

INHIBIDORES DE JAK CINASAS BASADOS EN PIRAZOLOPIRIMIDINA SULFONA Y USOS DE LOS MISMOS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

- 5 Esta solicitud reivindica la prioridad para la solicitud internacional núm. PCT/CN2019/091712 presentada el 18 de junio de 2019, y la solicitud provisional de Estados Unidos núm. 63/035,381 presentada el 05 de junio de 2020, cuyas descripciones se incorporan en el presente documento como referencia.

CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere a compuestos que son inhibidores de una Janus cinasa, tal como JAK1 y JAK2, así como composiciones que contienen estos compuestos, y procedimientos de uso que incluyen, pero sin limitarse a, diagnóstico o tratamiento de pacientes que padecen de una afección sensible a la inhibición de una JAK cinasa.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- Las vías de las citocinas median una amplia gama de funciones biológicas, que incluyen muchos aspectos de inflamación e inmunidad. Las Janus cinasas (JAK), que incluyen JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2, son proteínas cinasas citoplásmicas que se asocian con receptores de citocinas tipo I y tipo II y regulan la transducción de señales de citocinas. La unión de las citocinas con los receptores afines desencadena la activación de las JAK asociadas a receptores y esto conduce a la fosforilación de tirosina mediada por JAK de proteínas transductoras de señales y activadoras de la transcripción (STAT) y finalmente la activación transcripcional de conjuntos de genes específicos (Schindler et al, 2007, J. Biol. Chem. 282: 20059-63). JAK1, JAK2 y TYK2 presentan amplios patrones de expresión génica, mientras la expresión de JAK3 se limita a los leucocitos. Típicamente los receptores de citocinas son funcionales como heterodímeros, y como resultado, más de un tipo de JAK cinasa se asocia normalmente con complejos de receptores de citocinas. Las JAK específicas asociadas con diferentes complejos de receptores de citocinas se han determinado en muchos casos a través de estudios genéticos y se han corroborado mediante otras evidencias experimentales. Los beneficios terapéuticos ejemplares de la inhibición de enzimas JAK se analizan, por ejemplo, en la solicitud internacional núm. WO 2013/014567.

JAK1 se identificó inicialmente en un cribado de cinasas novedosas (Wilks A.F., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:1603-1607). Los estudios genéticos y bioquímicos han demostrado que JAK1 se asocia funcional y físicamente con el interferón tipo I (por ejemplo, IFN α), interferón tipo II (por ejemplo, IFN γ) y complejos de receptores de citocinas IL-2 e IL-6 (Kisseleva et al, 2002, Gene 285:1-24; Levy et al, 2005, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 3:651-662; O'Shea et al, 2002, Cell, 109 (supl.): S121-S131). Los ratones con inactivación de JAK1 mueren en el periodo perinatal debido a defectos en la señalización del receptor de LIF (Kisseleva et al, 2002, Gene 285:1-24; O'Shea et al, 2002, Cell, 109 (supl.): S121-S131). La caracterización de tejidos derivados de ratones con inactivación de JAK1 demostró funciones fundamentales de esta cinasa en las vías de IFN, IL-10, IL-2/IL-4 e IL-6. Un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido a la vía de IL-6 (tocilizumab) fue aprobado por la comisión europea para el tratamiento de artritis reumatoide moderada a grave (Scheinecker et al, 2009, Nat. Rev. Drug Discov. 8:273-274).

Las células T CD4 juegan un papel importante en la patogenia del asma a través de la producción de citocinas TH2 dentro del pulmón, que incluyen IL-4, IL-9 e IL-13 (Cohn et al, 2004, Annu. Rev. Immunol. 22:789-815). IL-4 e IL-13 inducen un aumento de la producción de moco, reclutamiento de eosinófilos al pulmón, y aumento de la producción de IgE (Kasaian et al, 2008, Biochem. Pharmacol. 76(2): 147-155). IL-9 da lugar a la activación de mastocitos, que exacerba los síntomas del asma (Kearley et al, 2011, Am. J. Resp. Crit. Care Med. 183(7): 865-875). La cadena de IL-4R α activa JAK1 y se une a IL-4 o IL-13 cuando se combina con la cadena gamma común o la cadena de IL-13R α 1 respectivamente (Pernis et al, 2002, J. Clin. Invest. 109(10):1279-1283). La cadena gamma común también se puede combinar con IL-9R α para unirse a IL-9, y el IL-9R α activa JAK1 también (Demoulin et al, 1996, Mol. Cell Biol. 16(9):4710-4716). Si bien la cadena gamma común activa JAK3, se ha demostrado que JAK1 es dominante sobre JAK3 y la inhibición de JAK1 es suficiente para inactivar la señalización a través de la cadena gamma común a pesar de la actividad de JAK3 (Haan et al, 2011, Chem. Biol. 18(3):314-323). La inhibición de la señalización de IL-4, IL-13 e IL-9 mediante el bloqueo de la vía de señalización JAK/STAT puede aliviar los síntomas del asma en modelos preclínicos de inflamación pulmonar (Mathew et al, 2001, J. Exp. Med. 193(9): 1087-1096; Kudlacz et al., 2008, Eur. J. Pharmacol. 582(1-3): 154-161).

Los estudios bioquímicos y genéticos han demostrado una asociación entre JAK2 y las familias de receptores de citocinas monocatenarios (por ejemplo, EPO), de IL-3 y de interferón gamma (Kisseleva et al, 2002, *Gene* 285:1-24; Levy et al, 2005, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 3:651-662; O'Shea et al, 2002, *Cell*, 109 (supl.): S121-S131). De manera coherente con esto, los ratones con inactivación de JAK2 mueren de anemia (O'Shea et al, 2002, *Cell*, 109 (supl.): S121-S131). Las mutaciones activadoras de cinasa en JAK2 (por ejemplo, JAK2 V617F) se asocian con trastornos mieloproliferativos en seres humanos. Adicionalmente, JAK2 se asocia con los receptores para citocinas tales como IL-5 y linfopoyetina estromal tímica (TSLP). IL-5 es la principal citocina responsable de la diferenciación de eosinófilos, crecimiento, activación, supervivencia, y reclutamiento a las vías respiratorias (Pelaia et al, 2019, *Front. Physiol.*, 10: 1514; Stirling et al, 2001, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 164: 1403–9; Fulkerson y Rothenberg, 2013, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 12: 117–9.; Varricchi y Canonica, 2016, *Expert. Rev. Clin. Immunol.*, 12: 903–5). Tres fármacos de anticuerpos monoclonales dirigidos a IL-5 (mepolizumab, reslizumab) o a la cadena alfa de su receptor (benralizumab) se han aprobado como tratamientos para el asma con un fenotipo eosinofílico. TSLP es una citocina derivada de células epiteliales que juega un papel importante en la regulación de la inmunidad tipo II y sirve como una alarma antes de la producción de citocinas TH2 (Kitajima et al, 2011, *Eur J Immunol.*, 41: 1862-71). Tezepelumab es un anticuerpo antagonista contra TSLP. Los resultados de un ensayo de fase 2 indican que redujo con éxito las exacerbaciones del asma en pacientes con y sin firmas distintivas de tipo 2 alto (Corren et al, 2017, 377: 936-46).

JAK3 se asocia exclusivamente con la cadena gamma común del receptor de citocinas, que está presente en los complejos de receptores de citocinas IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21. JAK3 es fundamental para el desarrollo y la proliferación de células linfoides y las mutaciones en JAK3 dan como resultado una inmunodeficiencia combinada grave (SCID) (O'Shea et al, 2002, *Cell*, 109 (supl.): S121-S131). Basado en su papel en la regulación de linfocitos, JAK3 y las vías mediadas por JAK3 se han empleado como diana para indicaciones inmunosupresoras (por ejemplo, rechazo del trasplante y artritis reumatoide) (Baslund et al, 2005, *Arthritis & Rheumatism* 52:2686-2692; Changelian et al, 2003, *Science* 302: 875-878).

TYK2 se asocia con el interferón tipo I (por ejemplo, IFNalfa), complejos de receptores de citocinas IL-6, IL-10, IL-12 e IL-23 (Kisseleva et al, 2002, *Gene* 285:1-24; Watford, W.T. y O'Shea, J.J., 2006, *Immunity* 25:695-697). De manera coherente con esto, células primarias derivadas de un ser humano deficiente de TYK2 tienen defectos en

la señalización de interferón tipo I, IL-6, IL-10, IL-12 e IL-23. Un anticuerpo monoclonal completamente humano dirigido a la subunidad p40 compartida de las citocinas IL-12 e IL-23 (ustekinumab) se aprobó recientemente por la Comisión europea para el tratamiento de psoriasis en placas de moderada a grave (Krueger et al, 2007, N. Engl. J. Med. 356:580-92; Reich et al, 2009, Nat. Rev. Drug Discov. 8:355-356). Además, un anticuerpo dirigido a las vías de IL-12 e IL-23 se sometió a ensayos clínicos para el tratamiento de la enfermedad de Crohn (Mannon et al, 2004, N. Engl. J. Med. 351:2069-79).

Las publicaciones de solicitudes de patente internacional núms. WO 2010/051549, WO 2011/003065, WO 2015/177326 y WO 2017/089390 analizan determinados compuestos de pirazolopirimidina e informan su utilidad como inhibidores de una o más Janus cinasas. Allí se presentan datos de determinados compuestos específicos que muestran inhibición de JAK1 así como JAK2, JAK3 y/o TYK2 cinasas.

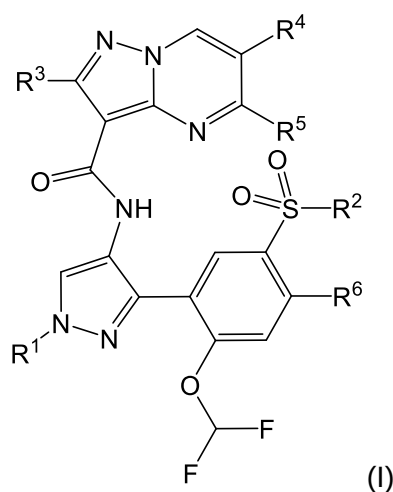
Actualmente persiste una necesidad de otros compuestos que sean inhibidores de Janus cinasas. Por ejemplo, existe una necesidad de compuestos que posean una potencia útil como inhibidores de una o más Janus cinasas (por ejemplo, JAK1 y JAK2) en combinación con otras propiedades farmacológicas que son necesarias para lograr un beneficio terapéutico útil. Por ejemplo, existe una necesidad de compuestos potentes que demuestren selectividad por una Janus cinasa sobre otras cinasas en general (por ejemplo, selectividad por JAK1 y/o JAK2 sobre otras cinasas tales como la cinasa 2 con repeticiones ricas en leucina (LRRK2)). Además existe una necesidad de compuestos potentes que demuestren selectividad por una Janus cinasa sobre otras Janus cinasas (por ejemplo, selectividad por JAK1 y/o JAK2 sobre JAK3 y/o TYK2). Los compuestos que demuestran selectividad por ambas JAK1 y JAK2 sobre JAK3 y TYK2 pueden proporcionar un beneficio terapéutico, en afecciones sensibles a la inhibición de JAK1. Adicionalmente en la actualidad existe una necesidad de inhibidores de JAK1 potentes que posean otras propiedades (por ejemplo, punto de fusión, pK, solubilidad, etcétera) necesarias para su formulación y administración mediante inhalación. Dichos compuestos serían en particular útiles para el tratamiento de afecciones tales como, por ejemplo, asma.

Consecuentemente existe una necesidad en la técnica de tratamientos adicionales o alternativos para afecciones mediadas por JAK cinasas, tales como las descritas anteriormente. En particular existe una necesidad de inhibidores de JAK1 y JAK2 cinasas que puedan usarse para el suministro por inhalación en el tratamiento de indicaciones de inflamación de las vías respiratorias tales como el asma.

RESUMEN DE LA INVENCION

En el presente documento se proporcionan pirazolopirimidinas que inhiben JAK cinasas, tales como seleccionadas de un compuesto de fórmula (I) un estereoisómero o sal del mismo, tal como una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La JAK cinasa puede ser JAK1, JAK2, o ambas.

Un modo de realización proporciona un compuesto de fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

10 en el que:

R^1 es: alquilo C_{1-6} ; ciano-alquilo C_{1-6} ; alcoxi $C_{1-6}-(CO)-$; $-(CHR^a)_m-NR^bR^c$; o $-(CHR^a)_n$ -het¹;

R^2 es: alquilo C_{1-6} ; hidroxialquilo C_{1-6} ; haloalquilo C_{1-6} ; alcoxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} ; cicloalquilo C_{3-6} ; $-(CHR^a)_p-NR^bR^c$; het²; $-(CHR^a)_q$ -het³; o fenilo que puede estar no sustituido o sustituido una vez o dos veces con R^d ;

15 R^3 es: hidrógeno; amino; o alquilo C_{1-6} ;

R^4 es: hidrógeno; o alquilo C_{1-6} ;

R^5 es: hidrógeno; o alquilo C_{1-6} ;

R^6 es: hidrógeno; alquilo C_{1-6} ; o R^2 y R^6 conjuntamente con los átomos a los que se unen pueden formar un anillo de seis miembros;

m es de 2 a 3;

n es de 0 a 2;

p es de 0 a 2;

cada R^a es independientemente: hidrógeno; o alquilo C_{1-6} ;

25 cada R^b es independientemente: hidrógeno; o alquilo C_{1-6} ;

cada R^c es independientemente: hidrógeno; o alquilo C_{1-6} ;

het¹ es: tetrahidrofuranilo; azetidínilo; o pirrolidinilo, cada uno de los cuales puede estar no sustituido o sustituido una vez o dos veces con R^e;

het² es: piridinilo; pirimidinilo; pirazolilo; imidazolilo; o isoquinolinilo que puede estar parcialmente saturado; cada uno de los cuales puede estar no sustituido o sustituido una vez o dos veces con R^f;

het³ es: azetidínilo; pirrolidinilo; oxetanilo; o piperidinilo; cada uno de los cuales puede estar no sustituido o sustituido una vez con R^g;

cada R^d es independientemente: alquilo C₁₋₆; hidroxilo; alcoxi C₁₋₆-alquilo C₁₋₆; -(CHR^a)_q-NR^bR^c; o fenilo;

10 cada R^e es independientemente: alquilo C₁₋₆; u oxo;

cada R^f es independientemente: alquilo C₁₋₆; hidroxilo- alquilo C₁₋₆; oxo; -(CHR^a)_r-NR^bR^c; -(CHR^a)_s-het⁴;

cada R^g es independientemente: alquilo C₁₋₆; o acetilo;

q es de 1 a 2;

15 r es de 2 a 3;

s es de 2 a 3; y

het⁴ es: azetidin-1-ilo; 1-metil-azetidin-3-ilo; quinuclidinilo; 1-metil-pirrolidin-2-ilo; o 4-metilpiperazin-1-ilo.

Además se proporciona una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Además se proporciona el uso de un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en el tratamiento, tal como en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria (por ejemplo, asma). Además se proporciona el uso de un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria. Además se proporciona un procedimiento para prevenir, tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad o afección sensible a la inhibición de una actividad de Janus cinasa en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Todas las citocinas más validadas en el asma (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 y TSLP) señalizan a través de JAK1 y/o JAK2. Los compuestos de la invención son activos para ambas

JAK1 y JAK2. Algunos de estos compuestos óptimamente tienen una coactividad bien equilibrada para ambas JAK1 y JAK2, o tienen ligeramente mayor afinidad por JAK1 sobre JAK2, en lugar de tener una actividad mucho mayor para una de estas cinasas sobre la otra. Los compuestos en cuestión tienen además buena selectividad contra
5 cinasas diferentes de la diana tal como LRRK2, que se ha asociado con toxicidad pulmonar.

Si bien muchos compuestos pueden presentar alta afinidad por ambas JAK1 y JAK2 en ensayos bioquímicos simples, no todos estos compuestos son eficaces para mediar las citocinas relevantes asociadas con JAK1 y JAK2. Determinados compuestos de la
10 invención, además de ser activos para ambas JAK1 y JAK2, también se ha demostrado en ensayos basados en células que son eficaces en la mediación de citocinas relevantes al asma asociadas con JAK1 y JAK2.

Los compuestos de la invención presentan además propiedades farmacocinéticas (PK) favorables en tejido pulmonar y son útiles para tratamientos por inhalación. Cuando se
15 dosifican por medio de la vía de inhalación usando técnicas tales como inhalación de polvo seco (DPI) o suministro intranasal (IN), determinados compuestos muestran inesperadamente una retención sostenida dentro del tejido pulmonar, con concentraciones mucho menores en la circulación sistémica. Dichas propiedades PK mejoradas pueden dar como resultado, de forma ventajosa, menores dosificaciones y
20 requerimientos de dosificación menos frecuentes para tratamientos eficaces. Determinados compuestos presentan una mejor solubilidad de forma inesperada, para proporcionar de nuevo una mejor eficacia en pulmón. Determinados compuestos de la invención también presentan una reducción inesperada en la citotoxicidad en comparación con otros inhibidores de JAK.

25

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

DEFINICIONES

"Halógeno" o "halo" se refiere a F, Cl, Br o I. Adicionalmente, términos tales como "haloalquilo", están destinados a incluir monohaloalquilo y polihaloalquilo, en los que
30 uno o más halógenos reemplazan un hidrógeno(s) de un grupo alquilo.

El término "alquilo" se refiere a un radical hidrocarburo monovalente, saturado, de cadena lineal o ramificada, en el que el radical alquilo puede estar opcionalmente sustituido. En un ejemplo, el radical alquilo es de uno a dieciocho átomos de carbono (C₁-C₁₈). En otros ejemplos, el radical alquilo es C₀-C₆, C₀-C₅, C₀-C₃, C₁-C₁₂, C₁-C₁₀, C₁-
35 C₈, C₁-C₆, C₁-C₅, C₁-C₄, o C₁-C₃. Alquilo C₀ se refiere a un enlace. Los ejemplos de

grupos alquilo incluyen metilo (Me, $-\text{CH}_3$), etilo (Et, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1-propilo (n-Pr, n-propilo, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-propilo (i-Pr, i-propilo, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1-butilo (n-Bu, n-butilo, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-metil-1-propilo (i-Bu, i-butilo, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2-butilo (s-Bu, s-butilo, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-metil-2-propilo (t-Bu, t-butilo, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1-pentilo (n-pentilo, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-pentilo ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-pentilo ($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 2-metil-2-butilo ($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-metil-2-butilo ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3-metil-1-butilo ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2-metil-1-butilo ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1-hexilo ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-hexilo ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-hexilo ($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)$), 2-metil-2-pentilo ($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-metil-2-pentilo ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4-metil-2-pentilo ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3-metil-3-pentilo ($-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 2-metil-3-pentilo ($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,3-dimetil-2-butilo ($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,3-dimetil-2-butilo ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1-heptilo y 1-octilo. En algunos modos de realización, los sustituyentes para "alquilos opcionalmente sustituidos" incluyen de uno a cuatro casos de F, Cl, Br, I, OH, SH, CN, NH_2 , NHCH_3 , $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, NO_2 , N_3 , $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, COOH , CO_2CH_3 , metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, isobutilo, ciclopropilo, metoxi, etoxi, propoxi, oxo, trifluorometilo, difluorometilo, sulfonilamino, metanosulfonilamino, SO, SO_2 , fenilo, piperidinilo, piperizinilo y pirimidinilo, en los que las porciones alquilo, fenilo y heterocíclicas de los mismos pueden estar opcionalmente sustituidas, tal como en uno a cuatro casos de sustituyentes seleccionados de esta misma lista.

El término "alquenilo" se refiere a un radical hidrocarburo monovalente de cadena lineal o ramificada con al menos un sitio de insaturación, es decir, un enlace doble carbono-carbono, en el que el radical alquenilo puede estar opcionalmente sustituido, e incluye radicales que tienen orientaciones "cis" y "trans" o alternatively, orientaciones "E" y "Z". En un ejemplo, el radical alquenilo tiene de dos a dieciocho átomos de carbono ($\text{C}_2\text{-C}_{18}$). En otros ejemplos, el radical alquenilo es $\text{C}_2\text{-C}_{12}$, $\text{C}_2\text{-C}_{10}$, $\text{C}_2\text{-C}_8$, $\text{C}_2\text{-C}_6$ o $\text{C}_2\text{-C}_3$. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, etenilo o vinilo ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), prop-1-enilo ($-\text{CH}=\text{CHCH}_3$), prop-2-enilo ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 2-metilprop-1-enilo, but-1-enilo, but-2-enilo, but-3-enilo, buta-1,3-dienilo, 2-metilbuta-1,3-dieno, hex-1-enilo, hex-2-enilo, hex-3-enilo, hex-4-enilo y hexa-1,3-dienilo. En algunos modos de realización, los sustituyentes para "alquenos opcionalmente sustituidos" incluyen de uno a cuatro casos de F, Cl, Br, I, OH, SH, CN, NH_2 , NHCH_3 , $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, NO_2 , N_3 , $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, COOH , CO_2CH_3 , metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, isobutilo, ciclopropilo, metoxi, etoxi, propoxi, oxo, trifluorometilo, difluorometilo, sulfonilamino, metanosulfonilamino, SO, SO_2 , fenilo, piperidinilo, piperizinilo y pirimidinilo, en los que

las porciones alquilo, fenilo y heterocíclicas de los mismos pueden estar opcionalmente sustituidas, tal como de uno a cuatro casos de sustituyentes seleccionados de esta misma lista.

El término "alquinilo" se refiere a un radical hidrocarburo monovalente lineal o ramificado con al menos un sitio de insaturación, es decir, un enlace triple, carbono-carbono, en el que el radical alquinilo puede estar opcionalmente sustituido. En un ejemplo, el radical alquinilo es de dos a dieciocho átomos de carbono (C_2-C_{18}). En otros ejemplos, el radical alquinilo es C_2-C_{12} , C_2-C_{10} , C_2-C_8 , C_2-C_6 o C_2-C_3 . Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, etinilo ($-C\equiv CH$), prop-1-inilo ($-C\equiv CCH_3$), prop-2-inilo (propargilo, $-CH_2C\equiv CH$), but-1-inilo, but-2-inilo y but-3-inilo. En algunos modos de realización, los sustituyentes para "alquinilos opcionalmente sustituidos" incluyen de uno a cuatro casos de F, Cl, Br, I, OH, SH, CN, NH_2 , $NHCH_3$, $N(CH_3)_2$, NO_2 , N_3 , $C(O)CH_3$, $COOH$, CO_2CH_3 , metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, isobutilo, ciclopropilo, metoxi, etoxi, propoxi, oxo, trifluorometilo, difluorometilo, sulfonilamino, metanosulfonilamino, SO, SO_2 , fenilo, piperidinilo, piperizinilo y pirimidinilo, en los que las porciones alquilo, fenilo y heterocíclicas de los mismos pueden estar opcionalmente sustituidas, tal como en uno a cuatro casos de sustituyentes seleccionados de esta misma lista.

"Alquilenos" se refiere a un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene dos centros radicales monovalentes derivados de la eliminación de dos átomos de hidrógeno de los mismos o de dos átomos de carbono diferentes de un alcano original. En un ejemplo, el grupo alquilenos divalente es de uno a dieciocho átomos de carbono (C_1-C_{18}). En otros ejemplos, el grupo alquilenos divalente es C_0-C_6 , C_0-C_5 , C_0-C_3 , C_1-C_{12} , C_1-C_{10} , C_1-C_8 , C_1-C_6 , C_1-C_5 , C_1-C_4 o C_1-C_3 . El grupo alquilenos C_0 se refiere a un enlace. Los ejemplos de grupos alquilenos incluyen metileno ($-CH_2-$), 1,1-etilo ($-CH(CH_3)-$), (1,2-etilo ($-CH_2CH_2-$), 1,1-propilo ($-CH(CH_2CH_3)-$), 2,2-propilo ($-C(CH_3)_2-$), 1,2-propilo ($-CH(CH_3)CH_2-$), 1,3-propilo ($-CH_2CH_2CH_2-$), 1,1-dimetilet-1,2-ilo ($-C(CH_3)_2CH_2-$), 1,4-butilo ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), y similares.

El término "heteroalquilo" se refiere a un radical hidrocarburo monovalente de cadena lineal o ramificada, que consiste en la cantidad indicada de átomos de carbono, o, si no se indica ninguna, hasta 18 átomos de carbono, y de uno a cinco heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N, Si y S, y en el que los átomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados y el heteroátomo de nitrógeno puede ser opcionalmente cuaternario. En algunos modos de realización, el heteroátomo se selecciona de O, N y S, en el que los átomos de nitrógeno y azufre

pueden estar opcionalmente oxidados y el heteroátomo de nitrógeno puede ser opcionalmente cuaternario. El(Los) heteroátomo(s) puede(n) ubicarse en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo, que incluye la posición en la que el grupo alquilo se une al resto de la molécula (por ejemplo, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$). Los ejemplos

5 incluyen $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ y $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$. Hasta dos heteroátomos pueden estar consecutivos, tal como, por ejemplo, $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ y $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$. Los grupos heteroalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos. En algunos modos de realización, los sustituyentes para “heteroalquilos opcionalmente

10 sustituidos” incluyen de uno a cuatro casos de F, Cl, Br, I, OH, SH, CN, NH_2 , NHCH_3 , $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, NO_2 , N_3 , $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, COOH , CO_2CH_3 , metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, isobutilo, ciclopropilo, metoxi, etoxi, propoxi, oxo, trifluorometilo, difluorometilo, sulfonilamino, metanosulfonilamino, SO, SO_2 , fenilo, piperidinilo, piperizinilo y pirimidinilo, en los que las porciones alquilo, fenilo y heterocíclicas de los mismos

15 pueden estar opcionalmente sustituidas, tal como de uno a cuatro casos de sustituyentes seleccionados de esta misma lista.

“Amino” significa aminas primarias (es decir, $-\text{NH}_2$), secundarias (es decir, $-\text{NRH}$), terciarias (es decir, $-\text{NRR}$) y cuaternarias (es decir, $-\text{N}(+)\text{RRR}$), que están opcionalmente sustituidas, en las que cada R es igual o diferente y se selecciona de

20 alquilo, cicloalquilo, arilo y heterociclilo, en los que los grupos alquilo, cicloalquilo, arilo y heterociclilo son como se definen en el presente documento. Aminas secundarias y terciarias particulares son alquilamina, dialquilamina, arilamina, diarilamina, aralquilamina y diaralquilamina, en las que las porciones alquilo y arilo pueden estar opcionalmente sustituidas. Aminas secundarias y terciarias particulares son

25 metilamina, etilamina, propilamina, isopropilamina, fenilamina, bencilamina, dimetilamina, dietilamina, dipropilamina y diisopropilamina. En algunos modos de realización, los grupos R de una amina cuaternaria son cada uno, independientemente, grupos alquilo opcionalmente sustituidos.

“Arilo” se refiere a un grupo aromático carbocíclico, fusionado o no a uno o más

30 grupos, que tiene la cantidad de átomos de carbono designada, o si no se designa una cantidad, tiene hasta 14 átomos de carbono. Un ejemplo incluye grupos arilo que tienen 6-14 átomos de carbono. Otro ejemplo incluye grupos arilo que tienen 6-10 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos arilo incluyen fenilo, naftilo, bifenilo, fenantrenilo, naftacenilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftalenilo, 1H-indenilo, 2,3-dihidro-1H-

35 indenilo y similares (véase, por ejemplo, Lang’s Handbook of Chemistry (Dean, J. A.,

ed.) 13^a ed. Tabla 7-2 [1985]). Un arilo particular es fenilo. Un fenilo sustituido o arilo sustituido significa un grupo fenilo o un grupo arilo sustituido con uno, dos, tres, cuatro o cinco sustituyentes, por ejemplo, 1-2, 1-3 o 1-4 sustituyentes, tales como los escogidos de grupos especificados en el presente documento (véase la definición de “opcionalmente sustituido”), tales como F, Cl, Br, I, OH, SH, CN, NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂, NO₂, N₃, C(O)CH₃, COOH, CO₂CH₃, metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, isobutilo, ciclopropilo, metoxi, etoxi, propoxi, oxo, trifluorometilo, difluorometilo, sulfonilamino, metanosulfonilamino, SO, SO₂, fenilo, piperidinilo, piperizinilo y pirimidinilo, en los que las porciones alquilo, fenilo y heterocíclicas de los mismos pueden estar opcionalmente sustituidas, tal como de uno a cuatro casos de sustituyentes seleccionados de esta misma lista. Los ejemplos de la expresión “fenilo sustituido” incluyen un grupo mono- o di(halo)fenilo tal como 2-clorofenilo, 2-bromofenilo, 4-clorofenilo, 2,6-diclorofenilo, 2,5-diclorofenilo, 3,4-diclorofenilo, 3-clorofenilo, 3-bromofenilo, 4-bromofenilo, 3,4-dibromofenilo, 3-cloro-4-fluorofenilo, 2-fluorofenilo, 2,4-difluorofenilo y similares; un grupo mono- o di(hidroxifenilo) tal como 4-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo, 2,4-dihidroxifenilo, los derivados de estos con hidroxilo protegido y similares; un grupo nitrofenilo tal como 3- o 4-nitrofenilo; un grupo cianofenilo, por ejemplo, 4-cianofenilo; un mono- o di(alquil)grupo fenilo tal como 4-metilfenilo, 2,4-dimetilfenilo, 2-metilfenilo, 4-(isopropil)fenilo, 4-etilfenilo, 3-(n-propil)fenilo y similares; un grupo mono o di(alcoxi)fenilo, por ejemplo, 3,4-dimetoxifenilo, 3-metoxi-4-benciloxifenilo, 3-etoxifenilo, 4-(isopropoxi)fenilo, 4-(t-butoxi)fenilo, 3-etoxi-4-metoxifenilo y similares; 3- o 4- trifluorometilfenilo; un grupo mono- o dicarboxifenilo o (carboxi protegido)fenilo tales como 4-carboxifenilo, un mono- o di(hidroximetil)fenilo o (hidroximetil protegido)fenilo tal como 3-(hidroximetil protegido)fenilo o 3,4-di(hidroximetil)fenilo; un mono- o di(aminometil)fenilo o (aminometil protegido)fenilo tal como 2-(aminometil)fenilo o 2,4-(aminometil protegido)fenilo; o un mono- o di(N-(metilsulfonilamino))fenilo tal como 3-(N-metilsulfonilamino))fenilo. Además, la expresión “fenilo sustituido” representa grupos fenilo disustituidos donde los sustituyentes son diferentes, por ejemplo, 3-metil-4-hidroxifenilo, 3-cloro-4-hidroxifenilo, 2-metoxi-4-bromofenilo, 4-etil-2-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo, 4-nitrofenilo, 2-hidroxifenilo, 4-clorofenilo, 2-cloro-5-difluorometoxi y similares, así como grupos fenilo trisustituidos donde los sustituyentes son diferentes, por ejemplo 3-metoxi-4-benciloxi-6-metil sulfonilamino, 3-metoxi-4-benciloxi-6-fenil sulfonilamino, y grupos fenilo tetrasustituidos donde los sustituyentes son diferentes tales como 3-metoxi-4-benciloxi-5-metil-6-fenil sulfonilamino. En algunos modos de realización, un

sustituyente de un arilo, tal como fenilo, comprende una amida. Por ejemplo, un sustituyente arilo (por ejemplo, fenilo) puede ser $-(CH_2)_{0-4}CONR'R''$, en el que R' y R'' cada uno independientemente se refieren a grupos que incluyen, por ejemplo, hidrógeno; alquilo C₁-C₆ no sustituido; alquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''; heteroalquilo C₁-C₆ no sustituido; heteroalquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''; arilo C₆-C₁₀ no sustituido; arilo C₆-C₁₀ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, o NR'R''; heterociclilo de 3-11 miembros no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S); y heterociclilo de 3-11 miembros (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S) sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''; o R' y R'' pueden combinarse con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros en los que un átomo del anillo se sustituye opcionalmente con N, O o S y en los que el anillo se sustituye opcionalmente con halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''.

“Cicloalquilo” se refiere a un grupo hidrocarburo en anillo, no aromático, saturado o parcialmente insaturado en el que el grupo cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido independientemente con uno o más sustituyentes descritos en el presente documento. En un ejemplo, el grupo cicloalquilo es de 3 a 12 átomos de carbono (C₃-C₁₂). En otros ejemplos, cicloalquilo es C₃-C₈, C₃-C₁₀ o C₅-C₁₀. En otros ejemplos, el grupo cicloalquilo, como un monociclo, es C₃-C₈, C₃-C₆ o C₅-C₆. En otro ejemplo, el grupo cicloalquilo, como un biciclo, es C₇-C₁₂. En otro ejemplo, el grupo cicloalquilo, como un sistema espiro, es C₅-C₁₂. Los ejemplos de cicloalquilo monocíclico incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, 1-ciclopent-1-enilo, 1-ciclopent-2-enilo, 1-ciclopent-3-enilo, ciclohexilo, perdeuteriociclohexilo, 1-ciclohex-1-enilo, 1-ciclohex-2-enilo, 1-ciclohex-3-enilo, ciclohexadienilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclononilo, ciclodecilo, cicloundecilo y ciclododecilo. Las disposiciones de ejemplo de cicloalquilos bicíclicos que tienen 7 a 12 átomos del anillo incluyen, entre otros, [4,4], [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6] sistemas de anillo. Los cicloalquilos bicíclicos en puente de ejemplo incluyen, entre otros, biciclo[2.2.1]heptano, biciclo[2.2.2]octano y biciclo[3.2.2]nonano. Los ejemplos

de espiro cicloalquilo incluyen espiro[2.2]pentano, espiro[2.3]hexano, espiro[2.4]heptano, espiro[2.5]octano y espiro[4.5]decano. En algunos modos de realización, los sustituyentes para "cicloalquilos opcionalmente sustituidos" incluyen de uno a cuatro casos de F, Cl, Br, I, OH, SH, CN, NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂, NO₂, N₃, C(O)CH₃, COOH, CO₂CH₃, metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, isobutilo, ciclopropilo, metoxi, etoxi, propoxi, oxo, trifluorometilo, difluorometilo, sulfonilamino, metanosulfonilamino, SO, SO₂, fenilo, piperidinilo, piperizinilo y pirimidinilo, en los que las porciones alquilo, arilo y heterocíclicas de los mismos pueden estar opcionalmente sustituidas, tal como de uno a cuatro casos de sustituyentes seleccionados de esta misma lista. En algunos modos de realización, un sustituyente de un cicloalquilo comprende una amida. Por ejemplo, un sustituyente de cicloalquilo puede ser -(CH₂)₀₋₄CONR'R", en el que R' y R" cada uno independientemente se refieren a grupos que incluyen, por ejemplo, hidrógeno; alquilo C₁-C₆ no sustituido; alquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R"; heteroalquilo C₁-C₆ no sustituido; heteroalquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R"; arilo C₆-C₁₀ no sustituido; arilo C₆-C₁₀ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, o NR'R"; heterociclilo de 3-11 miembros no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S); y heterociclilo de 3-11 miembros (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S) sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R"; o R' y R" pueden combinarse con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros en los que un átomo del anillo se sustituye opcionalmente con N, O o S y en los que el anillo se sustituye opcionalmente con halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R".

