL-13 e IFN γ en los ensayos celulares que se describen en los Ensayos 4, 2 y 5, respectivamente. El compuesto también presentó un efecto dependiente de la dosis y la concentración en un modelo de dermatitis de contacto irritante inducida por TPA en ratones. Además, las formulaciones en pomada y crema modelo del compuesto del Ejemplo 2 han mostrado niveles dérmicos sostenidos durante al menos 2 días en ratones y al menos 7 días en cerditos enanos sin exposición plasmática detectable.

Se espera que los niveles dérmicos sostenidos de inhibidores de JAK en ausencia de niveles sistémicos significativos den como resultado una actividad antiinflamatoria y antipruriginosa local potente en la piel sin efectos adversos sistémicos. Se espera que dichos compuestos sean beneficiosos en una serie de afecciones inflamatorias o pruriginosas que incluyen, pero sin limitación, dermatitis atópica, alopecia areata, vitiligo, linfoma cutáneo de linfocitos T, prurigo nodular, liquen plano, amiloidosis cutánea primaria localizada, penfigoide ampolloso, manifestaciones cutáneas de la enfermedad de injerto contra hospedador, penfigoide, lupus discoide, granuloma anular, liquen simple crónico, prurito vulvar/escrotal/perianal, liquen escleroso, picor de la neuralgia posherpética, liquen planopilar y foliculitis decalvana. En particular, la dermatitis atópica (Bao et al., *JAK-STAT*, 2013, 2, e24137), la alopecia areata (Xing et al., *Nat Med.* 2014, 20, 1043-1049), el vitiligo (Craiglow et al., *JAMA Dermatol.* 2015, 151, 1110-1112), el linfoma cutáneo de linfocitos T (Netchiporouk et al., *Cell Cycle.* 2014; 13, 3331-3335), el prurigo nodular (Sonkoly et al., *J Allergy Clin Immunol.* 2006, 117, 411-417), el liquen plano (Welz-Kubiak et al., *J Immunol Res.* 2015, ID: 854747), la amiloidosis cutánea localizada primaria (Tanaka et al., *Br J Dermatol.* 2009, 161, 1217-1224), el penfigoide ampolloso (Feliciani et al., *Int. J Immunopathol Pharmacol.* 1999, 12, 55-61) y las manifestaciones dérmicas de la enfermedad de injerto contra hospedador (Okiyama et al., *J Invest Dermatol.* 2014, 134, 992-1000) se caracterizan por la elevación de determinadas citocinas que señalizan a través de la activación de JAK. En consecuencia, los compuestos de la invención pueden ser capaces de aliviar la inflamación dérmica asociada o el prurito provocado por estas citocinas. En particular, se espera que los compuestos de la invención sean útiles para el tratamiento de la dermatitis atópica y otras enfermedades inflamatorias cutáneas.

En un aspecto, por tanto, la invención proporciona un método para tratar una enfermedad inflamatoria cutánea en un mamífero (por ejemplo, un ser humano), comprendiendo el método aplicar una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un vehículo farmacéutico en la piel del mamífero. En un aspecto, la enfermedad inflamatoria cutánea es la dermatitis atópica.

Los compuestos de la invención también pueden usarse en combinación con antibióticos grampositivos, tales como

mupirocina y ácido fusídico, para tratar enfermedades inflamatorias cutáneas. En un aspecto, por tanto, la invención proporciona un método para tratar una enfermedad inflamatoria cutánea en un mamífero, comprendiendo el método aplicar un compuesto de la invención y un antibiótico grampositivo en la piel del mamífero. En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, un antibiótico grampositivo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Se ha demostrado que los compuestos de la invención son inhibidores potentes de las enzimas JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2 en ensayos de unión a enzimas y tienen una potente actividad funcional sin citotoxicidad en ensayos celulares, como se describe en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos de síntesis y biológicos se ofrecen para ilustrar la invención y no han de interpretarse de ninguna manera como limitantes del alcance de la invención. En los ejemplos a continuación, las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados a menos que se indique lo contrario. Las abreviaturas que no se definen a continuación tienen los significados generalmente aceptados.

ACN =	acetonitrilo
CPME =	ciclopentil metil éter
d =	día o días
DIPEA =	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DMF =	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO =	dimetil sulfóxido
EtOAc =	acetato de etilo
EtOH =	alcohol etílico
h =	hora u horas
HATU =	hexafluorofosfato de <i>N,N,N',N'</i> -tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio
IPA =	alcohol isopropílico
MeOH =	metanol
min =	minuto o minutos
NMP =	<i>N</i> -metilpirrolidona
TA =	temperatura ambiente
TEA =	triethylamina
THF =	tetrahidrofurano
TFA =	ácido trifluoroacético
Xantphos =	4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno
Xphos =	diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo
XphosPd G2 =	cloro(2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropil-1,1'-bifenil)[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]paladio(II)

Los reactivos y disolventes se adquirieron de proveedores comerciales (Aldrich, Fluka, Sigma, etc.) y se usaron sin purificación adicional. El progreso de las mezclas de reacción se controló mediante cromatografía en capa fina (CCF), cromatografía líquida de alto rendimiento analítica (HPLC anal.) y espectrometría de masas. Las mezclas de reacción se elaboraron como se describe específicamente en cada reacción; habitualmente se purificaron mediante extracción y otros métodos de purificación, tales como la precipitación y la cristalización dependiente de la temperatura y el disolvente. Además, las mezclas de reacción se purificaron como habitualmente mediante cromatografía en columna o mediante HPLC preparativa, normalmente usando rellenos de columna C18 o BDS y eluyentes convencionales. Se describen condiciones normales de HPLC preparativa a continuación.

La caracterización de los productos de reacción se realizó como habitualmente mediante espectrometría de masas y RMN-¹H. Para el análisis por RMN, las muestras se disolvieron en disolvente deuterado (tal como CD₃OD, CDCl₃ o d₆-DMSO) y los espectros de RMN-¹H se obtuvieron con un instrumento Varian Gemini 2000 (400 MHz) en condiciones de observación convencionales. La identificación espectrométrica de masas de los compuestos se realizó mediante un método de ionización por electronebulización (EMEN) con un instrumento modelo API 150 EX de Applied Biosystems (Foster City, CA) o un instrumento 3100 de Waters (Milford, MA), acoplado a sistemas de autopurificación.

A menos que se indique lo contrario, se usaron las siguientes condiciones para purificaciones mediante HPLC preparativa.

Columna:	C18, 5 µm 21,2 x 150 mm o C18, 5 µm 21 x 250 mm o C14, 5 µm 21 x 150 mm
Temperatura de la columna:	Temperatura ambiente
Caudal:	20,0 ml/min
Fases móviles:	A = Agua + TFA al 0,05 %

ES 2 779 880 T3

B = ACN + TFA al 0,05 %,

Volumen de inyección: (100-1500 µl)

Longitud de onda del detector: 214 nm

5 Los compuestos en bruto se disolvieron en agua:ácido acético 1:1 a aproximadamente 50 mg/ml. Se realizó una ejecución de ensayo de escala analítica de 4 minutos usando una columna C18 de 2,1 x 50 mm seguida de una ejecución a escala preparativa de 15 o 20 minutos usando una inyección de 100 µl con el gradiente basado en el % de retención de B de la ejecución de ensayo a escala analítica. Los gradientes exactos fueron dependientes de la muestra. Las muestras con impurezas corrientes cercanas se comprobaron con una columna C18 de 21 x 250 mm y/o una columna C14 de 21 x 150 mm para una mejor separación. Las fracciones que contenían el producto deseado se identificaron mediante análisis espectrométrico de masas.

10 Condiciones analíticas de HPLC

Método A

Columna: LUNA C18 (2), 150 x 4,60 mm, 3 µm

Temperatura de la columna: 37 °C

Caudal: 1,0 ml/ml/min

Volumen de inyección: 5 µl

Preparación de la muestra: Disolver en ACN:agua 1:1

Fases móviles: A = Agua:ACN:TFA (98:2:0,05)

B = Agua:ACN:TFA (2:98:0,05)

Longitud de onda del detector: 250 nm

Gradiente: 2 min en total (tiempo(min)/% de B): 0/2, 10/20, 24/90, 29/90, 30/2, 32/2

Método B

Columna: LUNA C18 (2), 150 x 4,60 mm, 3 µm

Temperatura de la columna: 37 °C

Caudal: 1,0 ml/min

Volumen de inyección: 10 µl

Preparación de la muestra: Disolver en ACN:agua 1:1

Fases móviles: A = Agua:ACN:TFA (98:2:0,05)

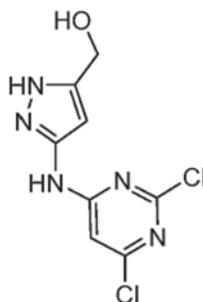
B = Agua: ACN:TFA (10:90:0,05)

Longitud de onda del detector: 254 nm

Gradiente: 35 min en total (tiempo(min)/% de B): 0/2, 20/25, 23/90, 26/90, 27/2, 35/2

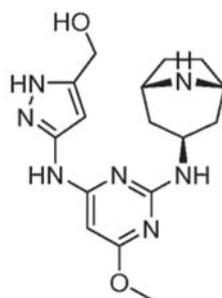
15

Preparación 1: (3-((2,6-Dicloropirimidin-4-il)amino)-1H-pirazol-5-il)metanol



20 A una mezcla de 2,4,6-tricloropirimidina (8,0 g, 43,7 mmol) y (3-amino-1H-pirazol-5-il)metanol (7,4 g, 65,4 mmol) en EtOH (80 ml) se le añadió DIPEA (11,3 g, 87,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 12 h y se filtró para proporcionar el intermedio del título (6,5 g, rendimiento del 57 %) en forma de un sólido de color blanco, (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₈H₇Cl₂N₅O 260,00 encontrado 260,0.

25 Preparación 2: (3-((2-(((1R,3s,5S)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1H-pirazol-5-il)metanol



(a) (1R,3s,5S)-3-((4-cloro-6-((5-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)amino)-8-azabicciclo[3.2.1]octano-8-carboxilato de *tert*-butilo

5 Una mezcla de 3-((2,6-dicloropirimidin-4-il)amino)-1H-pirazol-5-il)metanol (6,0 g, 23,1 mmol), (1R,3s,5S)-3-amino-8-azabicciclo[3.2.1]octano-8-carboxilato de *tert*-butilo (6,3 g, 27,7 mmol) y DIPEA (6,0 g, 46,2 mmol) en DMSO (60 ml) se agitó a 100 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se combinó con el producto de una ejecución a escala piloto y se vertió en agua (800 ml). El precipitado se filtró y se secó al vacío. El residuo se recristalizó en EtOAc (500 ml) y éter de petróleo (500 ml) para proporcionar el intermedio del título (5,6 g, rendimiento del 50 %) en forma de un sólido de color gris. Estructura confirmada mediante RMN.

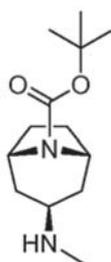
(b) (1R,3s,5S)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)amino)-8-azabicciclo[3.2.1]octano-8-carboxilato de *tert*-butilo

15 A una solución de metóxido de sodio (2,4 g, 44,5 mmol) en MeOH (30 ml) se le añadió el producto de la etapa anterior (2,0 g, 4,45 mmol) a 20 °C. La mezcla de reacción se agitó en un tubo sellado a 100 °C durante 8 h. La mezcla de reacción se combinó con el producto de una ejecución a escala piloto, se vertió en agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml, 3 veces). La capa orgánica se lavó con salmuera (30 ml, 2 veces), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (Daiso 250 x 50 mm 10 μm, 80 ml/min, ACN al 30-55 % + TFA al 0,1 %/ACN) para proporcionar el intermedio del título (0,7 g, rendimiento del 32 %) en forma de un sólido de color blanco, (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₁H₃₁N₇O₄ 446,24 encontrado 446,2.

(c) 3-((2-(((1R,3s,5S)-8-azabicciclo[3.2.1]octan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1H-pirazol-5-il)metanol

25 Una solución del producto de la etapa anterior (0,7 g, 1,57 mmol) en HCl 4 M en EtOAc (20 ml) se agitó a 20 °C durante 2 h y se concentró al vacío para proporcionar la sal de HCl del compuesto del título (0,6 g, rendimiento del 99 %) en forma de un sólido de color blanco. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₆H₂₃N₇O₂ 346,19 encontrado 346,2.

30 Preparación 3: (1R,3s,5S)-3-(Metilamino)-8-azabicciclo[3.2.1]octano-8-carboxilato de *tert*-butilo



(a) (1R,3s,5S)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-8-azabicciclo[3.2.1]octano-8-carboxilato de *tert*-butilo

35 Una solución de (1R,3s,5S)-3-amino-8-azabicciclo[3.2.1]octano-8-carboxilato de *tert*-butilo (5,21 g, 23,00 mmol), DMF (115 ml) y trietilamina (6,41 ml, 46,0 mmol) se agitó a TA durante 15 min. Se añadió cloroformiato de bencilo (3,56 ml, 25,3 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 3 h, se inactivó con agua y se extrajo con EtOAc (20 ml, 4 veces). Las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml, 2 veces), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para proporcionar un aceite de color amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (columna de 120 g; EtOAc al 0-70 % en hexanos) para proporcionar el intermedio del título en forma de un aceite transparente y espeso (3,79 g, rendimiento del 36 %; pureza del 79 %). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₀H₂₈N₂O₄ 361,20 encontrado 361,2.

(b) (1R,3s,5S)-3-(((benciloxi)carbonil)(metil)amino)-8-azabicciclo[3.2.1]octano-8-carboxilato de *tert*-butilo

Una solución del producto de la etapa anterior (2,99 g, 8,29 mmol) en DMF (41,5 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió hidruro de sodio, dispersión al 60 % en aceite mineral (0,398 g, 16,58 mmol) en una porción. La suspensión resultante

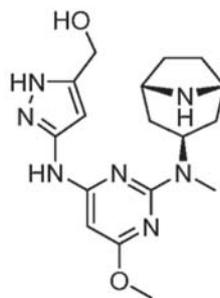
se agitó a 0 °C durante 15 min y después se añadió gota a gota yodometano (1,03 ml, 16,58 mmol) y la mezcla resultante turbia, de color amarillo pálido se agitó a 0 °C durante 15 min, se calentó a TA y se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se inactivó con agua y se extrajo con EtOAc (20 ml, 4 veces). Las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml, 2 veces), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para proporcionar un aceite transparente, de color amarillo pálido, que se purificó mediante cromatografía en columna (columna de 80 g; EtOAc al 0-70 % en hexanos) para proporcionar el intermedio del título en forma de un aceite espeso, transparente e incoloro (2,07 g, rendimiento del 65 %; pureza del 97 %). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₁H₃₀N₂O₄ 375,22 encontrado 375,5.