"Grupo heterocíclico", "heterocíclico", "heterociclo", "heterociclilo" o "heterociclo" se usan de manera indistinta y se refieren a cualquier sistema de anillo no aromático (por ejemplo, heterocicloalquilo) o aromático (heteroarilo), saturado o insaturado, mono-, bi-, tricíclico o espiro, que tiene 3 a 20 átomos de anillo (por ejemplo, 3-10 átomos de anillo), donde los átomos de anillo son carbono y al menos un átomo en un anillo o sistema de anillo es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, azufre u oxígeno. Si

cualquier átomo de anillo de un sistema cíclico es un heteroátomo, ese sistema es un heterociclo, sin importar el punto de unión del sistema cíclico al resto de la molécula. En un ejemplo, heterociclilo incluye 3-11 átomos en anillo (“miembros”) e incluye monociclos, biciclos, triciclos y sistemas de anillo espiro, en los que los átomos en anillo son carbono, donde al menos un átomo en el anillo o sistema de anillo es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, azufre u oxígeno. En un ejemplo, heterociclilo incluye 1 a 4 heteroátomos. En un ejemplo, heterociclilo incluye 1 a 3 heteroátomos. En otro ejemplo, heterociclilo incluye monociclos de 3 a 7 miembros que tienen 1-2, 1-3 o 1-4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, azufre u oxígeno. En otro ejemplo, heterociclilo incluye monociclos de 4 a 6 miembros que tienen 1-2, 1-3 o 1-4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, azufre u oxígeno. En otro ejemplo, heterociclilo incluye monociclos de 3 miembros. En otro ejemplo, heterociclilo incluye monociclos de 4 miembros. En otro ejemplo, heterociclilo incluye monociclos de 5-6 miembros, por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros. En otro ejemplo, heterociclilo incluye heterocicloalquilos de 3-11 miembros, tal como heterocicloalquilos de 4-11 miembros. En algunas formas de realización, un heterocicloalquilo incluye al menos un nitrógeno. En un ejemplo, el grupo heterociclilo incluye 0 a 3 enlaces dobles. Cualquier heteroátomo de nitrógeno o azufre puede oxidarse opcionalmente (por ejemplo, NO, SO, SO₂), y cualquier heteroátomo de nitrógeno puede cuaternizarse opcionalmente (por ejemplo, [NR₄]⁺Cl⁻, [NR₄]⁺OH⁻). Los heterociclos de ejemplo son oxiranilo, aziridinilo, tiiranilo, azetidino, oxetanilo, tietanilo, 1,2-ditietanilo, 1,3-ditietanilo, pirrolidinilo, dihidro-1H-pirrolilo, dihidrofuranilo, tetrahidrofuranilo, dihidrotienilo, tetrahidrotienilo, imidazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, isoquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, 1,1-dioxo-tiomorfolinilo, dihidropiranilo, tetrahidropiranilo, hexahidrotiopiranilo, hexahidropirimidinilo, oxazinanilo, tiazinanilo, tioxanilo, homopiperazinilo, homopiperidinilo, azepanilo, oxepanilo, tiepanilo, oxazepinilo, oxazepanilo, diazepanilo, 1,4-diazepanilo, diazepinilo, tiazepinilo, tiazepanilo, tetrahidrotiopiranilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo, 1,1-dioxoisotiazolidinonilo, oxazolidinonilo, imidazolidinonilo, 4,5,6,7-tetrahidro[2H]indazolilo, tetrahidrobenzoimidazolilo, 4,5,6,7-tetrahidrobenzo[d]imidazolilo, 1,6dihidroimidazol[4,5-d]pirrolo[2,3-b]piridinil tiazinilo, oxazinilo, tiadiazinilo, oxadiazinilo, ditiazinilo, dioxazinilo, oxatiazinilo, tiatriazinilo, oxatriazinilo, ditiadiazinilo, imidazolinilo, dihidropirimidilo, tetrahidropirimidilo, 1-pirrolinilo, 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, indolinilo, tiapiranilo, 2H-piranilo, 4H-piranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, ditianilo, ditiolanilo, pirimidinonilo,

pirimidindionilo, pirimidin-2,4-dionilo, piperazinonilo, piperazindionilo,
 pirazolidinilimidazolinilo, 3-azabicyclo[3.1.0]hexanilo, 3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptanilo, 6-
 azabicyclo[3.1.1]heptanilo, 3-azabicyclo[3.1.1]heptanilo, 3-azabicyclo[4.1.0]heptanilo,
 azabicyclo[2.2.2]hexanilo, 2-azabicyclo[3.2.1]octanilo, 8-azabicyclo[3.2.1]octanilo, 2-
 5 azabicyclo[2.2.2]octanilo, 8-azabicyclo[2.2.2]octanilo, 7-oxabicyclo[2.2.1]heptano,
 azaespiro[3.5]nonanilo, azaespiro[2.5]octanilo, azaespiro[4.5]decanilo, 1-
 azaespiro[4.5]decan-2-onilo, azaespiro[5.5]undecanilo, tetrahydroindolilo,
 octahydroindolilo, tetrahydroisoindolilo, tetrahydroindazolilo, 1,1-
 dioxohexahidrotiopiranilo. Ejemplos de heterociclos de 5 miembros que contienen un
 10 átomo de azufre u oxígeno y de uno a tres átomos de nitrógeno son tiazolilo, que
 incluye tiazol-2-ilo y N-óxido de tiazol-2-ilo, tiadiazolilo, que incluye 1,3,4-tiadiazol-5-ilo
 y 1,2,4-tiadiazol-5-ilo, oxazolilo, por ejemplo oxazol-2-ilo y oxadiazolilo, tal como 1,3,4-
 oxadiazol-5-ilo y 1,2,4-oxadiazol-5-ilo. Ejemplos de heterociclos con anillo de 5
 miembros que contienen de 2 a 4 átomos de nitrógeno incluyen imidazolilo, tal como
 15 imidazol-2-ilo; triazolilo, tal como 1,3,4-triazol-5-ilo; 1,2,3-triazol-5-ilo, 1,2,4-triazol-5-ilo
 y tetrazolilo, tal como 1H-tetrazol-5-ilo. Ejemplos de heterociclos de 5 miembros con
 fusión de grupo benzo son benzoxazol-2-ilo, benzotiazol-2-ilo y benzimidazol-2-ilo.
 Ejemplos de heterociclos de 6 miembros contienen de uno a tres átomos de nitrógeno
 y opcionalmente un átomo de azufre u oxígeno, por ejemplo piridilo, tal como pirid-2-
 20 ilo, pirid-3-ilo y pirid-4-ilo; pirimidilo, tal como pirimid-2-ilo y pirimid-4-ilo; triazinilo, tal
 como 1,3,4-triazin-2-ilo y 1,3,5-triazin-4-ilo; piridazinilo, en particular piridazin-3-ilo y
 pirazinilo. Los N-óxidos de piridina y N-óxidos de piridazina y los grupos de piridilo,
 pirimid-2-ilo, pirimid-4-ilo, piridazinilo y 1,3,4-triazin-2-ilo, son otros ejemplos de grupos
 heterociclo. Los heterociclos pueden estar opcionalmente sustituidos. Por ejemplo, los
 25 sustituyentes para "heterociclos opcionalmente sustituidos" incluyen de uno a cuatro
 casos de F, Cl, Br, I, OH, SH, CN, NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂, NO₂, N₃, C(O)CH₃, COOH,
 CO₂CH₃, metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, isobutilo, ciclopropilo, metoxi, etoxi,
 propoxi, oxo, trifluorometilo, difluorometilo, sulfonilamino, metanosulfonilamino, SO,
 SO₂, fenilo, piperidinilo, piperizinilo y pirimidinilo, en los que las porciones alquilo, arilo
 30 y heterocíclicas de los mismos pueden estar opcionalmente sustituidas, tal como de
 uno a cuatro casos de sustituyentes seleccionados de esta misma lista. En algunos
 modos de realización, un sustituyente de un grupo heterocíclico, tal como un
 heteroarilo o heterocicloalquilo, comprende una amida. Por ejemplo, un sustituyente
 heterocíclico (por ejemplo, heteroarilo o heterocicloalquilo) puede ser -(CH₂)₀-
 35 4CONR'R", en el que R' y R" cada uno independientemente se refieren a grupos que

incluyen, por ejemplo, hidrógeno; alquilo C₁-C₆ no sustituido; alquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R"; heteroalquilo C₁-C₆ no sustituido; heteroalquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R"; arilo C₆-C₁₀ no sustituido; arilo C₆-C₁₀ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, o NR'R"; heterociclilo de 3-11 miembros no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S); y heterociclilo de 3-11 miembros (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S) sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R"; o R' y R" pueden combinarse con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros en los que un átomo del anillo se sustituye opcionalmente con N, O S y en los que el anillo se sustituye opcionalmente con halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R".

"Heteroarilo" se refiere a cualquier sistema de anillo mono-, bi- o tricíclico donde al menos un anillo es un anillo aromático de 5 o 6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre, y en un modo de realización de ejemplo, al menos un heteroátomo es nitrógeno. Ver, por ejemplo, Lang's Handbook of Chemistry (Dean, J. A., ed.) 13.^a ed. Tabla 7-2 [1985]. En la definición se incluye cualquier grupo bicíclico en el que cualquiera de los anillos de heteroarilo anteriores están fusionados a un anillo de arilo, en el que el anillo de arilo o el anillo de heteroarilo se une al resto de la molécula. En un modo de realización, el heteroarilo incluye grupos aromáticos monocíclicos de 5-6 miembros en el que uno o más átomos de anillo son nitrógeno, azufre u oxígeno. Los grupos heteroarilo de ejemplo incluyen tienilo, furilo, imidazolilo, pirazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tetrazolilo, tiatriazolilo, oxatriazolilo, piridilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazinilo, triazinilo, tetrazinilo, tetrazolo[1,5-b]piridazinilo, imidazol[1,2-a]pirimidinilo y purinilo, así como derivados fusionados un benzo, por ejemplo, benzoxazolilo, benzofurilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzotriazolilo, benzoimidazolilo e indolilo. Los grupos heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos. En algunos modos de realización, los sustituyentes para "heteroarilos opcionalmente sustituidos" incluyen de uno a cuatro casos de F, Cl, Br, I, OH, SH, CN,

NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂, NO₂, N₃, C(O)CH₃, COOH, CO₂CH₃, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ciclopropilo, metoxi, etoxi, propoxi, trifluorometilo, difluorometilo, sulfonilamino, metanosulfonilamino, SO, SO₂, fenilo, piperidinilo, piperizinilo y pirimidinilo, en los que las porciones alquilo, fenilo y heterocíclicas de los

5 mismos pueden estar opcionalmente sustituidas, tal como de uno a cuatro casos de sustituyentes seleccionados de esta misma lista. En algunos modos de realización, un sustituyente de un heteroarilo comprende una amida. Por ejemplo, un sustituyente heteroarilo puede ser $-(CH_2)_{0-4}CONR'R''$, en el que R' y R'' cada uno independientemente se refieren a grupos que incluyen, por ejemplo, hidrógeno; alquilo

10 C₁-C₆ no sustituido; alquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''; heteroalquilo C₁-C₆ no sustituido; heteroalquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''; arilo C₆-C₁₀ no sustituido; arilo C₆-C₁₀ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, o NR'R'';

15 heterociclilo de 3-11 miembros no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S); y heterociclilo de 3-11 miembros (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11

20 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S) sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''; o R' y R'' pueden combinarse con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros en los que un átomo del anillo se sustituye opcionalmente con N, O o S y en los que el anillo se sustituye opcionalmente con halógeno, OH, CN,

25 alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''.

En modos de realización en particular, un grupo heterociclilo se une a un átomo de carbono del grupo heterociclilo. A modo de ejemplo, los grupos heterociclilo unidos a carbono incluyen disposiciones de unión en la posición 2, 3, 4, 5 o 6 de un anillo de piridina, la posición 3, 4, 5 o 6 de un anillo de piridazina, la posición 2, 4, 5 o 6 de un

30 anillo de pirimidina, la posición 2, 3, 5 o 6 de un anillo de pirazina, la posición 2, 3, 4 o 5 de un anillo de furano, tetrahydrofurano, tiofurano, tiofeno, pirrolo o tetrahidropirrolo, la posición 2, 4 o 5 de un anillo de oxazol, imidazol o tiazol, la posición 3, 4 o 5 de un anillo de isoxazol, pirazol o isotiazol, la posición 2 o 3 de un anillo de aziridina, la posición 2, 3 o 4 de un anillo de azetidina, la posición 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de un anillo de quinolina o la posición 1, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de un anillo de isoquinolina.

35

En determinados modos de realización el grupo heterociclilo está unido a N. A modo de ejemplo, los grupos heterociclilo o heteroarilo unidos a nitrógeno incluyen disposiciones de unión en la posición 1 de aziridina, azetidina, pirrolo, pirrolidina, 2-pirrolina, 3-pirrolina, imidazol, imidazolidina, 2-imidazolina, 3-imidazolina, pirazol, 5 pirazolina, 2-pirazolina, 3-pirazolina, piperidina, piperazina, indol, indolina, 1H-indazol, la posición 2 de isoindol o isoindolina, la posición 4 de morfolina y la posición 9 de carbazol o β -carbolina.

El término "alcoxi" se refiere a un radical monovalente lineal o ramificado representado por la fórmula -OR en la que R es alquilo, como se define en el presente documento.

10 Los grupos alcoxi incluyen metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, mono-, di- y trifluorometoxi y ciclopropoxi.

"Acilo" significa un carbonilo que contiene un sustituyente representado por la fórmula -C(O)-R en la cual R es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo o heterociclilo, en el que el alquilo, cicloalquilo, arilo y heterociclilo son como se definen en el presente documento. Los grupos acilo incluyen alcanoílo (por ejemplo, acetilo), aroílo (por ejemplo, benzoílo) y heteroaróílo (por ejemplo, piridinoílo).

"Opcionalmente sustituido" a menos que se especifique lo contrario significa que un grupo puede estar no sustituido o sustituido por uno o más (por ejemplo, 0, 1, 2, 3, 4 o 5 o más o cualquier intervalo de estos) de los sustituyentes listados para ese grupo en el que los sustituyentes pueden ser los mismos o diferentes. En un modo de realización, un grupo opcionalmente sustituido tiene 1 sustituyente. En otro modo de realización, un grupo opcionalmente sustituido tiene 2 sustituyentes. En otro modo de realización, un grupo opcionalmente sustituido tiene 3 sustituyentes. En otro modo de realización, un grupo opcionalmente sustituido tiene 4 sustituyentes. En otro modo de 25 realización, un grupo opcionalmente sustituido tiene 5 sustituyentes.

Los sustituyentes opcionales para radicales alquilo, solos o como parte de otro sustituyente (por ejemplo, alcoxi), así como alquilenilo, alquenoilo, alquinilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo y cicloalquilo, también cada uno solo o como parte de otro sustituyente, pueden ser una variedad de grupos, tales como los descritos en el presente documento, así como seleccionarse del grupo que consiste en halógeno; 30 oxo; CN; NO; N₃; -OR'; perfluoro-alcoxi C₁-C₄; cicloalquilo C₃-C₇ no sustituido; cicloalquilo C₃-C₇ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R"; arilo C₆-C₁₀ no sustituido (por ejemplo, fenilo); arilo C₆-C₁₀ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, o NR'R"; heterociclilo de 3-11 miembros no sustituido (por ejemplo, 35

heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S); heterociclilo de 3-11 miembros (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S) sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R"; -NR'R"; -SR'; -SiR'R'R"; -OC(O)R'; -C(O)R'; -CO₂R'; -CONR'R"; -OC(O)NR'R"; -NR"C(O)R'; -NR"C(O)NR'R"; -NR"C(O)₂R'; -S(O)₂R'; -S(O)₂NR'R"; -NR'S(O)₂R"; -NR"S(O)₂NR'R"; amidinilo; guanidinilo; -(CH₂)₁₋₄-OR'; -(CH₂)₁₋₄-NR'R"; -(CH₂)₁₋₄-SR'; -(CH₂)₁₋₄-SiR'R'R"; -(CH₂)₁₋₄-OC(O)R'; -(CH₂)₁₋₄-C(O)R'; -(CH₂)₁₋₄-CO₂R'; y -(CH₂)₁₋₄CONR'R", o combinaciones de los mismos, en un número en el intervalo de cero a (2m'+1), donde m' es la cantidad total de átomos de carbono en dicho radical. R', R" y R" cada uno independientemente se refieren a grupos que incluyen, por ejemplo, hidrógeno; alquilo C₁-C₆ no sustituido; alquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R"; heteroalquilo C₁-C₆ no sustituido; heteroalquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R"; arilo C₆-C₁₀ no sustituido; arilo C₆-C₁₀ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, o NR'R"; heterociclilo de 3-11 miembros no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S); y heterociclilo de 3-11 miembros (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S) sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆, oxo o NR'R". Cuando R' y R" se unen al mismo átomo de nitrógeno, pueden combinarse con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros en el que un átomo del anillo se sustituye opcionalmente con N, O o S y en el que el anillo se sustituye opcionalmente con halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R". Por ejemplo, -NR'R" está destinado a incluir 1-pirrolidinilo y 4-morfolinilo.

De forma similar, los sustituyentes opcionales para los grupos arilo y heteroarilo varían. En algunos modos de realización, los sustituyentes para grupos arilo y heteroarilo se seleccionan del grupo que consiste en halógeno; CN; NO; N₃; -OR'; perfluoro-C₁-C₄ alcoxi; cicloalquilo C₃-C₇ no sustituido; cicloalquilo C₃-C₇ sustituido por

halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''; arilo C₆-C₁₀ no sustituido (por ejemplo, fenilo); arilo C₆-C₁₀ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, o NR'R''; heterociclilo de 3-11 miembros no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S); heterociclilo de 3-11 miembros (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S) sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''; -NR'R''; -SR'; -SiR'R''R'''; -OC(O)R'; -C(O)R'; -CO₂R'; -CONR'R''; -OC(O)NR'R''; -NR''C(O)R'; -NR'''C(O)NR'R''; -NR''C(O)₂R'; -S(O)₂R'; -S(O)₂NR'R''; -NR'S(O)₂R''; -NR'''S(O)₂NR'R''; amidinilo; guanidinilo; -(CH₂)₁₋₄-OR'; -(CH₂)₁₋₄-NR'R''; -(CH₂)₁₋₄-SR'; -(CH₂)₁₋₄-SiR'R''R'''; -(CH₂)₁₋₄-OC(O)R'; -(CH₂)₁₋₄-C(O)R'; -(CH₂)₁₋₄-CO₂R'; y -(CH₂)₁₋₄CONR'R'', o combinaciones de los mismos, en un número en el intervalo de cero a (2m'+1), donde m' es la cantidad total de átomos de carbono en dicho radical. R', R'' y R''' cada uno independientemente se refieren a grupos que incluyen, por ejemplo, hidrógeno; alquilo C₁-C₆ no sustituido; alquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''; heteroalquilo C₁-C₆ no sustituido; heteroalquilo C₁-C₆ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''; arilo C₆-C₁₀ no sustituido; arilo C₆-C₁₀ sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, o NR'R''; heterociclilo de 3-11 miembros no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S); y heterociclilo de 3-11 miembros (por ejemplo, heteroarilo de 5-6 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S o heterocicloalquilo de 4-11 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de O, N y S) sustituido por halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆, oxo o NR'R''. Cuando R' y R'' se unen al mismo átomo de nitrógeno, pueden combinarse con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros en el que un átomo del anillo se sustituye opcionalmente con N, O o S y en el que el anillo se sustituye opcionalmente con halógeno, OH, CN, alquilo C₁-C₆ no sustituido, alcoxi C₁-C₆ no sustituido, oxo o NR'R''. Por ejemplo, -NR'R'' está destinado a incluir 1-pirrolidinilo y 4-morfolinilo.

El término “oxo” se refiere a =O o (=O)₂.

Como se usa en el presente documento, una línea ondulada “~” que cruza un enlace en una estructura química indica el punto de unión del átomo al cual el enlace ondulado se conecta en la estructura química al resto de una molécula o al resto de un
5 fragmento de una molécula. En algunos modos de realización, una flecha conjuntamente con un asterisco se usa a la manera de una línea ondulada para indicar un punto de unión.

En algunas formas de realización, los grupos divalentes se describen genéricamente sin configuraciones de unión específicas. Cabe destacar que la descripción genérica
10 pretende incluir ambas configuraciones de unión, a menos que se especifique lo contrario. Por ejemplo, en el grupo R¹-R²-R³, si el grupo R² se describe como -CH₂C(O)-, se entiende que este grupo puede unirse como R¹-CH₂C(O)-R³ y como R¹-C(O)CH₂-R³, a menos que se indique lo contrario.

Los términos “compuesto(s) de la invención”, y “compuesto(s) de la presente
15 invención” y similares, a menos que se indique de otro modo, incluyen compuestos de la fórmula (I) en el presente documento, tales como los compuestos 1-18, en ocasiones denominados inhibidores de JAK, que incluyen estereoisómeros (que incluyen atropisómeros), isómeros geométricos, tautómeros, solvatos, metabolitos, isótopos, sales (por ejemplo, sales farmacéuticamente aceptables) y profármacos de
20 los mismos. En algunos modos de realización, se excluyen los solvatos, metabolitos, isótopos o profármacos, o cualquier combinación de los mismos.

La frase “farmacéuticamente aceptable” se refiere a entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica u otra reacción inesperada cuando se las administra a un animal, por ejemplo, un ser humano, según
25 sea adecuado.

Los compuestos de la presente invención pueden estar en la forma de una sal, tal como una sal farmacéuticamente aceptable. Las “sales farmacéuticamente aceptables” incluyen sales de adición de ácidos y bases. Una “sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable” se refiere a las sales que retienen la efectividad y
30 propiedades biológicas de las bases libres y que no son indeseables biológicamente o de otro modo, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido carbónico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos que pueden seleccionarse de las clases de ácidos orgánicos alifáticos, cicloalifáticos, aromáticos, aralifáticos, heterocíclicos, carboxílicos y sulfónico
35 tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido

glucónico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido maleico, ácido maloneico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido aspártico, ácido ascórbico, ácido glutámico, ácido antranílico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido embónico, ácido fenilacético, ácido metanosulfónico, 5 ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares.

Las “sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables” incluyen las derivadas de bases inorgánicas, tales como sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio y similares. Las sales de adición 10 básica particulares son las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como resinas de isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, 15 tripropilamina, etanolamina, 2-dietilaminoetanol, trometamina, diciclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betaína, etilendiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, purinas, piperizina, piperidina, N-etilpiperidina, poliamina y similares. Las bases no tóxicas orgánicas particulares incluyen isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trometamina, diciclohexilamina, 20 colina y cafeína.

En algunos modos de realización, una sal se selecciona de un hidrocloruro, hidrobromuro, trifluoroacetato, sulfato, fosfato, acetato, fumarato, maleato, tartrato, lactato, citrato, piruvato, succinato, oxalato, metanosulfonato, p-toluenosulfonato, bisulfato, bencenosulfonato, etanosulfonato, malonato, xinafoato, ascorbato, oleato, 25 nicotinato, sacarinato, adipato, formiato, glicolato, palmitato, L-lactato, D-lactato, aspartato, malato, L-tartrato, D-tartrato, estearato, furoato (por ejemplo, 2-furoato o 3-furoato), napadisilato (naftaleno-1,5-disulfonato o naftaleno-1-(ácido sulfónico)-5-sulfonato), edisilato (etano-1,2-disulfonato o etano-1-(ácido sulfónico)-2-sulfonato), isetionato (2-hidroxietilsulfonato), 2-mesitilenosulfonato, 2-naftalenosulfonato, 2,5- 30 diclorobencenosulfonato, D-mandelato, L-mandelato, cinnamato, benzoato, adipato, esilato, malonato, mesitilato (2-mesitilenosulfonato), napsilato (2-naftalenosulfonato), camsilato (canfor-10-sulfonato, por ejemplo sal del ácido (1S)-(+)-10-canforsulfónico), glutamato, glutarato, hipurato (2-(benzoilamino)acetato), orotato, xilato (p-xileno-2-sulfonato), y pamoico (2,2'-dihidroxi-1,1'-dinaftilmetano-3,3'-dicarboxilato).

Una formulación “estéril” es aséptica o no tiene ningún microorganismo vivo ni sus esporas.

“Estereoisómeros” se refiere a compuestos que tienen una constitución química idéntica, pero que difieren con respecto a la disposición de los átomos o los grupos en el espacio. Los estereoisómeros incluyen diastereómeros, enantiómeros, confórmers y similares.

“Quiral” se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no superponibilidad de la pareja de imagen especular, mientras el término “aquiral” se refiere a moléculas que son superponibles en su pareja de imagen especular.

“Diastereómero” se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares entre sí. Los diastereómeros tienen diferentes propiedades físicas, por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales o actividades biológicas. Las mezclas de diastereómeros pueden separar procedimientos analíticos en baja resolución tales como electroforesis y cromatografía, tal como HPLC.

“Enantiómeros” se refiere a dos estereoisómeros de un compuesto, que son imágenes especulares no superponibles entre sí.

Las definiciones y convenciones estereoquímicas usadas en la presente siguen, por lo general, S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, Nueva York; y Eliel, E. y Wilen, S., “Stereochemistry of Organic Compounds”, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1994. Varios compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de la luz polarizada en plano. Para describir un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L o R y S, se usan para indicar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su(s) centro(s) quiral(es). Los prefijos d y l o (+) y (-) se emplean para designar el signo de la rotación de luz polarizada en plano por el compuesto, donde (-) o l significa que el compuesto es levorrotatorio. Un compuesto con el prefijo (+) o d es dextrorrotatorio. Para una estructura química dada, estos estereoisómeros son idénticos excepto que son imágenes especulares entre sí. Un estereoisómero específico también se puede denominar como enantiómero y una mezcla de dichos isómeros se denomina a menudo mezcla enantiomérica. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina mezcla racémica o racemato, que puede producirse donde no hay estereoselección o estereoespecificidad en una reacción química o procedimiento. Los términos “mezcla racémica” y “racemato” se refieren a

una mezcla equimolar de dos especies enantioméricas, desprovistas de actividad óptica.

Las expresiones "tautómero" o "forma tautomérica" se refieren a isómeros estructurales de diferentes energías que se pueden interconvertir mediante una
5 barrera de energía baja. Por ejemplo, los tautómeros protónicos (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen interconversiones mediante la migración de un protón, tal como isomerizaciones de ceto-enol e imina-enamina. Los tautómeros de valencia incluyen interconversiones mediante la reorganización de algunos de los electrones de unión.

10 Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas y en formas solvatadas, que incluyen formas hidratadas. Un "solvato" se refiere a una asociación o complejo de una o más moléculas de solvente y un compuesto de la presente invención. Los ejemplos de solventes que forman solventes incluyen agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético y
15 etanolamina. Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas pretenden estar dentro del alcance de la presente invención. El término "hidrato" se refiere al complejo donde la molécula de solvente es agua.

Un "metabolito" se refiere a un producto producido a través del metabolismo en el
20 cuerpo de un compuesto específico o sal de este. Dichos productos pueden generarse, por ejemplo, por la oxidación, reducción, hidrólisis, amidación, desamidación, esterificación, desesterificación, escisión enzimática y similares, del compuesto administrado.

Los productos de metabolitos se identifican normalmente mediante la preparación de
25 un isótopo radiomarcado (por ejemplo, ^{14}C o ^3H) de un compuesto de la invención, la administración de este en una dosis detectable (por ejemplo, mayor de aproximadamente 0,5 mg/kg) a un animal tal como una rata, ratón, conejillo de Indias, mono o a un ser humano, otorgando tiempo suficiente para el metabolismo (normalmente aproximadamente 30 segundos a 30 horas) y aislando sus productos de
30 conversión de las muestras de orina, sangre u otras muestras biológicas. Estos productos se aíslan fácilmente dado que están marcados (otros se aíslan mediante el uso de anticuerpos capaces de unir epítopos que sobreviven en el metabolito). Las estructuras del metabolito se determinan de manera convencional, por ejemplo, mediante análisis de MS, LC/MS o RMN. En general, los análisis de metabolitos se
35 realizan de la misma manera que los estudios de metabolismo de fármacos

convencionales conocidos por las personas del oficio de nivel medio. Los productos de metabolitos, mientras no se encuentren de otra manera *in vivo*, son útiles en los ensayos de diagnóstico para la dosis terapéutica de los compuestos de la invención.

Un “sujeto”, un “individuo” o un “paciente” es un vertebrado. En ciertas formas de realización, el vertebrado es un mamífero. Los mamíferos incluyen, entre otros, animales de granja (tales como vacas), animales de deporte, mascotas (tales como conejillos de Indias, gatos, perros, conejos y caballos), primates, ratones y ratas. En ciertas formas de realización, un mamífero es un ser humano. En modos de realización que comprenden la administración de un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a un paciente, el paciente puede tener necesidad de este.

El término “Janus cinasa” se refiere a proteínas cinasas JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2. En algunos modos de realización, una Janus cinasa puede definirse adicionalmente como una de JAK1, JAK2, JAK3 o TYK2. En cualquier modo de realización, cualquiera de JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2 puede excluirse específicamente como una Janus cinasa. En algunos modos de realización, una Janus cinasa es JAK1. En algunos modos de realización, una Janus cinasa es una combinación de JAK1 y JAK2.

Los términos “inhibir” y “reducir” o cualquier variación de estos términos, incluyen cualquier disminución mensurable o inhibición completa para alcanzar un resultado deseado. Por ejemplo, puede haber una disminución de aproximadamente, como máximo aproximadamente o como mínimo aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 99 %, o más, o cualquier intervalo que se derive de estos, de reducción de la actividad (por ejemplo, la actividad de JAK1) comparada con la normal.

–“Cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad de un compuesto o una sal del mismo (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) de la presente invención que (i) trata o previene la enfermedad, la afección o el trastorno particular o (ii) atenúa, mejora o elimina uno o más síntomas de la enfermedad, la afección o el trastorno particular, y opcionalmente (iii) previene o retrasa la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad, la afección o el trastorno particular descrita en el presente documento. En algunos modos de realización, la cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad suficiente para disminuir o aliviar los síntomas de una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria (por ejemplo, asma). En algunos modos de realización, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad de una entidad química descrita en el presente documento suficiente para disminuir

significativamente la actividad o el número de linfocitos B. En el caso de cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco puede reducir la cantidad de células cancerosas; reducir el tamaño tumoral; inhibir (es decir, ralentizar en cierto grado y detener preferentemente) la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; inhibir (es decir, ralentizar en cierto grado y detener preferentemente) la metástasis tumoral; inhibir en cierto grado el crecimiento tumoral; o aliviar en cierto grado uno o más de los síntomas asociados con el cáncer. Según el grado en que el fármaco puede prevenir el crecimiento o inactivar las células cancerosas existentes, puede ser citostático o citotóxico. En el caso del tratamiento contra el cáncer, la eficacia puede medirse, por ejemplo, al evaluar el tiempo hasta la progresión de la enfermedad (TTP) o al determinar la tasa de respuesta (RR).

"Tratamiento" (y variaciones tales como "tratar" o "que se trata") se refiere a una intervención clínica en un intento de alterar el curso natural del individuo o la célula que se está tratando y se puede llevar a cabo para profilaxis o durante el curso de una patología clínica. Los efectos deseables del tratamiento incluyen la prevención de la aparición o reaparición de la enfermedad, alivio de los síntomas, disminución de cualquier consecuencia patológica, directa o indirecta, de la enfermedad, un estado estabilizado (es decir, sin empeoramiento) de la enfermedad, disminución de la velocidad de progresión de la enfermedad, mejora o paliación del estado de la enfermedad, extensión de la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada en caso de no recibir tratamiento y remisión o prognosis mejorada. En algunos modos de realización, un compuesto de la invención o una sal del mismo (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) se usa para retrasar el desarrollo de una enfermedad o un trastorno o para ralentizar la progresión de una enfermedad o un trastorno. Entre aquellos que necesitan tratamiento se incluyen aquellos que ya tienen la afección o trastorno, así como aquellos propensos a tener la afección o trastorno (por ejemplo, a través de una mutación genética) o aquellos en los que la afección o trastorno debe prevenirse.

"Trastorno inflamatorio" se refiere a cualquier enfermedad, trastorno o síndrome en el que una respuesta inflamatoria excesiva o desregulada conduce a síntomas inflamatorios excesivos, daño tisular del huésped, o pérdida de la función del tejido. "Trastorno inflamatorio" también se refiere a un estado patológico mediado por influjo de leucocitos o quimiotaxis de neutrófilos.

"Inflamación" se refiere a una respuesta protectora, localizada, inducida por una lesión o destrucción de tejidos, que sirve para destruir, diluir o aislar (secuestrar) tanto el

- agente dañino como el tejido dañado. La inflamación se asocia notablemente con influjo de leucocitos o quimiotaxis de neutrófilos. La inflamación puede ser el resultado de una infección con organismos y virus patógenos y de medios no infecciosos tales como trauma o reperfusión después de un infarto de miocardio o apoplejía, respuestas
- 5 inmunitarias contra xenoantígenos y respuestas autoinmunitarias. En consecuencia, los trastornos inflamatorios que pueden tratarse con un compuesto o una sal del mismo (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) de la presente invención abarcan trastornos asociados con reacciones del sistema de defensa específico así como con reacciones del sistema de defensa no específico.
- 10 El "sistema de defensa específico" se refiere al componente del sistema inmunitario que reacciona a la presencia de antígenos específicos. Ejemplos de inflamación resultante de una respuesta del sistema de defensa específico incluyen la respuesta clásica contra xenoantígenos, enfermedades autoinmunitarias, y respuestas de hipersensibilidad de tipo retardada mediadas por células T. Las enfermedades
- 15 inflamatorias crónicas, el rechazo de tejidos y órganos trasplantados sólidos, por ejemplo, trasplantes de riñón y médula ósea, y enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD), son otros ejemplos de reacciones inflamatorias del sistema de defensa específico.
- La expresión "sistema de defensa no específico" se refiere a trastornos inflamatorios
- 20 que están mediados por leucocitos que no poseen memoria inmunológica (por ejemplo, granulocitos y macrófagos). Los ejemplos de inflamación que es el resultado, al menos en parte, de una reacción del sistema de defensa no específico incluyen inflamación asociada con afecciones tales como síndrome de dificultad respiratoria en el adulto (aguda) (ARDS) o síndromes de daño multiorgánico; daño por reperfusión;
- 25 glomerulonefritis aguda; artritis reactiva; dermatosis con componentes inflamatorios agudos; meningitis purulenta aguda u otros trastornos inflamatorios del sistema nervioso central tales como apoplejía; lesión térmica; enfermedad inflamatoria intestinal; síndromes asociados por transfusión de granulocitos; y toxicidad inducida por citocinas.
- 30 "Enfermedad autoinmunitaria" se refiere a cualquier grupo de trastornos en los que la lesión tisular se asocia con respuestas humorales o mediadas por células contra los constituyentes del propio cuerpo. Los ejemplos no limitantes de enfermedades autoinmunitarias incluyen artritis reumatoide, lupus y esclerosis múltiple.
- "Enfermedad alérgica" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier
- 35 síntoma, daño tisular o pérdida de la función del tejido resultante de una alergia.

"Enfermedad artrítica" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier enfermedad que se caracteriza por lesiones inflamatorias de las articulaciones atribuibles a una variedad de etiologías. "Dermatitis" como se usa en el presente documento se refiere a una cualquiera de una gran familia de enfermedades de la piel que se caracterizan por inflamación de la piel atribuible a una variedad de etiologías.

5 "Rechazo del trasplante" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier reacción inmunitaria dirigida contra un tejido injertado, tal como órganos o células (por ejemplo, médula ósea), caracterizada por una pérdida de la función de los tejidos injertados y adyacentes, dolor, hinchamiento, leucocitosis y trombocitopenia. Los procedimientos terapéuticos de la presente invención incluyen procedimientos para el tratamiento de trastornos asociados con la activación de células inflamatorias.

10 "Activación de células inflamatorias" se refiere a la inducción mediante un estímulo (que incluye, pero sin limitarse a, citocinas, antígenos o auto-anticuerpos) de una respuesta celular proliferativa, la producción de mediadores solubles (que incluyen pero sin limitarse a citocinas, radicales de oxígeno, enzimas, prostanoides o aminas vasoactivas), o la expresión en la superficie celular de nuevas o mayor cantidad de mediadores (que incluyen, pero sin limitarse a, antígenos principales de histocompatibilidad o moléculas de adhesión celular) en células inflamatorias (que incluyen pero sin limitarse a monocitos, macrófagos, linfocitos T, linfocitos B,

15 20 granulocitos (es decir, leucocitos polimorfonucleares tales como neutrófilos, basófilos y eosinófilos), mastocitos, células dendríticas, células de Langerhans y células endoteliales). Los expertos en la técnica apreciarán que la activación de un fenotipo o una combinación de estos en estas células puede contribuir a la iniciación, perpetuación o exacerbación de un trastorno inflamatorio.

25 En algunos modos de realización, los trastornos inflamatorios que pueden tratarse de acuerdo con los procedimientos de esta invención incluyen, pero no se limitan a, asma, rinitis (por ejemplo, rinitis alérgica), síndrome alérgico de las vías respiratorias, dermatitis atópica, bronquitis, artritis reumatoide, psoriasis, dermatitis por contacto, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) y reacciones de hipersensibilidad retardada.

30 Los términos "cáncer" y "canceroso", "neoplasma", y "tumor" y los términos relacionados se refieren a o describen la condición fisiológica en mamíferos que se caracterizan normalmente mediante crecimiento celular no regulado. Un "tumor" comprende una o más células cancerosas. Los ejemplos de cáncer incluyen

35 carcinoma, blastoma, sarcoma, seminoma, glioblastoma, melanoma, leucemia, y

neoplasias malignas mieloides o linfoides. Los ejemplos más particulares de dichos tipos de cáncer incluyen cáncer de células escamosas (por ejemplo, cáncer de células escamosas epitelial) y cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas ("NSCLC"), adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso del pulmón. Otras neoplasias malignas incluyen carcinoma de piel, queratoacantoma, carcinoma folicular, leucemia de tricoleucocitos, cáncer de cavidad bucal, faringe (oral), labio, lengua, boca, glándulas salivales, esófago, laringe, hepatocelular, gástrico, estómago, gastrointestinal, intestino delgado, intestino grueso, pancreático, cervical, ovario, hígado, vejiga, hepatoma, mama, colon, rectal, colorrectal, genitourinario, pasaje biliar, tiroides, papilar, hepático, de endometrio, uterino, glándula salival, riñón o renal, próstata, testicular, de vulva, peritoneo, anal, de pene, óseo, mieloma múltiple, linfoma de linfocitos B, metástasis asociadas al sistema nervioso central, cerebro, cabeza y cuello y Hodgkin. Los ejemplos de trastornos neoplásicos incluyen trastornos mieloproliferativos, tales como policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis, tal como mielofibrosis primaria y leucemia mielógena crónica (CML).

Un "agente quimioterápico" es un agente útil en el tratamiento de un trastorno determinado, por ejemplo, cáncer o trastornos inflamatorios. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos son conocidos en el estado de la técnica e incluyen ejemplos tales como los que se divulgan en la solicitud de la publicación estadounidense N.º 2010/0048557, que se incorpora en la presente por referencia. Además, los agentes quimioterapéuticos incluyen sales farmacéuticamente aceptables, ácidos o derivados de cualquier agente quimioterápico, así como combinaciones de dos o más de estos.

"Prospecto" se refiere a las instrucciones que habitualmente se incluyen en los envases comerciales de productos terapéuticos que contienen información sobre las indicaciones, el uso, dosificación, administración, contraindicaciones o advertencias de uso de dichos productos terapéuticos.

A menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento incluyen compuestos que difieren únicamente en presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. Los isótopos ejemplares que pueden incorporarse a los compuestos de la presente invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro y yodo, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I y ^{125}I , respectivamente. Los compuestos marcados de manera isotópica (por ejemplo, los marcados con ^3H y ^{14}C) pueden ser útiles en los ensayos de distribución de tejido de

5 sustrato o compuesto. Los isótopos titulados (es decir, ^3H) y del carbono-14 (es decir, ^{14}C) pueden ser útiles por su sencilla preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados, tales como deuterio, (es decir, ^2H), puede producir algunas ventajas terapéuticas que surgen de una mayor estabilidad metabólica, (por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menos requisitos de dosificación). En algunos modos de realización, uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan por ^2H o ^3H , o uno o más átomos de carbono se reemplazan por carbono enriquecido ^{13}C -o ^{14}C . Los isótopos emisores de positrones tales como ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C y ^{18}F son útiles para los estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación del receptor de sustrato. Los compuestos marcados de manera isotópica se pueden preparar, en general, mediante los procedimientos análogos a aquellos divulgados en los esquemas o en los ejemplos en el presente documento, mediante la sustitución de un reactivo marcado de manera isotópica por un reactivo marcado de manera no isotópica.

10 15 Se contempla específicamente que cualquier limitación analizada con respecto a un modo de realización de la invención puede aplicar a cualquier otro modo de realización de la invención. Además, cualquier compuesto o una sal del mismo (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) o composición de la invención puede usarse en cualquier procedimiento de la invención, y cualquier procedimiento de la invención puede usarse para producir o utilizar cualquier compuesto o una sal del mismo (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) o composición de la invención.

20 El uso del término “o” es para referirse a “y/o” a menos que se indique de manera explícita que se refiere solo a alternativas o las alternativas se excluyen mutuamente, aunque la descripción respalda una definición que se refiere solo a las alternativas e “y/o.”

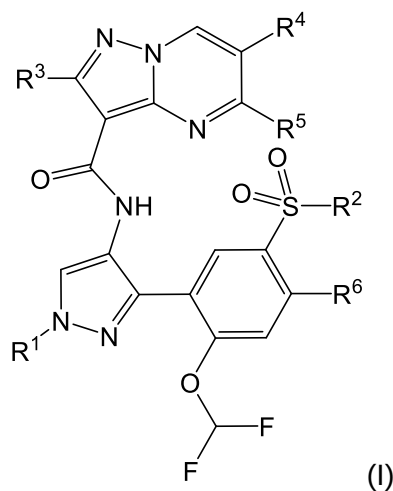
En la presente solicitud, el término “aproximadamente” se usa para indicar que un valor incluye la desviación estándar de error para el dispositivo o procedimiento que se utiliza para determinar el valor.

30 Como se usa en la presente, “un” o “una” se refiere a una o más, a menos que se indique claramente lo contrario. Como se usa en la presente, “otro” significa al menos un segundo o más.

Los títulos usados en la presente solo se usan con fines organizativos.

INHIBIDORES DE JANUS CINASAS

35 Un modo de realización proporciona un compuesto de fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en el que:

5 R^1 es: alquilo C_{1-6} ; ciano-alquilo C_{1-6} ; alcoxi C_{1-6} -(CO)-; $-(CHR^a)_m-NR^bR^c$; o $-(CHR^a)_n$ -het¹;

R^2 es: alquilo C_{1-6} ; hidroxialquilo C_{1-6} ; haloalquilo C_{1-6} ; alcoxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} ; cicloalquilo C_{3-6} ; $-(CHR^a)_p-NR^bR^c$; het²; $-(CHR^a)_q$ -het³; o fenilo que puede estar no sustituido o sustituido una vez o dos veces con R^d ;

R^3 es: hidrógeno; amino; o alquilo C_{1-6} ;

10 R^4 es: hidrógeno; o alquilo C_{1-6} ;

R^5 es: hidrógeno; o alquilo C_{1-6} ;

R^6 es: hidrógeno; alquilo C_{1-6} ; o R^2 y R^6 conjuntamente con los átomos a los que se unen pueden formar un anillo de seis miembros;

m es de 2 a 3;

15 n es de 0 a 2;

p es de 0 a 2;

cada R^a es independientemente: hidrógeno; o alquilo C_{1-6} ;

cada R^b es independientemente: hidrógeno; o alquilo C_{1-6} ;

cada R^c es independientemente: hidrógeno; o alquilo C_{1-6} ;

20 het¹ es: tetrahydrofurano; azetidino; o pirrolidino, cada uno de los cuales puede estar no sustituido o sustituido una vez o dos veces con R^e ;

het² es: piridinilo; pirimidinilo; pirazolilo; imidazolilo; o isoquinolinilo que puede estar parcialmente saturado; cada uno de los cuales puede estar no sustituido o sustituido una vez o dos veces con R^f ;

25 het³ es: azetidino; pirrolidino; oxetanilo; o piperidinilo; cada uno de los cuales puede estar no sustituido o sustituido una vez con R^g ;

- cada R^d es independientemente: alquilo C_{1-6} ; hidroxil; alcoxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} ; $-(CHR^a)_q-NR^bR^c$; o fenilo;
- cada R^e es independientemente: alquilo C_{1-6} ; u oxo;
- cada R^f es independientemente: alquilo C_{1-6} ; hidroxil; alquilo C_{1-6} ; oxo; $-(CHR^a)_r-NR^bR^c$;
- 5 $-(CHR^a)_s-het^4$;
- cada R^g es independientemente: alquilo C_{1-6} ; o acetilo;
- q es de 1 a 2;
- r es de 2 a 3;
- s es de 2 a 3; y
- 10 het^4 es: azetidil-1-il; 1-metil-azetidil-3-il; quinuclidinil; 1-metil-pirrolidin-2-il; o 4-metilpiperazin-1-il.
- En determinados modos de realizaci3n R^3 es hidr3geno.
- En determinados modos de realizaci3n R^4 es hidr3geno.
- En determinados modos de realizaci3n R^5 es hidr3geno.
- 15 En determinados modos de realizaci3n R^6 es hidr3geno.
- En determinados modos de realizaci3n R^1 es cianometilo o metilo.
- En determinados modos de realizaci3n R^1 es cianometilo.
- En determinados modos de realizaci3n R^1 es metilo.
- En determinados modos de realizaci3n R^2 es: alquilo C_{1-6} ; hidroxil-alquilo C_{1-6} ; halo-
- 20 alquilo C_{1-6} ; alcoxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} ; cicloalquilo C_{3-6} ; $-(CHR^a)_p-NR^bR^c$; het^2 ; $-(CHR^a)_q-het^3$; o fenilo que puede estar no sustituido o sustituido una vez con R^d .
- En determinados modos de realizaci3n R^2 es alquilo C_{1-6} .
- En determinados modos de realizaci3n R^2 es hidroxil-alquilo C_{1-6} .
- En determinados modos de realizaci3n R^2 es halo-alquilo C_{1-6} .
- 25 En determinados modos de realizaci3n R^2 es alcoxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} .
- En determinados modos de realizaci3n R^2 es cicloalquilo C_{3-6} .
- En determinados modos de realizaci3n R^2 es $-(CHR^a)_p-NR^bR^c$.
- En determinados modos de realizaci3n R^2 es het^2 .
- En determinados modos de realizaci3n R^2 es $-(CHR^a)_q-het^3$.
- 30 En determinados modos de realizaci3n R^2 es fenilo que puede estar no sustituido o sustituido una vez con R^d .
- En determinados modos de realizaci3n R^2 es alquilo C_{1-6} , hidroxil-alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} o halo-alquilo C_{1-6} .
- En determinados modos de realizaci3n R^2 es $-(CH_2)_2-NR^bR^c$.
- 35 En determinados modos de realizaci3n R^2 es alquilo C_{1-6} .

- En determinados modos de realización R^2 es hidroxi-alquilo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} .
- 6.
- En determinados modos de realización R^2 es hidroxi-alquilo C_{1-6} .
- En determinados modos de realización R^2 es alcoxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} .
- 5 En determinados modos de realización R^2 es metoxi-alquilo C_{1-6} .
- En determinados modos de realización R^2 es 2-metoxietilo.
- En determinados modos de realización R^2 es halo-alquilo C_{1-6} .
- En determinados modos de realización R^2 es 2-hidroxietilo, difluorometoxi, 3-hidroxihenilo, -metoxifenilo, 2-hidroxipropilo, piridin-4-ilo, metilo, azetidin--ilo, 2-hidroximetil-1-etilo, metilamino, dimetilamino, 1-metil-pirazol-4-ilo, fenilo, pirazol-4-ilo, 1-metil-2-oxo-4-piridilo, o 2-hidroximetil-propilo.
- 10 En determinados modos de realización R^2 es 2-hidroxietilo, 2-hidroxipropilo, 2-hidroximetil-1-etilo, o 2-hidroximetil-propilo.
- En determinados modos de realización R^2 es 2-hidroxietilo.
- 15 En determinados modos de realización R^2 es 2-hidroxipropilo.
- En determinados modos de realización R^2 es 2-hidroximetil-1-etilo.
- En determinados modos de realización R^2 es 2-hidroximetil-propilo.
- En determinados modos de realización m es 2.
- En determinados modos de realización m es 3.
- 20 En determinados modos de realización n es 0.
- En determinados modos de realización n es 1.
- En determinados modos de realización n es 2.
- En determinados modos de realización p es 0.
- En determinados modos de realización p es 1.
- 25 En determinados modos de realización p es 2.
- En determinados modos de realización q es 1.
- En determinados modos de realización q es 2.
- En determinados modos de realización r es 2.
- En determinados modos de realización r es 3.
- 30 En determinados modos de realización s es 2.
- En determinados modos de realización s es 3.
- En determinados modos de realización R^a es hidrógeno.
- En determinados modos de realización R^a es alquilo C_{1-6} .
- En determinados modos de realización R^b es hidrógeno.
- 35 En determinados modos de realización R^b es alquilo C_{1-6} .

En determinados modos de realización R^c es hidrógeno.

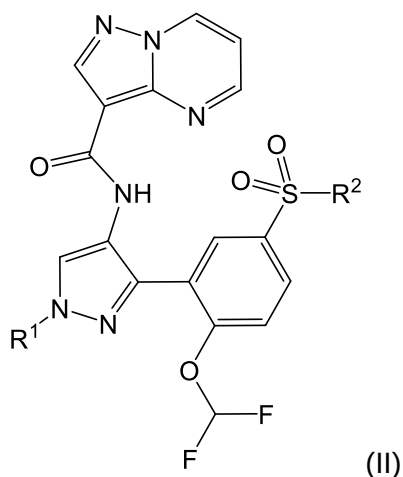
En determinados modos de realización R^c es alquilo C₁₋₆.

En determinados modos de realización het¹ es 1-metil azetidin-4-ilo, 2-oxi-tetrahidrofurano-3-ilo o pirrolidinilo.

- 5 En determinados modos de realización het² es piridin-4-ilo, 1-metil-pirazol-4-ilo, 1-(2-hidroxipropil)-pirazol-4-ilo, pirazol-4-ilo, piridin-3-ilo, 6-oxo-1H-piridin-3-ilo, 1-metil-2-oxo-piridin-4-ilo, 1-quinuclidin-3-ilpirazol-4-ilo, 1-[2-[(1-metilpirrolidin-2-il)etil]pirazol-4-ilo, 1-[2-(dimetilamino)propil]pirazol-4-ilo, 1-metil-azetidin-3-il)pirazol-4-ilo, 2-metil-1H-isoquinolin-7-ilo, 2-metil-1H-isoquinolin-6-ilo, 1-metil-imidazol-4-ilo, o 1H-imidazol-4-ilo,
- 10 pirimidin-5-ilo,

En determinados modos de realización het³ es 1-metil-azetidin-4-ilo, azetidin-4-ilo, azetidin-1-ilo, pirrolidin-3-ilo, oxetan-4-ilo, 1-metil-pirrolidin-3-ilo, 1-acetil-azetidin-4-ilo, piperidin-3-ilo, o 4-metilpiperazin-1-ilo.

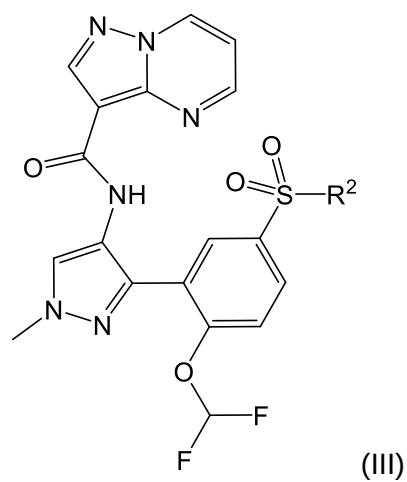
En determinados modos de realización los compuestos en cuestión son de fórmula (II)



15

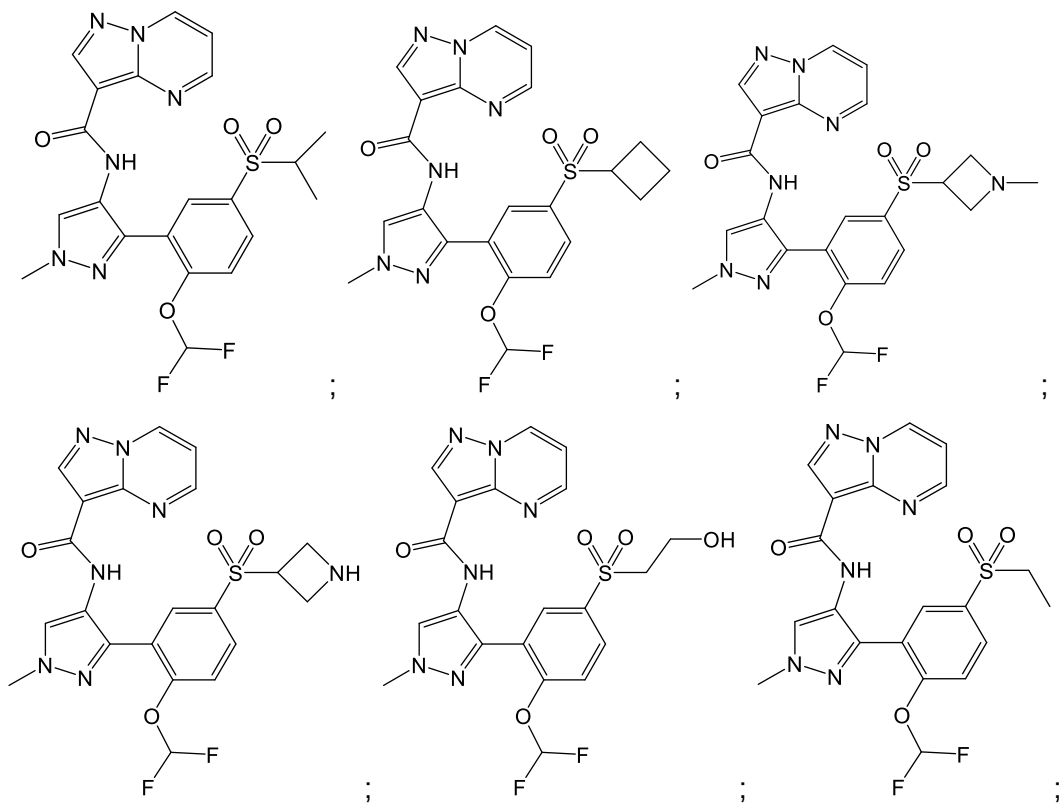
en la que R¹ y R² son como se definen en el presente documento.

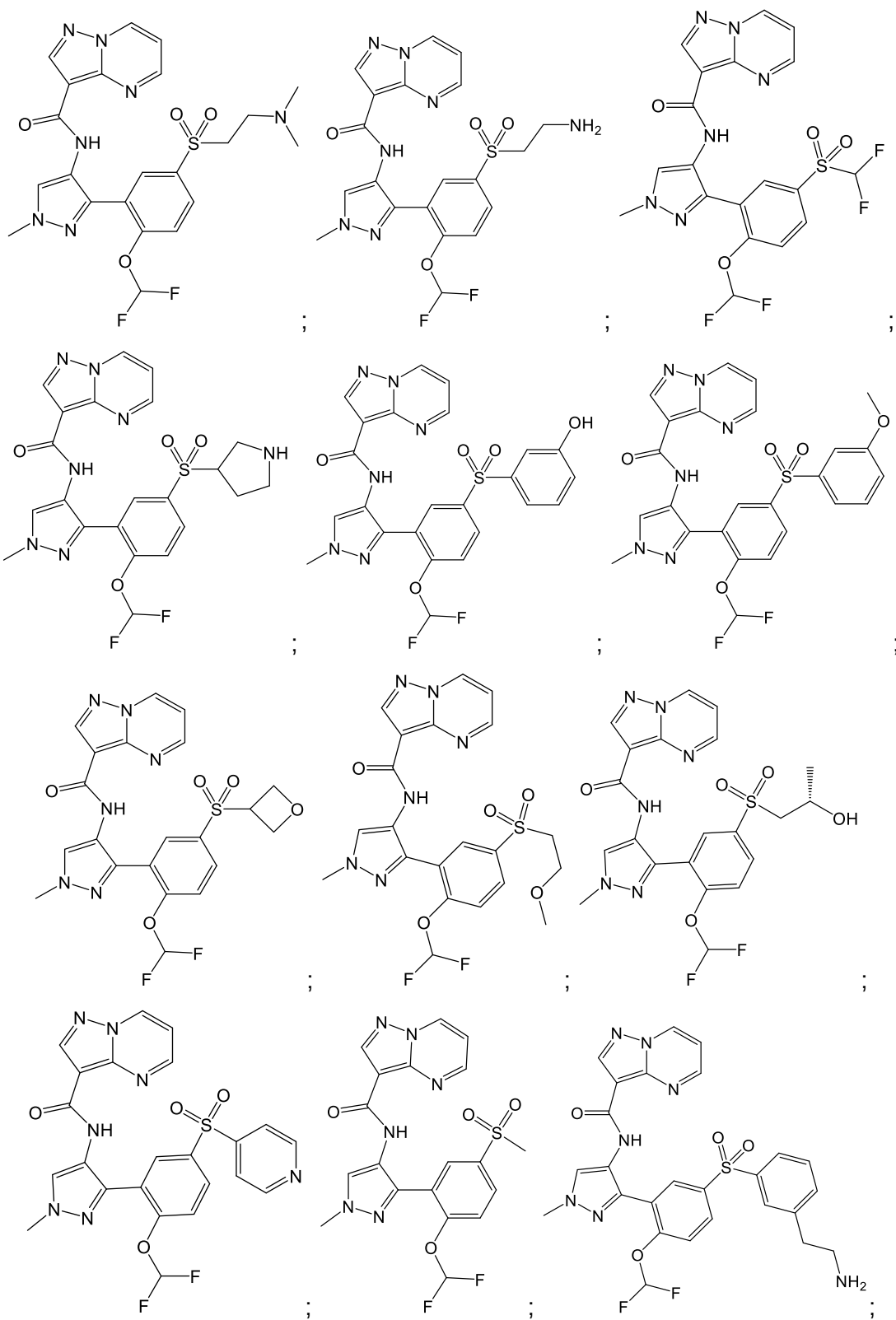
En determinados modos de realización los compuestos en cuestión son de fórmula (III)

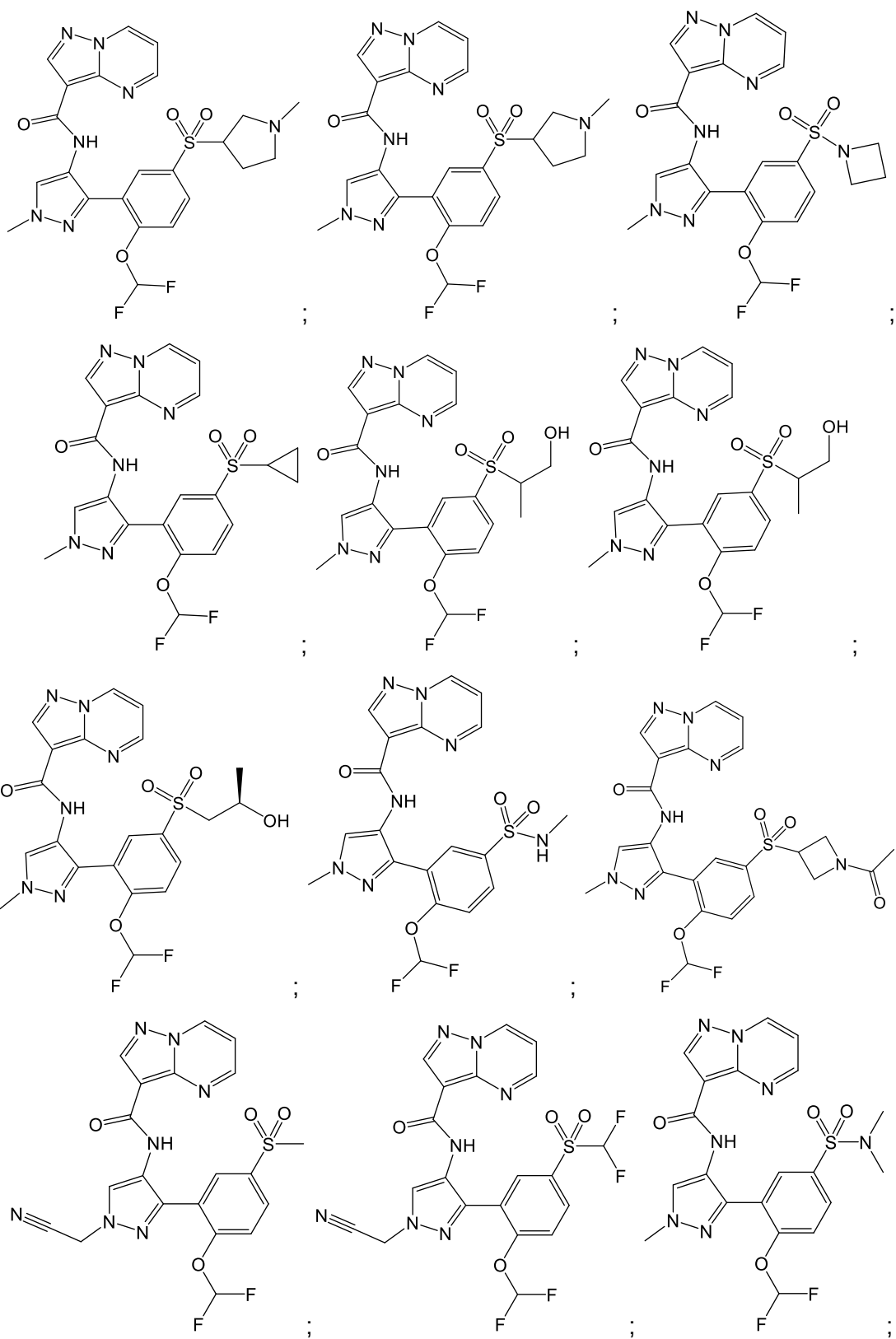


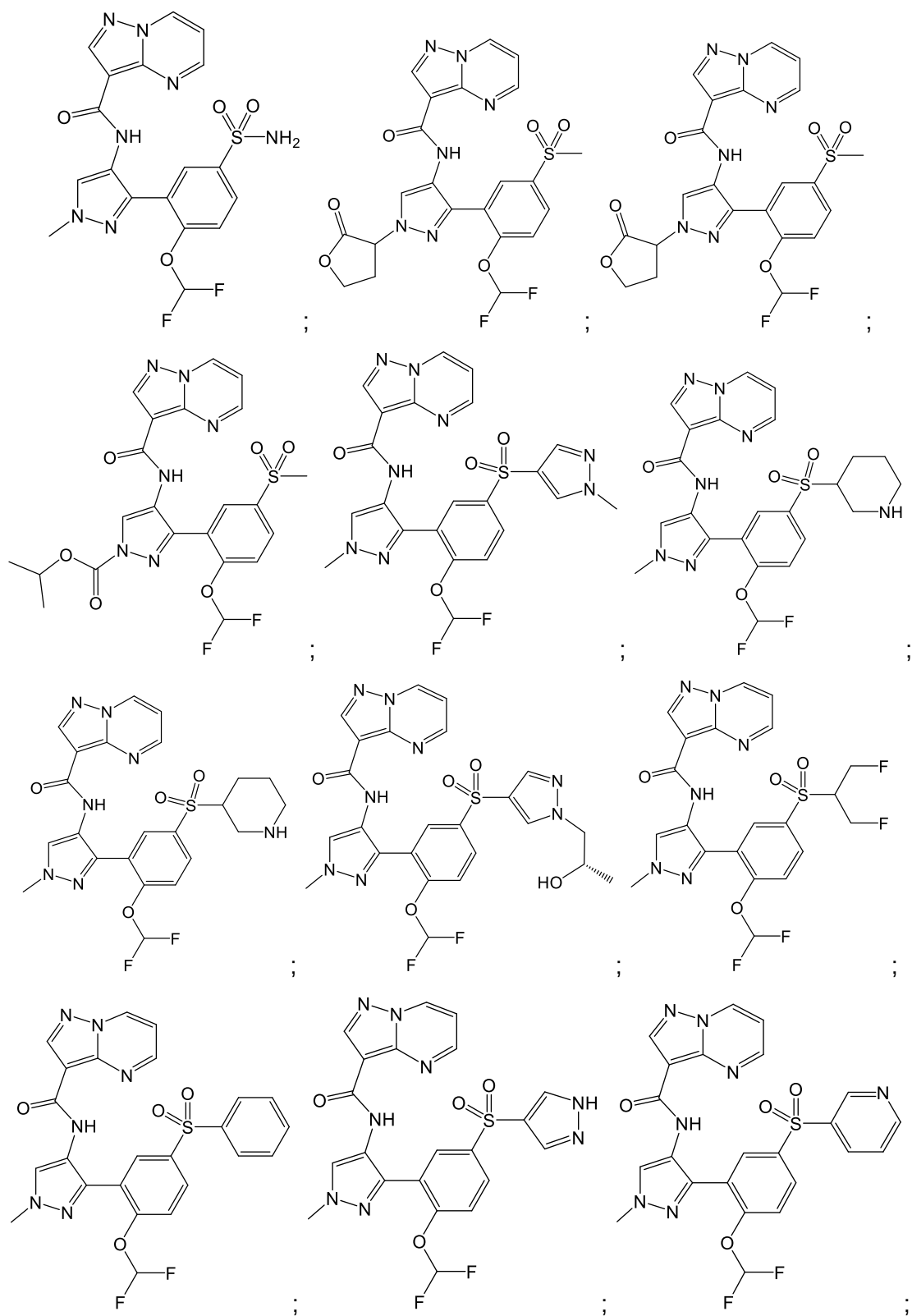
en la que R^2 es como se define en el presente documento.

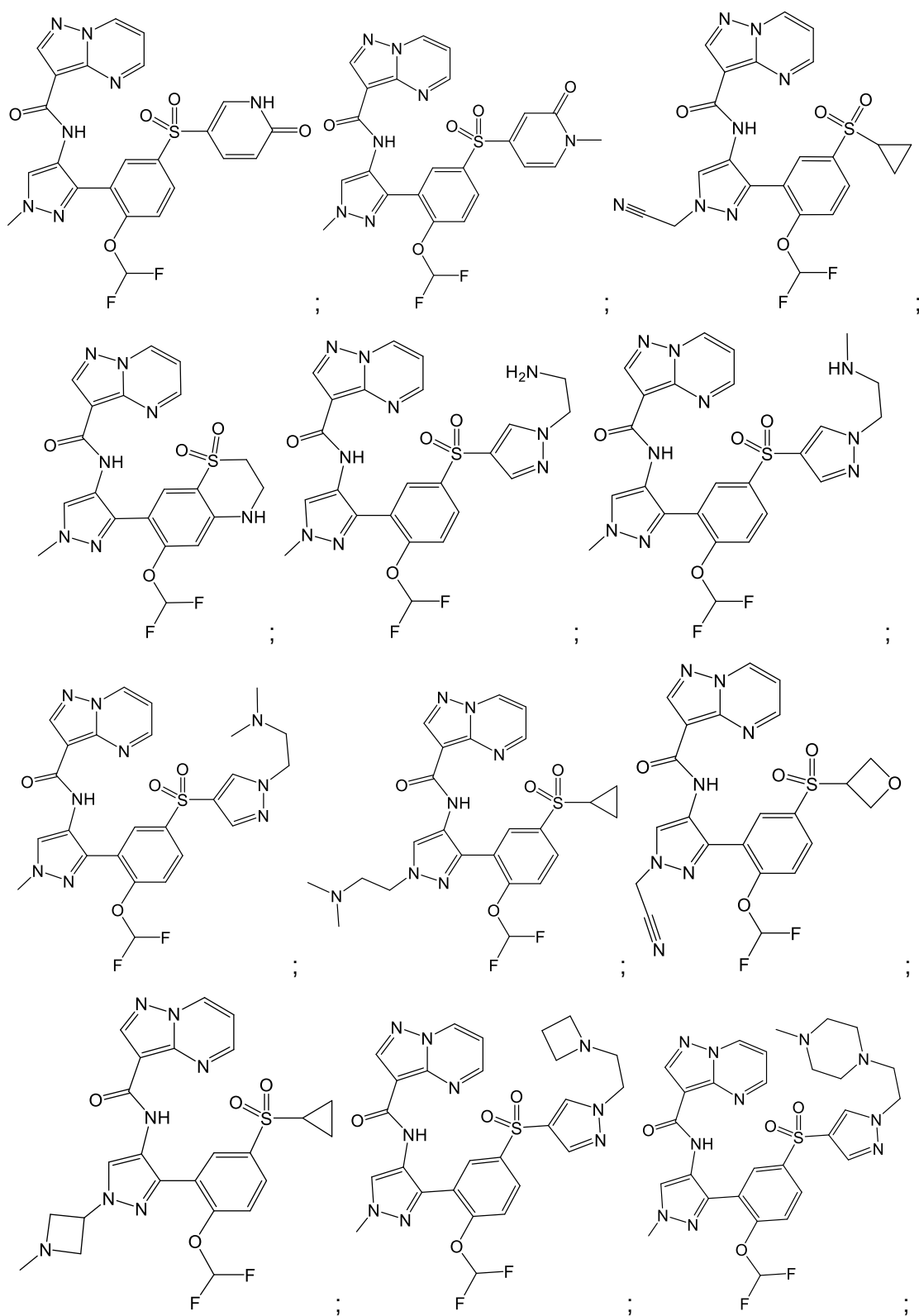
En determinados modos de realización el compuesto de fórmula (I) se selecciona de:

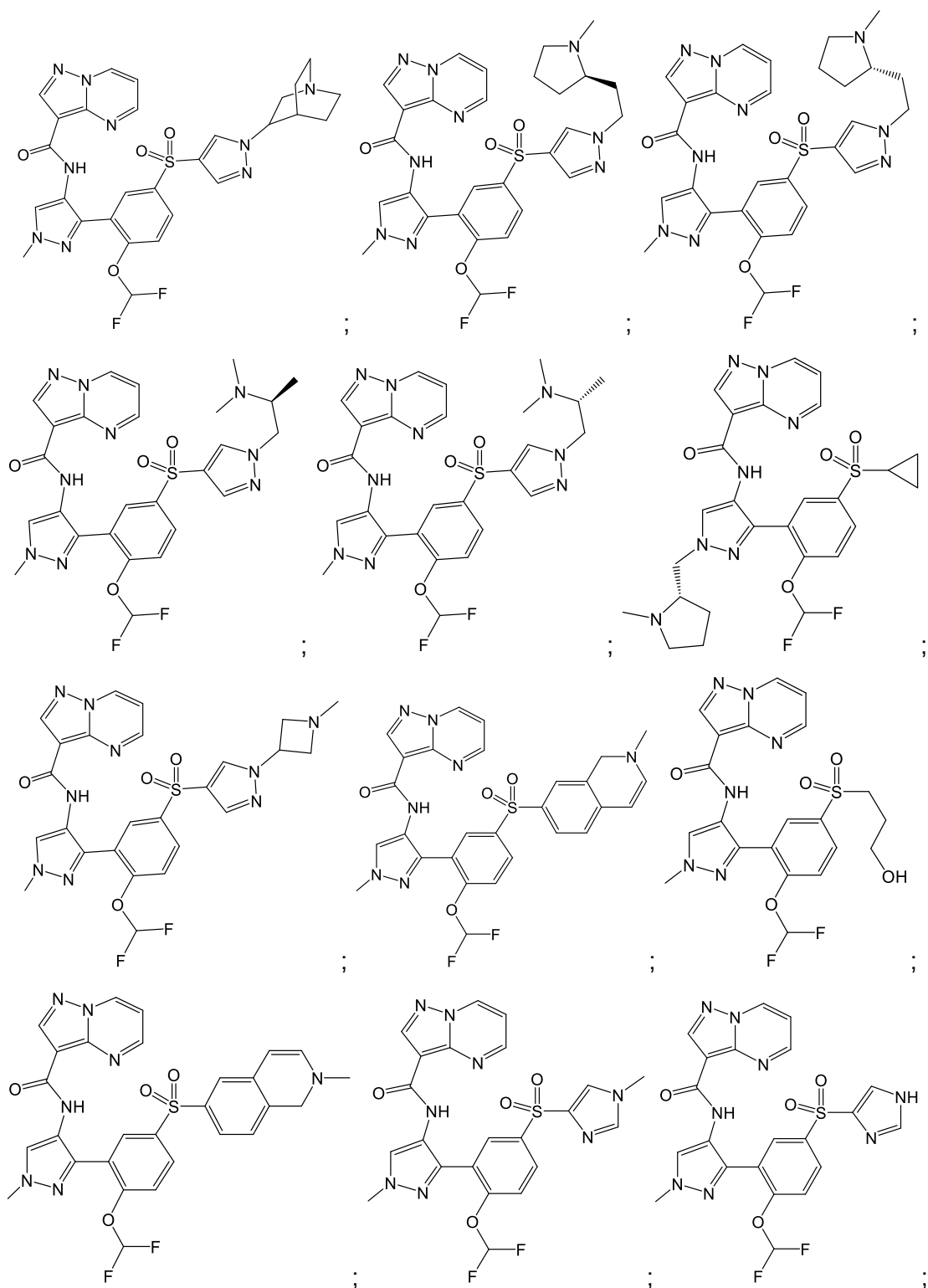


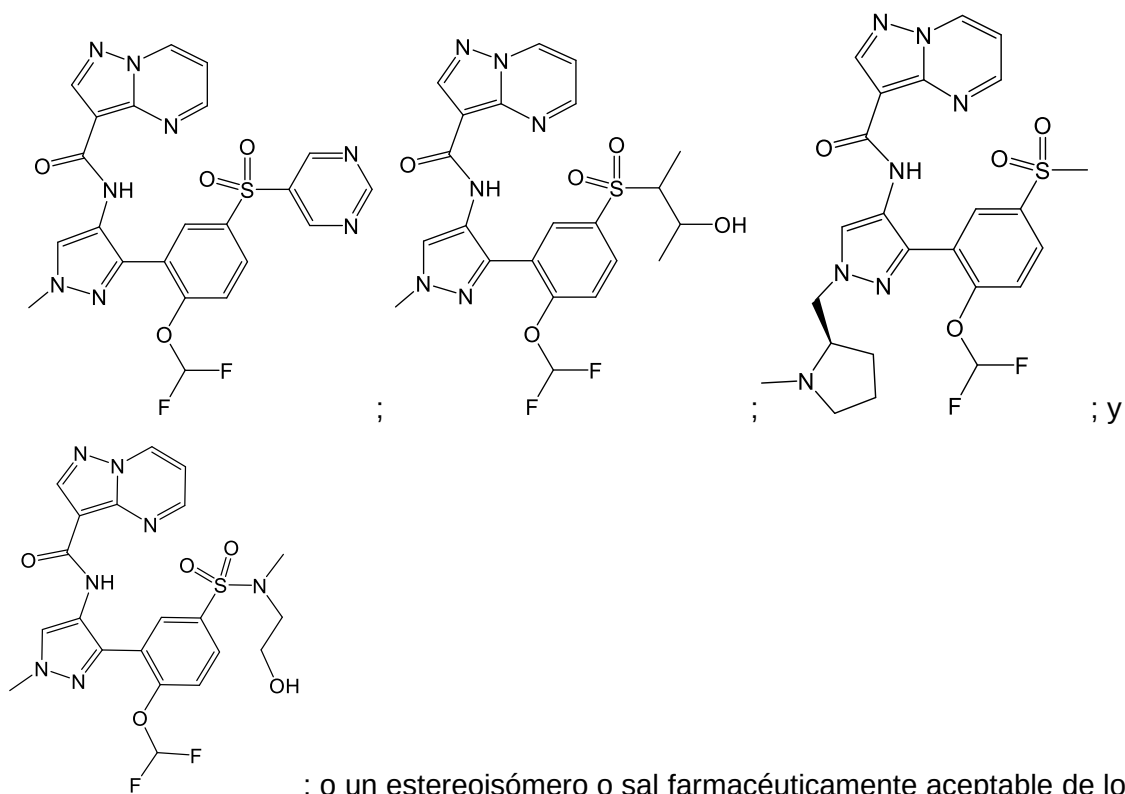






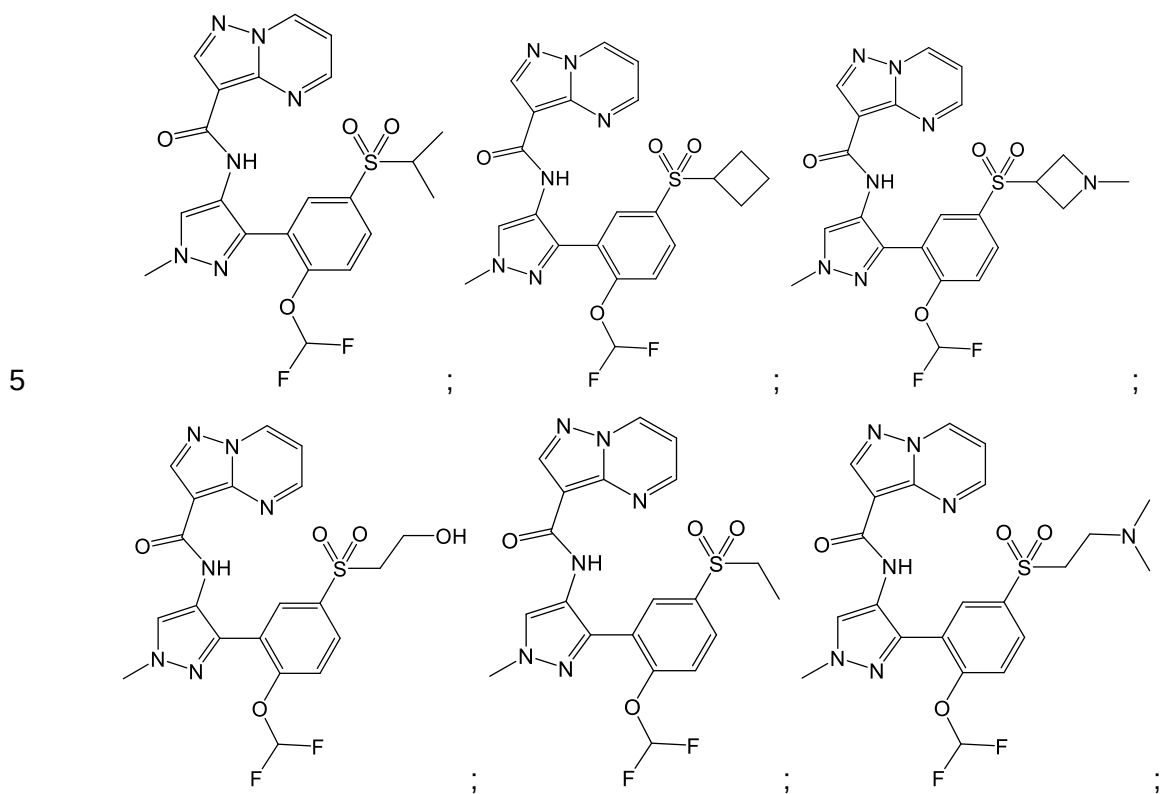


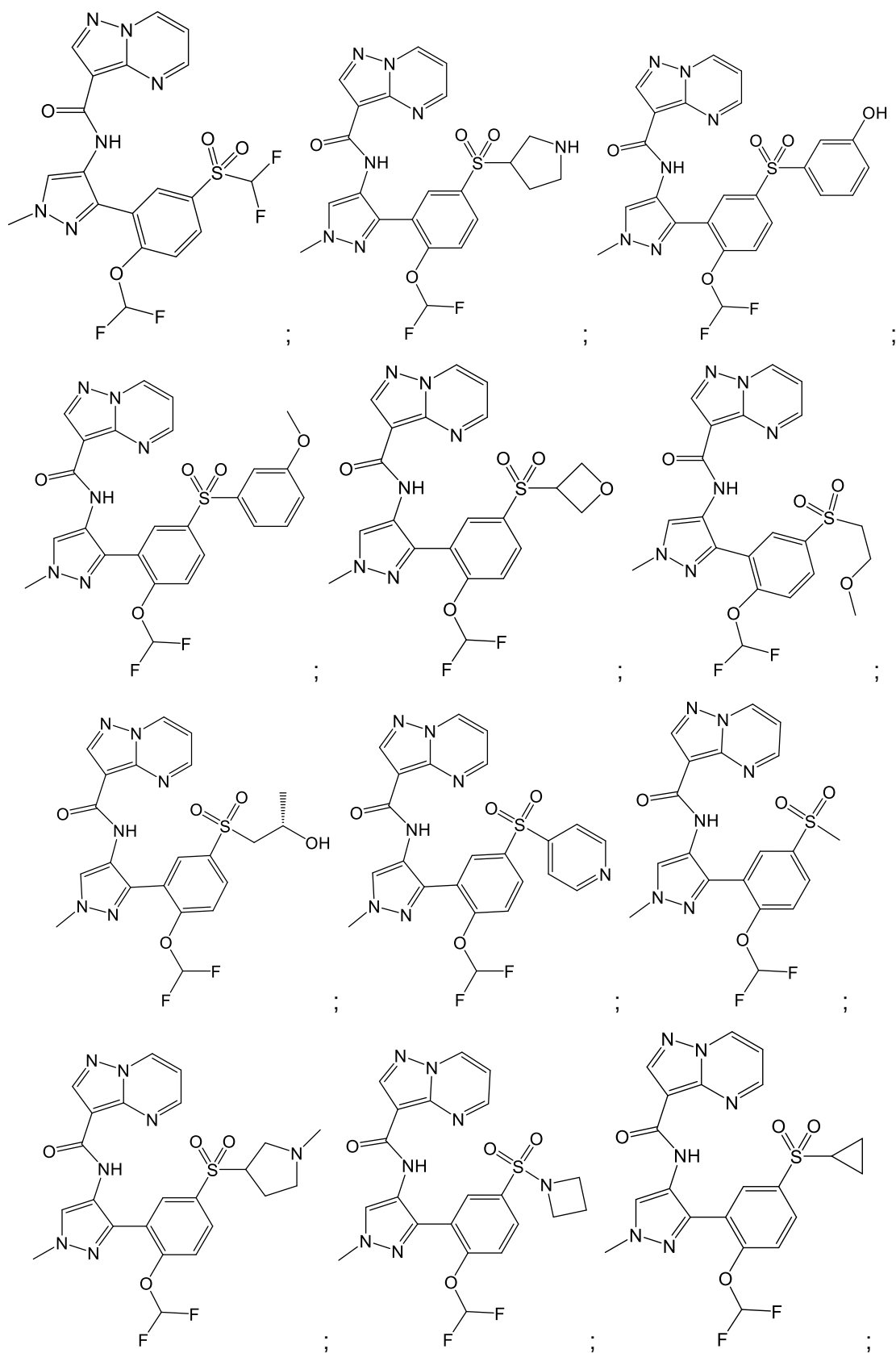


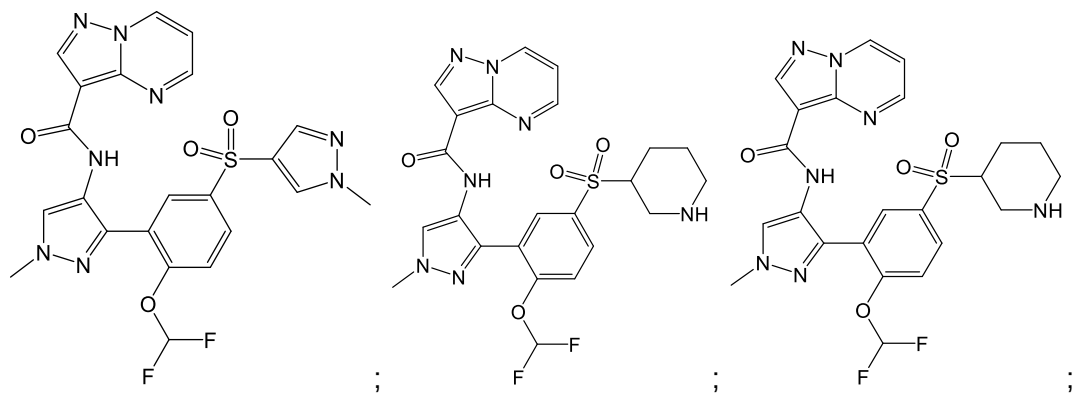
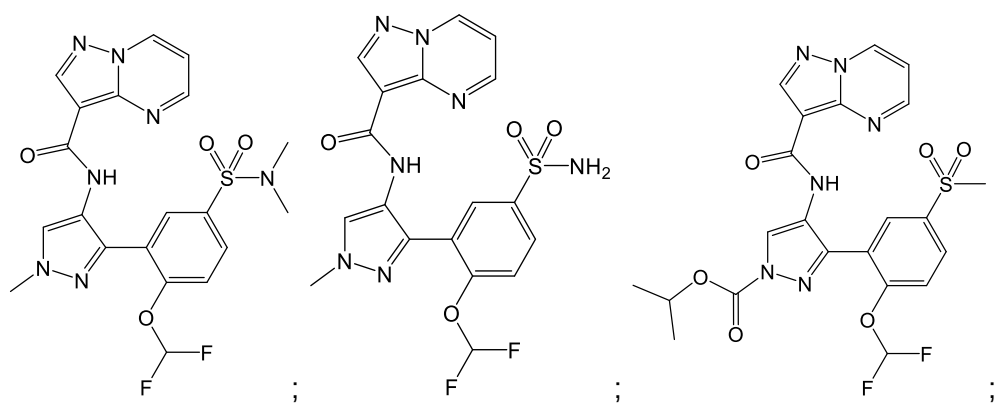
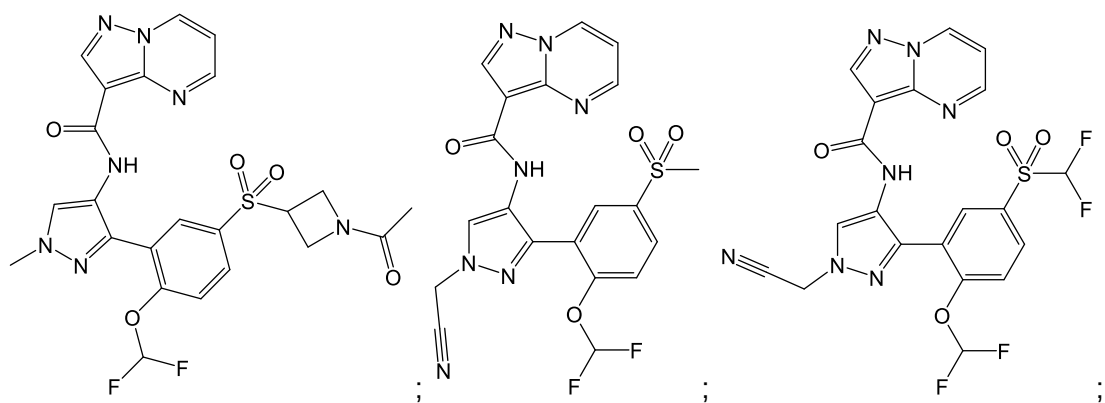
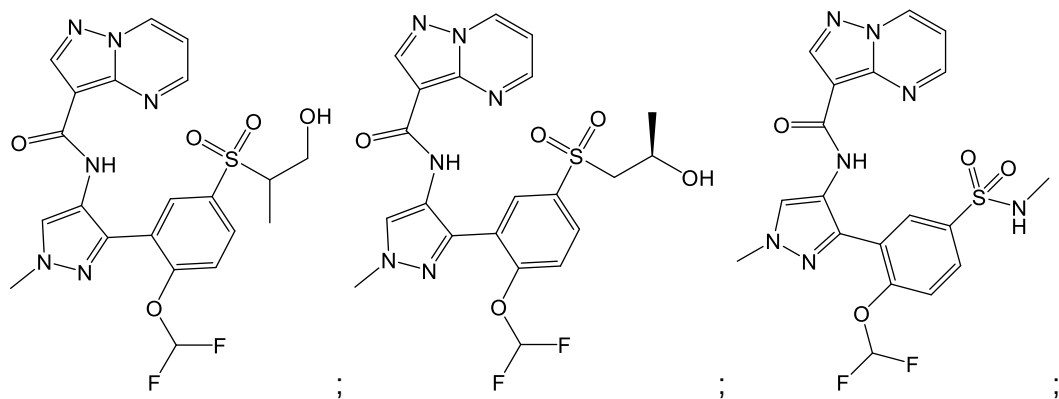


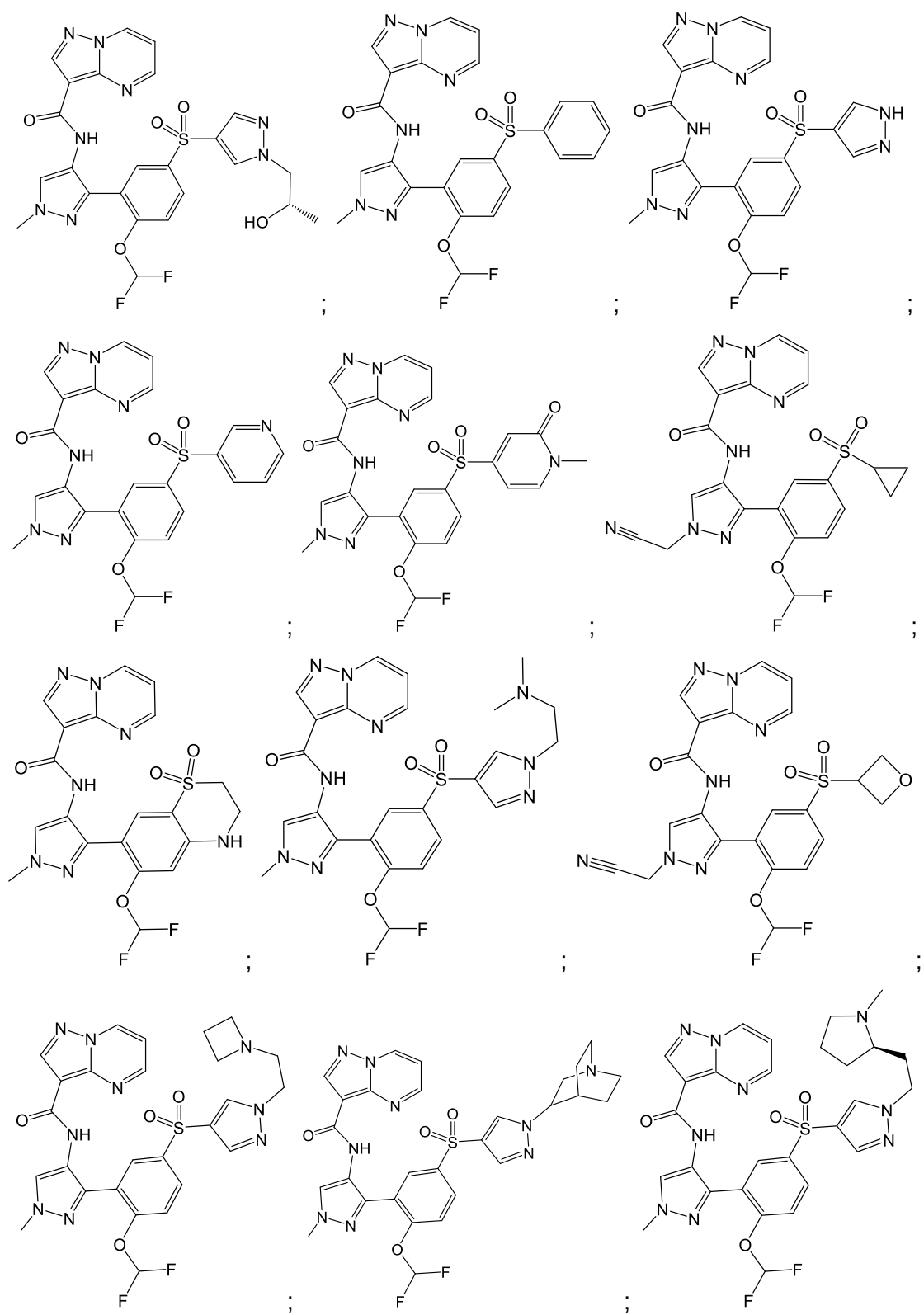
mismos.

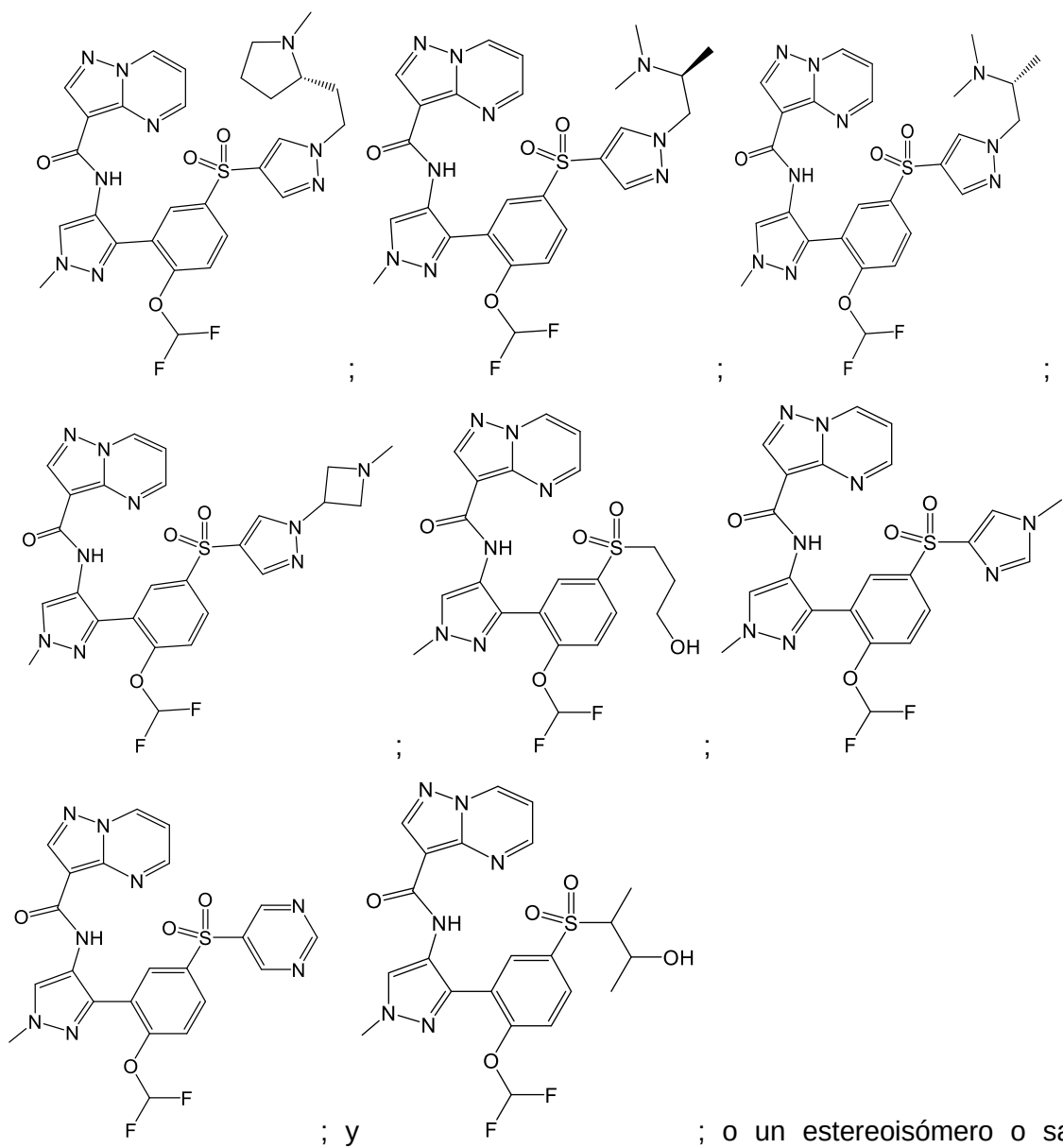
En determinados modos de realización el compuesto en cuestión se selecciona de:





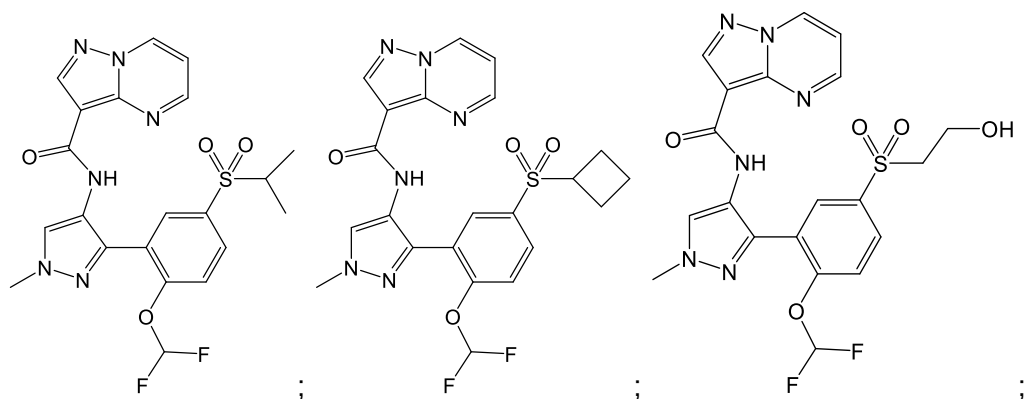


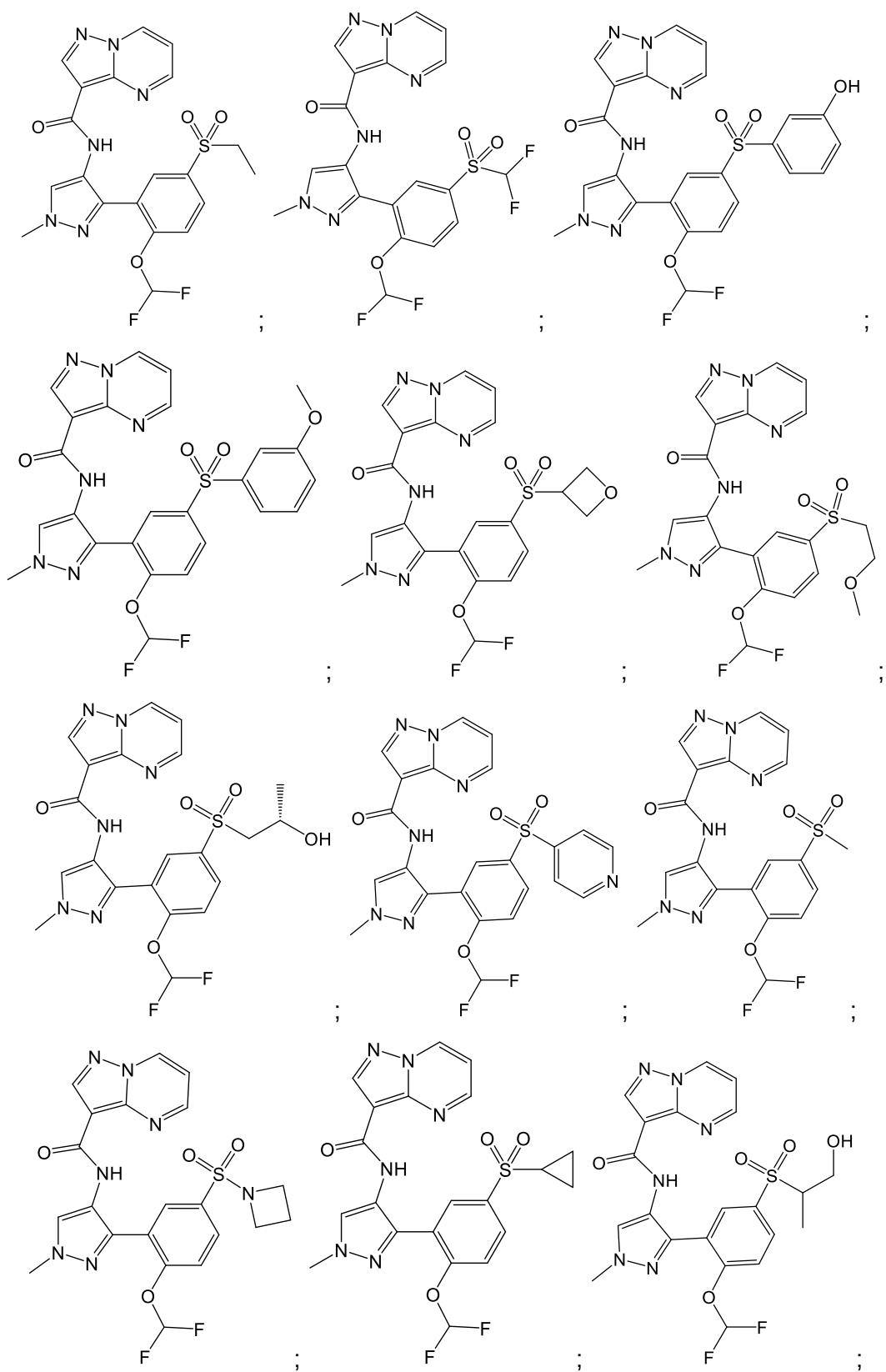


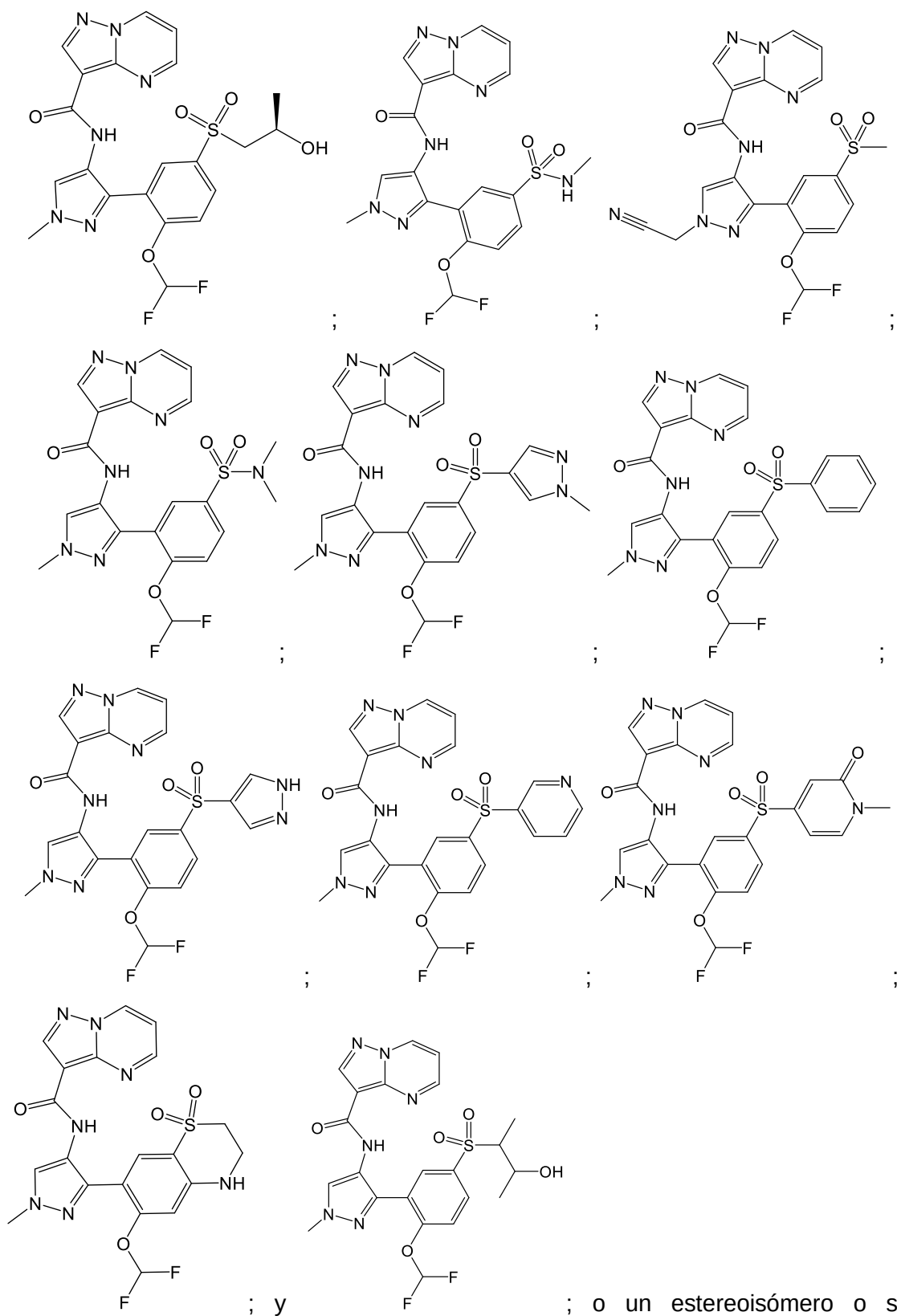


farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5 En determinados modos de realización los compuestos se seleccionan de:'



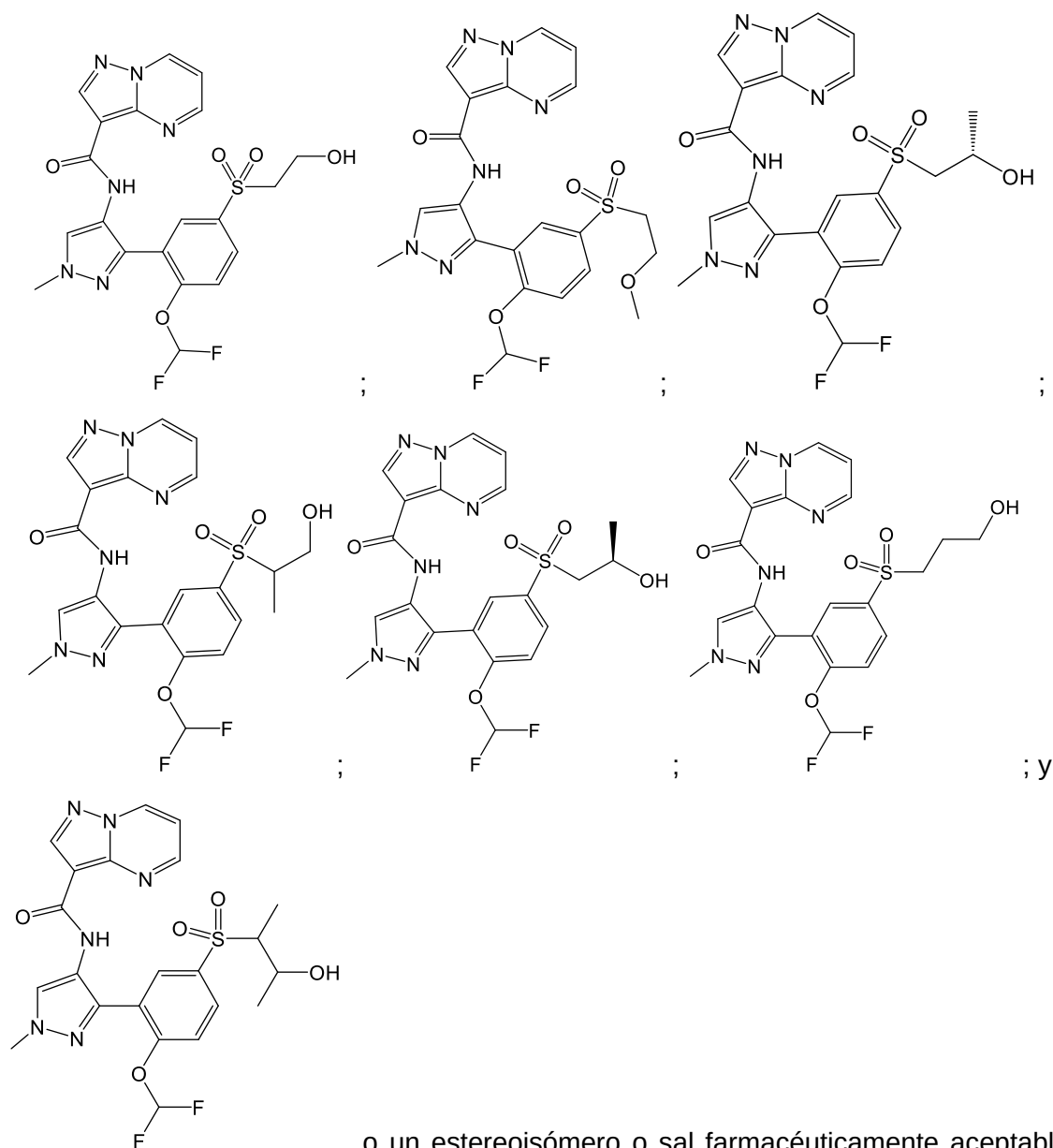




5 farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En determinados modos de realización el compuesto en cuestión se selecciona de:

Estructura



5 de los mismos.

Además se proporciona una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 Además se proporciona el uso de un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en el tratamiento, tal como en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria (por ejemplo, asma). Además se proporciona el uso de un inhibidor de JAK como se describe en el presente

documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria. Además se proporciona un procedimiento para prevenir, tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad o afección sensible a la inhibición de una actividad de Janus cinasa en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un modo de realización la enfermedad o afección a tratar es cáncer, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis, leucemia mielógena crónica (CML), artritis reumatoide, síndrome inflamatorio del intestino, enfermedad de Crohn, psoriasis, dermatitis por contacto o reacciones de hipersensibilidad retardada.

En un modo de realización se proporciona el uso de un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de cáncer, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis, leucemia mielógena crónica (CML), artritis reumatoide, síndrome inflamatorio del intestino, enfermedad de Crohn, psoriasis, dermatitis por contacto o reacciones de hipersensibilidad retardada.

En un modo de realización se proporciona una composición que se formula para una administración mediante inhalación.

En un modo de realización se proporciona un inhalador de dosis fija que comprende un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un modo de realización un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es al menos cinco veces más potente como inhibidor de JAK1 que como inhibidor de LRRK2.

En un modo de realización un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es al menos diez veces más potente como inhibidor de JAK1 que como inhibidor de LRRK2.

En un modo de realización se proporciona un procedimiento para tratar la pérdida de pelo en un mamífero que comprende administrar un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo al mamífero.

En un modo de realización se proporciona el uso de un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento de la pérdida de pelo.

En un modo de realización se proporciona el uso de un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para preparar un medicamento para el tratamiento de la pérdida de pelo en un mamífero.

- 5 Los compuestos de la invención pueden contener uno o más átomos de carbono asimétricos. De acuerdo con esto, los compuestos pueden existir como diastereómeros, enantiómeros o mezclas de estos. La síntesis de los compuestos puede utilizar racematos, diastereómeros o enantiómeros como materiales de inicio o
- 10 pueden separar o enriquecer en uno o más diastereómeros particulares, mediante procedimientos cromatográficos o de cristalización. De forma similar, las mezclas enantioméricas se pueden separar o enriquecer de manera enantiomérica, usando las mismas técnicas u otras conocidas en el estado de la técnica. Cada uno de los átomos de nitrógeno o carbono asimétricos pueden estar en la configuración R o S y las dos
- 15 configuraciones se encuentran dentro del alcance de la invención.

En las estructuras mostradas en el presente documento, donde la estereoquímica de cualquier átomo quiral particular no se especifica, entonces todos los estereoisómeros se contemplan y se incluyen como compuestos de la invención. Cuando la estereoquímica se especifica mediante una línea punteada o sólida en cuña

20 representando una configuración particular, entonces tal estereoisómero se especifica y define de ese modo. A menos que se especifique lo contrario, si se usan cuñas sólidas o líneas punteadas, se pretende una estereoquímica relativa.

Otro aspecto incluye profármacos de los compuestos descritos en el presente documento, que incluyen grupos protectores amino y carboxi conocidos que se liberan,

25 por ejemplo, se hidrolizan, para proporcionar el compuesto de la presente invención en condiciones fisiológicas.

El término "profármaco" se refiere a una forma precursora o derivada de una sustancia farmacéuticamente activa que es menos eficaz para el paciente en comparación con el fármaco de origen, y es capaz de convertirse o activarse enzimáticamente o

30 hidrolíticamente a la forma de origen más activa. Ver, por ejemplo, Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986) y Stella et al., "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery", Directed Drug Delivery, Borchardt et al., (ed.), págs. 247-267, Humana Press (1985). Los profármacos incluyen, entre otros, profármacos que contienen

35 fosfato, profármacos que contienen tiofosfato, profármacos que contienen sulfato,

profármacos que contienen péptido, profármacos modificados por D-aminoácidos, profármacos glucosilados, profármacos que contienen β -lactama, profármacos que contienen fenoxiacetamida opcionalmente sustituida o profármacos que contienen fenilacetamida opcionalmente sustituida, y profármacos de 5-fluorocitosina y 5-fluorouridina.

Una clase particular de profármacos son los compuestos en los que un átomo de nitrógeno en un grupo amino, amidino, aminoalquilenamino, iminoalquilenamino o guanidino se sustituye con un grupo hidroxilo, un grupo alquilcarbonilo (-CO-R), un alcoxicarbonilo (-CO-OR), o un aciloxialquil-alcoxicarbonil (-CO-O-R-O-CO-R) donde R es un grupo monovalente o divalente, por ejemplo, alquilo, alquilenos o arilo o un grupo que tiene la fórmula -C(O)-O-CP₁P₂-haloalquilo, donde P₁ y P₂ son los mismos o diferentes y son hidrógeno, alquilo, alcoxi, ciano, halógeno, alquilo o arilo. En un modo de realización particular, el átomo de nitrógeno es uno de los átomos de nitrógeno del grupo amidino. Los profármacos se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto con un grupo activado, tal como grupos acilo, para unir, por ejemplo, un átomo de nitrógeno en el compuesto al carbonilo ejemplar del grupo acilo activado. Los ejemplos de compuestos de carbonilo activado son aquellos que contienen un grupo saliente unido al grupo carbonilo e incluyen, por ejemplo, haluros de acilo, aminas de acilo, sales de piridinio de acilo, alcóxidos de acilo, fenóxidos de acilo tales como p-nitrofenoxi acilo, dinitrofenoxi acilo, fluorofenoxi acilo y difluorofenoxi acilo. Las reacciones en general se llevan a cabo en disolventes inertes en temperaturas reducidas tales como de -78 °C a aproximadamente 50 °C. Las reacciones también se pueden llevar a cabo en presencia de una base inorgánica, por ejemplo carbonato de potasio o bicarbonato de sodio, o una base orgánica tal como una amina, que incluye piridina, trimetilamina, trietilamina, trietanolamina, o similares.

También se abarcan tipos de profármacos adicionales. Por ejemplo, un grupo carboxilo libre de un inhibidor de JAK como se describe en el presente documento puede derivar como una amida o éster de alquilo. Como otro ejemplo, los compuestos de la presente invención que comprenden grupos hidroxilo libres pueden derivar como profármacos convirtiendo el grupo hidroxilo en un grupo, tal como, pero no sin limitarse a, un grupo éster de fosfato, hemisuccinato, dimetilaminoacetato o fosforiloximetiloxicarbonilo, como se explica en Fleisher, D. et al, (1996) Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs Advanced Drug Delivery Reviews, 19:115. También se incluyen los profármacos de carbamato de los grupos hidroxilo y amino, como los profármacos de carbonato, los ésteres de sulfonato y

los ésteres de sulfato de los grupos hidroxilo. También se abarca la derivatización de grupos hidroxilo como éteres de (aciloxi)metilo y (aciloxi)etilo, en la que el grupo acilo puede ser un éster de alquilo opcionalmente sustituido con grupos que incluyen, entre otros, funcionalidades de éter, amina y ácido carboxílico o en la que el grupo acilo es un éster de aminoácido como se describe anteriormente. Los profármacos de este tipo se describen en J. Med. Chem., (1996), 39:10. Los ejemplos más específicos incluyen el reemplazo del átomo de hidrógeno del grupo alcohol en un grupo tal como (C₁-C₆)alcanoiloximetilo, 1-((C₁-C₆)alcanoiloxi)etilo, 1-metil-1-((C₁-C₆)alcanoiloxi)etilo, (C₁-C₆)alcoxycarboniloximetilo, N-(C₁-C₆)alcoxycarbonilaminometilo, succinoílo, (C₁-C₆)alcanoílo, alfa-amino(C₁-C₄)alcanoílo, arilacilo y alfa-aminoacilo o alfa-aminoacil-alfa-aminoacilo, en los que cada grupo alfa-aminoacilo se selecciona independientemente de los L-aminoácidos naturales, P(O)(OH)₂, -P(O)(O(C₁-C₆)alquilo)₂ o glicosilo (el radical que se genera de la eliminación de un grupo hidroxilo de la forma hemiacetal de un carbohidrato).