10 (c) (1*R*,3*s*,5*S*)-3-(Metilamino)-8-azabicyclo[3.2.1]octano-8-carboxilato de *tert*-butilo

A un matraz de 100 ml se le añadió paladio, al 10 % en peso sobre carbono (0,577 g, 0,542 mmol). El material se expuso a nitrógeno y después se añadió lentamente mediante pipeta una solución del producto de la etapa anterior (1,015 g, 2,71 mmol) en MeOH (54,2 ml). Se adjuntó un globo de hidrógeno gaseoso. El matraz se evacuó y se volvió a llenar con hidrógeno tres veces antes de abrir la atmósfera totalmente a H₂ gaseoso. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h, se filtró a través de un lecho de Celite® y se concentró para proporcionar un aceite transparente, que se purificó mediante cromatografía en columna de columna de 40 g; MeOH al 0-100 % en DCM) para proporcionar el producto en forma de un aceite transparente. La columna se lavó abundantemente con MeOH:TEA 10:1. El filtrado se concentró para proporcionar un aceite espeso transparente y con un sólido de color blanco que se disolvió en EtOAc, se filtró, se combinó con el producto de aceite transparente y se concentró para proporcionar el intermedio del título (0,559 g, rendimiento del 86 %) (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₃H₂₄N₂O₂ 241,18 encontrado 241,3.

Preparación 4: (3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol

25



30 (a) (1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-cloro-6-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)(metil)amino)-8-azabicyclo[3.2.1]octano-8-carboxilato de *tert*-butilo

Una solución de (3-((2,6-dicloropirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol (200 mg, 0,77 mmol), (1*R*,3*s*,5*S*)-3-(metilamino)-8-azabicyclo[3.2.1]octano-8-carboxilato de *tert*-butilo (194 mg, 0,81 mmol) y TEA (0,29 ml, 1,92 mmol) se agitaron en DMSO (5 ml) durante la noche a 60 °C. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa para proporcionar el intermedio del título (143 mg, 0,31 mmol, rendimiento del 40 %), que se usó directamente en la siguiente etapa.

35

(b) (3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-8-Azabicyclo[3.2.1]octan-3-il)(metil)amino)-6-cloropirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol

Al producto de la etapa anterior (143 mg, 0,31 mmol) disuelto en ACN (3,0 ml) se le añadió HCl 4 N en dioxano (1,156 ml 4,62 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 30 min. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar la sal de HCl del intermedio del título que se usó sin purificación en la siguiente etapa.

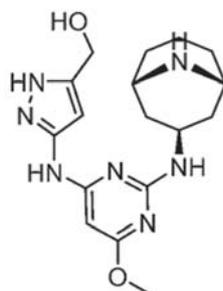
40

(c) (3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol

A una solución agitada del producto de la etapa anterior (112 mg, 0,280 mmol) en MeOH (5 ml) se le añadió metóxido de sodio al 50 % en MeOH (0,960 ml, 8,39 mmol). La mezcla de reacción se calentó en un vial sellado a 80 °C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo en bruto se purificó a través de cromatografía de fase inversa para proporcionar el producto del título (27 mg, 0,057 mmol, rendimiento del 20 %).

45

50 Preparación 5: (3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol



(a) (1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-cloro-6-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)pirimidina -2-il)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de *tert*-butilo

5 A una mezcla de 3-((2,6-dicloropirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol (3,7 g, 14,2 mmol) y (1*R*,3*s*,5*S*)-3-amino-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de *tert*-butilo (4,1 g, 17,0 mmol) en DMSO (37 ml) se le añadió DIPEA (3,7 g, 28,4 mmol) en nitrógeno. La reacción se agitó a 120 °C durante 12 h, se vertió en agua (80 ml), se extrajo con EtOAc (100 ml, 3 veces), se secó y se concentró para proporcionar el producto en bruto, que se lavó con EtOAc (20 ml), para proporcionar el intermedio del título (3,8 g, rendimiento del 56 %) en forma de un sólido de color blanco.

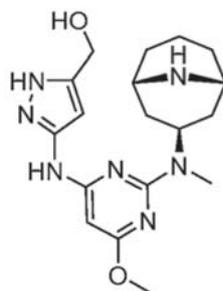
(b) (1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(Hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de *tert*-butilo

15 Se realizaron cuatro reacciones en paralelo. Una mezcla del producto de la etapa anterior (0,95 g, 2,0 mmol) en metóxido de sodio en MeOH (10 ml) se agitó a 120 °C durante 3 h en un tubo sellado. La mezcla de reacción se añadió a agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml, 3 veces). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (Luna C18 250 x 50 mm 10 μm, ACN + TFA al 0,1 %/ACN) para obtener el intermedio del título (1,2 g de producto combinado, rendimiento del 28 %) en forma de un sólido de color marrón, (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₂H₃₃N₇O₄ 460,26 encontrado 460,3.

(c) 3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol

25 Al producto de la etapa anterior (1,2 g, 2,5 mmol) se le añadió HCl 4 M en EtOAc (50 ml). La reacción se agitó a 25 °C durante 2 h. El residuo se combinó con el producto de una preparación a la escala de 1,5 mmol y se concentró para proporcionar el intermedio del título (2,0 g, rendimiento del 100 %) en forma de un sólido de color amarillo claro, (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₇H₂₅N₇O₂ 360,43 encontrado 360,4.

30 Preparación 6: 3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-Azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol



35 (a) (1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-cloro-6-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de *tert*-butilo

40 A una mezcla de 3-((2,6-dicloropirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol (6,5 g, 24,9 mmol), (1*R*,3*s*,5*S*)-3-(metilamino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de *tert*-butilo (6,9 g, 27,4 mmol) en DMSO (80 ml) se le añadió DIPEA (6,4 g, 49,8 mmol) en nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 8 h, se vertió en agua (80 ml), se extrajo con EtOAc (500 ml), se secó y se concentró para proporcionar el producto en bruto. El producto en bruto se combinó con el producto de una preparación separada a la misma escala y se purificó mediante HPLC preparativa (Daiso 150 x 25 mm 5 μm, 80 ml/min, ACN al 35-60 % + TFA al 0,1 %/ACN) para proporcionar el intermedio del título (16,0 g, rendimiento del 64 %) en forma de un sólido de color amarillo claro, (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₂H₃₂ClN₇O₃ 478,23 encontrado 478,2.

(b) (1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(Hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-

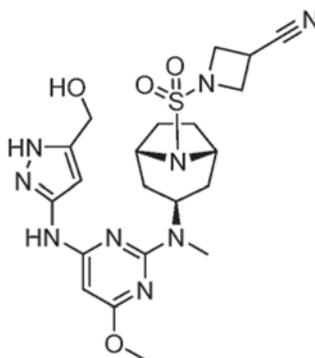
azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de *tert*-butilo

A una mezcla del producto de la etapa anterior (2,0 g, 4,19 mmol) en MeOH (20 ml) se le añadió metóxido de sodio (2,2 g, 41,9 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 6 h en un tubo sellado durante 12 h, se vertió en agua (100 ml), se diluyó con EtOAc (800 ml), se lavó con salmuera (50 ml), se secó y se concentró para proporcionar producto en bruto. El producto en bruto se combinó con el producto de una preparación separada a la escala de 2 mmol y se purificó mediante HPLC preparativa (Synergi Max-RP, 250 x 50 mm 10 µm, 80 ml/min, ACN al 25-50 % + TFA al 0,1 %/ACN) para proporcionar el intermedio del título (2,1 g, rendimiento del 71 %) en forma de un sólido de color blanco.

(c) 3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-Azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol

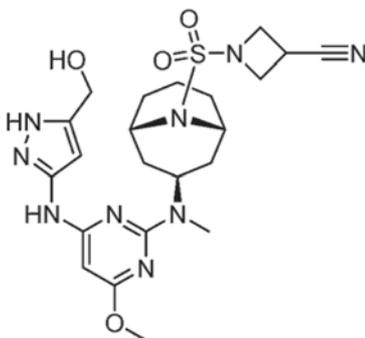
A una mezcla del producto de la etapa anterior (2,1 g, 4,43 mmol) en EtOAc (20 ml) se le añadió HCl 4 M en EtOAc (20 ml) y la reacción se agitó a 20 °C durante 3 h y se concentró para proporcionar la sal de HCl del producto (2,0 g, rendimiento del 100 %) en forma de un sólido de color blanco, (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₈H₂₇N₇O₂ 374,22 encontrado 374,1.

Ejemplo 1: 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(Hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo



A una solución de 3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol (15 mg, 0,042 mmol) en DMF (4,0 ml) se le añadió DIPEA (0,022 ml, 0,125 mmol) seguido de cloruro de 3-ciano-1-azetidinasulfonyl (7,54 mg, 0,042 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante la noche. El disolvente se retiró al vacío y el residuo en bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa para proporcionar la sal de TFA del compuesto del título (3,2 mg). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₁H₂₉N₉O₄S 504,21 encontrado 504,1.

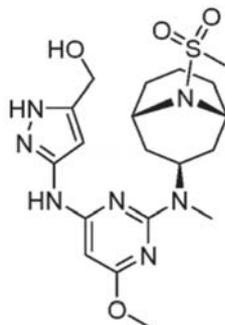
Ejemplo 2: 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(Hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo



A una solución de HCl de 3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol (150 mg, 0,402 mmol) y DIPEA (0,351 ml, 2,008 mmol) en DMF (3 ml) a 0 °C se le añadieron cloruro de 3-ciano-1-azetidinasulfonyl (72,5 mg, 0,402 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 10 min y después a TA durante 15 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para producir un líquido de color rojo que se purificó mediante HPLC preparativa para producir la sal de TFA del compuesto del título (72,4 mg, 0,115 mmol, rendimiento del 28,5 %) en forma de un sólido de color, (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₂H₃₁N₉O₄S 518,22 encontrado 518.

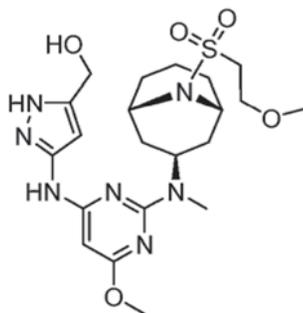
Ejemplo 3: 3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(metilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-

1*H*-pirazol-5-il)metanol



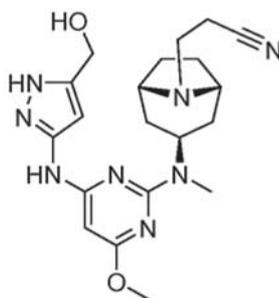
- 5 Una solución de HCl de 3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol (250 mg, 0,669 mmol) en DMF (7,0 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió DIPEA (0,35 ml, 2,008 mmol) en una porción seguido de cloruro de metanosulfonilo (0,053 ml, 77 mg, 0,676 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó durante la noche, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (6 ml), se filtró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar la sal de TFA del compuesto del título (94 mg, rendimiento del 31 %) en forma de un polvo de color blanco, (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₁₉H₂₉N₇O₄S 452,15 encontrado 452,2.

Ejemplo 4: 3-((6-metoxi-2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-((2-metoxietil)sulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol



- 15 Una solución de HCl de 3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol (250 mg, 0,703 mmol) en DMF (7,0 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió DIPEA (0,35 ml, 2,008 mmol) en una porción seguido de cloruro de 2-metoxietanosulfonilo (111 mg, 0,676 mmol) añadido gota a gota. La mezcla de reacción se agitó durante la noche, se disolvió en ácido acético:agua 1:1 (6 ml), se filtró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar la sal de TFA del compuesto del título (41 mg, rendimiento del 12 %) en forma de un sólido de color blanco, (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₂₁H₃₃N₇O₅S 496,23 encontrado 496,2.

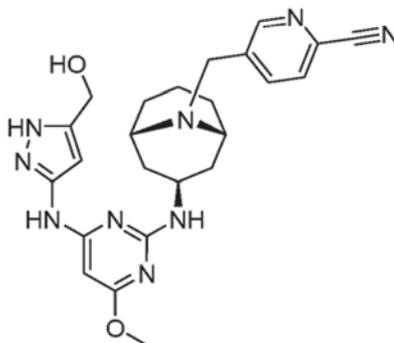
- 25 Ejemplo 5: 3-((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-il)-propanonitrilo



- 30 A una solución de 3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol (15 mg, 0,042 mmol) en MeOH (4,0 ml) se le añadió DIPEA (0,022 ml, 0,125 mmol) seguido de acrilonitrilo (2,70 µl, 0,042 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante la noche, se concentró al vacío y se purificó mediante HPLC de fase inversa para proporcionar la sal de TFA del compuesto del título (4,3 mg). (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₂₀H₂₈N₈O₂ 413,23 encontrado 413,2.

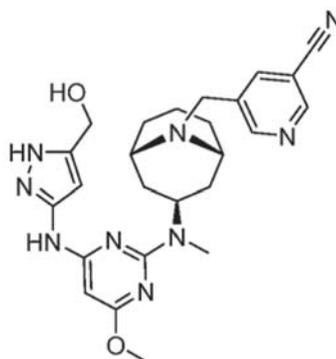
- 35 Ejemplo 6: 5-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)amino)-9-

azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)metil)picolinonitrilo



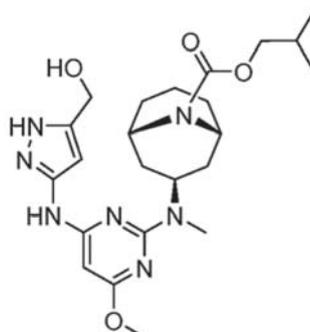
5 Se añadió diisopropilamina (0,032 ml, 0,225 mmol) (0,256 ml) a una solución 0,15 M de (3-((2-(((1R,3S,5S)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1H-pirazol-5-il)metanol (29,8 mg, 0,075 mmol) en DMF y la solución se agitó para disolver todo el material. A la solución se le añadió una solución 0,23 M de 4-(clorometil)-picolinonitrilo (0,5 ml, 34 mg, 0,113 mmol) en DMF y la mezcla de reacción se agitó a TA durante la noche. Se añadió resina de poliestireno-tiofenol (0,115 g, 0,150 mmol), la mezcla de reacción se agitó a TA durante 4 h y se filtró. El recipiente de reacción se lavó con DMF (0,5 ml) y los lavados se combinaron, se concentraron mediante evaporación rotatoria, se disolvieron en ácido acético:agua 1:1, se filtraron y se purificaron mediante HPLC de fase inversa para proporcionar la sal de TFA del compuesto del título (6,4 mg). (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₂₄H₂₉N₉O₂ 476,24 encontrado 476,1.