“Grupo saliente” se refiere a una porción de un primer reaccionante en una reacción química que se desplaza del primer reaccionante en la reacción química. Los ejemplos de grupos salientes incluyen, entre otros, átomos de halógeno, alcoxi y grupos sulfonilo. Los grupos sulfonilo de ejemplo, incluyen, entre otros, grupos alquilsulfonilo (por ejemplo, metil sulfonilo (grupo mesilato) y trifluorometilsulfonilo (grupo triflato)) y grupos arilsulfonilo (por ejemplo, p-toluensulfonilo (grupo tosilato) y p-nitrosulfonilo (grupo nosilato)).

SÍNTESIS DE COMPUESTOS INHIBIDORES DE JANUS CINASAS

Los compuestos pueden sintetizarse mediante rutas sintéticas descritas en el presente documento. En determinados modos de realización pueden usarse procesos bien conocidos en la materia química, además de, o en vista de, la descripción contenida en el presente documento. Los materiales de partida en general están disponibles de fuentes comerciales tales como Aldrich Chemicals (Milwaukee, Wis.) o se preparan fácilmente usando procedimientos bien conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, preparados por procedimientos en general descritos en Louis F. Fieser y Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-19, Wiley, N.Y. (1967-1999 ed.), Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlín, que incluye los suplementos (también disponible por medio de la base de datos en línea de Beilstein)), o Comprehensive Heterocyclic Chemistry, Editores Katrizky y Rees, Pergamon Press, 1984.

Los compuestos pueden prepararse individualmente o como colecciones de compuestos que comprenden al menos 2, por ejemplo 5 a 1000 compuestos, o 10 a 100 compuestos. Las colecciones de compuestos pueden prepararse mediante un enfoque combinatorio de “división y mezcla” o mediante síntesis paralela múltiple usando las características químicas lo mismo en fase de solución o en fase sólida, mediante procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. Por tanto de acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona una colección de compuestos que comprende al menos 2 compuestos de la presente invención.

Con propósitos ilustrativos, los esquemas de reacción representados a continuación proporcionan vías para sintetizar los compuestos de la presente invención así como intermediarios clave. Para una descripción más detallada de las etapas de reacción individuales, ver la sección Ejemplos más adelante. Las personas del oficio de nivel medio entenderán que se pueden usar otras vías de síntesis. Aunque algunos materiales de inicio y reactivos específicos se ilustran en los esquemas y se analizan más adelante, otros materiales de inicio y reactivos se pueden sustituir para proporcionar una variedad de derivados o condiciones de reacción. Asimismo, muchos de los compuestos preparados mediante los procedimientos descritos más adelante también se pueden modificar en vista de la presente divulgación usando procedimientos químicos convencionales conocidos por las personas del oficio de nivel medio.

En la preparación de compuestos de la presente invención, puede ser necesaria una protección de la funcionalidad remota (por ejemplo, amina primaria o secundaria) de los intermediarios. La necesidad de dicha protección variará en dependencia de la naturaleza de la funcionalidad remota y las condiciones de los procedimientos de preparación. Los grupos protectores de amino adecuados incluyen acetilo, trifluoroacetilo, bencilo, fenilsulfonilo, t-butoxicarbonilo (BOC), benciloxicarbonilo (CBz) y 9-fluorenilmetileno carbonilo (Fmoc). La necesidad de dicha protección se determina fácilmente por el experto en la técnica. Para una descripción general de grupos protectores y su uso, ver T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, Nueva York, 1991.

Otras conversiones que se usan comúnmente en la síntesis de compuestos de la presente invención, y que pueden llevarse a cabo usando una variedad de reactivos y condiciones, incluyen las siguientes:

(1) Reacción de un ácido carboxílico con una amina para formar una amida.

Dicha transformación puede lograrse usando diversos reactivos conocidos por los

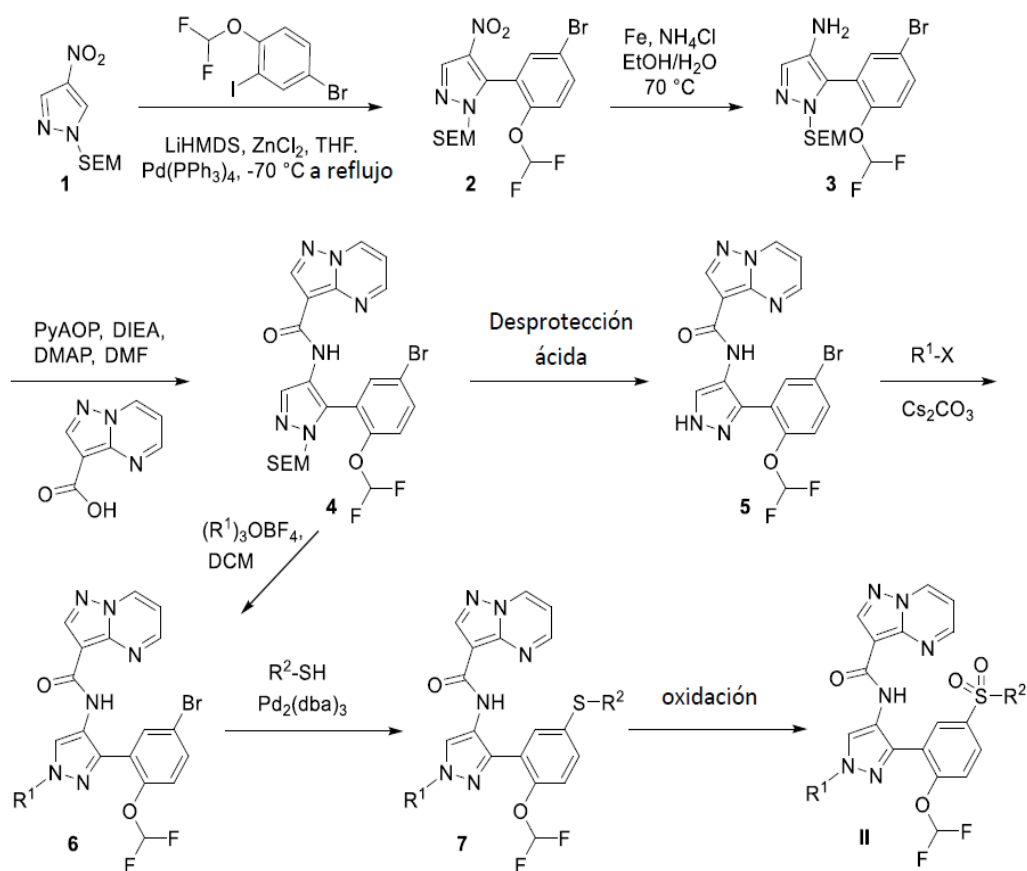
expertos en la técnica pero puede encontrarse una revisión exhaustiva en *Tetrahedron*, 2005, 61, 10827-10852.

(2) La reacción de una amina primaria o secundaria con un haluro de arilo o pseudo haluro, por ejemplo, un triflato, conocida comúnmente como un “acoplamiento cruzado de Buchwald-Hartwig”, puede lograrse usando una variedad de catalizadores, ligandos y bases. Una revisión de estos procedimientos se proporciona en *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, 2010, 575–581.

(3) Una reacción de acoplamiento cruzado con paladio entre un haluro de arilo y un ácido vinil borónico o éster de boronato. Esta transformación es un tipo de “acoplamiento cruzado de Suzuki-Miyaura”, una clase de reacción que se ha revisado extensamente en *Chemical Reviews*, 1995, 95(7), 2457-2483.

(4) Los expertos en la técnica conocen bien la hidrólisis de un éster para producir el ácido carboxílico correspondiente y las condiciones incluyen: para ésteres de metilo y etilo, el uso de una base acuosa fuerte tal como hidróxido de litio, sodio o potasio o un ácido mineral acuoso fuerte tal como HCl; para un éster terc-butílico, la hidrólisis se llevaría a cabo usando ácido, por ejemplo, HCl en dioxano o ácido trifluoroacético (TFA) en diclorometano (DCM).

Esquema de reacción 1

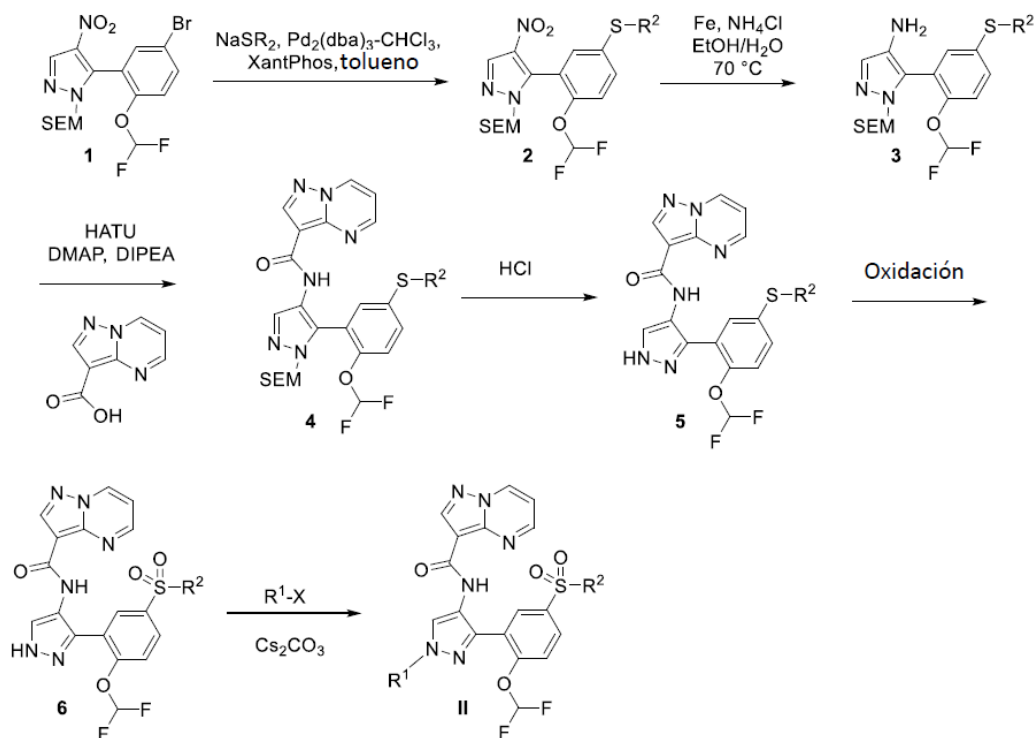


- El esquema de reacción 1 ilustra una síntesis para compuestos de fórmula I. El compuesto de nitropirazol 1 puede arilarse con 4-bromo-1-(difluorometoxi)-2-yodobenceno en condiciones catalizadas por paladio para generar el compuesto 2. El grupo nitro del compuesto 2 puede reducirse con condiciones tales como cloruro de hierro y amonio para generar amino anilina 3. El acoplamiento del enlace amida con ácido pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxílico disponible comercialmente en presencia de un reactivo de acoplamiento tal como, pero sin limitarse a, PyAOP, con una base orgánica tal como, pero sin limitarse a DIPEA, y DMAP en un disolvente orgánico tal como, pero sin limitarse a, DMF proporciona el compuesto 4. La eliminación del grupo protector SEM del compuesto 4, usando un ácido tal como, pero sin limitarse a HCl en un disolvente tal como, pero sin limitarse a, 1,4-dioxano, da como resultado el compuesto 5. Después el compuesto 5 puede someterse a N-alquilación con un grupo $\text{R}^1\text{-X}$ en el que X es halógeno tal como bromo, para producir el compuesto 6. El compuesto 7 puede sintetizarse mediante tratamiento del compuesto 6 con un reactivo tiol adecuado $\text{R}^2\text{-SH}$ en condiciones de acoplamiento catalizadas por Pd. La oxidación

del grupo tio del compuesto 7 proporciona el compuesto 8, que es un compuesto de fórmula (II) de acuerdo con la invención. Alternativamente, el compuesto 4 protegido con SEM puede someterse a N-alquilación directa mediante tratamiento con un reactivo de fluoroborato.

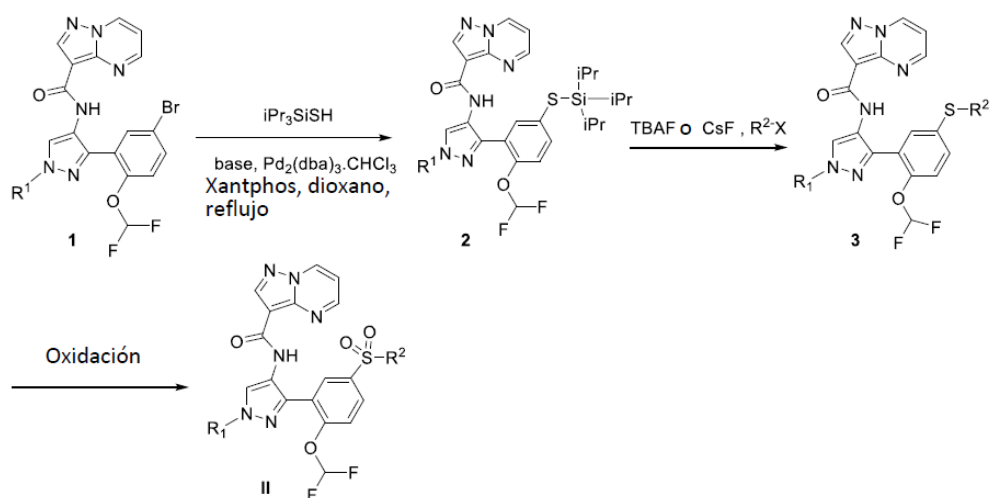
5

Esquema de reacción 2



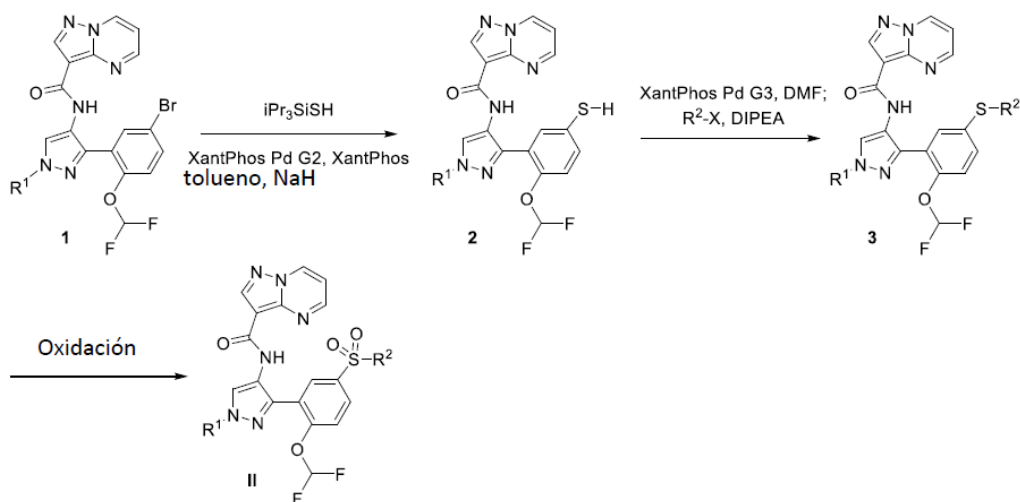
El esquema de reacción 2 ilustra otra vía para la preparación de compuestos de la invención. El compuesto 1 bromuro de nitropirazil arilo se somete a tiolación en presencia de un catalizador de paladio para producir el compuesto 2 tiolado, después de lo cual el grupo nitro se reduce a la amina correspondiente para producir el compuesto 3. El acoplamiento del enlace de amida con el ácido pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxílico disponible comercialmente en presencia de un reactivo de acoplamiento produce el compuesto 4. El grupo protector SEM del compuesto 4 se elimina después en condiciones ácidas para producir el compuesto 5, que después se somete a S-oxidación para producir el compuesto 6 de sulfona correspondiente. La N-alquilación de la porción de pirazol entonces proporciona el compuesto (II) de acuerdo con la invención.

Esquema de reacción 3



En el esquema de reacción 3 el compuesto 1 de bromuro de arilo se trata con un trialquililsilanotiol tal como triisopropilsilanotiol para dar el compuesto de tiosililo 2. El tiol se desprotege y alquila para producir el compuesto 3 de sulfuro, que después
5 puede someterse a S-oxidación para proporcionar el compuesto (II) de acuerdo con la invención.

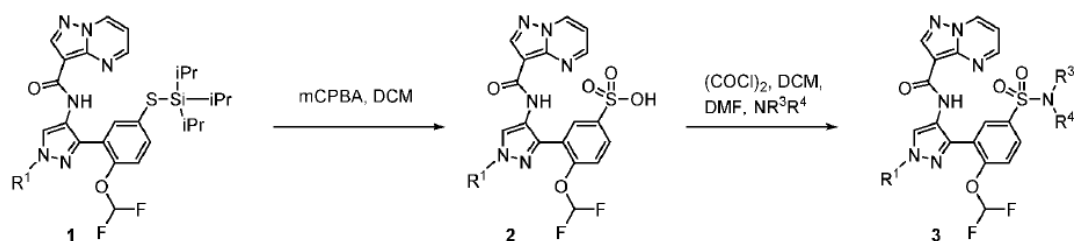
Esquema de reacción 4



En el esquema de reacción 4 el compuesto 1 de bromuro de arilo se trata con un trialquililsilanotiol y se somete a desililación in situ en condiciones básicas para proporcionar el compuesto 2 de tiol. El compuesto 2 se somete a S-alquilación para
10

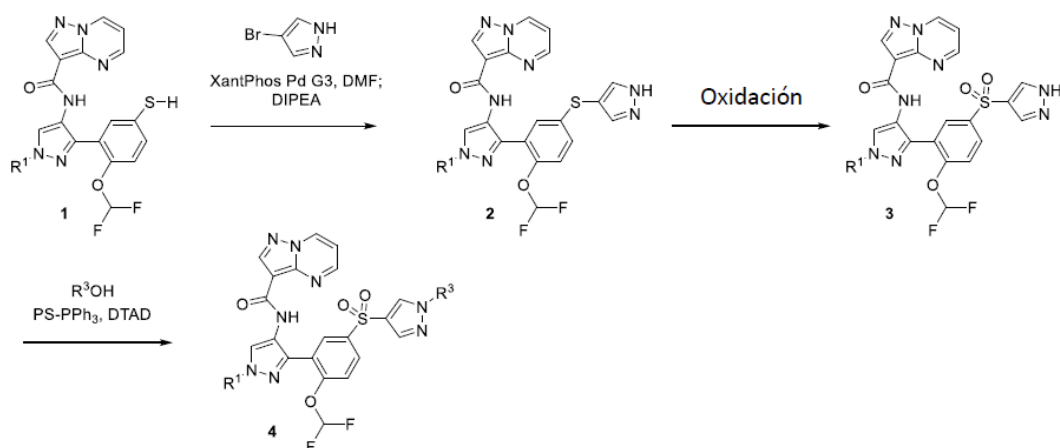
proporcionar el compuesto 3 de sulfuro, que a su vez se oxida al compuesto II de acuerdo con la invención.

Esquema de reacción 5



- 5 En determinados modos de realización como se muestra en el esquema de reacción 5, el compuesto de trialquilsililtiol 1 puede someterse a oxidación para proporcionar directamente el compuesto 2 de ácido sulfónico, que puede después someterse a una reacción con una amina para proporcionar el compuesto de sulfonamida 3.

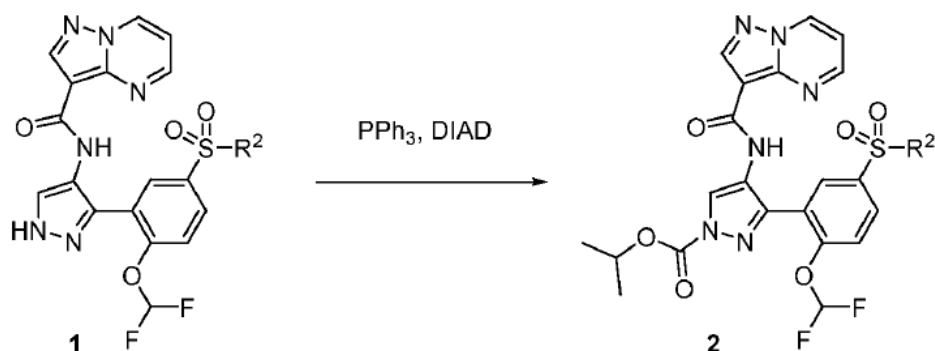
Esquema de reacción 6



10

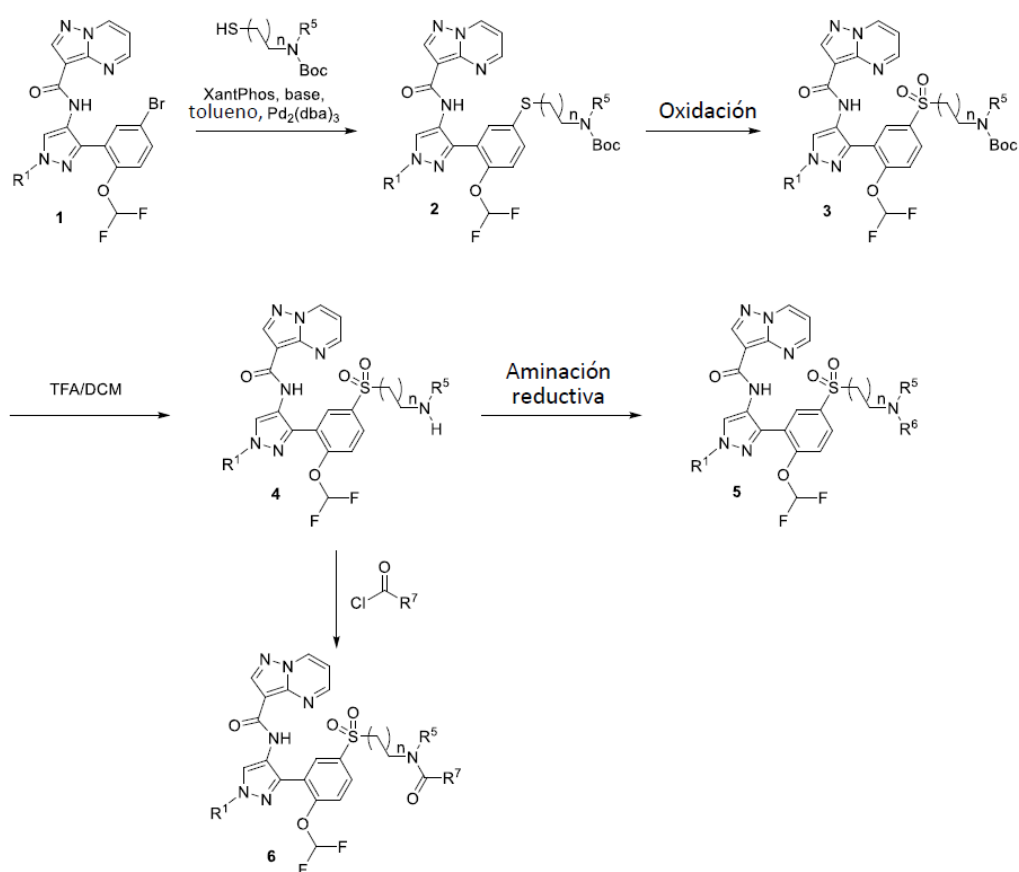
- En determinados modos de realización como se muestra en el esquema de reacción 6, el compuesto 1 de tiol reacciona con bromopirazol para producir el compuesto 2 de tioéster de pirazol. El compuesto 2 se oxida para producir el compuesto de sulfona correspondiente, que después puede someterse a N-alquilación para proporcionar el
- 15 compuesto 4.

Esquema de reacción 7



En el esquema de reacción 7 el compuesto 1 de sulfona se trata con azodicarboxilato de diisopropilo para producir el compuesto 2 carboxilato de isopropilo.

Esquema de reacción 8



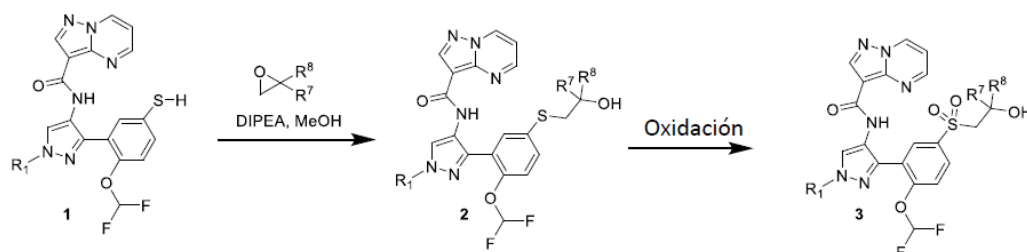
5

En el esquema de reacción 8 el compuesto 1 de bromuro de arilo reacciona con una tioalquil amina N-protégida para producir el compuesto 2 de sulfuro de aminoalquilo. El compuesto 2 se oxida para producir la sulfona correspondiente, que después se desprotege para proporcionar el compuesto 4 de sulfona de aminoalquilo. El

10 compuesto 4 puede someterse a animación reductiva para producir el compuesto 5, o

alternativamente puede reaccionar con cloruro de ácido para producir el compuesto 6 de carboxamida.

Esquema de reacción 9



- 5 En el esquema de reacción 9 el compuesto 1 de tiol reacciona con un epóxido sustituido para producir el compuesto 2 de sulfuro de hidroxialquilo. El compuesto 2 se somete después a S-oxidación para proporcionar el compuesto 3 de sulfona de hidroxialquilo correspondiente.

Se apreciará que donde existen grupos funcionales adecuados, los compuestos de
 10 diversas fórmulas o cualquier intermediario usado en su preparación también se pueden derivatizar mediante uno o más procedimientos de síntesis estándar que emplean reacciones de condensación, sustitución, oxidación, reducción o escisión. Los enfoques de sustitución particulares incluyen procedimientos convencionales de alquilación, arilación, heteroarilación, acilación, sulfonylación, halogenación, nitración,
 15 formilación y acoplamiento.

En otro ejemplo, los grupos de aminas primarias o aminas secundarias pueden convertirse en grupos amida (-NHCOR' o -NRCOR') mediante acilación. La acilación puede lograrse mediante reacción con un cloruro de ácido adecuado en presencia de una base, tal como trietilamina, en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, o
 20 mediante reacción con un ácido carboxílico adecuado en presencia de un agente de acoplamiento adecuado tal como HATU (hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio) en un disolvente adecuado tal como diclorometano. De forma similar, los grupos amina pueden convertirse en grupos sulfonamida (-NH₂SO₂R' o -NR''SO₂R') grupos mediante reacción con un cloruro de sulfonilo adecuado en
 25 presencia de una base adecuada, tal como trietilamina, en un disolvente adecuado tal como diclorometano. Los grupos de amina primaria o secundaria pueden convertirse en grupos de urea (-NHCONR'R'' o -NRCONR'R'') mediante reacción con un

isocianato adecuado en presencia de una base adecuada tal como trietilamina, en un disolvente adecuado, tal como diclorometano.

Una amina (-NH_2) puede obtenerse mediante reducción de un grupo nitro (-NO_2), por ejemplo mediante hidrogenación catalítica, usando por ejemplo hidrógeno en presencia de un catalizador metálico, por ejemplo paladio en un soporte tal como carbono en un disolvente tal como acetato de etilo o un alcohol por ejemplo, metanol. Alternativamente, la transformación puede llevarse a cabo mediante reducción química usando por ejemplo un metal, por ejemplo, estaño o hierro, en presencia de un ácido tal como ácido clorhídrico.

En otro ejemplo, los grupos amina ($\text{-CH}_2\text{NH}_2$) pueden obtenerse mediante reducción de nitrilos (-CN), por ejemplo mediante hidrogenación catalítica usando por ejemplo hidrógeno en presencia de un catalizador metálico, por ejemplo paladio en un soporte tal como carbono, o níquel de Raney, en un disolvente tal como un éter por ejemplo, un éter cíclico tal como tetrahidrofurano, a una temperatura adecuada, por ejemplo de aproximadamente -78°C a la temperatura de reflujo del disolvente.

En otro ejemplo, los grupos amina (-NH_2) pueden obtenerse a partir de grupos de ácido carboxílico ($\text{-CO}_2\text{H}$) mediante conversión a la azida de acilo correspondiente (-CON_3), transposición de Curtius e hidrólisis del isocianato resultante (-N=C=O).

Los grupos aldehído (-CHO) pueden convertirse a grupos amina ($\text{-CH}_2\text{NR}'\text{R}''$) mediante aminación reductiva que emplea una amina y un borohidruro, por ejemplo triacetoxiborohidruro de sodio o cianoborohidruro de sodio, en un disolvente tal como un hidrocarburo halogenado, por ejemplo diclorometano, o un alcohol tal como etanol, cuando sea necesario en presencia de un ácido tal como ácido acético en alrededor de la temperatura ambiente.

En otro ejemplo, los grupos aldehído pueden convertirse a grupos alquénico ($\text{-CH=CHR}'$) usando una reacción de Wittig o de Wadsworth-Emmons que usa un fosforano o fosfonato adecuado en condiciones estándar que conocen los expertos en la técnica.

Los grupos aldehído pueden obtenerse mediante reducción de grupos éster (tal como $\text{-CO}_2\text{Et}$) o nitrilos (-CN) usando hidruro de diisobutilaluminio en un disolvente adecuado tal como tolueno. Alternativamente, los grupos aldehído pueden obtenerse mediante la oxidación de grupos alcohol usando cualquier agente oxidante adecuado conocido por los expertos en la técnica.

Los grupos éster ($\text{-CO}_2\text{R}'$) pueden convertirse en el grupo ácido correspondiente ($\text{-CO}_2\text{H}$) mediante hidrólisis catalizada por ácido o base, en dependencia de la

naturaleza de R. Si R es *t*-butilo, la hidrólisis catalizada por ácido puede lograrse por ejemplo mediante tratamiento con un ácido orgánico tal como ácido trifluoroacético en un disolvente acuoso, o mediante tratamiento con un ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico en un disolvente acuoso.

- 5 Los grupos de ácido carboxílico ($-\text{CO}_2\text{H}$) pueden convertirse en amidas (CONHR' o $-\text{CONR}'\text{R}''$) mediante reacción con una amina adecuada en presencia de un agente de acoplamiento adecuado, tal como HATU, en un disolvente adecuado tal como diclorometano.

- En otro ejemplo, los ácidos carboxílicos pueden homologarse mediante un carbono (es decir $-\text{CO}_2\text{H}$ a $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$) mediante conversión al cloruro de ácido correspondiente ($-\text{COCl}$) seguido de la síntesis de Arndt-Eistert.
- 10

- En otro ejemplo, los grupos $-\text{OH}$ pueden generarse a partir del éster correspondiente (por ejemplo, $-\text{CO}_2\text{R}'$), o aldehído ($-\text{CHO}$) mediante reducción, usando por ejemplo un hidruro de metal complejo tal como hidruro de aluminio y litio en éter dietílico o tetrahidrofurano, o borohidruro de sodio en un disolvente tal como metanol.
- 15
- Alternativamente, un alcohol puede prepararse mediante reducción del ácido correspondiente ($-\text{CO}_2\text{H}$), usando por ejemplo hidruro de aluminio y litio en un disolvente tal como tetrahidrofurano, o usando borano en un disolvente tal como tetrahidrofurano.

- 20 Los grupos alcohol pueden convertirse en grupos salientes, tales como átomos de halógeno o grupos sulfoniloxi tales como un alquilsulfoniloxi, por ejemplo, trifluorometilsulfoniloxi o arilsulfoniloxi, por ejemplo, grupo *p*-toluenosulfoniloxi usando condiciones conocidas por los expertos en la técnica. Por ejemplo, un alcohol puede reaccionar con cloruro de tioilo en un hidrocarburo halogenado (por ejemplo, diclorometano) para producir el cloruro correspondiente. Una base (por ejemplo, trietilamina) también puede usarse en la reacción.
- 25

- En otro ejemplo, los grupos alcohol, fenol o amida pueden alquilarse mediante acoplamiento de un fenol o amida con un alcohol en un disolvente tal como tetrahidrofurano en presencia de una fosfina, por ejemplo, trifenilfosfina y un activador tal como dietil-, diisopropilo, o dimetilazodicarboxilato. Alternativamente la alquilación puede lograrse mediante desprotonación usando una base adecuada por ejemplo, hidruro de sodio seguido de la adición posterior de un agente alquilante, tal como un haluro de alquilo.
- 30

- Los sustituyentes de halógeno aromáticos en los compuestos pueden someterse a intercambio halógeno-metal mediante tratamiento con una base, por ejemplo un base
- 35

- de litio tal como *n*-butil o *t*-butil litio, opcionalmente a una temperatura baja, por ejemplo, alrededor de -78 °C, en un disolvente tal como tetrahidrofurano, y después inactivarse con un electrófilo para introducir un sustituyente deseado. Por tanto, por ejemplo, un grupo formilo puede introducirse usando *N,N*-dimetilformamida como el
- 5 electrófilo. Los sustituyentes de halógeno aromáticos pueden someterse alternativamente a reacciones catalizadas por metales (por ejemplo, paladio o cobre), para introducir, por ejemplo, sustituyentes de ácido, éster, ciano, amida, arilo, heterarilo, alquenilo, alquinilo, tio- o amino. Los procedimientos adecuados que pueden emplearse incluyen los descritos por Heck, Suzuki, Stille, Buchwald o Hartwig.
- 10 Los sustituyentes de halógeno aromáticos también pueden someterse a desplazamiento nucleofílico después de la reacción con un nucleófilo adecuado tal como una amina o un alcohol. De forma ventajosa, dicha reacción puede llevarse a cabo a temperatura elevada en presencia de radiación de microondas.

PROCEDIMIENTOS DE SEPARACIÓN

- 15 En cada uno de los esquemas ejemplares puede ser ventajoso separar los productos de la reacción entre sí o de los materiales de partida. Los productos deseados de cada etapa o serie de etapas se separan o purifican (se separan de aquí en lo adelante en el presente documento) en el grado deseado de homogeneidad mediante las técnicas comunes en la técnica. Típicamente tales separaciones implican extracción,
- 20 cristalización o trituración en múltiples fases de un disolvente o mezcla de disolvente, destilación, sublimación o cromatografía. La cromatografía puede implicar cualquier cantidad de procedimientos que incluyen, por ejemplo: fase inversa y fase normal; exclusión por tamaño; intercambio iónico; fluido supercrítico; aparato y procedimientos de cromatografía de líquidos con presión alta, media y baja; analítica a escala
- 25 pequeña; cromatografía de capa gruesa o delgada preparativa y de lecho fluido simulado (SMB), así como técnicas de cromatografía ultrarrápida y de capa delgada a escala pequeña.

- Otro tipo de procedimientos de separación implica el tratamiento de una mezcla con un reactivo seleccionado por su unión a un producto deseado o por convertirlo de otro
- 30 modo en un producto separable, material de partida sin reaccionar, reacción mediante producto, o similares. Dichos reactivos incluyen adsorbentes o absorbentes tales como carbono activado, tamices moleculares, medios de intercambio iónico, o similares. Alternativamente, los reactivos pueden ser ácidos en el caso de un material básico, bases en el caso de un material ácido, reactivos de unión tales como anticuerpos,

proteínas de unión, quelantes selectivos tales como éteres de corona, reactivos de extracción de iones líquido/líquido (LIX), o similares.

La selección de los procedimientos adecuados de separación depende de la naturaleza de los materiales implicados. Los ejemplos de procedimientos de separación incluyen el punto de ebullición y peso molecular en destilación y sublimación, presencia o ausencia de grupos funcionales polares en cromatografía, estabilidad de los materiales en medios ácidos y básicos en extracción en múltiples fases, y similares. Un experto en la técnica aplicará las técnicas que logren con la mayor probabilidad la separación deseada.

- 5
- 10 Las mezclas diastereoméricas se pueden separar en sus diastereoisómeros individuales en función de sus diferencias fisicoquímicas por procedimientos conocidos por las personas del oficio de nivel medio, tal como, mediante cromatografía o cristalización fraccionaria. Los enantiómeros se pueden separar mediante conversión de la mezcla enantiomérica en una mezcla diastereomérica mediante reacción con un
- 15 compuesto ópticamente activo adecuado (por ejemplo, un auxiliar quiral tal como un alcohol quiral o cloruro de ácido de Mosher), separación de los diastereoisómeros y conversión (por ejemplo, hidrólisis) de los diastereoisómeros individuales en los enantiómeros puros correspondientes. Además, algunos de los compuestos de la presente invención pueden ser atropisómeros (por ejemplo, biarilos sustituidos) y se
- 20 consideran parte de esta invención. Los enantiómeros también se pueden separar mediante el uso de una columna de HPLC quiral o cromatografía de fluidos supercríticos.

- Un estereoisómero único, por ejemplo, un enantiómero, sustancialmente libre de su estereoisómero puede obtenerse por resolución de la mezcla racémica usando un
- 25 procedimiento tal como formación de diastereómeros usando agentes resolutivos ópticamente activos (Eliel, E. y Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1994; Lochmuller, C. H., J. Chromatogr., 113(3):283-302 (1975)). Las mezclas racémicas de compuestos quirales de la invención pueden separarse y aislarse mediante cualquier procedimiento adecuado,
- 30 que incluye: (1) formación de sales diastereoméricas, iónicas, con compuestos quirales y separación mediante cristalización fraccionada u otros procedimientos, (2) formación de compuestos diastereoméricos con reactivos de derivatización quiral, separación de los diastereómeros, y conversión a los estereoisómeros puros, y (3) separación de los estereoisómeros sustancialmente puros o enriquecidos directamente

en condiciones quirales. Ver: Drug Stereochemistry, Analytical Methods and Pharmacology, Irving W. Wainer, Ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York (1993).