15 Ejemplo 7: 5-(((1R,3S,5S)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)metil)nicotinonitrilo



20 Una solución de HCl de (3-((2-(((1R,3S,5S)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1H-pirazol-5-il)metanol (20 mg, 0,054 mmol), 5-(bromometil)nicotinonitrilo (10,55 mg, 0,054 mmol) y carbonato de potasio (22,20 mg, 0,161 mmol) se agitaron en DMF (6,0 ml) a 60 °C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío y se purificó mediante HPLC de fase inversa para proporcionar la sal de TFA del intermedio del título (3,7 mg). (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₂₅H₃₁N₉O₂ 490,26 encontrado 490,2.

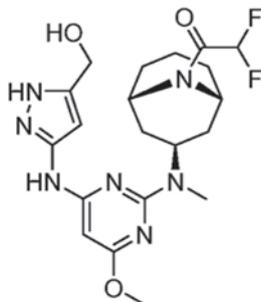
25 Ejemplo 8: (1R,3S,5S)-3-((4-((5-(Hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de isobutilo



30 A una solución de (3-((2-(((1R,3S,5S)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1H-

5 pirazol-5-il)metanol, HCl (25 mg, 0,061 mmol) y DIPEA (42,6 μ l, 0,244 mmol) en DMF (305 μ l) a 0 $^{\circ}$ C se le añadió cloroformiato de isobutilo (10 mg, 0,073 mmol) en DMF (305 μ l) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a 0 $^{\circ}$ C durante 5 min y después se dejó que alcanzase la TA. Después de 24 h, la mezcla de reacción se concentró, se disolvió en ACN:agua 1:1 y se purificó mediante HPLC de fase inversa para proporcionar la sal de TFA del compuesto del título (6,4 mg). (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₂₃H₃₅N₇O₄ 474,28 encontrado 474,2.

Ejemplo 9: 2,2-difluoro-1-((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)etan-1-ona



10 Se añadió HATU (0,029 g, 0,077 mmol) a una solución de ácido 2,2-difluoroacético (6,72 mg, 0,070 mmol) en DMF (3 ml) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 5 min para preparar una solución 0,14 M del ácido activado. La solución 0,14 M del ácido activado (0,5 ml, 0,070 mmol) se añadió a una solución de HCl de (3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol (29 mg, 0,070 mmol) y DIPEA (0,049 ml, 0,280 mmol) en DMF y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 30 min, se concentró al vacío y el residuo resultante se disolvió en ácido acético:agua 1:1 y se purificó mediante HPLC de fase inversa para proporcionar la sal de TFA del compuesto del título (3,9 mg). (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₂₀H₂₇N₇O₃ 452,21 encontrado 452,1.

20

Usando métodos de síntesis similares, se prepararon los compuestos de las Tablas 1-3.

Tabla 1

N.º de Ejemplo	n	R ²	R ⁴	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
1-1	1	H	azetidín-1-ilo	C ₁₉ H ₂₈ N ₈ O ₄ S	465,20	465
1-2	1	H		C ₂₀ H ₂₇ N ₉ O ₄ S	490,19	490
1-3	1	H	piridín-3-ilo	C ₂₁ H ₂₆ N ₈ O ₄ S	487,18	487,2
1-4	1	H	fenilo	C ₂₂ H ₂₇ N ₇ O ₄ S	486,18	486,3
1-5	2	H	azetidín-1-ilo	C ₂₀ H ₃₀ N ₈ O ₄ S	479,21	479,1
1-6	2	H		C ₂₁ H ₂₉ N ₉ O ₄ S	504,21	504,1
1-7	2	H	5-fluoropiridín-3-ilo	C ₂₂ H ₂₇ FN ₈ O ₄ S	519,19	519,1

(continuación)

N.º de Ejemplo	n	R ²	R ⁴	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
1-8	2	H	fenilo	C ₂₃ H ₂₉ N ₇ O ₄ S	500,20	500,1
1-9	2	H	-C ₂ H ₅	C ₁₉ H ₂₉ N ₇ O ₄ S	452,20	452,1
1-10	2	H	-CH ₂ -ciclopropilo	C ₂₁ H ₃₁ N ₇ O ₄ S	478,22	478,1
1-11	2	H	piridin-3-ilo	C ₂₂ H ₂₈ N ₈ O ₄ S	501,20	501,1
1-12	2	-CH ₃	-(CH ₂) ₂ CN	C ₂₁ H ₃₀ N ₈ O ₄ S	491,21	491
1-13	2	-CH ₃	pirrolidin-1-ilo	C ₂₂ H ₃₄ N ₈ O ₄ S	507,24	507,2
1-14	2	-CH ₃	ciclopropilo	C ₂₁ H ₃₁ N ₇ O ₄ S	478,22	478,1
1-15	2	-CH ₃	piridin-3-ilo	C ₂₃ H ₃₀ N ₈ O ₄ S	515,21	515,1
1-16	2	-CH ₃	fenilo	C ₂₄ H ₃₁ N ₇ O ₄ S	514,22	514,1
1-17	2	-CH ₃	azetidin-1-ilo	C ₂₁ H ₃₂ N ₈ O ₄ S	493,23	493,2
1-18	2	-CH ₃	-CH ₂ -ciclopropilo	C ₂₂ H ₃₃ N ₇ O ₄ S	492,23	492,2
1-19	2	-CH ₃	5-fluoropiridin-3-ilo	C ₂₃ H ₂₉ FN ₈ O ₄ S	533,20	533,1

Tabla 2

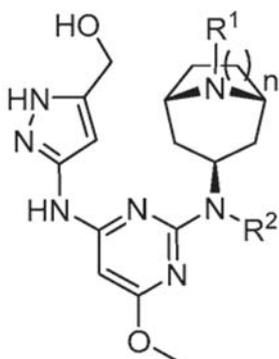
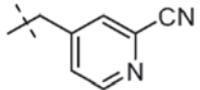
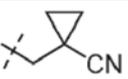
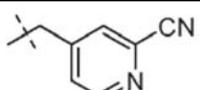
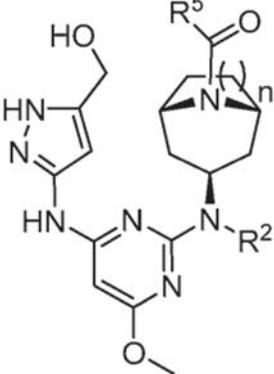
						
N.º de Ejemplo	n	R ²	R ¹	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
2-1	1	H	-CH ₂ -piridin-4-ilo	C ₂₂ H ₂₈ N ₈ O ₂	437,23	437
2-2	2	H	-CH ₂ -piridin-4-ilo	C ₂₃ H ₃₀ N ₈ O ₂	451,25	451,2
2-3	2	H		C ₂₄ H ₂₉ N ₉ O ₂	476,24	476,2
2-4	2	H	-CH ₂ -piridin-3-ilo	C ₂₃ H ₃₀ N ₈ O ₂	451,25	451,2
2-5	2	-CH ₃	-(CH ₂) ₂ CN	C ₂₁ H ₃₀ N ₈ O ₂	427,25	427
2-6	2	-CH ₃		C ₂₃ H ₃₂ N ₈ O ₂	453,27	453
2-7	2	-CH ₃	-CH ₂ -piridin-4-ilo	C ₂₄ H ₃₂ N ₈ O ₂	465,27	465,1
2-8	2	-CH ₃		C ₂₅ H ₃₁ N ₉ O ₂	490,26	490,2

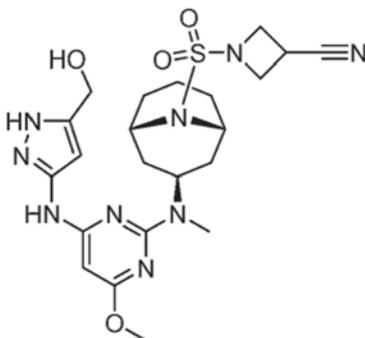
Tabla 3



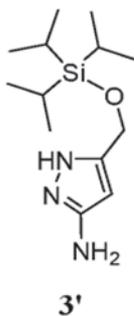
N.º de Ejemplo	n	R ²	R ⁵	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
3-1	2	H	-CHF ₂	C ₁₉ H ₂₅ F ₂ N ₇ O ₃	438,20	438,1
3-2	2	-CH ₃	-O-isobutilo	C ₂₃ H ₃₅ N ₇ O ₄	474,28	474,2
3-3	2	-CH ₃	-OCH ₃	C ₂₀ H ₂₉ N ₇ O ₄	432,23	432,2
3-4	2	-CH ₃	morfolin-1-ilo	C ₂₃ H ₃₄ N ₈ O ₄	487,27	487,2
3-5	2	-CH ₃	-CH ₂ -ciclopropilo	C ₂₃ H ₃₃ N ₇ O ₃	456,26	456,2
3-6	2	-CH ₃	-CH ₃	C ₂₀ H ₂₉ N ₇ O ₃	416,23	416,1
3-7	2	-CH ₃	ciclopentilo	C ₂₄ H ₃₅ N ₇ O ₃	470,28	470,2
3-8	2	-CH ₃	ciclobutilo	C ₂₃ H ₃₃ N ₇ O ₃	456,26	456,2

Ejemplo 10: 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(Hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo

5



(a) 5-(((trisopropilsilil)oxi)metil)-1*H*-pirazol-3-amina (3')

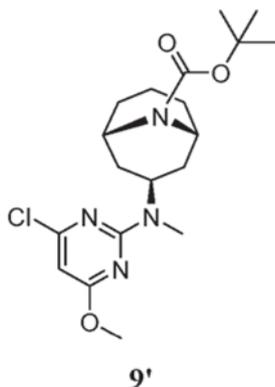


10

15

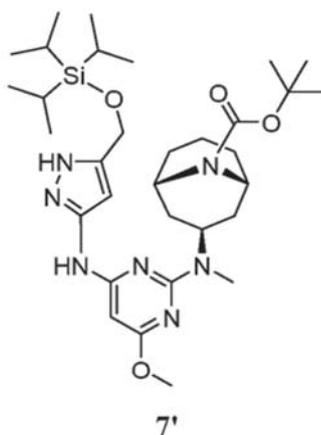
A un matraz de 100 ml se le añadió (3-amino-1*H*-pirazol-5-il)metanol (5,8 g, 51,3 mmol), 1-metil-2-pirrolidiona (58,0 ml) e imidazol (4,54 g, 66,7 mmol) seguido de cloruro de triisopropilsililo (11,95 ml, 56,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 22 °C durante la noche y después se añadieron EtOAc (145 ml) y agua (145 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con agua (145 ml) y salmuera (15 %, 100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó a presión reducida para proporcionar el intermedio del título (13,33 g, 49,5 mmol, rendimiento del 96 %) Método de HPLC A Tiempo de retención 19,00 min.

(b) (1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-cloro-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de *tert*-butilo (9')



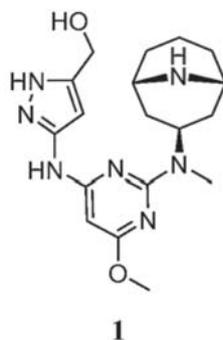
5 A una mezcla de 2,4-dicloro-6-metoxipirimidina (20 g, 112 mmol) y 3-(metilamino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de (1*R*,3*s*,5*S*)-*tert*-butilo (36,9 g, 145 mmol) se le añadió DIPEA (39,0 ml, 223 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 20-25 °C durante la noche. Se añadió 3-(metilamino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de (1*R*,3*s*,5*S*)-*tert*-butilo adicional (4,26 g, 16,76 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 55 °C, se agitó durante 2,5 h, se enfrió a TA y se agitó durante 2 d. Se añadió heptano (400 ml) durante 30 min y la mezcla de reacción se filtró. La fase líquida se sometió a evaporación azeotrópica con IPA (300 ml, después 200 ml) hasta aproximadamente 200-300 ml, se agitó a 5 °C durante la noche y se filtró para proporcionar el intermedio del título (29,2 g, 71,4 mmol, rendimiento del 63,9 %). Método de HPLC A Tiempo de retención 28,27 min.

15 (c) (1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-metoxi-6-(((trisisopropilsilil)oxi)metil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de *tert*-butilo (7')



20 A un matraz de 250 ml se le añadió el producto de la etapa anterior (9') (8 g, 20,16 mmol), el producto de la etapa (a) (3') (6,79 g, 25,2 mmol), Cs₂CO₃ (13,13 g, 40,3 mmol), Xphos Pd G2 (0,793 g, 1,008 mmol) y XPhos (0,480 g, 1,008 mmol), la mezcla de reacción se desgasificó tres veces y se añadieron 1,4-dioxano (80 ml) y agua (8,00 ml) para proporcionar una suspensión. La mezcla de reacción se desgasificó tres veces al vacío y nitrógeno y se calentó a 100 °C, se calentó a reflujo durante la noche y se enfrió a 35 °C. Se añadió sílice funcionalizada con tiol SiliaMetS® (4 g) y la mezcla de reacción se calentó a 65 °C, se agitó durante 2 h, se enfrió a 50 °C y se filtró a través de Celite® (5 g). Se añadieron agua (200 ml) y acetato de isopropilo (200 ml), las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con NaHSO₃ al 20 %. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera. Las capas se separaron nuevamente y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (300 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron para proporcionar producto en bruto (aproximadamente 20 g). Se añadió metanol (50 ml) y la mezcla de reacción se agitó a TA, se filtró y se lavó con metanol (10 ml) para retirar el sólido para proporcionar el compuesto del título en forma de una solución de metanol que se usó directamente en la siguiente etapa. Método de HPLC A: Tiempo de retención 16,05 min.

35 (d) 3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol (1)



A un matraz de 250 ml se le añadió el producto en bruto de la etapa anterior (7') en metanol (50 ml) (12,68 g, 20,136 mmol) y HCl 3 M en CPME (67,1 ml, 201 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 h y se filtró para proporcionar la sal de HCl 3 en bruto del compuesto del título (4,8 g, 9,94 mmol, rendimiento del 49,4 %).

A un matraz se le añadió la sal de HCl 3 en bruto anterior (2 g, 4,14 mmol) seguida de agua (30 ml) y sílice funcionalizada con tiol SiliaMetS al 40 % p/p (0,8 g, 4,14 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 65 °C, se agitó durante 16 h, se filtró a través de Celite y se lavó con agua (1,5 ml). Se añadió acetona (120 ml) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante la noche, se filtró, se lavó con acetona (10 ml) y se secó al vacío a 50 °C para proporcionar la sal de HCl 3 purificada del compuesto del título (1,05 g, 2,175 mmol), rendimiento del 52,5 %. Método de HPLC A: Tiempo de retención 10,09 min.

(e) 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(Hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo

A un vial se le añadió el producto de la etapa anterior (1) (0,83 g, 1,719 mmol) y NMP (8,3 ml), seguido de TEA (1,44 ml, 10,31 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 5-10 min. Se añadió cloruro de 3-cianoazetidina-1-sulfonyl (0,466 g, 2,58 mmol) a 22 °C. Después de 2 h, se añadió agua (25 ml) durante 30 min y la mezcla de reacción se agitó durante 22 h. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con agua (2 ml) para proporcionar el producto del título (0,9 g, 1,704 mmol, rendimiento del 99 %) en forma de un sólido de color blanco. Método de HPLC A: Tiempo de retención 16,18 min.

Ejemplo 11: Forma I de 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo cristalino

A un matraz de 100 ml se le añadió 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((3-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-5-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo (1 g, 1,932 mmol) y DMF (3,00 ml) seguido de acetona (4 ml). Después se añadió agua (6 ml) durante 5 min y la mezcla de reacción se agitó durante la noche y se filtró, y el sólido se lavó con agua y acetona, y se secó durante 30 min para proporcionar el compuesto del título (0,94 g, 1,816 mmol, rendimiento del 94 %). Método de HPLC A: Tiempo de retención 16,30 min.

Ejemplo 12: Forma I de 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo cristalino

A un matraz de 20 l se le añadieron (3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol (1) (1,20 kg, 2,69 mol), NMP (4,8 kg) y TEA (1,36 kg, 13,45 mol) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 h. A continuación, se añadió NMP (2,4 kg) y la mezcla de reacción se agitó y se enfrió a 5-10 °C durante aproximadamente 1 h. Se añadió cloruro de 3-cianoazetidina-1-sulfonyl (0,58 kg, 3,23 mol) en tres lotes, se añadió cada 0,5 h y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h y se calentó a TA. Se añadió metanol (4,2 kg), la mezcla de reacción se agitó durante 0,5 h. Se añadió agua (21,6 kg) durante 3 h y la mezcla de reacción se agitó durante 0,5 h y se filtró. El sólido se aclaró con metanol (1,0 kg) para proporcionar el compuesto del título en bruto (1,33 kg) del que 1,20 kg se disolvieron en NMP (3,6 kg). Se añadió acetona (3,8 kg), la solución se filtró y el filtrado se calentó a 45-55 °C con agitación. Se añadió agua (6,6 kg) durante 6 h y la mezcla se agitó, se enfrió a 25-30 °C y se filtró. El sólido se aclaró con acetona:agua 4:5,5 (1,5 l) y se secó para proporcionar el compuesto del título (1,21 kg, pureza del 99 %, rendimiento del 85 %). Método de HPLC B: Tiempo de retención 15,23 min. El producto se micronizó usando un proceso de molienda por chorro de aire a la siguiente distribución de tamaño de partícula: $X_{10} = 0,70 \mu\text{m}$, $X_{50} = 2,17 \mu\text{m}$ y $X_{90} = 6,15 \mu\text{m}$, donde X_n se define como el porcentaje de partículas inferior a $n \mu\text{m}$.

Ejemplo 13: Forma II de 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo cristalino

A un matraz se le añadieron 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(Hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo (16 g, 30,9 mmol) y DMF (160 ml) y la mezcla de reacción se filtró. A la solución se le añadió agua (480 ml) durante 30 min y la mezcla de reacción se calentó

a 65 °C, se agitó durante la noche, se enfrió a TA, se agitó durante 20 h y se filtró. El sólido se secó durante la noche para proporcionar el intermedio del título (11,8 g, 22,80 mmol, rendimiento del 73,8 %). Método de HPLC A: Tiempo de retención 16,19 min.

5 Ejemplos 14-16: Propiedades de las Formas Sólidas de la invención

Se analizaron muestras de la base libre cristalina de la Forma I y la Forma II de 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo de los Ejemplos 12 y 13 respectivamente, mediante difracción de rayos X de polvo (DRXP), calorimetría diferencial de barrido (CDB), análisis termogravimétrico (ATG) y sorción de humedad dinámica (SHD).

Ejemplo 14 Difracción de rayos X de polvo

Los patrones de difracción de rayos X de polvo de las Figuras 1 y 5 se obtuvieron con un difractómetro de rayos X Bruker D8-Advance usando radiación *Cu-K α* ($\lambda = 1,54051 \text{ \AA}$) con un voltaje de salida de 45 kV y una corriente de 40 mA. El instrumento se hizo funcionar en geometría Bragg-Brentano con ranuras de incidencia, divergencia y dispersión configuradas para maximizar la intensidad en la muestra. Para la medición, se presionó suavemente una pequeña cantidad de polvo (5-25 mg) sobre un soporte de muestra para formar una superficie lisa y se sometió a exposición a rayos X. Las muestras se barrieron en modo 2 θ -2 θ de 2° a 35° en 2 θ con un tamaño de etapa de 0,02° y una velocidad de barrido de 0,30° segundos por etapa. La obtención de datos se controló mediante el software de medición Bruker DifraccSuite y se analizó mediante el software Jade (versión 7.5.1). El instrumento se calibró con un patrón de corindón, dentro de un ángulo de dos theta $\pm 0,02^\circ$. Las posiciones observadas de los picos de 2 θ de DRXP y los espacios d se muestran en las Tablas 4 y 5, respectivamente para la Forma I cristalina y la Forma II cristalina. Las posiciones de los picos dos theta del material micronizado de Forma I enumeradas en la Tabla 4, se compararon con las posiciones de los picos de una muestra no micronizada preparada mediante el mismo proceso de síntesis. La diferencia máxima observada en las posiciones de los picos de dos theta fue de 0,04 grados.

Tabla 4: Datos de DRXP para la Forma Cristalina I

2-Theta	d(Å)	Área	% de A
8,89	9,94	460823	100
10,64	8,31	75783	16,4
10,99	8,05	116893	25,4
12,99	6,81	153914	33,4
13,44	6,59	156394	33,9
14,54	6,09	66952	14,5
14,76	6,00	85164	18,5
15,02	5,89	133090	28,9
15,74	5,63	59537	12,9
16,25	5,45	75492	16,4
16,47	5,38	85726	18,6
20,16	4,40	443759	96,3
20,39	4,35	207159	45,0
20,93	4,24	66277	14,4
21,81	4,07	52296	11,3
22,22	4,00	79031	17,1
23,36	3,81	62926	13,7
23,56	3,77	92923	20,2
24,99	3,56	70165	15,2
25,27	3,52	124788	27,1
26,25	3,39	98075	21,3
26,84	3,32	77303	16,8

Tabla 5: Datos de DRXP para la Forma Cristalina II

2-Theta	d(Å)	Área	% de A
8,87	9,96	342177	100
10,64	8,31	61376	17,9
11,01	8,03	86511	25,3
12,88	6,87	105843	30,9
13,47	6,57	107366	31,4
14,51	6,10	45973	13,4
14,72	6,01	45739	13,4
15,04	5,88	77441	22,6
15,58	5,69	32094	9,4
16,51	5,36	48996	14,3
16,88	5,25	18790	5,5
19,02	4,66	23117	6,8
20,00	4,44	190640	55,7
20,42	4,35	63067	18,4
20,73	4,28	56902	16,6
21,67	4,10	26834	7,8
22,30	3,98	47801	14
22,93	3,87	20999	6,1
23,32	3,81	40192	11,7
25,28	3,52	57929	16,9
25,99	3,43	28870	8,4

Ejemplo 15: Análisis térmico

5 La calorimetría diferencial de barrido (CDB) se realizó usando un módulo Modelo Q-100 de TA Instruments con un controlador Thermal Analyst. Los datos se recogieron y analizaron usando el software Thermal Analysis de TA Instruments. Se pesó con precisión una muestra de cada forma cristalina en un recipiente de aluminio cubierto. Después de un período de equilibrio isotérmico de 5 minutos a 5 °C, la muestra se calentó usando una rampa de calentamiento lineal de 10 °C/min de 0 °C a 300 °C. Un termograma de CDB representativo de la base libre cristalina de la Forma I y la Forma II de la invención se muestra en las Figuras 2 y 6, respectivamente.

10 Las mediciones de análisis termogravimétrico (ATG) se realizaron usando un módulo Modelo Q-50 de TA Instruments equipado con capacidad de resolución alta. Los datos se recogieron usando el controlador Thermal Analyst de TA Instruments y se analizaron usando el software Universal Analysis de TA Instruments. Se colocó una muestra pesada sobre una bandeja de platino y se barrió con una velocidad de calentamiento de 10 °C desde la temperatura ambiente hasta 300 °C. Las cámaras de equilibrio y horno se purgaron con flujo de nitrógeno durante el uso. En las Figuras 3 y 7 se muestra un trazo representativo de ATG de la base libre cristalina de la Forma I y la Forma II de la invención.

Ejemplo 16: Evaluación de sorción de humedad dinámica

20 La medición de sorción de humedad dinámica (SHD) se realizó usando una microbalanza atmosférica VTI, sistema SGA-100 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Se usó una muestra pesada y la humedad fue el valor más bajo posible (cercano a una HR del 0 %) al comienzo del análisis. El análisis por SHD consistió en una etapa de secado inicial (HR del 0 %) durante 120 minutos, seguida de dos ciclos de sorción y desorción con una velocidad de exploración de una HR del 5 %/etapa en el intervalo de humedad de una HR del 5 % a una HR del 90 %. La ejecución de SHD se realizó isotérmicamente a 25 °C. Un trazo representativo de la SHD para la base libre cristalina de la Forma I y la Forma II de la invención se muestra en las Figuras 4 y 8, respectivamente.

Ensayos biológicos

30

Los compuestos de la invención se han caracterizado en uno o más de los siguientes ensayos biológicos.

Ensayo 1: Ensayos bioquímicos de JAK y de cinasas colaterales

5 Se realizó un panel de cuatro ensayos bioquímicos de JAK LanthaScreen (JAK1, 2, 3 y Tyk2) en un tampón de reacción de cinasa común (HEPES 50 mM, pH 7,5, Brij-35 al 0,01 %, $MgCl_2$ 10 mM y EGTA 1 mM). Se obtuvieron enzimas JAK marcadas con GST recombinantes y un sustrato peptídico STAT1 marcado con GFP en Life Technologies.

10 Se preincubaron compuestos diluidos en serie con cada una de las cuatro enzimas JAK y el sustrato en microplacas de color blanco de 384 pocillos (Corning) a temperatura ambiente durante 1 h. Posteriormente, se añadió ATP para iniciar las reacciones de la cinasa en un volumen total de 10 μ l, con DMSO al 1 %. Las concentraciones finales de enzimas para JAK1, 2, 3 y Tyk2 son 4,2 nM, 0,1 nM, 1 nM y 0,25 nM respectivamente; las concentraciones de ATP Km correspondientes utilizadas son 25 μ M, 3 μ M, 1,6 μ M y 10 μ M; mientras que la concentración del sustrato es de 200 nM para los cuatro ensayos. Se permitió que las reacciones de las cinasas continuaran durante 1 hora a temperatura ambiente antes de que se añadiese una preparación de 10 μ l de EDTA (concentración final 10 mM) y anticuerpo Tb-anti-pSTAT1 (pTyr701) (Life Technologies, concentración final 2 nM) en tampón de dilución TR-FRET (Life Technologies). Se dejaron incubar las placas a temperatura ambiente durante 1 h antes de que se leyesen en el lector EnVision (Perkin Elmer). Las señales de relación de emisión (520 nm/495 nm) se registraron y utilizaron para calcular los valores de porcentaje de inhibición basados en DMSO y controles de fondo.

20 Para el análisis de dosis-respuesta, se trazaron los datos de porcentaje de inhibición frente a las concentraciones de compuesto y se determinaron los valores de CI_{50} a partir de un modelo de ajuste robusto de 4 parámetros con el software Prism (software GraphPad). Los resultados se expresaron como pCI_{50} (logaritmo negativo de CI_{50}) y posteriormente se convirtieron en pKi (logaritmo negativo de la constante de disociación, K_i) usando la ecuación de Cheng-Prusoff.

25 Los compuestos de ensayo que tienen un valor de pKi mayor en cada uno de los cuatro ensayos de JAK muestran una inhibición mayor de la actividad de JAK. Los compuestos de la invención sometidos a ensayo en este ensayo presentaron normalmente valores de pKi de entre aproximadamente 7,5 y aproximadamente 10,3.

30 Se desarrolló un panel de ensayos de tirosina cinasa colateral (ABL1, Flt3, RET, FGFR2, NTRK1 y pDGFR β) usando una metodología similar, con enzimas recombinantes obtenidas en Life Technologies y sustratos de péptidos biotinilados sintetizados en AnaSpec. Todos los ensayos se realizaron a temperatura ambiente con una concentración final de ATP de 100 μ M. Los reactivos de detección, incluyendo el anticuerpo Eu-anti-fosfotirosina (pY20) y SureLight APC-SA, se adquirieron en Perkin Elmer. Se registraron señales de relación de emisión (665 nm/615 nm) y se usaron para el análisis de datos y los resultados finales se expresaron como pCI_{50} . Los compuestos seleccionados sometidos a ensayo en este ensayo presentaron normalmente valores de pCI_{50} de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 6,5.

40 Ensayo 2: Ensayo celular de potencia de JAK: Inhibición de IL-13

La potencia de los compuestos de ensayo para la inhibición de la citocina dependiente de JAK interleucina-13 (IL-13) se evaluó midiendo la fosforilación de STAT6 inducida por IL-13 (IL-13, R&D Systems) en células de adenocarcinoma colorrectal humano FIT-29 (ATCC).

45 El anticuerpo anti-STAT6 (Cell Signaling Technologies) se conjugó con perlasceptoras AlphaScreen (Perkin Elmer), mientras que el anticuerpo anti-pSTAT6 (pTyr641) (Cell Signaling Technologies) se biotiniló usando Sulfo-NHS-Biotina EZ-Link (Thermo Scientific).