Las sales diastereoméricas pueden formarse mediante reacción de bases quirales enantioméricamente puras tales como brucina, quinina, efedrina, estricnina, α -metil- β -feniletilamina (anfetamina), y similares con compuestos asimétricos que portan una funcionalidad ácida, tal como ácido carboxílico y ácido sulfónico. Las sales diastereoméricas pueden inducirse para separarse mediante cristalización fraccionada o cromatografía iónica. Para la separación de los isómeros ópticos de compuestos amino, la adición de ácidos carboxílico o sulfónico quirales, tal como ácido canforsulfónico, ácido tartárico, ácido mandélico o ácido láctico puede dar como resultado la formación de las sales diastereoméricas.

Alternativamente, el sustrato que se va a resolver reacciona con un enantiómero de un compuesto quiral para formar un par diastereomérico (Eliel, E. y Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1994, p. 322). Los compuestos diastereoméricos pueden formarse al hacer reaccionar compuestos asimétricos con reactivos de derivatización quiral enantioméricamente puros, tales como derivados de mentilo, seguido de la separación de los diastereómeros e hidrólisis para proporcionar el enantiómero puro o enriquecido. Un procedimiento para determinar la pureza óptica implica obtener ésteres quirales, tales como un éster de mentilo, por ejemplo, (-)cloroformiato de mentilo en presencia de una base, o éster de Mosher, acetato de α -metoxi- α -(trifluorometil)fenilo (Jacob, J. Org. Chem. 47:4165 (1982)), de la mezcla racémica, y analizar el espectro de RMN para determinar la presencia de los dos enantiómeros o diastereómeros atropisoméricos. Los diastereómeros estables de los compuestos atropisoméricos pueden separarse y aislarse mediante cromatografía normal y en fase inversa según los procedimientos para la separación de naftil-isoquinolinas atropisoméricas (documento WO 96/15111, incorporado en el presente documento como referencia). Mediante el procedimiento (3), una mezcla racémica de dos enantiómeros puede separarse mediante cromatografía usando una fase estacionaria quiral (Chiral Liquid Chromatography W. J. Lough, Ed., Chapman y Hall, Nueva York, (1989); Okamoto, J. of Chromatogr. 513:375-378 (1990)). Los enantiómeros enriquecidos o purificados pueden distinguirse mediante los procedimientos usados para distinguir otras moléculas quirales con átomos de carbono asimétricos, tales como rotación óptica y dicroísmo circular. La estereoquímica absoluta de los centros quirales y los enantiómeros se puede determinar mediante cristalografía por rayos x.

Los isómeros de posición y los intermediarios para su síntesis pueden observarse mediante procedimientos de caracterización tales como RMN y HPLC analítica. Para determinados compuestos donde la barrera energética para la interconversión es suficientemente alta, los isómeros E y Z pueden separarse, por ejemplo mediante HPLC preparatoria.

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS Y ADMINISTRACIÓN

Los compuestos a los que se refiere la invención son inhibidores de JAK cinasas, tales como inhibidores de JAK1, y son útiles en el tratamiento de numerosas enfermedades, por ejemplo, enfermedades inflamatorias, tales como el asma.

En consecuencia, otro modo de realización proporciona composiciones farmacéuticas o medicamentos que contienen un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, así como procedimientos para usar los compuestos de la invención para preparar tales composiciones y medicamentos.

En un ejemplo, un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede formularse al mezclar a temperatura ambiente al pH apropiado y al grado deseado de pureza, con portadores fisiológicamente aceptables, es decir, portadores que no son tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas en una forma galénica o de administración. El pH de la formulación depende principalmente del uso en particular y de la concentración del compuesto, pero normalmente varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 8. En un ejemplo, un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se fórmula en un tampón de acetato, a pH 5. En otro modo de realización, los compuestos de la presente invención están esterilizados. El compuesto puede almacenarse, por ejemplo, como una composición sólida o amorfa, como una formulación liofilizada o como una solución acuosa.

Las composiciones se formulan, dosifican y administran de acuerdo con las buenas prácticas médicas. Los factores en consideración en este contexto incluyen el trastorno particular que se trata, el mamífero particular que se trata, la afección clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de suministro del agente, el procedimiento de administración, la programación de administración y otros factores conocidos por los profesionales médicos.

Se entenderá que el nivel de dosis específico para cualquier paciente en particular dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo, la

dieta, el tiempo de administración, la vía de administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos y la gravedad de la enfermedad particular que se somete a tratamiento. Los niveles óptimos de dosis y la frecuencia de dosificación se determinarán mediante ensayo clínico, como se requiere en la técnica farmacéutica.

- 5 En general, el intervalo de dosis diaria para la administración oral caerá dentro del intervalo de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal de un ser humano, frecuentemente 0,01 mg a aproximadamente 50 mg por kg, por ejemplo 0,1 a 10 mg por kg, en dosis única o divididas. En general, el intervalo de dosis diaria para la administración por inhalación caerá dentro del intervalo de
- 10 aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 1 mg por kg de peso corporal de un ser humano, preferentemente 0,1 µg a 50 µg por kg, en dosis única o divididas. Por otra parte, puede ser necesario usar dosificaciones fuera de estos límites en algunos casos.

- Los compuestos de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable de los
- 15 mismos, pueden administrarse mediante cualquier medio adecuado, que incluye administración oral, tópica (que incluye bucal y sublingual), rectal, vaginal, transdérmica, parenteral, subcutánea, intraperitoneal, intrapulmonar, intradérmica, intratecal, por inhalación y epidural e intranasal, y, si se desea un tratamiento local, intralesional. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular,
- 20 intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. En algunos modos de realización, se emplea administración por inhalación.

- Los compuestos de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden administrarse en cualquier forma de administración conveniente, por ejemplo, comprimidos, polvos, cápsulas, pastillas para chupar, gránulos,
- 25 soluciones, dispersiones, suspensiones, jarabes, aerosoles, vapores, supositorios, geles, emulsiones, parches, etcétera. Dichas composiciones pueden contener componentes convencionales en preparaciones farmacéuticas, por ejemplo, diluyentes (por ejemplo, glucosa, lactosa o manitol), portadores, modificadores del pH, tampones, edulcorantes, agentes de volumen, agentes estabilizantes, tensioactivos, agentes
- 30 humectantes, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservantes, antioxidantes, agentes opacantes, deslizantes, auxiliares de procesamiento, colorantes, agentes perfumantes, agentes saborizantes, otros aditivos conocidos así como otros agentes activos.

- Los expertos en la técnica conocen bien los portadores y excipientes adecuados y se
- 35 describen en detalle, por ejemplo, en Ansel, Howard C., et al, Ansel's Pharmaceutical

Dosage Forms and Drug Delivery Systems. Filadelfia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2004; Gennaro, Alfonso R., et al, Remington: The Science and Practice of Pharmacy. Filadelfia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; y Rowe, Raymond C. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Chicago, Pharmaceutical Press, 2005. Por ejemplo, los

5 portadores incluyen disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes de retardo de la captación, sales, conservantes, fármacos, estabilizadores de fármacos, geles, aglutinantes, excipientes, agentes de disgregación, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes,

10 tintes, tales como materiales y combinaciones de los mismos, como sabrá un experto en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, pp 1289-1329, 1990). Excepto en la medida en la que un portador convencional cualquiera sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones farmacéuticas o terapéuticas. Los excipientes ejemplares incluyen fosfato dicálcico,

15 manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, celulosa, carbonato de magnesio o combinaciones de los mismos. Una composición farmacéutica puede comprender diferentes tipos de portadores o excipientes en dependencia de si es para administrarse en forma sólida, líquida o en aerosol, y si es necesario que esté esterilizado para dichas vías de administración.

20 Por ejemplo, los comprimidos y las cápsulas para la administración oral pueden ser en forma de presentación de dosis unitaria, y pueden contener excipientes convencionales tales como agentes aglutinantes, por ejemplo jarabe, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto o polivinil-pirrolidona; rellenos, por ejemplo, lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina; lubricante de comprimidos, por

25 ejemplo, estearato de magnesio, talco, polietilenglicol o sílice; desintegrantes, por ejemplo, almidón de papa, o agentes humectantes aceptables tales como lauril sulfato de sodio. Los comprimidos pueden recubrirse de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la práctica farmacéutica normal. Las preparaciones líquidas orales pueden estar en la forma, por ejemplo, de suspensiones acuosas u oleosas,

30 soluciones, emulsiones, jarabes o elixires, o pueden presentarse como un producto seco para la reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso. Dichas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, por ejemplo, sorbitol, jarabe, metil celulosa, jarabe de glucosa, grasas comestibles hidrogenadas tipo gelatina; agentes emulsionantes, por ejemplo, lecitina,

35 monooleato de sorbitán, o acacia; vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites

comestibles), por ejemplo, aceite de almendra, aceite de coco fraccionado, ésteres oleosos tales como glicerol, propilenglicol, o alcohol etílico; conservantes, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de metilo o propilo o ácido sórbico, y si se desea agentes saborizantes o colorantes convencionales.

- 5 Para la aplicación tópica en la piel, puede producirse un compuesto como una crema, loción o ungüentos. Las formulaciones de cremas o ungüentos que pueden usarse para el fármaco son formulaciones convencionales bien conocidas en la técnica, por ejemplo como se describe en libros de texto estándar de farmacia tales como la Farmacopea británica.
- 10 Los compuestos de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos también pueden formularse para inhalación, por ejemplo, como un pulverizador nasal, o inhaladores de polvo seco o aerosol. Para el suministro mediante inhalación, el compuesto está típicamente en la forma de micropartículas, que puede prepararse mediante una variedad de técnicas, que incluyen secado por pulverización, liofilización y micronización. La generación de aerosol puede llevarse a cabo usando, por ejemplo,
- 15 atomizadores de chorro impulsados por presión o atomizadores ultrasónicos, tales como mediante el uso de aerosoles dosificadores impulsados por propulsor o administración sin propulsor de compuestos micronizados, por ejemplo, de cápsulas de inhalación u otros sistemas de suministro de “polvo seco”.
- 20 A manera de ejemplo, una composición de la invención puede prepararse como una suspensión para su suministro con un nebulizador o como un aerosol en un propulsor líquido, por ejemplo, para usar en un inhalador de dosis fija presurizado (PMDI). El experto conoce los propulsores adecuados para usar en un PMDI, e incluyen CFC-12, HFA-134a, HFA-227, HCFC-22 (CCl_2F_2) y HFA-152 (CH_4F_2 e isobutano).
- 25 En algunos modos de realización, una composición de la invención está en forma de polvo seco, para su suministro usando un inhalador de polvo seco (DPI). Se conocen muchos tipos de DPI.

Las micropartículas para el suministro mediante administración pueden formularse con excipientes que ayudan al suministro y la liberación. Por ejemplo, en una formulación

30 de polvo seco, las micropartículas pueden formularse con partículas de portador grandes que ayudan al flujo desde el DPI hacia el pulmón. Las partículas de portador adecuadas se conocen, e incluyen partículas de lactosa; pueden tener una mediana del diámetro aerodinámico de la masa, por ejemplo, mayor que 90 μm .

En el caso de una formulación basada en aerosol, un ejemplo es:

- 35 Compuesto de la invención* 24 mg / contenedor

Lecitina, NF Liq. Conc. 1,2 mg / contenedor
Triclorofluorometano, NF 4,025 g / contenedor
Diclorodifluorometano, NF 12,15 g / contenedor.

* o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

- 5 Un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se pueden dosificar como se describe en dependencia del sistema inhalador usado. Además del compuesto, las formas de administración pueden contener adicionalmente excipientes como se describe anteriormente, o, por ejemplo, propulsores (por ejemplo, Frigen en el caso de aerosoles dosificadores), sustancias activas en superficie,
10 emulsionantes, estabilizadores, conservantes, saborizantes, rellenos (por ejemplo, lactosa en el caso de inhaladores en polvo) o, si es adecuado, otros compuestos activos.

- Para los propósitos de inhalación, una gran cantidad de sistemas están disponibles con los cuales pueden generarse y administrarse aerosoles de tamaño de partícula
15 óptimo, usando una técnica de inhalación que es adecuada para el paciente. Además del uso de adaptadores (espaciadores, expansores) y recipientes en forma de pera (por ejemplo, Nebulator®, Volumatic®), y dispositivos automáticos que emiten un pulverizador del inhalador (Autohaler®), para aerosoles dosificadores, en el caso de inhaladores en polvo en particular, existe disponibilidad de una serie de soluciones
20 técnicas (por ejemplo, Diskhaler®, Rotadisk®, Turbohaler® o los inhaladores, por ejemplo, como se describen en la patente de EE. UU. núm. 5,263,475, incorporada en el presente documento como referencia). Adicionalmente, los compuestos de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden suministrarse en dispositivos con múltiples cámaras, lo que permite por tanto el
25 suministro de agentes de combinación.

- El compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, también puede administrarse por vía parenteral en un medio estéril. En dependencia del vehículo y la concentración que se usan, el compuesto puede estar suspendido o disuelto en el vehículo. De forma ventajosa, los adyuvantes tales como un anestésico local,
30 conservante o agente tamponante pueden disolverse en el vehículo.

SUMINISTRO DE LOS FÁRMACOS INHALADOS DIRIGIDOS

- Los compuestos de la presente invención pueden usarse para el suministro por inhalación dirigido. La optimización de los fármacos para el suministro al pulmón mediante administración tópica (inhalación) se ha revisado recientemente (Cooper, A.
35 E. et al, Curr. Drug Metab. 2012, 13, 457-473).

Debido a limitaciones en los dispositivos de suministro, la dosis de un fármaco inhalado puede estar limitada en los seres humanos, lo que necesita moléculas muy potentes con buenas propiedades farmacocinéticas en el pulmón. Una gran potencia contra la diana de interés es especialmente importante para un fármaco inhalado debido a factores tales como la cantidad limitada del fármaco que puede suministrarse en una inhalación única desde un inhalador, y las preocupaciones de seguridad relacionadas con una alta carga de aerosol en el pulmón (por ejemplo, tos o irritación). Por ejemplo, en algunos modos de realización, una K_i de aproximadamente 0,5 nM o menos en un ensayo bioquímico de JAK1 tal como se describe en el presente documento, y una IC_{50} de aproximadamente 20 nM o menos en un ensayo basado en células dependiente de JAK1 tal como se describe en el presente documento, puede ser conveniente para un inhibidor de JAK1 inhalado. En otros modos de realización, la dosis proyectada para humanos de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es al menos dos veces menor que la dosis proyectada para humanos de un compuesto conocido en la técnica. En consecuencia, en algunos modos de realización, los compuestos (o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos) descritos en el presente documento demuestran dichos valores de potencia. Los procedimientos a continuación se usaron para evaluar los compuestos en cuestión para su posible uso como fármacos inhalados.

Señalización de IL13. La señalización de IL13 está implicada fuertemente en la patogenia del asma. IL13 es una citocina que requiere JAK1 activa para señalizar. Por tanto, la inhibición de JAK1 también inhibe la señalización de IL13, lo que puede proporcionar beneficio a los pacientes con asma. La inhibición de la señalización de IL13 en un modelo animal (por ejemplo, un modelo de ratón) puede predecir el beneficio futuro para pacientes humanos asmáticos. Por tanto, puede ser beneficioso que un inhibidor de JAK1 inhalado muestre supresión de la señalización de IL13 en un modelo animal. Los procedimientos de medir dicha supresión se conocen en la técnica. Por ejemplo, como se analiza en el presente documento y se conoce en la técnica, se sabe que la fosforilación de STAT6 dependiente de JAK1 es una consecuencia posterior de la estimulación de IL13. En consecuencia, en algunos modos de realización, los compuestos (o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos) descritos en el presente documento demuestran inhibición de la inducción de pSTAT6 en pulmón. Para examinar los efectos farmacodinámicos sobre los niveles de pSTAT6, los compuestos de la invención se dosificaron conjuntamente por vía intranasal con IL13 a ratones Balb/c hembras. Los compuestos se formularon en

Tween 80 al 0,2 % (v:v) en solución salina y se mezclaron 1:1 (v:v) con IL13 inmediatamente antes de la administración. Las dosis intranasales se administraron a los ratones ligeramente anestesiados (con isoflurano) al dispensar un volumen fijo (50 μ l) directamente en las fosas nasales mediante pipeta para lograr el nivel de dosis objetivo (3 mg/kg, 1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,1 mg/kg). A las 0,25 horas después de la dosis, se recogieron muestras de sangre (aproximadamente 0,5 ml) mediante punción cardíaca y el plasma se obtuvo mediante centrifugación (1500 g, 10 min, +4 °C). Los pulmones se perfundieron con solución salina tamponada con fosfato (PBS) fría, se pesaron y congelaron rápidamente en nitrógeno líquido. Todas las muestras se almacenaron a aproximadamente -80 °C hasta su análisis. Las muestras de pulmón descongeladas se pesaron y homogenizaron después de la adición de 2 ml de agua con calidad para HPLC por cada gramo de tejido, usando un disruptor con microesferas Omni-Prep a 4 °C. Las muestras de plasma y pulmón se extrajeron mediante precipitación de proteínas con tres volúmenes de acetonitrilo que contenía tolbutamida (50 ng/ml) y labetalol (25 ng/ml) como patrones internos analíticos. Después de la mezcla con vórtex y centrifugación durante 30 minutos a 3200 g y 4 °C, los sobrenadantes se diluyeron adecuadamente (por ejemplo, 1:1 v:v) con agua con calidad para HPLC en una placa de 96 pocillos. Se analizaron alícuotas representativas de muestras de plasma y pulmón para determinar el compuesto original mediante LC-MS/MS, contra una serie de estándares de control de calidad y calibración coincidentes con la matriz. Los estándares se prepararon mediante la adición del compuesto de prueba a las alícuotas de homogenado de plasma o pulmón de ratones Balb/c de control (2:1 en agua con calidad para HPLC) y extracción como se describe para las muestras experimentales. Se determinó una proporción pulmón:plasma como la proporción de la concentración pulmonar media (μ M) a la concentración plasmática media (μ M) en el tiempo de muestreo (0,25 horas). Para medir los niveles de pSTAT6, los pulmones de los ratones se almacenaron congelados a -80 °C hasta el ensayo y se homogenizaron en 0,6 ml de tampón de lisis celular frío (Cell Signalling Technologies, # de catálogo 9803S) complementado con PMSF 1 mM y un coctel de proteasas (Sigma Aldrich, # de catálogo P8340) e inhibidores de fosfatasas (Sigma Aldrich, # de catálogo P5726 y P0044). Las muestras se centrifugaron a 16 060 x g durante 4 minutos a 4 °C para eliminar restos de tejido y la concentración de proteínas de los homogenados se determinó usando el kit de ensayo de proteínas con BCA de Pierce (# de catálogo 23225). Las muestras se diluyeron a una concentración de proteínas de 5 mg/ml en agua destilada fría y se

analizaron para determinar los niveles de pSTAT6 mediante un inmunoensayo electro-quimioluminiscente por Meso Scale Discovery. En resumen, las placas con unión alta de Meso Scale Discovery de 96 pocillos se recubrieron con 5 µl/pocillo de anticuerpo de captura para STAT6 a 150 µg/ml (R&D Systems, # de catálogo MAB 2169) (# de catálogo L15XB-3) y se secaron al aire durante 5 horas a temperatura ambiente. Las placas se bloquearon mediante la adición de 150 µl/pocillo de bloqueador A de Meso Scale Discovery a 30 mg/ml (# de catálogo R93BA-4) y se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente en un agitador de microplacas. Las placas bloqueadas se lavaron 4 veces con tampón de lavado TRIS de Meso Scale Discovery (# de catálogo R61TX-1), seguido de la transferencia de 50 µl/pocillo de homogenado de pulmón para lograr una carga de proteína de 250 µg/pocillo. Las placas del ensayo se incubaron durante la noche a 4 °C y se lavaron 4 veces con tampón de lavado TRIS antes de la adición de 25 µl/pocillo de anticuerpo de detección de pSTAT6 marcado con etiqueta de sulfo a 2,5 µg/ml (BD Pharmingen, # de catálogo 558241) durante 2 horas a temperatura ambiente en un agitador de microplacas. Las placas se lavaron 4 veces con tampón de lavado TRIS y se añadieron 150 µl/pocillo de tampón de lectura T 1X de Meso Scale Discovery (# de catálogo R92TC-1). Los niveles de pSTAT6 en el homogenado de pulmón se cuantificaron mediante detección de electro-quimioluminiscencia en un instrumento SECTOR S 600 de Meso Scale Discovery.

20 Inhibición de JAK y JAK2 Los compuestos que inhiben tanto JAK1 como JAK2 son potencialmente útiles para el tratamiento de diferentes tipos de asma. La selectividad entre JAK1 y JAK2 también puede ser importante para un inhibidor de JAK1 inhalado. Por ejemplo, el GMCSF (factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos) es una citocina que señala a través de JAK2 exclusivamente. La neutralización de la actividad de GMCSF se asocia con proteinosis alveolar pulmonar (PAP) en el pulmón. Sin embargo, la supresión submáxima de JAK2 no parece asociarse con PAP. Por tanto, incluso una selectividad modesta de JAK1 vs JAK2, o una inhibición de JAK1 y JAK2 aproximadamente equivalente, puede ser beneficiosa al evitar una supresión completa de la vía de GMCSF y evitar PAP. Por ejemplo, en determinados modos de realización los compuestos que son equipotentes para JAK1 y JAK 2 son convenientes. En otros modos de realización los compuestos con una selectividad de aproximadamente 2x-5x para JAK1 sobre JAK2 pueden ser beneficiosos para un inhibidor de JAK1 inhalado. En consecuencia, en algunos modos de realización, los compuestos (o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos) descritos en el presente documento demuestran dicha selectividad. Los procedimientos para medir la

selectividad para JAK1 y JAK2 se conocen en la técnica, y también se puede encontrar información en los ejemplos en el presente documento.

Determinación del perfil de cinasas. Adicionalmente, para un inhibidor de JAK1 o JAK1/JAK2 inhalado puede ser conveniente ser selectivo para una o más cinasas para reducir la probabilidad de una posible toxicidad debido a una supresión de las vías de cinasas fuera de la diana. Por tanto, también puede ser beneficioso que un inhibidor de JAK1 inhalado sea selectivo contra un panel amplio de cinasas diferentes de JAK, tal como en protocolos disponibles del servicio bioquímico de determinación de perfiles de cinasas SelectScreen™ de ThermoFisher Scientific usando las condiciones de ensayo del protocolo de cribado Adapta™ (revisado el 29 de julio de 2016), condiciones de ensayo y protocolo de cribado del ensayo de unión de cinasa Eu LanthaScreen™ (revisado el 7 de junio de 2016), y/o condiciones de ensayo y protocolo de cribado de Z'LYTE™ (revisado el 16 de septiembre de 2016). Por ejemplo, un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, muestra una selectividad para JAK1 de al menos 50 veces contra un panel de cinasas diferentes de JAK. En consecuencia, en algunos modos de realización, los compuestos (o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos) descritos en el presente documento demuestran dicha selectividad.

Ensayos de citotoxicidad. La toxicidad en hepatocitos, la citotoxicidad general o la citotoxicidad de mecanismo desconocido es una característica indeseable para un posible fármaco, que incluye fármacos inhalados. Puede ser beneficioso que un inhibidor de JAK1 o JAK1/JAK2 inhalado tenga baja citotoxicidad intrínseca contra diversos tipos celulares. Los tipos celulares típicos que se usan para evaluar la citotoxicidad incluyen células primarias tales como hepatocitos humanos, y líneas celulares establecidas proliferantes tales como Jurkat y HEK-293. En consecuencia, en algunos modos de realización, los compuestos (o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos) descritos en el presente documento demuestran tales valores. Los procedimientos para medir la citotoxicidad se conocen en la técnica. En algunos modos de realización, los compuestos descritos en el presente documento se analizaron de la siguiente manera:

(a) las células Jurkat y HEK293T se mantuvieron a una densidad de subconfluencia en matraces T175. Las células se sembraron a 450 células/45 µl de medio en placas tratadas con cultivo de tejidos negras/transparentes de 384 pocillos de Greiner. (Greiner # de catálogo 781091). Después de dispensar las células, las placas se equilibraron a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después de 30

minutos a temperatura ambiente, las células se incubaron durante la noche a 37 °C en una incubadora con CO₂ y control de la humedad. El día siguiente, las células se trataron con compuestos diluidos en DMSO al 100 % (concentración final de DMSO en las células = 0,5 %) con una curva de dosis-respuesta de 10 puntos con una
5 concentración superior de 50 µM. Las células y los compuestos se incubaron después durante 72 horas durante la noche a 37 °C en una incubadora con CO₂ y control de la humedad. Después de 72 horas de incubación, se midió la viabilidad usando CellTiterGlo® (Promega # de catálogo G7572) en todos los pocillos. Después de la incubación a temperatura ambiente durante 20 minutos, las placas se leyeron en
10 EnVision™ (Perkin Elmer Life Sciences) usando el modo de luminiscencia;

(b) usando hepatocitos primarios humanos: el compuesto de prueba se preparó como una solución 10 mM en DMSO. Adicionalmente, se preparó un control positivo tal como clorpromazina como una solución 10 mM en DMSO. Los compuestos de prueba se evaluaron típicamente usando una curva de dosis respuesta de 7 puntos
15 con diluciones de 2 veces. Típicamente, la concentración máxima sometida a prueba fue 50-100 µM. Típicamente la solubilidad del compuesto de prueba estableció la concentración superior. Los hepatocitos primarios humanos criopreservados (BioreclamationIVT)(lote IZT) se descongelaron en medio de descongelación HT InVitroGro™ (BioreclamationIVT) a 37 °C, se sedimentaron y resuspendieron. La
20 viabilidad de hepatocitos se evaluó mediante exclusión de azul Tripán y las células se sembraron en placas de 384 pocillos con colágeno, de paredes negras BioCoat™ (Corning BD) a una densidad de 13 000 células/pocillo en medio de siembra CP InVitroGro™ complementado con mezcla de antibióticos Torpedo™ al 1 % (BioreclamationIVT) y suero fetal bovino al 5 %. Las células se incubaron durante la
25 noche por 18 horas (37 °C, CO₂ al 5 %) antes del tratamiento. Después de 18 horas de incubación, el medio de siembra se eliminó y los hepatocitos se trataron con compuestos diluidos en medio de incubación HI InVitroGro™ que contenía mezcla de antibióticos Torpedo™ al 1 % y DMSO al 1 % (condiciones sin suero). Los hepatocitos se trataron con los compuestos de prueba en concentraciones tales como 0,78, 1,56,
30 3,12, 6,25, 12,5, 25 y 50 µM a un volumen final de 50 µl. Se incluyó un control positivo (por ejemplo, clorpromazina) en el ensayo, típicamente en las mismas concentraciones que el compuesto de prueba. Se trataron células adicionales con DMSO al 1 % como un control de vehículo. Todos los tratamientos fueron durante un periodo de tiempo de 48 horas (a 37 °C, CO₂ al 5 %) y cada condición de tratamiento se realizó por

triplicado. Después de 48 horas del tratamiento con el compuesto, se usó el ensayo de viabilidad celular CellTiter-Glo® (Promega) como el ensayo de criterio de valoración para medir el contenido de ATP como una determinación de la viabilidad celular. El ensayo se realizó de acuerdo con las instrucciones de fabricación. La luminiscencia se determinó en un lector de múltiples placas EnVision™ (PerkinElmer, Waltham, MA, Estados Unidos). Los datos de luminiscencia se normalizaron con respecto a los pocillos de control con vehículo (DMSO al 1 %). Las curvas de inhibición y los estimados de IC₅₀ se generaron mediante regresión no lineal de las concentraciones del inhibidor con transformación log (diluciones en serie de 7 puntos que incluyen el vehículo) frente a la respuesta normalizada con las pendientes de Hill variables, con los valores superior e inferior restringidos a valores constantes de 100 y 0, respectivamente (GraphPad Prism™, GraphPad Software, La Jolla, CA, Estados Unidos).

Inhibición de hERG. La inhibición del canal de potasio hERG (gen humano relacionado con éter-à-go-go) puede conducir al síndrome de QT largo y arritmias cardíacas. Aunque se espera que los niveles plasmáticos de un inhibidor de JAK1 o JAK1/JAK2 inhalado sean bajos, el compuesto depositado en pulmón que sale del pulmón por medio de la absorción pulmonar hacia el torrente sanguíneo circulará directamente al corazón. Por tanto, las concentraciones locales del corazón de un inhibidor de JAK1 inhalado pueden ser transitoriamente mayores que los niveles plasmáticos totales, en particular inmediatamente después de la dosificación. Por tanto, puede ser beneficioso minimizar la inhibición de hERG de un inhibidor de JAK1 inhalado. Por ejemplo, en algunos modos de realización, se prefiere una IC₅₀ de hERG mayor que 30x sobre la C_{máx} en plasma sin fármaco. En consecuencia, en algunos modos de realización, los compuestos (o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos) de la invención demuestran reducción al mínimo de la inhibición de hERG en condiciones tales como:

(a) uso de condiciones de la técnica de fijación de membranas automática 2pt para hERG para examinar los efectos in vitro de un compuesto sobre hERG expresado en células de mamífero, evaluado a temperatura ambiente usando QPatch HT® (Sophion Bioscience A/S, Dinamarca), un sistema paralelo automático de la técnica de fijación de membranas. En algunos casos, los compuestos se sometieron a prueba en solo una o dos concentraciones tales como 1 o 10 uM. En otros casos se estableció a relación de concentración y respuesta más amplia para permitir la estimación de IC₅₀. Por ejemplo, las concentraciones del compuesto de prueba se seleccionaron para expandir el intervalo de aproximadamente 10-90 % de inhibición en

incrementos de medio log. Cada concentración del elemento de prueba se analizó en dos o más células ($n \geq 2$). La duración de la exposición a cada concentración del elemento de prueba fue un mínimo de 3 minutos; y/o

(b) las descritas en el documento WO 2014/074775, en los ejemplos, en

5 “Efecto en canales de potasio hERG clonados que se expresan en células de mamífero,” un protocolo ChanTest™, una Compañía de Charles River, con los siguientes cambios: las células que expresan establemente hERG se mantuvieron a -80 mV. Las inhibiciones de inicio y de estado estable de la corriente de potasio de hERG debido a un compuesto se midieron usando un patrón de pulsos con amplitudes
10 fijas (prepulso de condicionamiento: +20 mV durante 1 s; prueba de repolarización aumentó a -90 mV (-0,5 V/s) repetida a intervalos de 5 s). Cada registro terminó con una aplicación final de una concentración supramáxima de una sustancia de referencia, E-4021 (500 nM) (Compañía de Charles River). La corriente sin inhibir restante se restó fuera de línea digitalmente de los datos para determinar la potencia
15 de la sustancia de prueba para la inhibición de hERG.

Ensayo de inhibición de CYP (citocromo P450). La inhibición de CYP puede no ser una característica conveniente para un inhibidor de JAK1 o JAK1/JAK2 inhalado. Por ejemplo, un inhibidor de CYP reversible o dependiente del tiempo puede provocar un aumento no deseado en sus propios niveles plasmáticos, o en los niveles plasmáticos
20 de otros fármacos administrados en conjunto (interacciones entre fármacos). Adicionalmente, la inhibición de CYP dependiente del tiempo a veces es provocada por biotransformación del fármaco original a un metabolito reactivo. Dichos metabolitos reactivos pueden modificar covalentemente las proteínas, lo que conduce potencialmente a toxicidad. Por tanto, minimizar la inhibición de CYP reversible y
25 dependiente del tiempo puede ser beneficioso para un inhibidor de JAK1 inhalado. En consecuencia, en algunos modos de realización, los compuestos (o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos) de la presente invención demuestran mínima o ninguna inhibición de CYP reversible y/o dependiente del tiempo. Los procedimientos para medir la inhibición de CYP se conocen en la técnica. La inhibición
30 de CYP de los compuestos descritos en el presente documento se evaluó en un intervalo de concentración de 0,16 – 10 μ M del compuesto usando microsomas en hígado humano combinados ($n= 150$) (Corning, Tewksbury, MA) usando procedimientos previamente informados (Halladay et al, *Drug Metab. Lett.* 2011, 5, 220–230). La duración de la incubación y la concentración de proteínas fueron
35 dependientes de la isoforma de CYP y se evaluaron el sustrato de sonda/metabolitos.

Se usaron los siguientes sustratos/metabolitos, y los tiempos de incubación y concentraciones de proteína para cada CYP: CYP1A2, fenacetina/acetaminofeno, 30 min, 0,03 mg/ml de proteína; CYP2C9, warfarina/7-hidroxivarfarina, 30 min, 0,2 mg/ml de proteína; CYP2C19, mefenitoína/4-hidroximefenitoína, 40 min, 0,2 mg/ml de proteína; CYP2D6, dextrometorfano/dextrorfano, 10 min, 0,03 mg/ml de proteína; CYP3A4, midazolam/1-hidroximidazolam, 10 min, 0,03 mg/ml de proteína y CYP3A4 testosterona/6-hidroxitestosterona, 10 min, 0,06 mg/ml de proteína. Se determinó previamente que estas condiciones tienen una velocidad lineal de formación para los metabolitos específicos de CYP. Todas las reacciones se iniciaron con NADPH 1 mM y terminaron mediante la adición de ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo que contenía el estándar interno marcado y estable adecuado. Las muestras se analizaron mediante LC-MS/MS

Unión a tejido pulmonar de ratón. Un porcentaje de inhibidores de JAK1/JAK2 o fracción unida altos para el tejido pulmonar puede ser indeseable dado que puede reducir la cantidad de fármaco libre disponible para inhibir JAK1 o JAK2.

(a) Los experimentos de unión al tejido se realizaron por triplicado (n= 3) usando una placa RED de un solo uso según el protocolo estándar. Inicialmente, los fármacos individuales se adicionaron a los homogenados de tejido (pH 7,4) para lograr una concentración final de 1 μ M, y después 300 μ l de las mezclas de fármaco-homogenado de tejido se transfirieron a los pocillos donantes de la placa RED que se cargó previamente con 500 μ l de solución salina tamponada con fosfato (133 mM) en los pocillos receptores. La placa RED se selló con una membrana permeable a los gases y se colocó en una incubadora con agitación (450 rpm, VWR Symphony™) durante 6 horas a 37°C con CO₂ al 5 %. Al terminar la incubación, se tomaron alícuotas de las muestras de 30 μ l del dispositivo RED y se ecualizaron con matriz con un volumen igual de los homogenados de tejido o tampón, y las muestras resultantes se inactivaron después inmediatamente con acetonitrilo frío (muestra:acetonitrilo 1:4) que contenía propranolol o labetalol como estándar interno. Después de agitar durante 15 min a 500 rpm en un agitador de microplacas digital compacto de Thermo Scientific, todas las muestras se sometieron después a centrifugación a 3700 rpm durante 15 min (Beckman Coulter Allegra X 12R) para eliminar proteína del plasma. Posteriormente, los sobrenadantes se recogieron y después se diluyeron con un volumen igual de agua antes del análisis de LC-MS/MS.

(b) En un procedimiento alternativo, el grado de unión al tejido pulmonar del compuesto de prueba para el homogenado de pulmón de ratón también se puede

determinar mediante diálisis de equilibrio usando dispositivos RED (diálisis de equilibrio rápida) de Pierce (Fisher Scientific 89811 y 89809). Una solución 10 mM del compuesto en DMSO se preparó y diluyó a 1 mM con DMSO. Una alícuota de esta 1 mM (4 µl) se añadió al homogenado de pulmón (factor de dilución de 1:9, tejido pulmonar:tampón de fosfato de potasio (0,05 M, pH 7,4)) para producir una concentración final en la incubación del compuesto de 5 µM y el disolvente representa el 0,5 % (v/v) del volumen de incubación final.

Para cada ensayo, el porcentaje de tejido pulmonar unido se determinó por triplicado. El homogenado de pulmón (200 µl) se cargó en un lado de un inserto del dispositivo RED, por triplicado, y se cargaron 350 µl de tampón de fosfato de potasio en el otro lado. Los dispositivos RED se sellaron e incubaron durante 4 horas a aproximadamente 37 °C en un agitador orbital (~150 rpm).

Después de la incubación, una alícuota de homogenado de pulmón (8 µl) y una alícuota del dializado (72 µl) se emparejaron con la matriz (homogenado de pulmón con 72 µl de tampón de fosfato, dializado con 8 µl de homogenado de pulmón) antes del análisis. La proteína se precipitó a partir de las muestras con la adición de 160 µl del estándar interno que contiene acetonitrilo. El mismo procedimiento de emparejamiento con la matriz y precipitación de proteínas se realizó en alícuotas de homogenado de pulmón que se tomaron al inicio del experimento (muestras en t= 0 min), para la evaluación del equilibrio de masas. Las muestras inactivadas se centrifugaron (4000 rpm, 30 min, 4 °C) y el sobrenadante resultante se diluyó con agua (3:1 (v/v), sobrenadante: agua) y las muestras se analizaron para determinar el compuesto original mediante ensayo de cromatografía de líquidos y espectrometría de masa.

La fracción no unida (fu) en el homogenado de pulmón se determinó a partir de la proporción del área del pico del dializado con respecto al homogenado, corregida para tener en cuenta la dilución del homogenado de pulmón (D) para permitir un estimado de unión total al tejido pulmonar usando las siguientes ecuaciones:

$$fu \text{ sin diluir} = (1/D) / [(1/fu \text{ aparente}) - 1] + (1/D)]$$

$$\text{Fracción unida corregida (\%)} = (1-fu \text{ sin diluir}) * 100$$

Solubilidad cinética. Una buena solubilidad acuosa para los inhibidores de JAK1/JAK2 para el suministro por inhalación puede ser conveniente para reducir la cantidad de materia en partículas sin disolver en el pulmón. En un procedimiento para medir la solubilidad cinética, se añaden 4 µl de una solución madre en DMSO 10 mM del compuesto de prueba a 196 µl de solución salina tamponada con fosfato pH 7,4 en

una placa con filtro de 96 pocillos Multiscreen® de Millipore para producir una concentración de prueba de 200 µM con 2 % de DMSO residual. La placa con filtro se sella con una película de sellar de aluminio y se agita a temperatura ambiente durante 24 horas, después las mezclas se filtraron a vacío en una placa transparente de 96 pocillos. Las muestras del filtrado se diluyen con un factor de dos usando solución salina tamponada con fosfato pH 7,4, después se analizan 5 µl de las soluciones resultantes mediante cromatografía de líquidos de ultra alto rendimiento (UHPLC) con detección de nitrógeno por quimioluminiscencia (CLND) y detección de ultravioleta (UV) a una longitud de onda de 254 nm. La concentración de la muestra típicamente se cuantifica mediante la intensidad de CLND, que se relaciona con la cantidad de nitrógenos en el compuesto. La detección de UV se usa principalmente para confirmar la pureza de la muestra excepto en casos raros cuando los compuestos de prueba no contienen nitrógenos. En esos casos, se construye una curva de calibración específica para el compuesto basada en la absorbancia UV. Esta curva se usa después para determinar la concentración de la muestra.

Lipofilicidad. La lipofilicidad es importante para la solubilidad, absorción, penetración en el tejido, unión a proteínas, distribución y ADME y propiedades PK en general de los posibles fármacos. El logP calculado (cLogP), el logaritmo del coeficiente de reparto de un compuesto entre n-octanol y agua (es decir $\log(\text{concentración del compuesto en n-octanol} / \text{concentración del compuesto en agua})$), por tanto puede ser una consideración importante para los inhibidores de JAK1/JAK para el suministro por inhalación.

Estabilidad microsómica hepática. Para minimizar la exposición sistémica de un inhibidor de JAK1/JAK2 inhalado puede ser beneficioso optimizar el metabolismo rápido en el hígado. Se realizó un ensayo de estabilidad microsómica hepática en una estación de trabajo de manipulación de líquidos BioCel 1200 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA). Los compuestos (1,0 µM) se incubaron durante 5 min a 37 °C en 100 µl de una mezcla de reacción que contenía tampón fosfato 100 mM (pH 7,4) y microsomas hepáticos a 0,5 mg/ml y NADPH 1 mM. A diferentes intervalos de tiempo (0, 20, 40 y 60 min), se tomaron alícuotas de 20 µl de las mezclas de reacción y se mezclaron con 4 volúmenes de acetonitrilo (ACN) que contenía propranolol 0,1 µM como el estándar interno para detener la reacción metabólica. Las muestras se centrifugaron después en 3250 x g durante 40 min para eliminar la proteína precipitada. Los sobrenadantes se transfirieron posteriormente a una nueva placa de 96 pocillos y se diluyeron 2 veces usando agua desionizada, y se sometieron después

a análisis de LC-MS/MS usando un espectrómetro de masa ABI Sciex 5500 QTRAP® (Applied Biosystems, Foster City, CA) acoplado con un HPLC 1260 de Agilent (Agilent Technologies, Santa Clara, CA). El por ciento del resto se calculó usando la proporción del área del pico del compuesto de prueba con relación al estándar interno en diferentes puntos de tiempo con respecto al control (T= 0 min). Véase B. Williamson, C. Wilson, G. Dagnell, RJ Riley. Harmonised high throughput microsomal stability assay. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 2017;84:31-36. Propiedades en estado sólido. Para los compuestos que se van a suministrar por medio de inhalación de polvo seco existe además un requisito de poder generar formas cristalinas del compuesto que se puedan micronizar a un tamaño de 1-5 µm. El tamaño de partículas es un determinante importante de la deposición en el pulmón de un compuesto inhalado. Las partículas con un diámetro de menos de 5 micras (µm) se definen típicamente como respirables. Las partículas con un diámetro mayor que 5 µm son más propensas a depositarse en la orofaringe y correspondientemente es menos probable que se depositen en el pulmón. Adicionalmente, las partículas finas con un diámetro de menos de 1 µm tienen mayor probabilidad que las partículas más grandes de permanecer suspendidas en el aire, y correspondientemente son más propensas a salir del pulmón con la exhalación. Por tanto, un diámetro de partícula de 1-5 µm puede ser beneficioso para un medicamento inhalado cuyo sitio de acción es en el pulmón. Los procedimientos típicos que se usan para medir el tamaño de partícula incluyen difracción láser e impacto en cascada. Los valores típicos que se usan para definir el tamaño de partícula incluyen:

- D10, D50 y D90. Estas son mediciones del diámetro de partícula que indican, respectivamente, que el 10 %, 50 % o 90 % de la muestra tiene un valor por debajo de ese valor. Por ejemplo un D50 de 3 µm indica que el 50 % de la muestra tiene un tamaño por debajo de 3 µm.
- Diámetro aerodinámico medio de la masa (MMAD). MMAD es el diámetro en que el 50 % de las partículas en masa son más grandes y el 50 % son más pequeñas. MMAD es una medida de tendencia central.
- Desviación estándar geométrica (GSD). La GSD es una medida de la magnitud de dispersión del MMAD, o la dispersión en la distribución del tamaño de partícula aerodinámica.

Una formulación común para los medicamentos inhalados es una preparación de polvo seco que incluye el ingrediente farmacéutico activo (API) mezclado con un portador tal como lactosa con o sin otros aditivos tales como estearato de magnesio. Para esta

formulación y otras, puede ser beneficioso que el propio API posea propiedades que permitan su molienda a un tamaño de partícula respirable de 1-5 μm . La aglomeración de partículas debe evitarse, lo que puede medirse mediante procedimientos conocidos en la técnica, tales como el análisis de los valores de D90 en diferentes condiciones de presión. En consecuencia, en algunos modos de realización, los compuestos (o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos) de la presente invención pueden prepararse con dicho tamaño de partícula respirable con poca o ninguna aglomeración.

Como para la cristalinidad, para algunas formulaciones de fármacos inhalados, que incluyen mezclas de lactosa, es importante que se use el API de una forma cristalina específica. La cristalinidad y la forma cristalina pueden afectar muchos parámetros importantes para un fármaco inhalado que incluyen pero sin limitarse a: estabilidad química y aerodinámica en el tiempo, compatibilidad con los componentes de la formulación inhalada tales como lactosa, higroscopía, retención pulmonar e irritación pulmonar. Por tanto, una forma cristalina reproducible estable puede ser beneficiosa para un fármaco inhalado. Adicionalmente, las técnicas que se usan para moler los compuestos al tamaño de partícula deseado frecuentemente son energéticas y pueden provocar formas cristalinas con poca fusión para convertirse a otras formas cristalinas, o para convertirse en completamente o parcialmente amorfas. Una forma cristalina con un punto de fusión de menos de 150 $^{\circ}\text{C}$ puede ser incompatible con la molienda, mientras que una forma cristalina con un punto de fusión de menos de 100 $^{\circ}\text{C}$ probablemente no sea compatible con la molienda. Por tanto, puede ser beneficioso que un medicamento inhalado tenga un punto de fusión al menos mayor que 100 $^{\circ}\text{C}$, e idealmente mayor que 150 $^{\circ}\text{C}$. En consecuencia, en algunos modos de realización, los compuestos (o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos) descritos en el presente documento demuestren dichas propiedades.

Adicionalmente, minimizar el peso molecular puede ayudar a disminuir la dosis eficaz de un inhibidor de JAK1 inhalado. Un menor peso molecular da como resultado una correspondiente mayor cantidad de moléculas por unidad de masa del ingrediente farmacéutico activo (API). Por tanto, puede ser beneficioso encontrar el inhibidor de JAK1 inhalado con el menor peso molecular que retenga todas las otras propiedades deseadas de un fármaco inhalado.

Finalmente, es necesario que el compuesto mantenga una concentración suficiente en el pulmón durante un periodo de tiempo determinado de manera que pueda ejercer un efecto farmacológico de la duración deseada, y que tenga una baja exposición

sistémica para las dianas farmacológicas donde no se desea la inhibición sistémica de dicha diana. El pulmón tiene una permeabilidad inherentemente alta para moléculas grandes (proteínas, péptidos) así como para moléculas pequeñas con semividas en pulmón cortas concomitantes, por tanto puede ser necesario atenuar la velocidad de absorción pulmonar a través de la modificación de una o más características de los compuestos: minimizar la permeabilidad de la membrana, pKa optimizada, cLogP, solubilidad, velocidad de disolución. Los procedimientos para medir dichas propiedades se conocen en la técnica.

En consecuencia, en algunos modos de realización, un compuesto de la presente invención (o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) presenta de manera favorable una o más de las características anteriores. Además, en algunos modos de realización, un compuesto de la presente invención presenta favorablemente una o más de estas características con respecto a un compuesto conocido en la técnica – esto puede ser particularmente cierto para compuestos de la técnica previstos como fármacos orales frente a los inhalados. Por ejemplo, los compuestos con absorción oral rápida típicamente muestran poca retención en el pulmón por inhalación.

PROCEDIMIENTOS DE TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE JANUS CINASAS Y USOS DE ESTOS

Los compuestos de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, inhiben la actividad de una Janus cinasa, tal como cinasa JAK1 y/o JAK2. Por ejemplo, un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo inhibe la fosforilación de transductores de señales y activadores de la transcripción (STAT) mediante la cinasa JAK1 así como la producción de citocinas mediada por STAT. Los compuestos de la presente invención son útiles para inhibir la actividad de cinasa JAK1 en células a través de las vías de citocinas, tales como las vías de IL-6, IL-15, IL-7, IL-2, IL-4, IL-9, IL-10, IL-13, IL-21, G-CSF, IFNalfa, IFNbeta o IFNgamma. En consecuencia, en un modo de realización se proporciona un procedimiento para poner en contacto una célula con un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para inhibir una actividad de Janus cinasa en la célula (por ejemplo, actividad de JAK1).

Los compuestos pueden usarse para el tratamiento de trastornos inmunitarios con señalización aberrante de las citocinas IL-6, IL-15, IL-7, IL-2, IL-4, IL9, IL-10, IL-13, IL-21, G-CSF, IFNalfa, IFNbeta o IFNgamma.

En consecuencia, un modo de realización incluye un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento.

5 En algunos modos de realización, se proporciona el uso de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria. Además se proporciona el uso de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, tal como el asma. Además se proporciona un compuesto de la presente
10 invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, tal como el asma.

Otro modo de realización incluye un procedimiento para prevenir, tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad o afección, tal como el asma, sensible a la inhibición de una actividad de Janus cinasa, tal como la actividad de cinasa JAK1, en un paciente.
15 El procedimiento puede incluir la etapa de administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En un modo de realización, la enfermedad o afección sensible a la inhibición de una Janus cinasa, tal como cinasa JAK1, es asma. En un modo de realización, la enfermedad o afección es cáncer, apoplejía, diabetes,
20 hepatomegalia, cardiopatía, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, fibrosis quística, enfermedad vírica, enfermedades autoinmunitarias, aterosclerosis, restenosis, psoriasis, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, asma, trastornos alérgicos, inflamación, trastornos neurológicos, una enfermedad relacionada con hormonas, afecciones asociadas con el trasplante de órganos (por ejemplo, rechazo del trasplante), trastornos de inmunodeficiencia, trastornos óseos destructivos, trastornos proliferativos, enfermedades infecciosas, afecciones asociadas con muerte celular, agregación plaquetaria inducida por trombina, hepatopatía, afecciones inmunitarias patológicas que implican la activación de linfocitos T, trastornos del SNC o un trastorno mieloproliferativo.
25

30 En un modo de realización, la enfermedad inflamatoria es artritis reumatoide, psoriasis, asma, enfermedad inflamatoria intestinal, dermatitis por contacto o reacciones de hipersensibilidad retardada. En un modo de realización, la enfermedad autoinmunitaria es artritis reumatoide, lupus o esclerosis múltiple.

En otro modo de realización, un compuesto de la presente invención o una sal
35 farmacéuticamente aceptable del mismo pueden usarse para tratar enfermedades

pulmonares tales como una enfermedad pulmonar fibrótica o una enfermedad pulmonar intersticial (por ejemplo, una neumonía intersticial). En algunos modos de realización, un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo pueden usarse para tratar la fibrosis pulmonar idiopática (IPF),
5 enfermedad pulmonar intersticial en esclerosis sistémica (SSc-ILD)), neumonía intersticial inespecífica (NSIP), enfermedad pulmonar intersticial asociada a artritis reumatoide (RA-ILD), sarcoidosis, neumonitis por hipersensibilidad, o ILD secundaria a enfermedad del tejido conjuntivo además de esclerodermia (por ejemplo, polimiositis, dermatomiositis, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico (SLE), o enfermedad
10 mixta del tejido conjuntivo).

En un modo de realización, el cáncer es de mama, ovario, cuello uterino, próstata, testículo, pene, sistema genitourinario, seminoma, esófago, laringe, gástrico, de estómago, gastrointestinal, cutáneo, queratoacantoma, carcinoma folicular, melanoma, pulmón, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de pulmón no microcítico
15 (NSCLC), adenocarcinoma pulmonar, carcinoma escamoso de pulmón, colon, páncreas, tiroides, papilar, vejiga, hígado, vías biliares, riñón, hueso, trastornos mieloides, trastornos linfoides, células pilosas, cavidad bucal y faringe (oral), labios, lengua, boca, glándula salival, faringe, intestino delgado, colon, recto, anal, renal, de próstata, vulva, de tiroides, intestino grueso, endometrio, uterino, de cerebro, sistema
20 nervioso central, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer de cabeza, cáncer de cuello, de Hodgkin o leucemia.

En un modo de realización, la enfermedad es un trastorno mieloproliferativo. En un modo de realización, el trastorno mieloproliferativo es policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis o leucemia mielógena crónica (CML).

25 Otro modo de realización incluye el uso de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad descrita en el presente documento (por ejemplo, un trastorno inflamatorio, un trastorno inmunitario o cáncer).

En un modo de realización, la invención proporciona un procedimiento para tratar una
30 enfermedad o afección como se describe en el presente documento por ejemplo, un trastorno inflamatorio, un trastorno inmunitario o cáncer) mediante el direccionamiento de la inhibición de una JAK cinasa, tal como JAK1.

POLITERAPIA

Los compuestos pueden emplearse solos o en combinación con otros agentes para el
35 tratamiento. El segundo u otro (por ejemplo, el tercer) compuesto de una composición

farmacéutica o régimen de dosificación típicamente tiene actividades complementarias al compuesto de esta invención de manera que no se afectan negativamente entre sí. Dichos agentes se encuentran en combinación adecuada en cantidades eficaces para el fin previsto. Los compuestos pueden administrarse juntos en una composición farmacéutica unitaria o de manera separada y, cuando se administran por separado esto puede ocurrir simultánea o secuencialmente. Dicha administración secuencial puede ser en un tiempo corto o largo.

Por ejemplo, otros compuestos pueden combinarse con un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la prevención o el tratamiento de enfermedades inflamatorias, tales como el asma. Los agentes terapéuticos adecuados para una politerapia incluyen, pero no se limitan a: un antagonista del receptor de adenosina A_{2A}; un antiinfeccioso; un agonista de receptor glucocorticoide no esteroideo (receptor GR); un antioxidante; un agonista del receptor adrenérgico alfa 2; un antagonista de CCR1; un antagonista de quimiocina (no CCR1); un corticosteroide; un antagonista de CRTh₂; un antagonista de DP1; un antagonista del receptor para péptidos formilados; un activador de histona deacetilasas; un bloqueador del canal de cloruro hCLCA1; un bloqueador de canales de sodio epiteliales (bloqueador de ENAC; un bloqueador de moléculas de adhesión intercelular 1 (bloqueador de ICAM); un inhibidor de IKK2; un inhibidor de JNK; un inhibidor de receptores de potencial transitorio anquirina 1 (TRPA1); un inhibidor de la tirosina cinasa de Bruton (BTK) (por ejemplo, fenebrutinib); un inhibidor de tirosina cinasa del bazo (SYK); un anticuerpo contra triptasa-beta; un anticuerpo contra receptor de ST2 (por ejemplo, AMG 282); un inhibidor de ciclooxigenasa (inhibidor de COX); un inhibidor de lipoxigenasa; un antagonista del receptor de leucotrienos; un agonista doble de los receptores adrenérgicos alfa 2/antagonista del receptor M3 (compuesto MABA); un inhibidor de MEK-1; un inhibidor de mieloperoxidasa (inhibidor de MPO); un antagonista muscarínico; un inhibidor de p38 MAPK; un inhibidor de fosfodiesterasa PDE4; un inhibidor de la fosfatidilinositol 3-cinasa δ (inhibidor de PI3-cinasa δ); un inhibidor de fosfatidilinositol 3-cinasa beta (inhibidor de PI3-cinasa gamma); un agonista de receptores activados por proliferadores de peroxisoma (agonista de PPAR gamma); un inhibidor de proteasa; un modulador del receptor de ácido retinoico (modulador de RAR gamma); una estatina; un antagonista de tromboxano; un agonista del receptor de TLR7; o un vasodilatador.

Además, un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, pueden combinarse con: (1) corticosteroides, tales como

dipropionato de alclometasone, amelometasone, dipropionato de beclometasone, budesonide, propionato de butixocort, biclesonide, propionato de clobetasol, desisobutirilciclesonide, dexametasone, dicloacetato de etiprednol, fluocinolona acetónido, furoato de fluticasone, propionato de fluticasone, etabonato de loteprednol

5 (tópico) ofuroato de mometasone; (2) agonistas del receptor adrenérgico β_2 tales como salbutamol, albuterol, terbutalina, fenoterol, bitolterol, carbuterol, clenbuterol, pirbuterol, rimoterol, terbutalina, tretoquinol, tulobuterol y agonistas del receptor adrenérgico β_2 de acción prolongada tales como metaproterenol, isoproterenol, isoprenalina, salmeterol, indacaterol, formoterol (que incluye fumarato de formoterol),

10 arformoterol, carmoterol, abediterol, trifenato de vilanterol, u olodaterol; (3) productos combinados corticosteroides/agonistas de β_2 de acción prolongada tales como salmeterol/propionato de fluticasone (Advair®, también comercializado como Seretide®), formoterol/budesonide (Symbicort®), formoterol/propionato de fluticasone (Flutiform®), formoterol/ciclesonide, formoterol/furoato de mometasone,

15 indacaterol/furoato de mometasone, trifenato de vilanterol/furoato de fluticasone (BREO ELLIPTA), o arformoterol/ciclesonide; (4) agentes anticolinérgicos, por ejemplo, antagonistas del receptor muscarínico 3 (M3) tales como bromuro de ipratropio, bromuro de tiotropio, bromuro de aclidinio (LAS-34273), bromuro de glicopirronio, o bromuro de umeclidinio; (5) productos combinados anticolinérgicos de M3/agonistas

20 del receptor adrenérgico β_2 tales como vilanterol /umeclidinio (Anoro® Ellipta®), olodaterol/bromuro de tiotropio, bromuro de glicopirronio/indacaterol (Ultibro®, también comercializado como Xoterna®), hidrobromuro de fenoterol/bromuro de ipratropio (Berodual®), sulfato de albuterol/bromuro de ipratropio (Combivent®), fumarato de formoterol/glicopirrolato, obromuro de aclidinio/formoterol; (6) agonistas

25 anticolinérgicos M3/receptor adrenérgico β_2 de farmacología doble tales como succinato de batefenterol, AZD-2115 o LAS-190792; (7) moduladores de leucotrienos, por ejemplo, antagonistas de leucotrienos tales como montelukast, zafirlukast o pranlukast o inhibidores de la biosíntesis de leucotrienos tales como zileuton, o antagonistas de LTB4 tales como amelubant, o inhibidores de FLAP tales como

30 fibroflapon, GSK-2190915; (8) inhibidores de fosfodiesterasa IV (PDE-IV) (orales o inhalados), tales como roflumilast, cilomilast, oglemilast, rolipram, tetomilast, AVE-8112, revamilast, CHF 6001; (9) antihistaminas, por ejemplo, antagonistas selectivos para el receptor de histamina 1 (H1) tales como fexofenadina, cetirizina, loratidina o astemizol o antagonistas dobles de receptores de H1/H3 tales como GSK 835726, o

GSK 1004723; (10) agentes antitusivos, tales como codeína o dexametorfano; (11) un mucolítico, por ejemplo, N-acetilcisteína o fudosteína; (12) un expectorante/modulador mucocinético, por ejemplo, ambroxol, soluciones hipertónicas (por ejemplo, solución salina o manitol) o tensioactivo; (13) un mucolítico peptídico, por ejemplo, desoxirribonucleasa I humana recombinante (dornasa alfa y rhDNasa) o helicidina; (14) antibióticos, por ejemplo azitromicina, tobramicina o aztreonam; (15) inhibidores de COX-1/COX-2 no selectivos, tales como ibuprofeno o ketoprofeno; (16) inhibidores de COX-2, tales como celecoxib y rofecoxib; (17) antagonistas de VLA-4, tales como los descritos en los documentos WO 97/03094 y WO 97/02289, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento como referencia; (18) inhibidores de TACE e inhibidores de TNF- α , por ejemplo anticuerpos monoclonales anti-TNF, tales como Remicade® y moléculas de inmunoglobulina para el receptor de TNF y CDP-870, tales como Enbrel®; (19) inhibidores de metaloproteasa de la matriz, por ejemplo MMP-12; (20) inhibidores de elastasa de neutrófilos humanos, tales como BAY-85-8501 o los descritos en los documentos WO 2005/026124, WO 2003/053930 y WO 2006/082412, cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento como referencia; (21) antagonistas de A2b tales como los descritos en el documento WO 2002/42298, incorporado en el presente documento como referencia; (22) moduladores de la función de receptores de quimiocinas, por ejemplo antagonistas de CCR3 y CCR8; (23) compuestos que modulan la acción de otros receptores de prostanoïdes, por ejemplo, un antagonista de tromboxano A₂; antagonistas de DP1 tales como laropiprant o asapiprant antagonistas de CTRH2 tales como OC000459, fevipiprant, ADC 3680 o ARRY 502; (24) agonistas de PPAR que incluyen agonistas de PPAR alfa (tal como fenofibrato), agonistas de PPAR delta, agonistas de PPAR gamma tales como pioglitazona, rosiglitazona y balaglitazona; (25) metilxantinas tales como teofilina o aminofilina y metilxantina/combinaciones de corticosteroides tales como teofilina/budesonida, teofilina/propionato de fluticasona, teofilina/ciclesonida, teofilina/furoato de mometasona y teofilina/dipropionato de beclometasona; (26) agonistas de A2a tales como los descritos en los documentos EP1052264 y EP1241176; (27) antagonistas de CXCR2 o IL-8 tales como AZD-5069, AZD-4721, o danirixin; (28) moduladores de la señalización de IL-R tales como kineret y ACZ 885; (29) antagonistas de MCP-1 tales como ABN-912; (30) un inhibidor de p38 MAPK tal como BCT197, JNJ49095397, losmapimod o PH-797804; (31) agonistas del receptor de TLR7 tales como AZD 8848; (32) inhibidores de PI3-cinasa tales como RV1729 o GSK2269557 (nemiralisib); (33) productos combinados triples tales como TRELEGY

ELLIPTA (furoato de fluticasona, bromuro de umeclidinio y vilanterol); o (34) inhibidores de molécula pequeña de TRPA1, BTK, o SYK.

En algunos modos de realización un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse en combinación con uno o
5 más fármacos adicionales, por ejemplo agentes anti-hiperproliferativos, antineoplásicos, citostáticos, citotóxicos, antiinflamatorios quimioterapéuticos, tales como los agentes descritos en la solicitud de publicación de EE. UU. núm. 2010/0048557, incorporada en el presente documento como referencia. Un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede
10 usar también en combinación con radioterapia o cirugía, como se conoce en la técnica. Las combinaciones de cualquiera de los anteriores con un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se contemplan específicamente.

ARTÍCULOS DE FABRICACIÓN

15 Otro modo de realización incluye un artículo de fabricación (por ejemplo, un kit) para tratar una enfermedad o trastorno sensible a la inhibición de una Janus cinasa, tal como una cinasa JAK1. El kit puede comprender:

- (a) una primera composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y
- 20 (b) instrucciones para su uso.

En otro modo de realización, el kit comprende además:

- (c) una segunda composición farmacéutica, tal como una composición farmacéutica que comprende un agente para el tratamiento como se describe anteriormente, tal como un agente para el tratamiento de un trastorno inflamatorio, o
25 un agente quimioterápico.

En un modo de realización, las instrucciones describen la administración simultánea, secuencial o separada de dicha primera y segunda composiciones farmacéuticas a un paciente con necesidad de las mismas.

En un modo de realización, la primera y segunda composiciones están contenidas en
30 recipientes separados. En otro modo de realización, la primera y segunda composiciones están contenidas en el mismo recipiente.

Los recipientes para su uso incluyen, por ejemplo, botellas, frascos, jeringas, blísteres, etcétera. Los recipientes se pueden formar a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente incluye un compuesto de la presente invención o
35 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que es eficaz para tratar la afección y

puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el contenedor puede ser una bolsa o frasco de solución intravenosa que tenga un tapón que puede perforarse mediante una aguja de inyección hipodérmica). La etiqueta o el prospecto indican que el compuesto se usa para el tratamiento de la afección seleccionada, tal como asma o

5 cáncer. En un modo de realización, la etiqueta o prospectos indican que el compuesto puede usarse para tratar un trastorno. Además, la etiqueta o el prospecto pueden indicar que el paciente que va a tratarse es uno que tiene un trastorno caracterizado por actividad de Janus cinasa hiperactiva o irregular, tal como actividad de JAK1 hiperactiva o irregular. La etiqueta o el prospecto también pueden indicar que el

10 compuesto puede usarse para tratar otros trastornos.

Alternativa o adicionalmente, el kit puede comprender además un segundo (o tercer) recipiente que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer o solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables

15 desde un punto de vista comercial y del usuario, que incluyen otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

Para ilustrar la invención, se incluyen los siguientes ejemplos. Sin embargo, debe entenderse que estos ejemplos no limitan la invención y solo pretenden sugerir un procedimiento de llevar la invención a la práctica. Los expertos en la técnica

20 reconocerán que las reacciones químicas descritas pueden adaptarse fácilmente para preparar otros compuestos de la presente invención, y procedimientos alternativos para preparar los compuestos están dentro del alcance de esta invención. Por ejemplo, la síntesis de compuestos no ejemplificados de acuerdo con la invención se puede llevar a cabo exitosamente por medio de modificaciones evidentes para las

25 personas del oficio de nivel medio, por ejemplo, protegiendo grupos interferentes de manera adecuada, utilizando otros reactivos adecuados conocidos en el estado de la técnica diferentes de aquellos descritos, o haciendo modificaciones rutinarias de las condiciones de reacción. De manera alternativa, se reconocerá que otras reacciones divulgadas en la presente o conocidas en el estado de la técnica son pertinentes para

30 preparar otros compuestos de la invención.

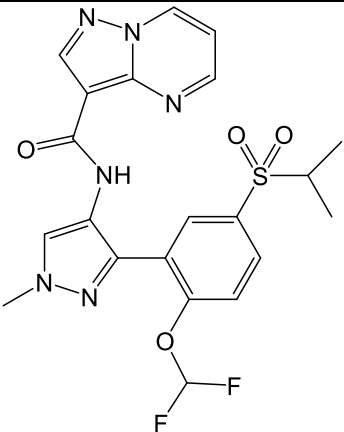
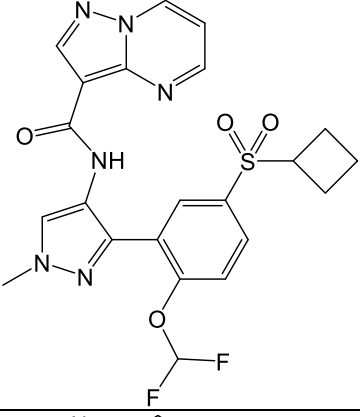
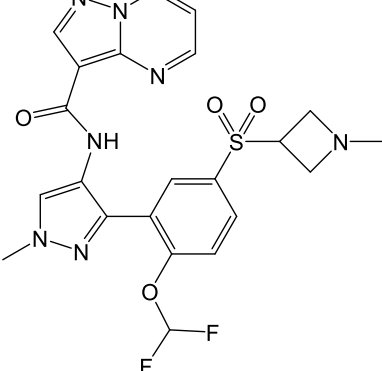
EJEMPLOS

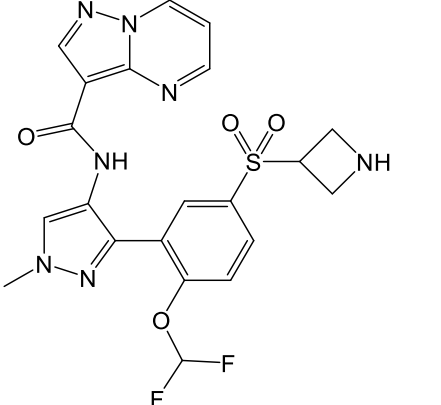
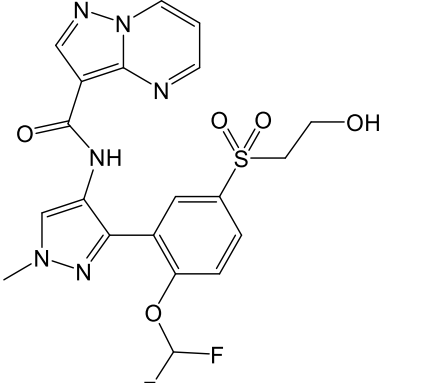
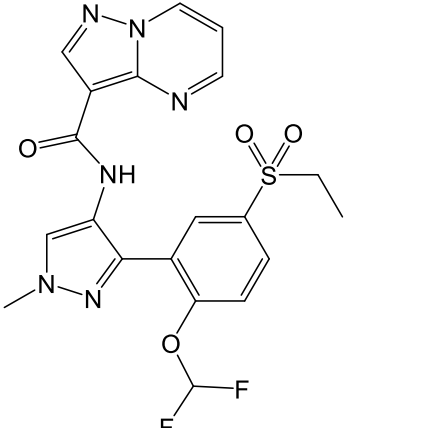
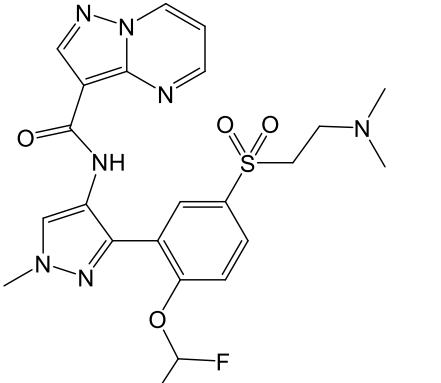
Los siguientes compuestos representativos de la tabla 1 se prepararon usando procedimientos similar a los descritos en los esquemas y ejemplos en el presente

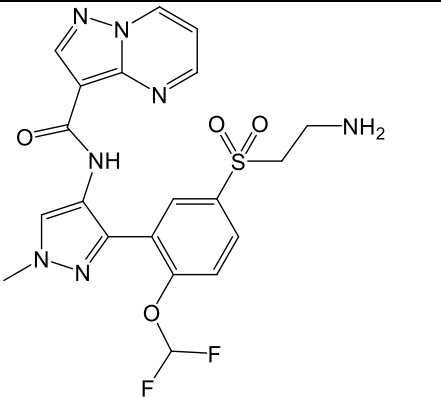
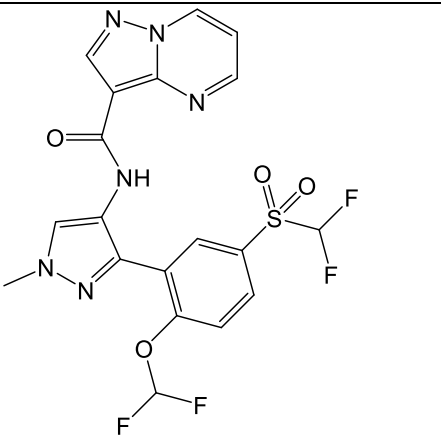
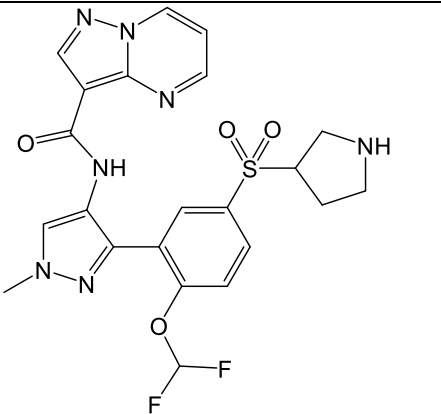
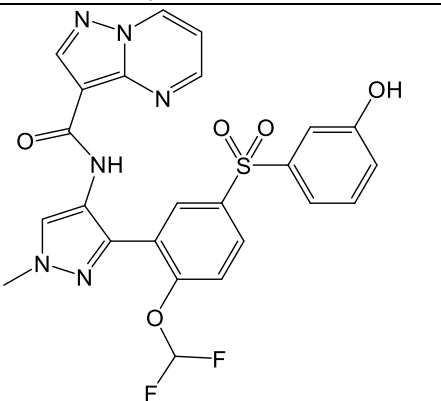
35 documento. La estereoquímica absoluta de cada compuesto a continuación puede no

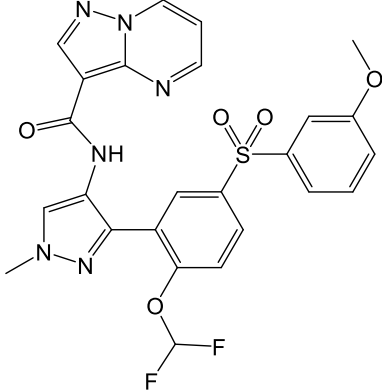
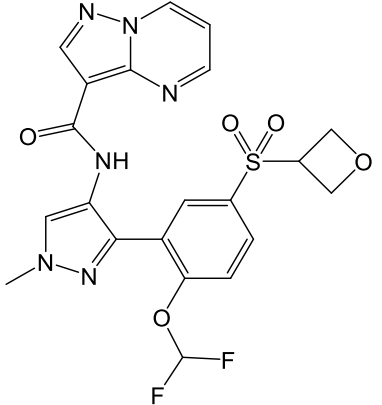
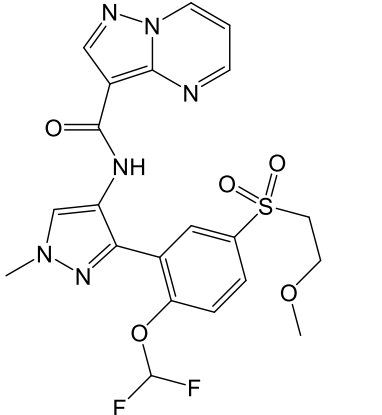
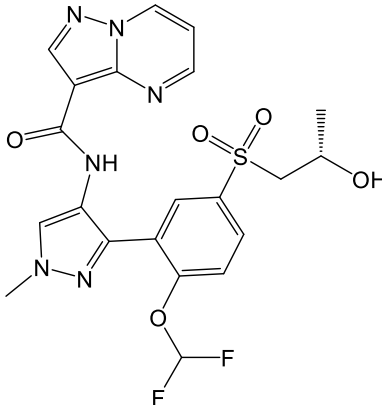
estar representada: por lo tanto, las estructuras pueden aparecer más de una vez, cada una de las cuales representa un estereoisómero único.