50 Se cultivaron células PIT-29 a 37 °C en una incubadora humidificada con CO_2 al 5 % en medio modificado 5a de McCoy (ATCC) complementado con FBS al 10 % (Hyclone), penicilina 100 U/ml, estreptomina 100 μ g/ml (Life Technologies) y GlutaMAX 2 mM (Life Technologies). El día 1 del ensayo, las células se sembraron a una densidad de 7.500 células/pocillo en placas de color blanco de 384 pocillos recubiertas con poli-D-lisina (Corning) con 25 μ l de medio y se les permitió adherirse durante la noche en la incubadora. El día 2 del ensayo, el medio se retiró y se reemplazó con 12 μ l de tampón de ensayo (solución salina equilibrada de Hank/HBSS, HEPES 25 mM y albúmina sérica bovina 1 mg/ml/BSA) que contenía dosis-respuestas de compuestos de ensayo. Los compuestos se diluyeron en serie en DMSO y después se diluyeron otras 1000 veces en medio para llevar la concentración final de DMSO a 0,1 %. Las células se incubaron con compuestos de ensayo a 37 °C durante 1 h seguido de la adición de 12 μ l de IL-13 precalentada (12 ng/ml en tampón de ensayo) para la estimulación. Después de incubar a 37 °C durante 30 min, se retiró el tampón de ensayo (que contenía el compuesto e IL-13) y 10 μ l de tampón de lisis celular (HEPES 25 mM, SDS al 0,1 %, NP-40 al 1 %, $MgCl_2$ 5 mM, EDTA 1,3 mM, EGTA 1 mM y complemento con inhibidores de proteasa Complete Ultra mini y PhosSTOP de Roche Diagnostics). Las placas se agitaron a temperatura ambiente durante 30 min antes de la adición de reactivos de detección. En primer lugar se añadió una mezcla de perlasceptoras conjugadas con biotina-anti-pSTAT6 y anti-STAT6 y se incubó a temperatura ambiente durante 2 h, seguido de la adición de perlas donadoras conjugadas con estreptavidina (Perkin Elmer). Después de un mínimo de 2 h de incubación, las placas de ensayo se leyeron en el lector de placas EnVision. Se registraron señales de luminiscencia

de AlphaScreen y se usaron para calcular los valores de porcentaje de inhibición basados en DMSO y controles de fondo.

5 Para el análisis de dosis-respuesta, se trazaron los datos de porcentaje de inhibición frente a las concentraciones de compuestos y se determinaron los valores de CI_{50} a partir de un modelo de ajuste robusto de 4 parámetros con el software Prism. Los resultados se expresaron como el logaritmo negativo del valor de CI_{50} , pCI_{50} .

10 Los compuestos de ensayo que tienen un valor de pCI_{50} más alto en este ensayo muestran una mayor inhibición de la fosforilación de STAT6 inducida por IL-13. Los compuestos de la invención sometidos a ensayo en este ensayo permitieron normalmente valores de pCI_{50} de entre aproximadamente 6,0 y aproximadamente 7,8.

Ensayo 3: Ensayo de citotoxicidad de JAK

15 Se realizó un ensayo de viabilidad/citotoxicidad celular luminiscente CellTiter-Glo en células epiteliales de pulmón humano BEAS-2B (ATCC) en condiciones normales de crecimiento.

20 Las células se cultivaron a 37 °C en una incubadora humidificada con CO₂ al 5 % en DMEM al 50 %/medio F-12 al 50 % (Life Technologies) complementado con FBS al 10 % (Hyclone), penicilina 100 U/ml, estreptomycin 100 µg/ml (Life Technologies) y GlutaMAX 2 mM (Life Technologies). El día 1 del ensayo, se sembraron células a una densidad de 500 células/pocillo en placas de cultivo de tejido de 384 pocillos de color blanco (Corning) con 25 µl de medio y se les permitió adherirse durante la noche en la incubadora. El día 2 del ensayo, se añadieron 5 µl de medio que contenía dosis-respuestas de los compuestos de ensayo y se incubaron a 37 °C durante 48 h. Posteriormente se añadieron 30 µl de solución de detección CellTiter-Glo (Promega), se mezclaron en un agitador orbital durante 5 min y se incubaron durante 10 min adicionales antes de que se leyese en el lector EnVision. Se registraron señales de luminiscencia y se calcularon los valores de control de porcentaje de DMSO.

30 Para el análisis de dosis-respuesta, se trazaron los datos de control de DMSO en porcentaje frente a las concentraciones de compuesto para derivar curvas de dosis-respuesta por línea que conecta cada punto de datos. La concentración a la que cada curva cruza el umbral de inhibición del 15 % se define como CC_{15} . Los resultados se expresaron como el logaritmo negativo del valor de CC_{15} , pCC_{15} .

35 Se espera que los compuestos de ensayo que presentan un valor de pCC_{15} más bajo en este ensayo tengan menos probabilidad de provocar citotoxicidad. Los compuestos de la invención sometidos a ensayo en este ensayo presentaron normalmente valores de pCC_{15} de entre menos de 5 y aproximadamente 6.

Resultados del ensayo *in vitro*

40 Todos los compuestos de los Ejemplos 1 a 9 y las Tablas 1 a 3 se sometieron a ensayo en uno o más de los ensayos descritos anteriormente. Puesto que se descubrió que la potencia de la enzima JAK1 era predictiva de la potencia celular descrita en el Ensayo 2, la caracterización enzimática de determinados compuestos se limitó a la enzima JAK1.

45 En la Tabla 6 a continuación, para los ensayos de las enzimas JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2, A representa un valor de $pKi > 10$ ($Ki < 0,1$ nM), B representa un valor de pKi de entre 9 y 10 (Ki de entre 1 nM y 0,1 nM), C representa un valor de pKi de entre 8 y 9 (Ki de entre 10 nM y 1 nM) y D representa un valor de pKi de entre 7,5 y 8 (Ki de entre 31,6 nM y 10 nM). Para el ensayo de potencia de THP-1, A representa un valor de $pCI_{50} > 7,5$ ($CI_{50} < 32$ nM), B representa un valor de pCI_{50} de entre 6,7 y 7,5 (CI_{50} de entre 200 nM y 32 nM) y C representa un valor de pCI_{50} de entre 6 y 6,7 (CI_{50} de entre 1 µM y 200 nM).

Tabla 6

Número de ejemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk2 (pKi)	HT-29 (pCI ₅₀)
1	A	A	C	B	B
2	A	A	B	B	B
3	B	A	C	B	B
4	B	A	C	B	B
5	B	B	D	C	C
6	B				
7	A	A	B	B	B
8	B	B	C	B	B
9	B	B	D	B	B

50

(continuación)

Número de ejemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk2 (pKi)	HT-29 (pCl ₅₀)
Tabla 1					
1-1	C				B
1-2	B				C
1-3	C				C
1-4	D				
1-5	B				B
1-6	A				B
1-7	B				
1-8	A				A
1-9	B				B
1-10	B				
1-11	B				B
1-12	B	B	C	B	
1-13	A	A	B	B	A
1-14	B	A	C	B	A
1-15	B	A	C	B	B
1-16	B	B	C	B	B
1-17	B	A	C	B	A
1-18	B				
1-19	B				A
Tabla 2					
2-1	C				C
2-2	B				B
2-3	B				B
Número de ejemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk2 (pKi)	HT-29 (pCl ₅₀)
2-4	B				B
2-5	B	B	D	C	
2-6	B	B	C	B	
2-7	B				B
2-8	B				B
Tabla 3					
3-1	B				
3-2	B	B		B	
3-3	B	B		C	
3-4	B	B		B	
3-5	B	B		B	
3-6	B	B		C	
3-7	B	B		B	
3-8	B	B		B	

Ensayo 4: Ensayo celular de potencia de JAK: Inhibición de pSTAT6 estimulada por IL-4 en linfocitos T CD3+

- 5 Se midió la potencia de los compuestos de ensayo para determinar la inhibición de la fosforilación de STAT6 estimulada por interleucina-4 (IL-4) en linfocitos T CD3 positivos (CD3+) en células mononucleares de sangre periférica humana (CMSP) aisladas de sangre completa humana (Stanford Blood Center) usando citometría de flujo. Debido a que IL-4 señala a través de JAK, este ensayo proporciona una medida de la potencia celular de JAK.
- 10 Se identificaron linfocitos T CD3+ usando un anticuerpo anti-CD3 conjugado con ficoeritrobilina (PE) (Clon CUHT1,

BD Biosciences), mientras que se usó un anticuerpo anti-pSTAT6 conjugado con Alexa Flúor 647 (pY641, Clon 18/P, BD Biosciences) para detectar la fosforilación de STAT6.

5 Se aislaron células mononucleares de sangre periférica humana (CMSP) de sangre completa humana de donantes sanos usando un gradiente de ficol. Las células se cultivaron en una incubadora humidificada con CO₂ al 5 % a 37 °C en RPMI (Life Technologies) complementado con suero bovino fetal inactivado por calor al 10 % (FBS, Life Technologies), Glutamax 2 mM (Life Technologies), HEPES 25 mM (Life Technologies) y IX Pen/Estrep (Life Technologies). Las células se sembraron a 250.000 células/pocillo en medio (200 µl), se cultivaron durante 1 h y después se resuspendieron en medio de ensayo (50 µl) (RPMI complementado con albúmina sérica bovina al 0,1 % (Sigma), Glutamax 2 mM, HEPES 25 mM y IX Pen/estrep) que contenía diversas concentraciones de compuestos de ensayo. Los compuestos se diluyeron en serie en DMSO y después se diluyeron otras 500 veces (hasta una concentración de ensayo final 2x) en medio de ensayo. Los compuestos de ensayo (50 µl) se incubaron con células a 37 °C, CO₂ al 5 % durante 1 h, seguido de la adición de 50 µl de IL-4 (R&D Systems; concentración final 20 ng/ml) en medios de ensayo precalentados durante 30 min. Después de la estimulación con citocinas, las células se fijaron con solución fija precalentada (100 µl) (BD Biosciences) durante 10 min a 37 °C, CO₂ al 5 %, se lavaron dos veces con tampón FACS (1 ml) (FBS al 2 % en DPBS) y se resuspendieron en 1000 µl de Tampón Perm III enfriado con hielo (BD Biosciences) durante 30 min a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con tampón FACS y después se resuspendieron en 100 µl de tampón FACS que contenía PE anti-CD3 (dilución 1:50) y Alexa Flúor 647 anti-pSTAT6 (dilución 1:5) durante 60 min a temperatura ambiente en oscuridad. Después de la incubación, las células se lavaron dos veces en tampón FACS antes de que se analizaran usando un citómetro de flujo LSRII (BD Biosciences).

25 Para determinar la potencia inhibidora de los compuestos de ensayo en respuesta a IL-4, se midió la intensidad fluorescente media (IFM) de pSTAT6 en linfocitos T CD3+. Se determinaron valores de CI₅₀ a partir del análisis de las curvas de inhibición de IFM frente a la concentración de compuesto. Los datos se expresan como valores de pCI₅₀ (logaritmo decimal negativo de CI₅₀) (media ± desviación típica). El compuesto del Ejemplo 2 presentó un valor de pCI₅₀ de aproximadamente 7,3 en este ensayo.

Ensayo 5: Ensayo celular de potencia de JAK: Inhibición de pSTAT1 inducida por IFN γ

30 La potencia de los compuestos de ensayo para la inhibición de la fosforilación de STAT1 estimulada por interferón gamma (IFN γ) se midió en monocitos CD14 positivos (CD14+) derivados de sangre completa humana (Stanford Blood Center) usando citometría de flujo. Debido a que IFN γ señala a través de JAK, este ensayo proporciona una medida de la potencia celular de JAK.

35 Los monocitos se identificaron usando un anticuerpo anti-CD14 conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (Clon RM052, Beckman Coulter) y se usó un anticuerpo anti-pSTAT1 conjugado con Alexa Flúor 647 (pY701, Clon 4a, BD Biosciences) para detectar la fosforilación de STAT1.

40 Se aislaron células mononucleares de sangre periférica humana (CMSP) de sangre completa humana de donantes sanos usando un gradiente de ficol. Las células se cultivaron en una incubadora humidificada con CO₂ al 5 % a 37 °C en RPMI (Life Technologies) complementado con suero bovino fetal al 10 % (FBS, Life Technologies), Glutamax 2 mM (Life Technologies), HEPES 25 mM (Life Technologies) y IX Pen/Estrep (Life Technologies). Las células se sembraron a 250.000 células/pocillo en medio (200 µl), se cultivaron durante 2 h y se resuspendieron en medio de ensayo (50 µl) (RPMI complementado con albúmina sérica bovina al 0,1 % (Sigma), Glutamax 2 mM, HEPES 25 mM y IX Pen/estrep) que contenía diversas concentraciones de compuestos de ensayo. Los compuestos se diluyeron en serie en DMSO y después se diluyeron otras 1000 veces en medio para llevar la concentración final de DMSO a 0,1 %. Los compuestos de ensayo se incubaron con células a 37 °C, CO₂ al 5 % durante 1 h, seguido de la adición de IFN γ precalentado (R&D Systems) en medio (50 µl) a una concentración final de 0,6 ng/ml durante 30 min. Después de la estimulación con citocinas, las células se fijaron con solución fija precalentada (100 µl) (BD Biosciences) durante 10 min a 37 °C, CO₂ al 5 %, se lavaron dos veces con tampón FACS (1 ml) (BSA al 1 % en PBS), se resuspendieron en FITC anti-CD14:tampón FACS 1:10 (100 µl) y se incubaron a 4 °C durante 15 min. Las células se lavaron una vez y después se resuspendieron en Tampón Perm III enfriado con hielo (BD Biosciences) (100 µl) durante 30 min a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con tampón FACS y después se resuspendieron en Alexa Flúor 647 anti-pSTAT1:tampón FACS 1:10 (100 µl) durante 30 min a TA en la oscuridad, se lavaron dos veces en tampón FACS y se analizaron usando un citómetro de flujo LSRII (BD Biosciences).

60 Para determinar la potencia inhibidora de los compuestos de ensayo, la intensidad de fluorescencia media (IFM) de pSTAT1 se midió en monocitos CD14+. Se determinaron valores de CI₅₀ a partir del análisis de las curvas de inhibición de IFM frente a la concentración de compuesto. Los datos se expresan como valores de pCI₅₀ (logaritmo decimal negativo de CI₅₀) (media ± desviación típica). El compuesto del Ejemplo 2 presentó un valor de pCI₅₀ de aproximadamente 7,6 en este ensayo.

Ensayo 6: Determinación de la absorción en ratas cateterizadas

65 La biodisponibilidad oral (% de F), la fracción absorbida (% de Fa) y la fracción de aclaramiento hepático que escapa (% de F_h) se determinaron en ratas Sprague Dawley a partir de los siguientes dos estudios:

(1) Farmacocinética en ratas después de una dosis IV del compuesto de ensayo: Después de la dosificación IV, las muestras de plasma se recogieron normalmente de 0-6 h. Los niveles de fármaco se determinaron usando un método CL-EM-EM. Los niveles de fármaco resultantes se usaron para calcular los parámetros farmacocinéticos IV: AUC IV y Dosis IV.

(2) Las ratas que se han cateterizado en su vena porta (VP) y también en su vena yugular (VY) se dosificaron por vía oral con el compuesto de ensayo. Después de la dosificación oral, las muestras de plasma se recogieron normalmente de 0-6 h tanto de la vena porta como de la vena yugular. Los niveles de fármaco se determinaron usando un método CL-EM-EM. Los niveles de fármaco resultantes se usaron para calcular los siguientes parámetros farmacocinéticos: AUC VO VP, AUC VO VY y Dosis VO.

Usando los datos derivados de los estudios anteriores, la biodisponibilidad oral % de F y las cantidades % de Fa y % de F_h se calcularon a partir de las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ de F} = (\text{AUC VO VY} / \text{AUC IV}) * (\text{Dosis IV} / \text{Dosis VO}) * 100$$

$$\% \text{ de F}_a = (\text{AUC VO VP} / \text{AUC IV}) * (\text{Dosis IV} / \text{Dosis VO}) * 100$$

$$\% \text{ de F}_h = \text{AUC VO VY} / \text{AUC VO VP}$$

donde:

AUC VO VY = Área bajo la curva después de la dosis oral y plasma recogido de la vena yugular

AUC VO VP = Área bajo la curva después de la dosis oral y plasma recogido de la vena porta

AUC IV = Área bajo la curva después de una dosis intravenosa

Dosis IV = Dosis intravenosa en mg/kg

Dosis VO = Dosis oral en mg/kg

Los compuestos de los Ejemplos 1-4 se sometieron a ensayo en este ensayo y presentaron una biodisponibilidad oral (% de F) inferior a aproximadamente el 25 %. En particular, los compuestos de los Ejemplos 1, 2 y 4 presentaron valores de % de F inferiores a aproximadamente el 5 %. Además, los compuestos de los Ejemplos 1 y 2 presentaron una absorción en la vena porta (% de Fa) inferior a aproximadamente el 25 %, mientras que los compuestos de los Ejemplos 3 y 4 presentaron valores de % de Fa superiores al 40 %.

Ensayo 7: Farmacocinética en colon en ratas

El compuesto de ensayo se formuló en metilcelulosa al 0,5 % en agua y se dosificó por sonda oral a 3,2 mg/kg y 100 mg/kg a ratas Sprague Dawley. En diversos puntos temporales (normalmente 0,5, 1, 3, 6, 24 h) después de la dosificación, se extrajeron muestras de sangre a través de punción cardíaca y se extrajeron cólores intactos de las ratas. Las muestras de sangre se centrifugaron a 1500 x g durante 15 min para recoger plasma. Los cólores se lavaron con solución salina tamponada con fosfato enfriada con hielo (PBS), se pesaron y se homogeneizaron a una dilución de 1:10 en PBS. Los niveles en plasma y colon del compuesto de ensayo se determinaron mediante análisis por CL-EM frente a patrones analíticos contruidos en una curva patrón en la matriz de ensayo. Se determinó una relación de colon a plasma como la relación del AUC de colon al AUC de plasma en µg h/g. El compuesto del Ejemplo 2 presentó una relación de colon a plasma en exceso de aproximadamente 250 a 5 mg/kg y en exceso de aproximadamente 1200 a 100 mg/kg.

Ensayo 8: Modelo en ratón de colitis inducida por oxazolona

La colitis inducida por oxazolona es un modelo experimental que tiene una semejanza histológica con la colitis ulcerosa humana (Heller et al. *Immunology*, 2002, 17, 629-638). Se usaron ratones adultos BALB/C de Harlan en el ensayo. El día 1, los animales se anestesiaron ligeramente con isoflurano y los pelos entre los hombros se retiraron cuidadosamente antes de que se aplicase lentamente oxazolona (al 4 %, 150 µl, formulación de acetona:aceite de oliva 4:1) o solución de vehículo para sensibilizar la piel. Siete días después de la sensibilización de la piel, los ratones se dejaron en ayunas durante la noche, se anestesiaron con inhalación de isoflurano y se insertó cuidadosamente una jeringa de 1 ml equipada con un catéter 3,5-F, cargada con solución de oxazolona, aproximadamente 4 cm dentro del colon del ratón. Después de la inserción, se inyectaron 50 µl de la solución de oxazolona (1 %, formulación de etanol:agua 1:1) muy lentamente (durante 30 s usando una bomba de inyección) en el colon. El catéter se retiró y los ratones se mantuvieron en posición vertical (cabeza abajo) durante 2 min para garantizar que toda la solución de oxazolona permaneciese dentro del colon. El tratamiento farmacológico (VO, dos veces al día o tres veces al día) o el vehículo se iniciaron un día antes de la prueba de intrarrectal (IR) con oxazolona. Dos días después de la prueba de provocación intrarrectal con oxazolona, el Índice de Actividad de la Enfermedad (IAE) se evaluó por experimentadores desconocedores del tratamiento para cada ratón de acuerdo con los criterios de puntuación: puntuación de consistencia de heces (0, normal; 2, suelta; 4, diarrea), puntuación de sangrado macroscópico (0, ausencia; 2, tinción de sangre; 4, presencia) y puntuación de pérdida de peso (0, ninguna; 1, 1 %-5 %; 2, 5 %-10 %; 3, 10 %-20 %; 4, más del 20 %); IAE = promedio de (puntuación de consistencia de heces + puntuación de sangrado macroscópico +

puntuación de pérdida de peso).

Se sometieron a ensayo compuestos seleccionados de la invención en el ensayo. La eficacia en el modelo se evidencia por una disminución en la puntuación de IAE en comparación con la puntuación de los animales tratados con vehículo. Los compuestos de los ejemplos 2 y 4 presentaron una disminución estadísticamente significativa en la puntuación de IAE en comparación con los animales tratados con vehículo en el modelo de oxazolona a una dosis de 1, 3 y/o 10 mg/kg dos veces al día, mientras que el compuesto del ejemplo 1 no presentó ninguna disminución estadísticamente significativa a las dosis de hasta 10 mg/kg dos veces al día sometidas a ensayo en el ensayo.

10 Ensayo 9: Efectos de la inmunosupresión en linfocitos citolíticos naturales (NK) esplénicos de ratón

15 El agotamiento de las células esplénicas de ratón es un modelo experimental de inmunosupresión (Kudlacz et al., *Am. J. of Transplantation*, 2004, 4, 51-57). El compuesto del Ejemplo 2 se evaluó en el modelo de células esplénicas de ratón siguiendo el mismo paradigma de tratamiento que el utilizado en el modelo de colitis inducida por oxazolona (Ensayo 8).

20 Se usaron ratones adultos Balb/C machos (de 12-14 semanas de edad) de Harlan para el estudio. El compuesto (1,10 y 100 mg/kg, dos veces al día) y tofacitinib (30 y 60 mg/kg, dos veces al día) como control positivo se dosificaron por vía oral durante tres días a ratones sin tratamiento previo. Los bazo se recogieron 1 h después de la última dosis y se trituraron inmediatamente para la tinción del subtipo celular. Antes de la fijación, los anticuerpos marcados con fluoróforo para CD19 (FITC; células B), CD3e (PE; linfocitos T pan) y DX5 (APC; linfocitos NK) se incubaron con muestras de esplenocitos de cada animal para permitir el análisis en % simultáneo de múltiples subtipos en el citómetro de flujo. El número de células de bazo totales para cada animal se midió mediante el contador de células automatizado de mano Sceptre™ 2.0.

25 El número absoluto de la población de subtipos de linfocitos (por ejemplo, linfocitos B, T y NK esplénicos) se calculó a partir del porcentaje de cada subtipo por el total de células de bazo para cada animal. Se usó un ANOVA de una sola vía, con el ensayo a posteriori de Dunnett, para comparar el número de linfocitos esplénicos del vehículo y los grupos de compuestos de ensayo. El nivel α se estableció a $p < 0,05$. Los datos se presentaron como la media \pm ETM para cada grupo.

30 El control positivo, tofacitinib (30 y 60 mg/kg; VO, dos veces al día), disminuyó dependiendo de la dosis y significativamente los recuentos de linfocitos NK esplénicos. En el mismo estudio, los recuentos de linfocitos NK esplénicos no se vieron afectados por el compuesto del Ejemplo 2 a dosis VO (dos veces al día) de hasta 100 mg/kg (la dosis máxima sometida a ensayo). No se observó ningún efecto del tratamiento para las poblaciones de linfocitos B y T con ninguno de los compuestos.

35 Estos datos, junto con la dosis mínima de 1 mg/kg que provocó un efecto anticelítico significativo en el modelo de ratón de colitis inducida por oxazolona (Ensayo 8), permiten calcular un índice terapéutico funcional de > 100 para el compuesto del Ejemplo 2.

40 Ensayo 10: Farmacocinética dérmica en piel de ratón y cerditos enanos

45 El objetivo de este ensayo era determinar la farmacocinética epidérmica, dérmica y plasmática de un compuesto de ensayo después de una exposición de 24 h a piel intacta de ratón o cerditos enanos.

50 El compuesto preparado en el Ejemplo 12, 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonil)azetidina-3-carbonitrilo, se formuló al 0,5 % (p/p) en crema o pomada como se describe, como Formulación A o Formulación B, respectivamente en la Tabla 7.

55 Veinticuatro horas antes de la dosificación, se afeitó el pelo del lomo de ratones Balb/c machos de 25 g, exponiendo un área de al menos 6 cm² (aproximadamente el 10 % de la superficie corporal) y, en un experimento separado, de cerditos enanos Gottingen de 10 kg exponiendo un área de al menos 450 cm² (aproximadamente el 10 % de la superficie corporal). En el momento cero, después de la anestesia con isoflurano, el compuesto de ensayo se aplicó en el lomo de ratones o cerditos enanos a una dosis de 25 μ l/cm². La piel se cubrió con una cubierta adhesiva para evitar la pérdida de compuesto en la jaula o la cama.

60 Después de 24 h de exposición, los lomos se lavaron suavemente con agua y jabón para retirar el fármaco no absorbido y se secaron con golpecitos. Inmediatamente después de este lavado, se extrajo sangre mediante punción cardíaca de los ratones y a través de venopunción de los cerditos enanos. La piel externa (estrato córneo) se retiró después tirando con una cinta adhesiva. Tras la exposición de la epidermis, se tomó una biopsia por punción de 0,5 cm. La epidermis y la dermis se separaron rápidamente, se pesaron y se congelaron. Se obtuvieron muestras similares 48 h después de la dosificación en ratones y 48 h, 94 h y 168 h (7 días) después de la dosificación en cerditos enanos.

65 Las muestras de epidermis y dermis se homogeneizaron en agua 1:10 (p/v) usando un homogeneizador ultrasónico

Covaris. Las muestras se extrajeron en 3 volúmenes de acetonitrilo y se cuantificaron contra una curva patrón a través de análisis por CL-EM. Como lo demuestran los parámetros farmacocinéticos AUC_{0-t} para el plasma, la epidermis y la dermis que se muestran en la Tabla 8 a continuación, se presentó una exposición significativa al compuesto en las capas de epidermis y dermis, mientras que la exposición al plasma fue insignificante en ratones y por debajo del límite de cuantificación en cerditos enanos.

5

Tabla 7

Formulación A		Formulación B	
Compuesto del Ejemplo 12	0,5 %	Compuesto del Ejemplo 12	0,5 %
Ácido esteárico	5 %	Octilhidroxiestearato	5 %
Alcohol cetosteárico	5 %	Triglicérido C8-C10	5 %
Palmitato de isopropilo	4 %	Vaselina (Petrolatum)	79,5 %
Octilhidroxiestearato	2 %	N-Metilpirrolidona	10 %
BRIJ S2 (PEG 2 Estearil Éter)	1,08 %		
BRIJ S20 (PEG 20 Estearil Éter)	6,92 %		
N-Metilpirrolidina	10 %		
PEG400	10 %		
Agua OI	55,5 %		

Tabla 8

	AUC_{0-t} de plasma ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	AUC_{0-t} de epidermis ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{g}$)	AUC_{0-t} de dermis ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{g}$)
Formulación A en ratón	0,014	718	61
Formulación B en ratón	0,006	2830	296
Formulación A en cerditos enanos	<0,001	988	71
Formulación B en cerditos enanos	<0,001	4030	114

10

Ensayo 11: Modelo de dermatitis de contacto irritante inducida por TPA tópico en ratones

El objetivo de este ensayo es evaluar el efecto antiinflamatorio en un modelo de dermatitis aguda de los compuestos de ensayo que se estudian para afecciones inflamatorias cutáneas tales como la dermatitis atópica (Dong et al., *J Pharmacol Exp Ther*, 2013, 344, 436-446).

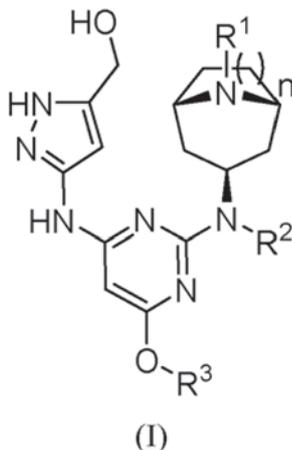
15

La aplicación cutánea tópica de éster de forbol 12-0-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) en ratones provoca una respuesta inflamatoria que se caracteriza por edema y el flujo de entrada de neutrófilos en la fase temprana (2-24 h) y por la proliferación de células epidérmicas en la fase tardía (24-48 h) (Griffiths et al., *Agents and Actions*, 1988, 25, 344-351). A ratones Balb/c hembra se les administró por vía tópica vehículo (DMSO:acetona 1:7) o 20 μl de una solución de TPA (2,5 μg) en el vehículo en cada oreja. 30 min antes y 15 min después de la administración de TPA, se aplicó por vía tópica a cada oreja el vehículo o el compuesto del Ejemplo 2 a dosis de 30, 100, 300, 1000 y 3000 μg en vehículo. El grado de inflamación se evaluó como el cambio en el espesor de la oreja 6 horas después de la aplicación de TPA. El compuesto del Ejemplo 2 presentó una inhibición dependiente de la dosis y de la concentración del aumento inducido por TPA del espesor de la oreja. El efecto estadísticamente significativo máximo fue una inhibición del 41 % observada a la dosis de 1000 μg .

25

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



5

en donde

R¹ se selecciona entre:

10

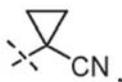
(a) -S(O)₂R⁴, en donde R⁴ se selecciona entre:

15

alquilo C₁₋₄, en donde el alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con -CN, -O-alquilo C₁₋₃ o cicloalquilo C₃₋₆,
 heterociclilo que contiene de 4 a 6 átomos en el anillo incluyendo un átomo de nitrógeno, en donde cualquier heterociclilo está opcionalmente sustituido con -CN,
 cicloalquilo C₃₋₆,
 piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con flúor y fenilo;

20

(b) alquilo C₁₋₄, en donde el alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con -CN,



25

o piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con -CN; y
 (c) -C(O)R⁵, en donde R⁵ se selecciona entre:

30

alquilo C₁₋₄, en donde el alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con cicloalquilo C₃₋₆ o con uno o dos flúores, O-alquilo C₁₋₄,
 cicloalquilo C₃₋₆ y morfolinilo;

35

R² es hidrógeno o metilo;
 R³ es alquilo C₁₋₃; y
 n es 1 o 2;

o una sal farmacéuticamente aceptable o estereoisómero del mismo.

40

2. El compuesto de la Reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable, en donde R³ es metilo.

3. El compuesto de la Reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable, en donde R² es metilo.

4. El compuesto de la Reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable, en donde n es 2.

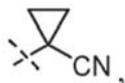
45

5. El compuesto de la Reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable, en donde R¹ se selecciona entre:

(a) S(O)₂R⁴, en donde R⁴ se selecciona entre:

alquilo C₁₋₂, en donde el alquilo C₁₋₂ está opcionalmente sustituido con -CN, -OCH₃ o ciclopropilo, azetidino o pirrolidino, en donde el azetidino está opcionalmente sustituido con -CN, ciclopropilo, piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con flúor y fenilo;

(b) alquilo C₁₋₄, en donde el alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con -CN,



o piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con -CN; y
(c) C(O)R⁵, en donde R⁵ se selecciona entre:

alquilo C₁₋₂, en donde el alquilo C₁₋₂ está opcionalmente sustituido con ciclopropilo o con uno o dos flúores, O-alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆ y morfolinilo.

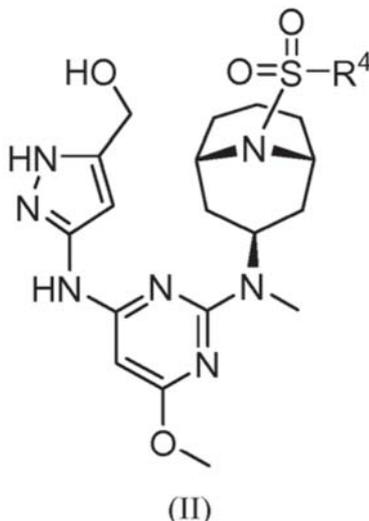
6. El compuesto de la Reivindicación 1, en donde el compuesto se selecciona entre:

1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-il)sulfonil)azetidina-3-carbonitrilo,
1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonil)azetidina-3-carbonitrilo,
3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(metilsulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
3-((6-metoxi-2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-((2-metoxietil)sulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
3-((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-il)propanonitrilo,
5-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)metil)picolinonitrilo,
5-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)metil)nicotinonitrilo,
1-((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de isobutilo,
2,2-difluoro-1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)etan-1-ona,
3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(azetidin-1-ilsulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonil)azetidina-3-carbonitrilo,
3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-((5-fluoropiridin-3-il)sulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
3-((6-metoxi-2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(fenilsulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(etilsulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-((ciclopropilmetil)sulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
3-((6-metoxi-2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(piridin-3-ilsulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
3-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)-sulfonil)propanonitrilo,
3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(pirrolidin-1-ilsulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(ciclopropilsulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
3-((6-methoxy-2-(methyl((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(piridin-3-ilsulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(fenilsulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(azetidín-1-ilsulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,

- (3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-((ciclopropilmetil)sulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
 (3-((2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-((5-fluoropiridin-3-il)sulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
 5 4-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)metil)picolinonitrilo,
 (3-((6-metoxi-2-(((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(piridin-3-ilmetil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
 10 3-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)propanonitrilo,
 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)metil)ciclopropano-1-carbonitrilo,
 (3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(piridin-4-ilmetil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,
 15 4-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)metil)picolinonitrilo,
 2,2-difluoro-1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)etan-1-ona,
 (1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de isobutilo,
 20 (1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonano-9-carboxilato de metilo,
 ((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxi-pirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)(morfolino)metanona,
 25 2-ciclopropil-1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)etan-1-ona,
 ciclopentil((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)metanona y
 30 ciclobutil((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)metanona,

y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

7. El compuesto de la Reivindicación 1, en donde el compuesto es un compuesto de fórmula (II):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. El compuesto de la Reivindicación 7, o una sal farmacéuticamente aceptable, en donde R^4 es metilo, etilo, azetidino, pirrolidino, ciclopropilo, piridinilo o fenilo, en donde el etilo está opcionalmente sustituido con metoxi, el azetidino está opcionalmente sustituido con -CN y el piridinilo está opcionalmente sustituido con flúor.

9. El compuesto de la Reivindicación 7, en donde el compuesto se selecciona entre:

- 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonil)azetidina-3-carbonitrilo,
 (3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*s*,5*S*)-9-(metilsulfonil)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-

pirazol-5-il)metanol,

(3-((6-metoxi-2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-((2-metoxietil)sulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,

5 3-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxi-pirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)-sulfonyl)propanonitrilo,

(3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(pirrolidin-1-ilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,

(3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(ciclopropilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,

10 (3-((6-methoxy-2-(methyl((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(piridin-3-ilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,

(3-((6-metoxi-2-(metil((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(fenilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,

15 (3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(azetidín-1-ilsulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,

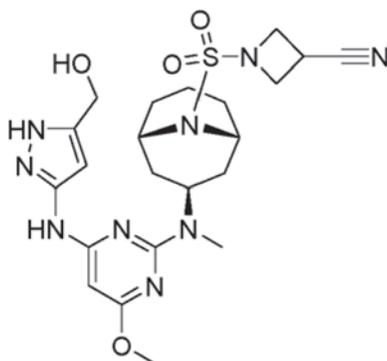
(3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-(ciclopropilmetil)sulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol y

(3-((2-(((1*R*,3*S*,5*S*)-9-((5-fluoropiridin-3-il)sulfonyl)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-il)(metil)amino)-6-metoxipirimidin-4-il)amino)-1*H*-pirazol-5-il)metanol,

20

y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

10. Un compuesto de la Reivindicación 1 de fórmula:

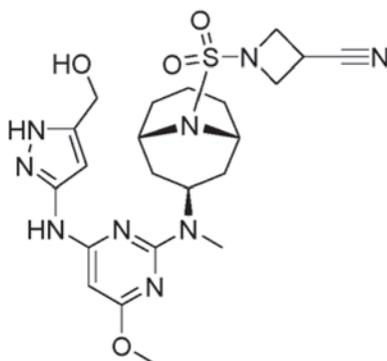


25

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. Un compuesto de la Reivindicación 1 de fórmula:

30



12. Un compuesto de la Reivindicación 1 en donde el compuesto es una forma cristalina de 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo, en donde la forma cristalina se caracteriza por una difracción de rayos X de polvo que comprende picos de difracción a valores de 2θ de $8,89 \pm 0,20$, $12,99 \pm 0,20$, $13,44 \pm 0,20$ y $20,16 \pm 0,20$.

35

13. La forma cristalina de la Reivindicación 12 en donde el patrón de difracción de rayos X de polvo se caracteriza adicionalmente por tener dos o más picos de difracción adicionales a valores de 2θ seleccionados entre $10,64 \pm 0,20$, $10,99 \pm 0,20$, $15,02 \pm 0,20$, $15,74 \pm 0,20$, $16,47 \pm 0,20$, $20,93 \pm 0,20$, $22,22 \pm 0,20$ y $26,25 \pm 0,20$.

40

14. La forma cristalina de la Reivindicación 12, en donde la forma cristalina se caracteriza por un patrón de difracción

de rayos X de polvo en el que las posiciones de los picos están sustancialmente de acuerdo con las posiciones de los picos del patrón que se muestra en la Figura 1.

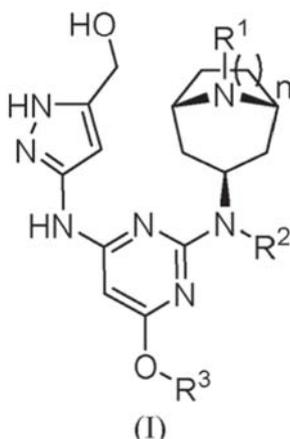
5 15. La forma cristalina de la Reivindicación 12 en donde la forma cristalina se caracteriza por un trazo de calorimetría diferencial de barrido registrado a una velocidad de calentamiento de 10 °C por minuto que muestra un máximo en el flujo de calor endotérmico a una temperatura entre aproximadamente 235 °C y aproximadamente 245 °C.

10 16. La forma cristalina de la Reivindicación 15, en donde la forma cristalina se caracteriza por un trazo de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente de acuerdo con el que se muestra en la Figura 2.

17. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, o la forma cristalina de una cualquiera de las Reivindicaciones 12 a 16 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

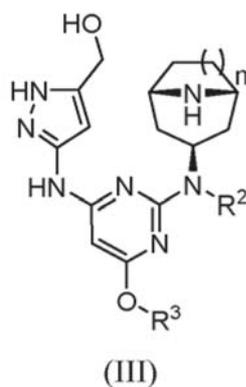
15 18. La composición farmacéutica de la Reivindicación 17 que comprende adicionalmente uno o más agentes terapéuticos útiles para tratar enfermedades inflamatorias gastrointestinales.

19. Un proceso para preparar un compuesto de fórmula (I):



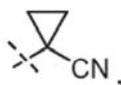
20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R¹, R², R³ y n son como se definen en la Reivindicación 1, comprendiendo el proceso:

25 (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (III):



en donde R², R³ y n son como se definen en la Reivindicación 1, con

30 (i) Cl-S(O)₂R⁴, en donde R⁴ es como se define en la Reivindicación 1;
 (ii) un compuesto de fórmula L-R^A en donde L es un grupo saliente y R^A es alquilo C₁₋₄, en donde el alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con -CN,

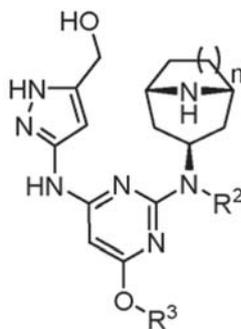


35

- o piridinilo, en donde el piridinilo está opcionalmente sustituido con -CN;
- (iii) Cl-C(O)R⁵, en donde R⁵ es como se define en la Reivindicación 1; o
- (iv) HO-C(O)R⁵, en donde R⁵ es como se define en la Reivindicación 1; y

5 (b) opcionalmente formar una sal farmacéuticamente aceptable para proporcionar un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20. Un compuesto de fórmula (III):



(III)

10 en donde R², R³ y n son como se definen en la Reivindicación 1.

15 21. El compuesto de la Reivindicación 20, en donde R² y R³ son cada uno metilo.

22. Un método para preparar la forma cristalina de 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo como se define en la Reivindicación 12, comprendiendo el método:

- 20 (a) disolver 1-(((1*R*,3*s*,5*S*)-3-((4-((5-(hidroximetil)-1*H*-pirazol-3-il)amino)-6-metoxipirimidin-2-il)(metil)amino)-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-il)sulfonyl)azetidina-3-carbonitrilo en un diluyente seleccionado entre *N*-metil-pirrolidona y dimetilformamida para formar una mezcla de reacción;
- (b) añadir acetona y agua a la mezcla de reacción; y
- 25 (c) aislar la forma cristalina de la mezcla de reacción.

23. El compuesto de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, o la forma cristalina de una cualquiera de las Reivindicaciones 12 a 16 para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria gastrointestinal en un mamífero.

30 24. El compuesto para el uso de la Reivindicación 23 en donde la enfermedad inflamatoria gastrointestinal es la colitis ulcerosa.

25. El compuesto para el uso de la Reivindicación 23 en donde el compuesto es para su uso en combinación con uno o más agentes terapéuticos útiles para tratar una enfermedad inflamatoria gastrointestinal.

35 26. El compuesto de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, o la forma cristalina de una cualquiera de las Reivindicaciones 12 a 16 para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria de la piel en un mamífero.

40 27. El compuesto para el uso de la Reivindicación 26 en donde la enfermedad inflamatoria de la piel es la dermatitis atópica.

28. El compuesto para el uso de la Reivindicación 23 en donde la enfermedad inflamatoria gastrointestinal es la enfermedad de Crohn.

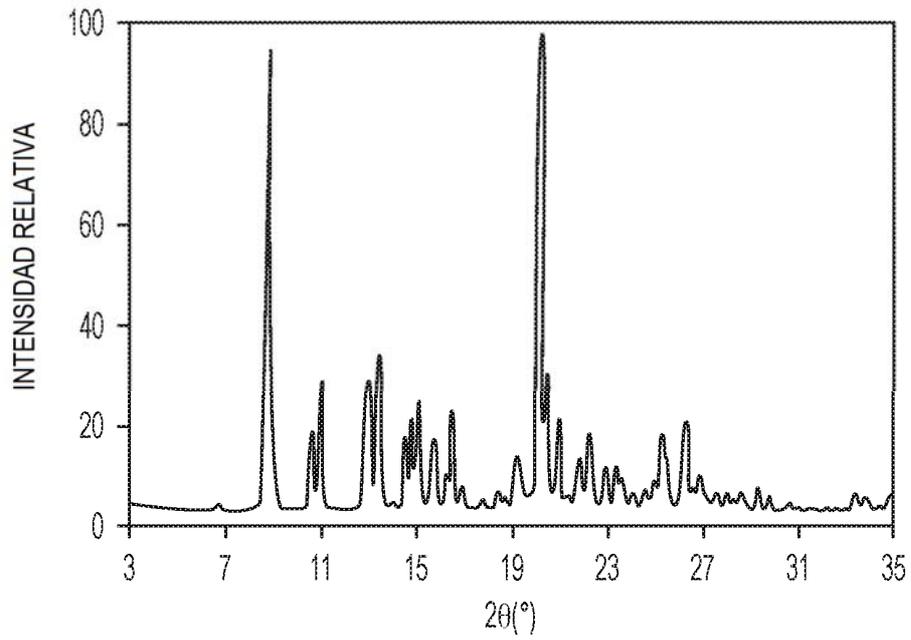


FIG. 1

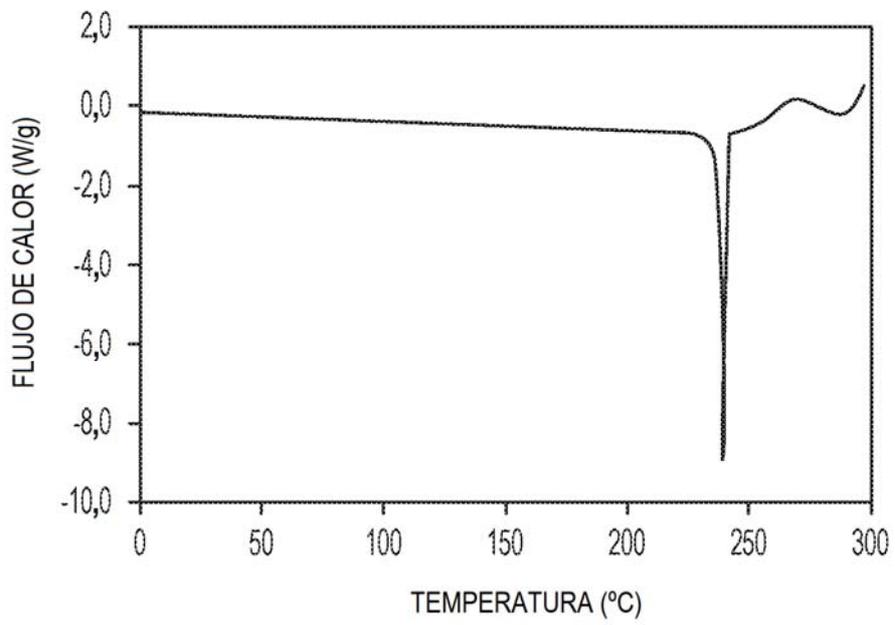


FIG. 2

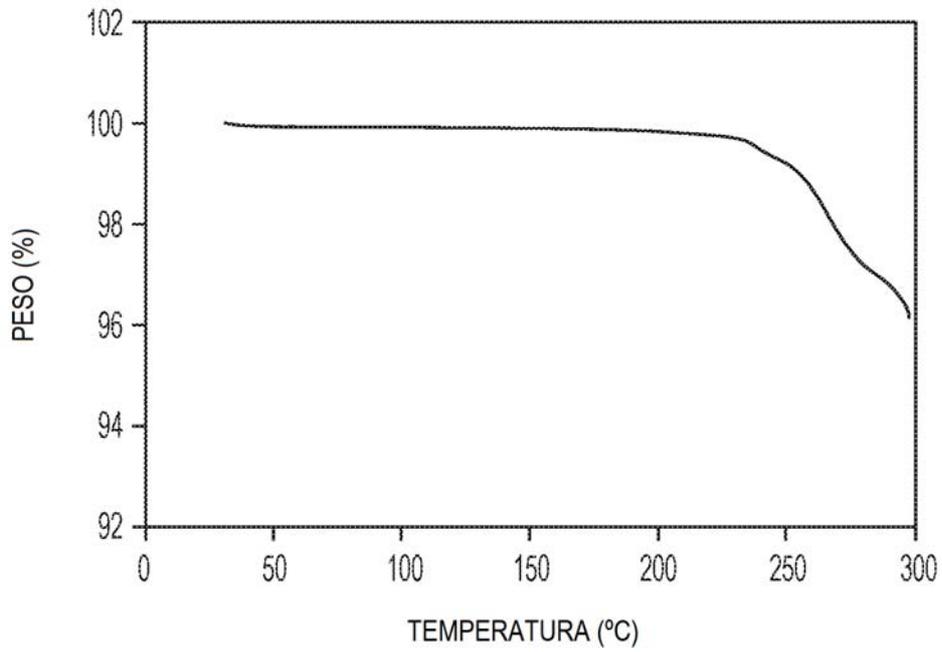


FIG. 3

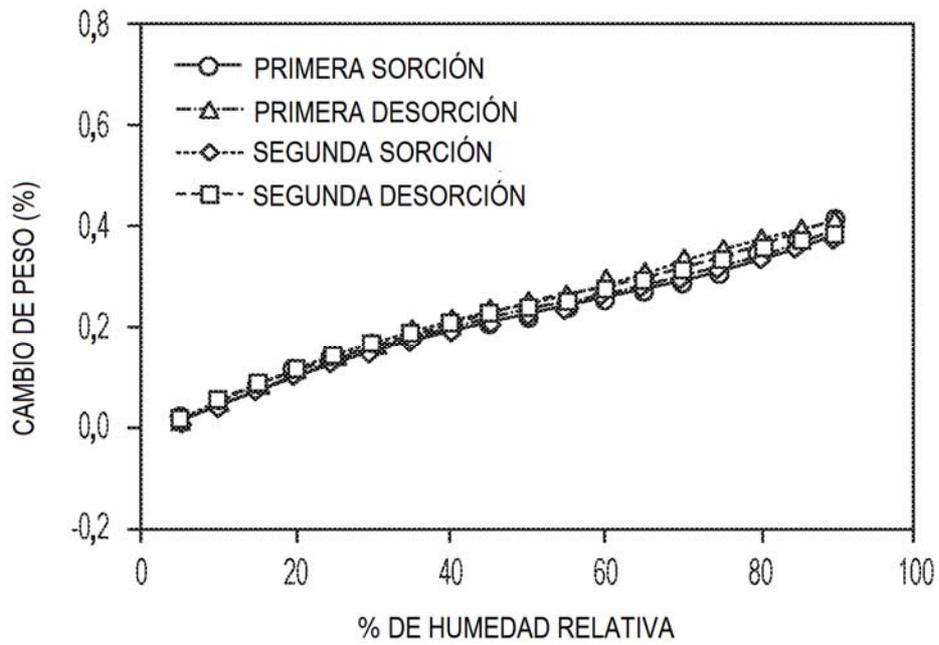


FIG. 4

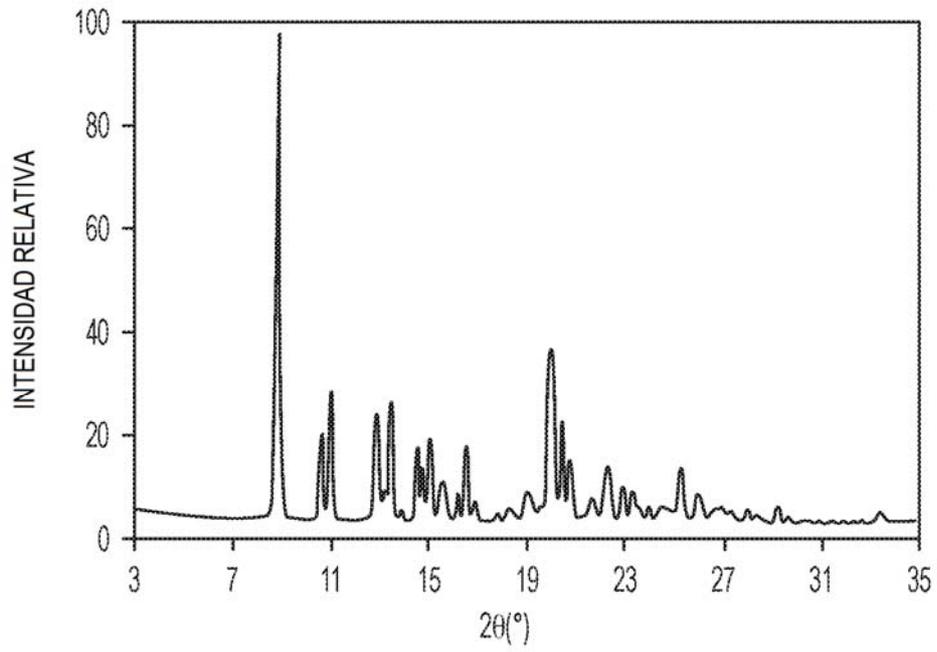


FIG. 5

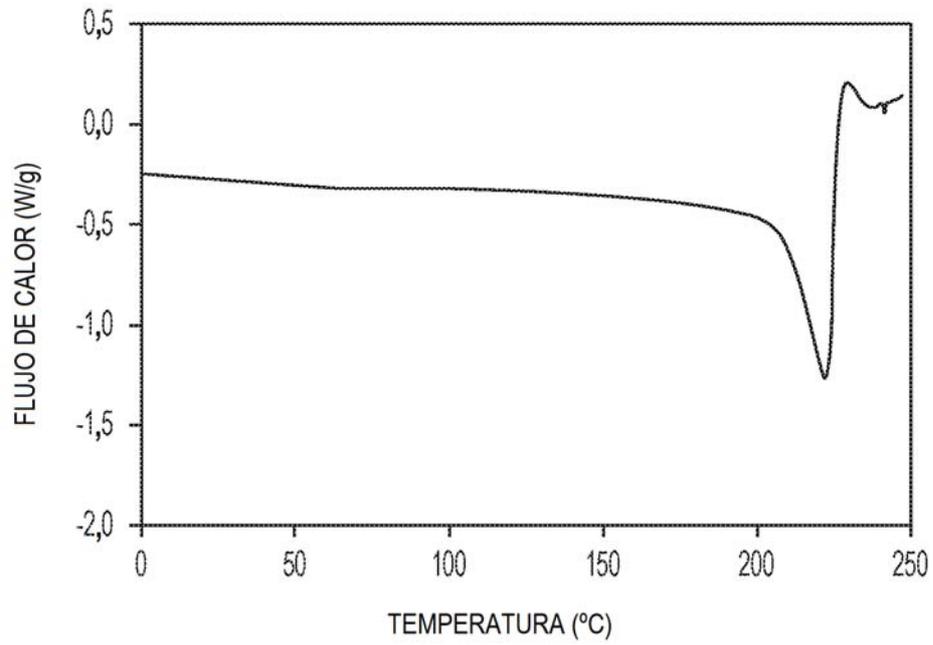


FIG. 6

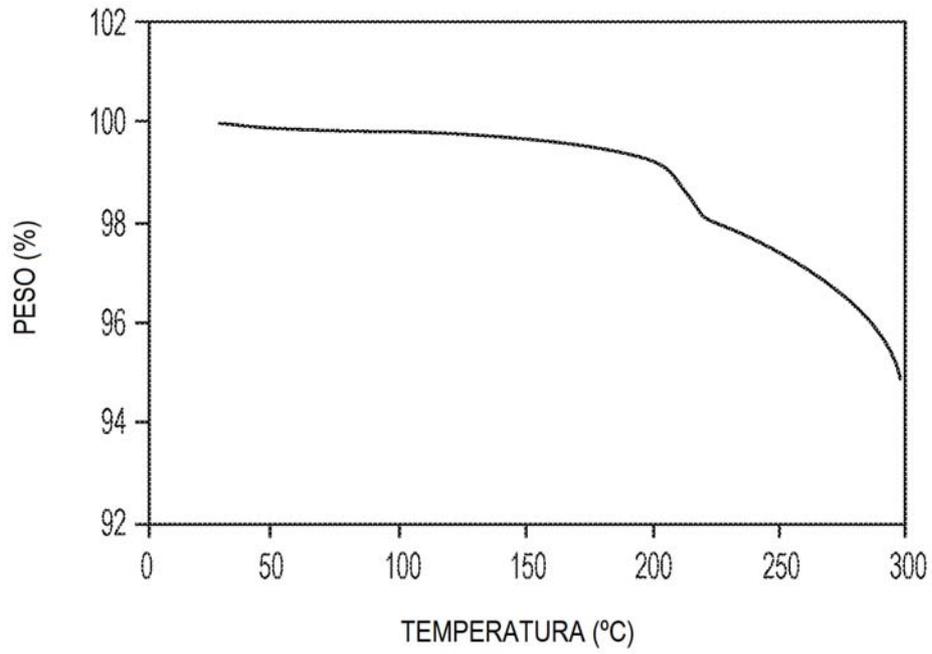


FIG. 7

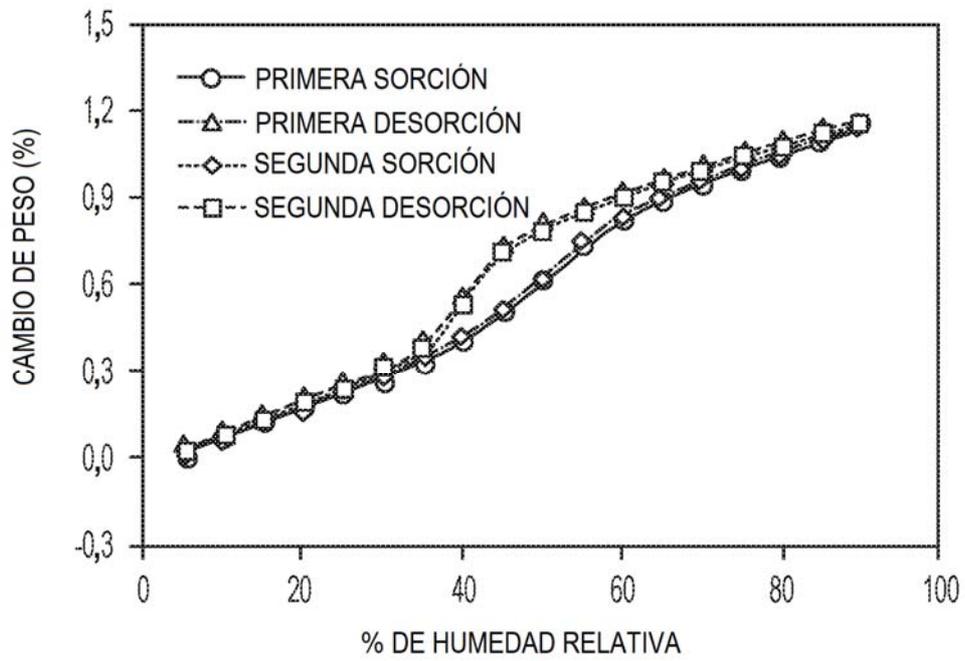


FIG. 8