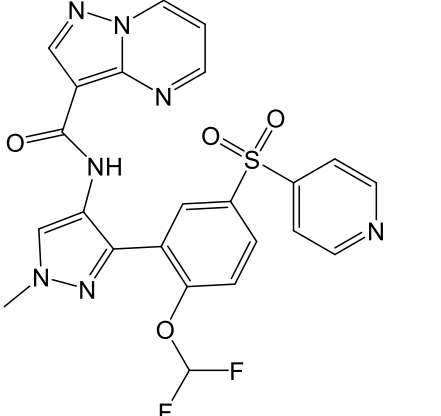
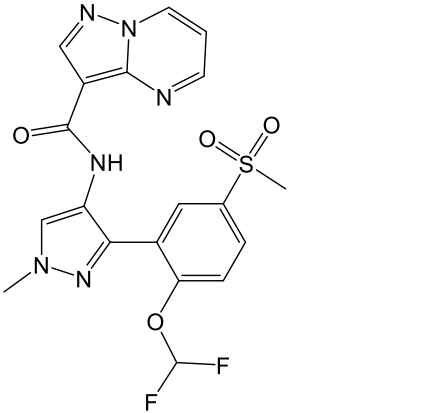
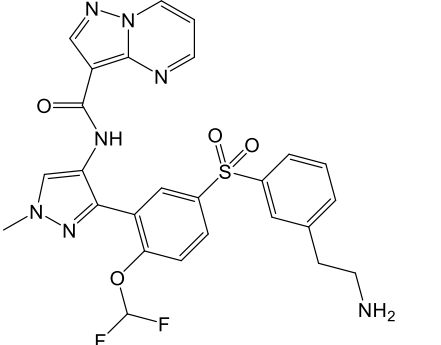
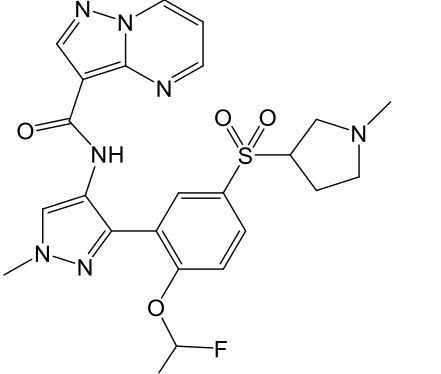
Tabla 1: Inhibidores de JAK ejemplares de la invención

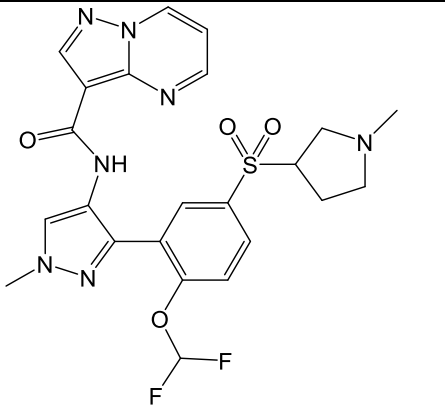
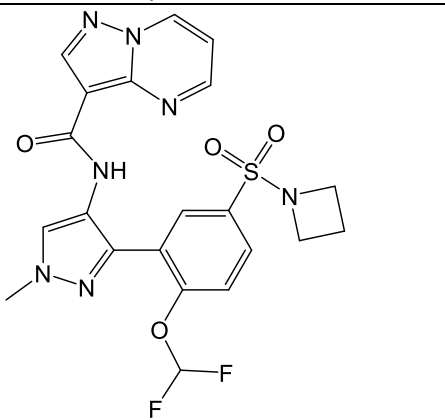
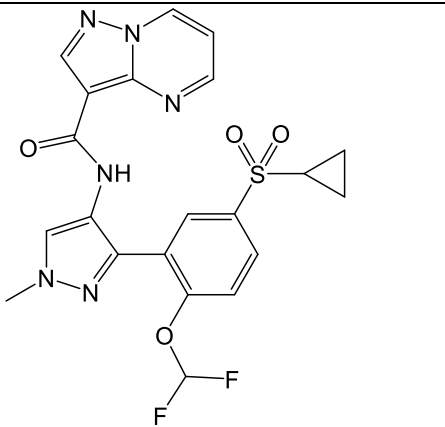
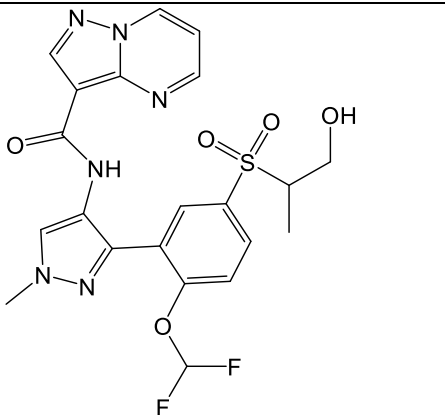
	Estructura	Nombre
1		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-isopropilsulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
2		N-[3-[5-ciclobutilsulfonil-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
3		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1-metilazetidín-3-il)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

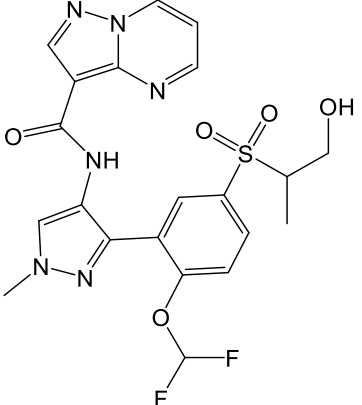
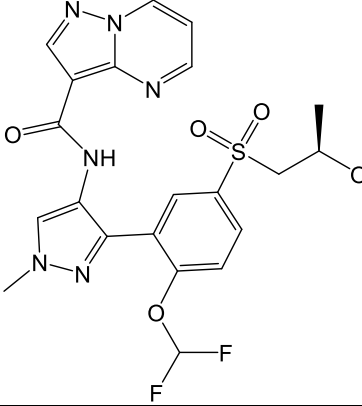
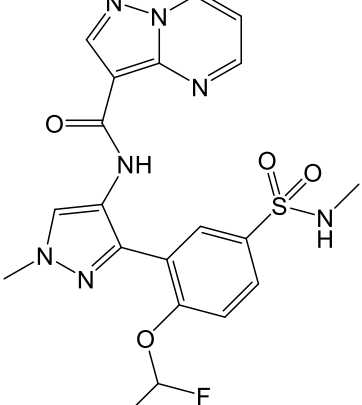
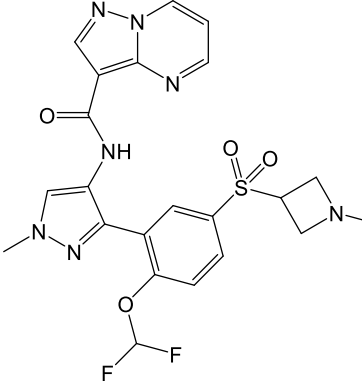
4		N-[3-[5-(azetidin-3-ilsulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
5		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxietilsulfonil)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
6		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-etilsulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
7		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[2-(dimetilamino)etilsulfonil]fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

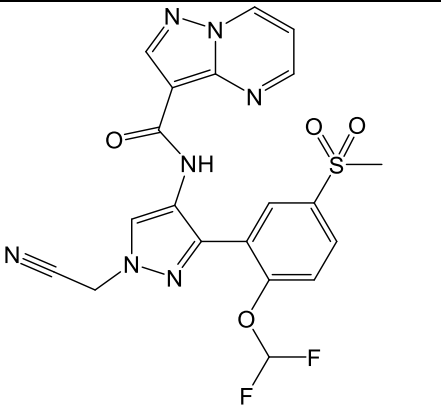
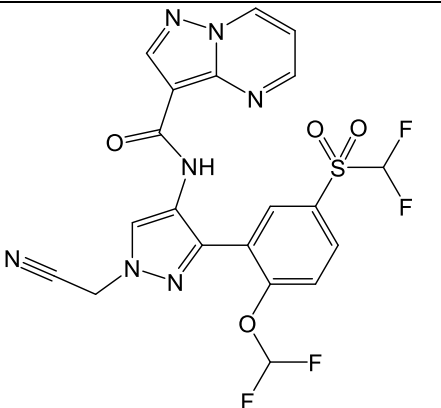
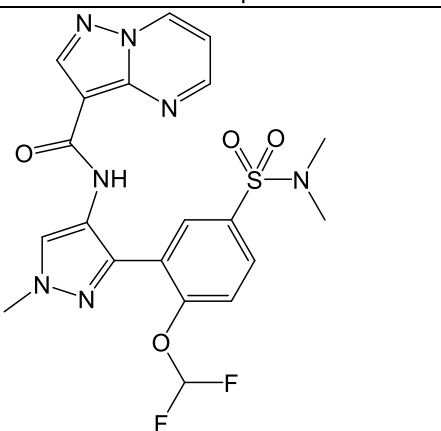
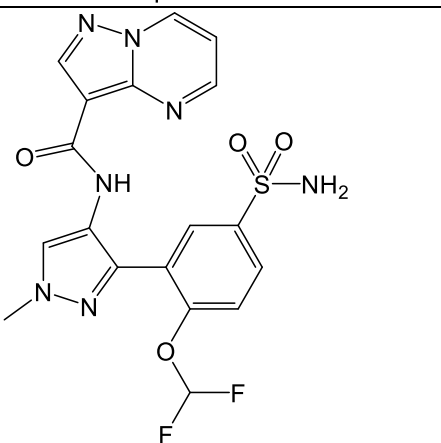
8		N-[3-[5-(2-aminoethylsulfonyl)-2-(difluoromethoxy)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
9		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(difluorometilsulfonyl)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
10		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-pirrolidin-3-ilsulfonyl-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
11		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(3-hidroxifenil)sulfonyl-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

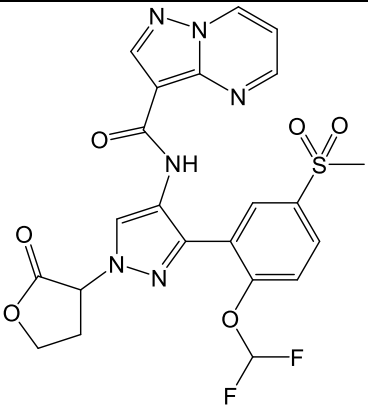
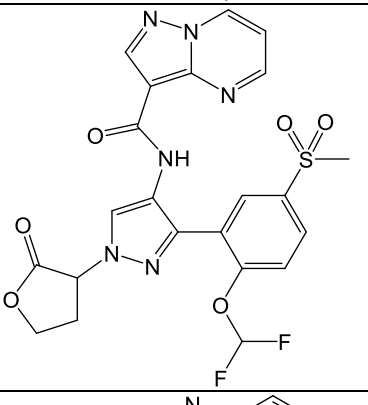
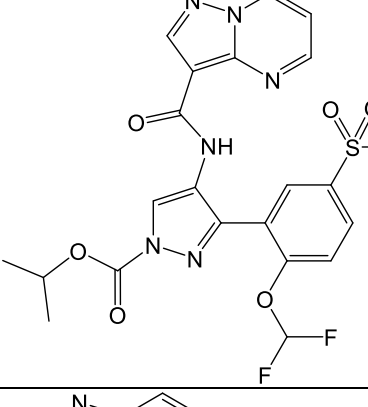
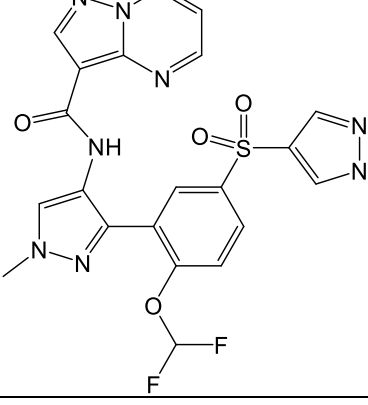
12		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(3-metoxifenil)sulfonyl-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
13		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(oxetan-3-ilsulfonyl)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
14		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-metoxietilsulfonyl)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
15		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[rac-(2S)-2-hidroxipropil]sulfonyl-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

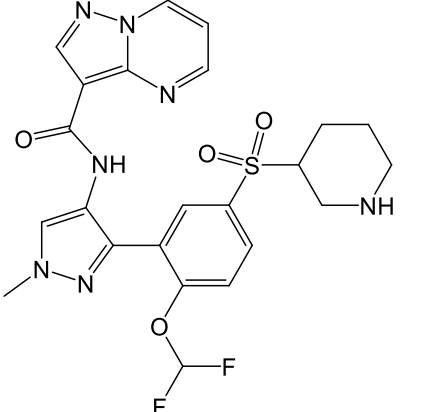
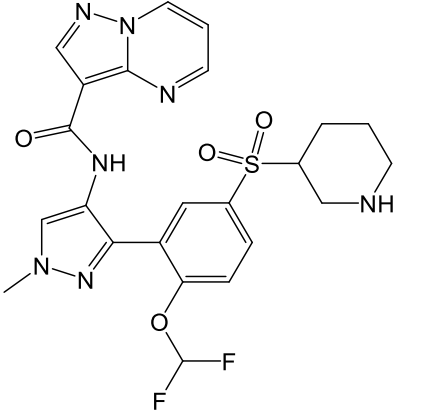
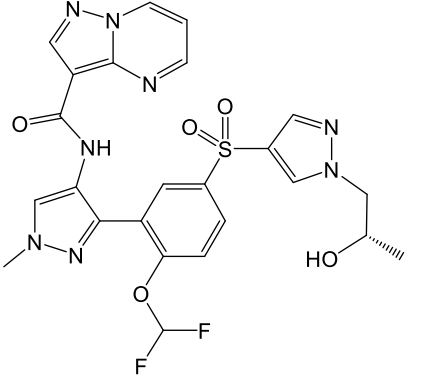
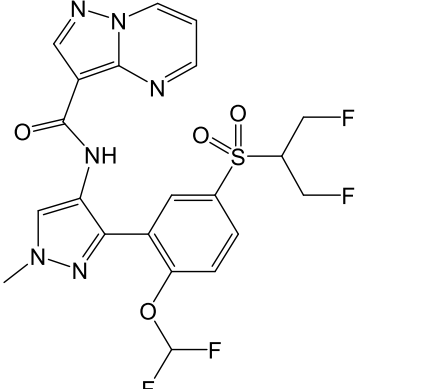
16		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(4-piridilsulfonil)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
17		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-metilsulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
18		N-[3-[5-[3-(2-aminoetil)fenil]sulfonil-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
19		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1-metilpirrolidin-3-il)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

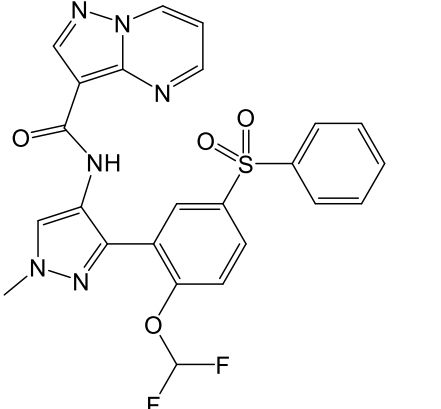
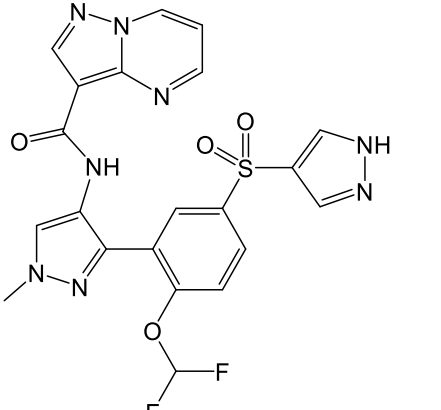
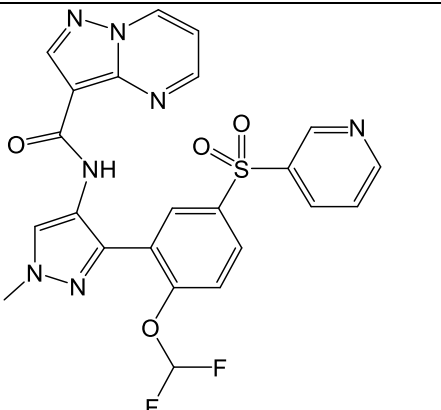
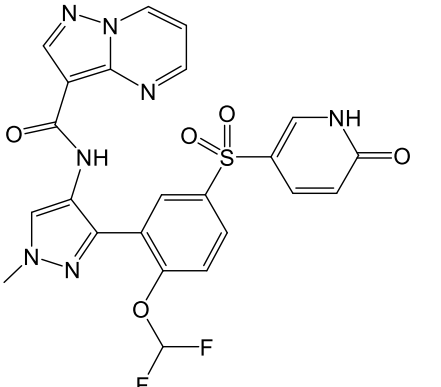
20		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1-metilpirrolidin-3-il)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
21		N-[3-[5-(azetidin-1-ilsulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
22		N-[3-[5-ciclopropilsulfonil-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
23		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxi-1-metil-etil)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

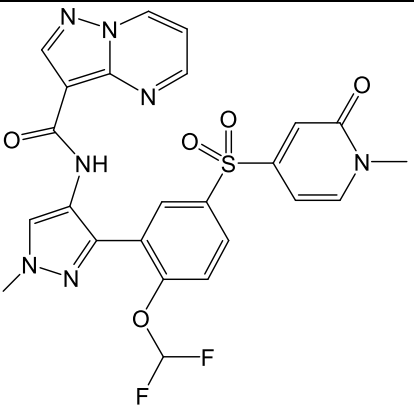
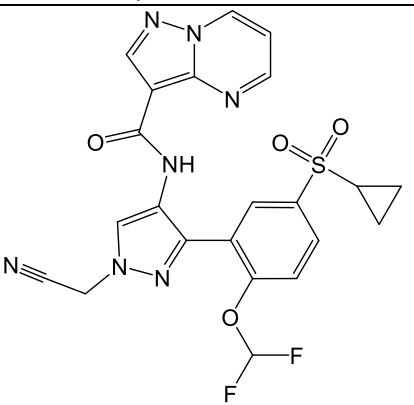
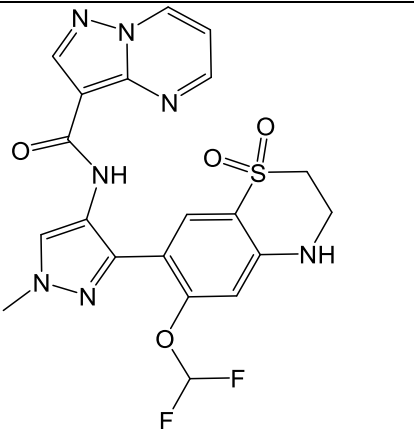
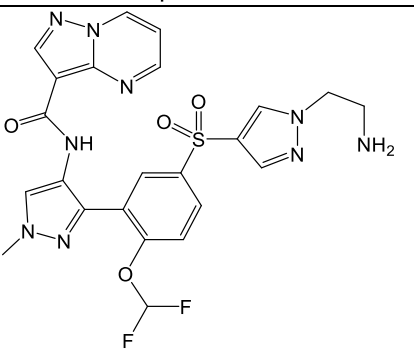
24		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxi-1-metil-etil)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
25		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[rac-(2R)-2-hidroxi-propil]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
26		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfamoil)-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
27		N-[3-[5-(1-acetilazetidín-3-il)sulfonil-2-(difluorometoxi)-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

28		N-[1-(cianometil)-3-[2-(difluorometoxi)-5-metilsulfonil-fenil]pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
29		N-[1-(cianometil)-3-[2-(difluorometoxi)-5-(difluorometilsulfonil)fenil]pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
30		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(dimetilsulfamoil)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
31		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-sulfamoil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

32		N-[3-[2-(difluoromethoxy)-5-metilsulfonyl-fenil]-1-(2-oxotetrahidrofuran-3-il)pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
33		N-[3-[2-(difluoromethoxy)-5-metilsulfonyl-fenil]-1-(2-oxotetrahidrofuran-3-il)pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
34		3-[2-(difluoromethoxy)-5-metilsulfonyl-fenil]-4-(pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carbonilamino)pirazol-1-carboxilato de isopropilo
35		N-[3-[2-(difluoromethoxy)-5-(1-metilpirazol-4-il)sulfonyl-fenil]-1-metilpirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

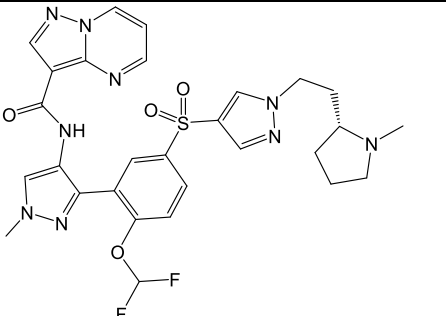
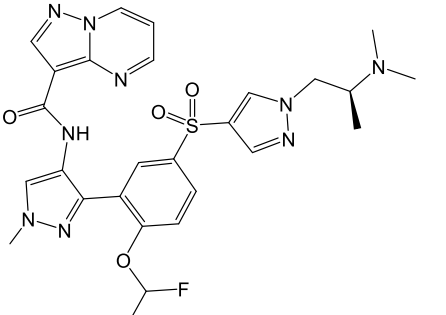
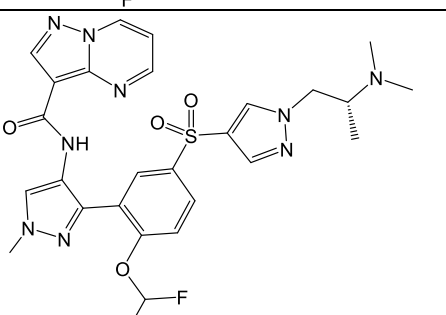
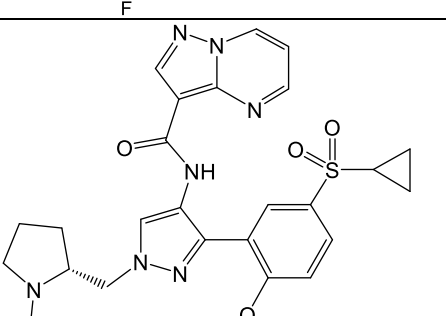
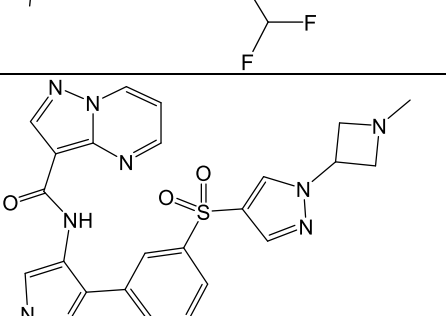
36		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(3-piperidilsulfonil)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
37		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(3-piperidilsulfonil)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
38		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[1-[(2S)-2-hidroxiampil]pirazol-4-il]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
39		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[2-fluoro-1-(fluorometil)etil]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

40		N-[3-[5-(benzenosulfonyl)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
41		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1H-pirazol-4-il)sulfonyl]fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
42		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(3-piridilsulfonyl)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
43		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(6-oxo-1H-piridin-3-il)sulfonyl]fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

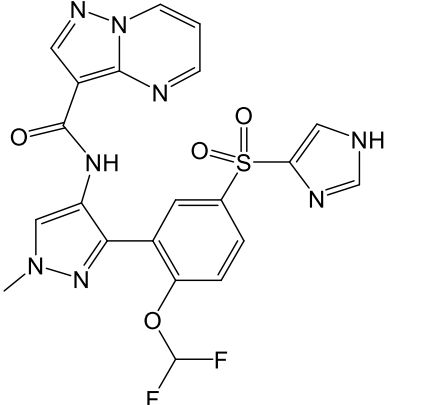
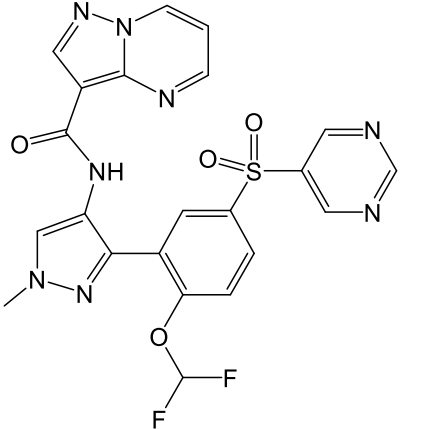
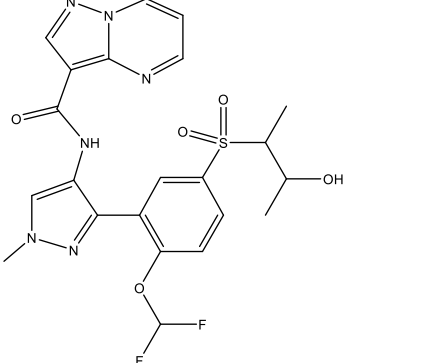
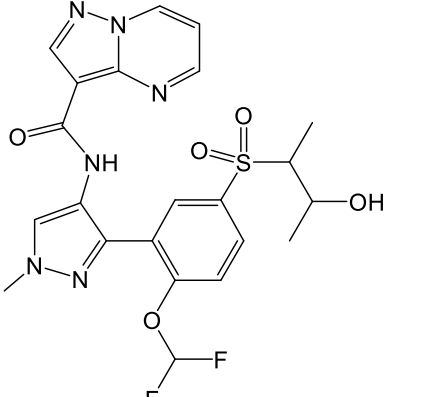
44		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(1-metil-2-oxo-4-piridil)sulfonyl]fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
45		N-[1-(cianometil)-3-[5-ciclopropilsulfonyl-2-(difluorometoxi)fenil]pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
46		N-[3-[6-(difluorometoxi)-1,1-dioxo-3,4-dihidro-2H-1lambda6,4-benzotiazin-7-il]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
47		N-[3-[5-[1-(2-aminoetil)pirazol-4-il]sulfonyl-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

48		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[1-[2-(metilamino)etil]pirazol-4-il]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
49		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[1-[2-(dimetilamino)etil]pirazol-4-il]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
50		N-[3-[5-ciclopropilsulfonil-2-(difluorometoxi)fenil]-1-[2-(dimetilamino)etil]pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
51		N-[1-(cianometil)-3-[2-(difluorometoxi)-5-(oxetan-3-ilsulfonil)fenil]pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

52		N-[3-[5-ciclopropilsulfonil-2-(difluorometoxi)fenil]-1-(1-metilazetidin-3-il)pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
53		N-[3-[5-[1-[2-(azetidin-1-il)etil]pirazol-4-il]sulfonil-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
54		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[1-[2-(4-metilpiperazin-1-il)etil]pirazol-4-il]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
55		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1-quinuclidin-3-ilpirazol-4-il)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
56		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[1-[2-[(2R)-1-metilpirrolidin-2-il]etil]pirazol-4-il]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

57		N-[3-[2-(difluoromethoxy)-5-[1-[2-[(2S)-1-metilpirrolidin-2-il]etil]pirazol-4-il]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
58		N-[3-[2-(difluoromethoxy)-5-[1-[(2S)-2-(dimetilamino)propil]pirazol-4-il]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
59		N-[3-[2-(difluoromethoxy)-5-[1-[(2R)-2-(dimetilamino)propil]pirazol-4-il]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
60		N-[3-[5-ciclopropilsulfonil-2-(difluorometoxi)fenil]-1-[[rac-(2R)-1-metilpirrolidin-2-il]metil]pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
61		N-[3-[2-(difluoromethoxy)-5-[1-(1-metilazetidin-3-il)pirazol-4-il]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

62		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(2-metil-1H-isoquinolin-7-il)sulfonil]fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
63		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(3-hidroxi-propilsulfonyl)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
64		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(2-metil-1H-isoquinolin-6-il)sulfonil]fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
65		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1-metilimidazol-4-il)sulfonyl-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

66		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1H-imidazol-4-ilsulfonil)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
67		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-pirimidin-5-ilsulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
68		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxi-1-metil-propil)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
69		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxi-1-metil-propil)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

70		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxi-1-metil-propil)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
71		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxi-1-metil-propil)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
72		N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-metilsulfonil-fenil]-1-[[2S)-1-metilpirrolidin-2-il]metil]pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida
73		N-(3-(2-(difluorometoxi)-5-(N-(2-hidroxi-etil)-N-metilsulfamoil)fenil)-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

Procedimiento A

Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3 mm XR-ODS Shim-Pack, tamaño de partícula de 2,2 µm), elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B:

- 5 acetronitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,2	95	5
2,00	1,2	5	95
2,70	1,2	5	95
2,75	1,2	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento B

Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3 mm XR-ODS Shim-Pack, tamaño de partícula de 2,2 µm), elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B:

- 10 acetronitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,2	80	20
3,60	1,2	40	60
4,00	1,2	0	100
4,70	1,2	0	100
4,75	1,2	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento C

Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3 mm XR-ODS Shim-Pack, tamaño de partícula de 2,2 µm), elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetronitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

- 15

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,2	95	5
3,00	1,2	5	95

3,70	1,2	5	95
3,75	1,2	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento D

- Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3 mm XR-ODS Shim-Pack, tamaño de partícula de 2,2 µm),
5 elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,2	95	5
3,50	1,2	30	70
3,70	1,2	0	100
4,50	1,2	0	100
4,75	1,2	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento E

- Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3 mm XR-ODS Shim-Pack, tamaño de partícula de 2,2 µm),
10 elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,2	95	5
3,50	1,2	40	60
3,70	1,2	0	100
4,70	1,2	0	100
4,75	1,2	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento F

- Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3 mm XR-ODS Shim-Pack, tamaño de partícula de 2,2 µm),
15 elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,2	70	30
3,50	1,2	30	70
3,70	1,2	0	100
4,50	1,2	0	100
4,75	1,2	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento G

- Los experimentos se realizaron en un SHIMADZU 20A HPLC con una columna C18 de fase inversa (50 x 2,1 mm Ascentis Express C18, tamaño de partícula de 2,7 µm),
5 elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,0	95	5
1,10	1,0	0	100
1,60	1,0	0	100
1,70	1,0	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento H

- Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3 mm XR-ODS Shim-Pack, tamaño de partícula de 2,2 µm),
10 elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,2	95	5
1,10	1,2	0	100
1,70	1,2	0	100
1,75	1,2	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento I

Los experimentos se realizaron en un SHIMADZU 20A HPLC con Poroshell HPH-C₁₈, columna (50 x 3 mm, tamaño de partícula de 2,7 µm), elución con disolvente A: agua/NH₄HCO₃ 5 mM; disolvente B: acetonitrilo. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,2	90	10
1,10	1,2	5	95
1,60	1,2	5	95
1,70	1,2	90	10

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

5 Procedimiento J

Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3 mm Kinetex XB-C₁₈, tamaño de partícula de 2,6 µm), elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,5	95	5
1,20	1,5	0	100
1,70	1,5	0	100
1,80	1,5	95	5

10 Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento K

Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3 mm XR-ODS Shim-Pack, tamaño de partícula de 2,2 µm), elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

15

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,0	95	5
2,20	1,0	0	100
3,20	1,0	0	100
3,30	1,0	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento L

Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 2,1 mm Kinetex XB-C₁₈ 100A, tamaño de partícula de 2,6 µm), elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,0	95	5
1,10	1,0	0	100
1,60	1,0	0	100
1,70	1,0	95	5

5 Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento M

Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (30 x 2,1 mm Kinetex C18-100A, tamaño de partícula de 1,7 µm), elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B:

10 acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,01	1,0	95	5
0,60	1,0	0	100
1,00	1,0	0	100
1,05	1,0	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento N

Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3,0 mm Poroshell HPH-C18, tamaño de partícula de 2,7 µm),

15 elución con disolvente A: agua + bicarbonato de amonio 5 mM; disolvente B: acetonitrilo. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,01	1,0	90	10
2,00	1,0	5	95
2,70	1,0	5	95
2,80	1,0	90	10

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento O

Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3,0 mm Titank C18, tamaño de partícula de 3,0 µm), elución con disolvente A: agua + bicarbonato de amonio 5 mM; disolvente B: acetonitrilo.

5 Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,01	1,0	90	10
2,00	1,0	5	95
2,70	1,0	5	95
2,80	1,0	90	10

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento P

Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (30 x 2,1 mm Halo C18, tamaño de partícula de 2,0 µm), elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

10

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,0	95	5
1,30	1,0	0	100
1,80	1,0	0	100
1,90	1,0	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento Q

Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3,0 mm YMC-Triart C18, tamaño de partícula de 2,5 µm), elución con disolvente A: agua + ácido fórmico al 0,1 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido fórmico al 0,1 %. Gradiente:

15

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,01	1,0	95	5
3,00	1,0	5	95
3,70	1,0	5	95

3,75	1,0	95	5
------	-----	----	---

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento R

- Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3 mm XR-ODS Shim-Pack, tamaño de partícula de 2,2 µm),
 5 elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	1,2	70	30
3,10	1,2	0	100
3,70	1,2	0	100
3,75	1,2	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento S

- Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3,0 mm Poroshell HPH-C18, tamaño de partícula de 2,7 µm),
 10 elución con disolvente A: agua + bicarbonato de amonio 5 mM; disolvente B: acetonitrilo. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,01	1,0	90	10
3,50	1,0	40	60
4,00	1,0	5	95
4,70	1,0	5	95
4,80	1,0	90	10

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento T

- Los experimentos se realizaron en un SHIMADZU 20A HPLC con una columna C18 de fase inversa (50 x 2,1 mm Ascentis Express C18, tamaño de partícula de 2,7 µm),
 15 elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			

0,00	1,0	95	5
2,00	1,0	0	100
2,70	1,0	0	100
2,80	1,0	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento U

- Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3 mm XR-ODS Shim-Pack, tamaño de partícula de 2,2 µm),
5 elución con disolvente A: agua + ácido trifluoroacético al 0,05 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido trifluoroacético al 0,05 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,01	1,2	95	5
3,50	1,2	50	50
3,70	1,2	0	100
4,70	1,2	0	100
4,75	1,2	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento V

- Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 3,0 mm Poroshell HPH-C18, tamaño de partícula de 2,7 µm),
10 elución con disolvente A: agua + bicarbonato de amonio 5 mM; disolvente B: acetonitrilo. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,01	1,0	90	10
3,50	1,0	60	40
4,00	1,0	5	95
4,70	1,0	5	95
4,80	1,0	90	10

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento W

- Los experimentos se realizaron en un LCMS-2020 SHIMADZU con una columna C18 de fase inversa (50 x 2,1 mm Waters Acquity BEH, tamaño de partícula de 1,7 µm),
15

elución con disolvente A: agua + ácido fórmico al 0,1 %; disolvente B: acetonitrilo + ácido fórmico al 0,1 %. Gradiente:

Gradiente	– flujo ml/min	% A	% B
Tiempo			
0,00	0,8	95	5
1,60	0,8	0	100
1,80	0,8	0	100
2,00	0,8	95	5

Detección - UV (220 y 254 nm) y ELSD

Procedimiento X

- 5 Los experimentos se realizaron en un UHPLC 1290 de Agilent acoplado con espectrómetro de masa Agilent MSD (6140) usando ESI como fuente de ionización. La separación por LC se realizó usando una columna Phenomenex XB-C18, 1,7 μ m, 50 $\times$ 2,1 mm a un caudal de 0,4 ml/minuto. La fase móvil A fue agua con ácido fórmico al 0,1 % y la fase móvil B fue acetonitrilo con ácido fórmico al 0,1 %. El gradiente se
- 10 inició en 2 % de B y terminó en 98 % de B durante 7 min y se mantuvo en 98 % de B durante 1,5 min después del equilibrio durante 1,5 min. La temperatura de la columna de LC fue 40 °C. La absorbancia UV se registró a 220 nm y 254 nm y se aplicó un barrido completo del espec. de masa a todos los experimentos.

Lista de abreviaturas comunes

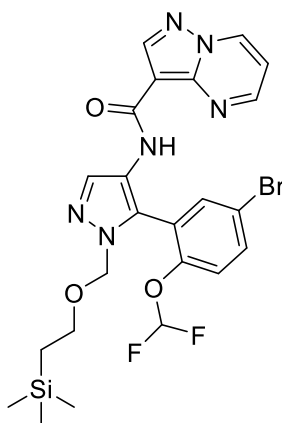
- 15 ACN Acetonitrilo
- Salmuera Solución de cloruro de sodio acuosa saturada
- CH₃OD Metanol deuterado
- CDCl₃ Cloroformo deuterado
- 20 DCM Diclorometano
- DIEA o DIPEA Diisopropiletilamina
- DMA Dimetilacetamida
- DMAP 4-Dimetilaminopiridina
- DMF Dimetilformamida
- 25 DMSO Dimetilsulfóxido
- DMSO-*d*6 Dimetilsulfóxido deuterado
- DTAD azodicarbonato de di-*terc*-butilo
- EDC o EDCI 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
- ESI Ionización por electrospray

	EtOAc	Acetato de etilo
	EtOH	Etanol
	FA	Ácido fórmico
	HOAc	Ácido acético
5	G	Gramo
	H	hora
	HATU	(hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio)
	HCl	Ácido clorhídrico
10	HOBt	Hidroxibenzotriazol
	HPLC	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento
	IMS	Alcoholes metilados industriales
	L	Litro
15	LCMS	Cromatografía de líquidos-espectrometría de masa
	LiHMDS o LHMDS	Hexametidisilazida de litio
	MDAP	Purificación automatizada dirigida a la masa
	MeCN	Acetonitrilo
	MeOH	Metanol
20	μm	Micrómetro
	min	minuto
	mg	Milígramo
	ml	Mililitro
	mm	Milímetro
25	M	Molar
	Nm	Nanómetro
	RMN	Espectroscopía de resonancia magnética nuclear
	Pd ₂ (dba) ₃ CHCl ₃	Aducto de tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0)-cloroformo
30	PE	Éter de petróleo
	Prep-HPLC	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento preparativa
	PyAOP	Hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio
35	SCX-2	Intercambio catiónico fuerte

TBAF Fluoruro de tetra-n-butilamonio
 THF Tetrahidrofurano
 TFA Ácido trifluoroacético
 Xantphos 4,5-Bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxantina
 ZnCl₂ Cloruro de zinc

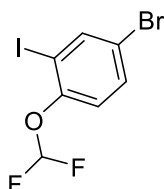
5

Intermediario 1



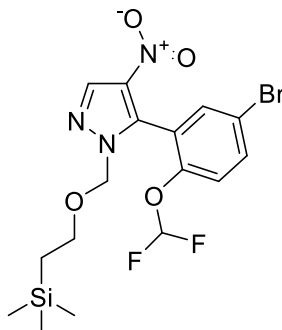
***N*-(5-(5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil)-1-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida**

10 Etapa 1: Síntesis de 4-bromo-1-(difluorometoxi)-2-yodobenceno



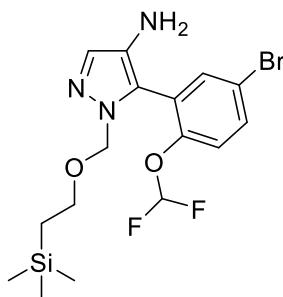
A una solución de 4-bromo-2-yodofenol (282 g, 943 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (2000 ml) y agua (500 ml) se añadió 2-cloro-2,2-difluoroacetato de sodio (216 g, 1,42 mol) y Cs₂CO₃ (617 g, 1,89 mol). El recipiente de reacción estaba equipado con una salida de gas para la liberación de CO₂. La mezcla resultante se agitó durante la noche a 120 °C, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se vertió en agua helada (3000 ml). La solución resultante se extrajo con acetato de etilo (3×1500 ml), y las capas orgánicas se combinaron. Los extractos de acetato de etilo se lavaron con salmuera (1000 ml), se secaron en sulfato de sodio anhidro y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice que se eluyó con acetato de etilo/éter de petróleo (1/10) para obtener 300 g (91 %) de 4-bromo-1-(difluorometoxi)-2-yodobenceno como un aceite de color amarillo. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,96 (dd, *J* = 5,7 Hz, 2,4 Hz, 1H), 7,45 (dd, *J* = 8,7 Hz, 2,4 Hz, 1H), 7,03 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,39 (t, *J* = 72,9 Hz, 1H).

Etapa 2: Síntesis de 5-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-4-nitro-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1H-pirazol



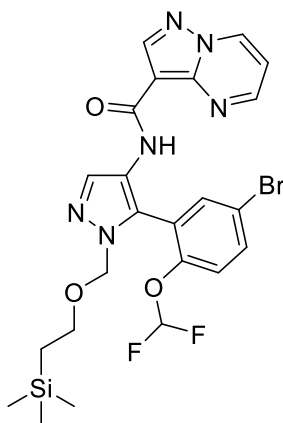
A una solución de 4-nitro-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1H-pirazol (100 g, 411 mmol) en THF anhidro (1000 ml) se añadió por goteo a una solución de LiHMDS (490 ml, 1,0 mol/L en THF) con agitación a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ en nitrógeno. La solución resultante se agitó durante 1 hora a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ y después se enfrió a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se añadió ZnCl_2 (500 ml, 0,7 mol/L en THF) por goteo a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. La solución resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A la mezcla se añadió 4-bromo-1-(difluorometoxi)-2-yodobenceno (150 g, 860 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (24,0 g, 20,8 mmol). La solución resultante se calentó a temperatura de reflujo durante la noche, se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se concentró bajo presión reducida. Esta reacción a esta escala se repitió una vez más, y los productos en bruto de las dos ejecuciones se combinaron para la purificación. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice mediante la elución con acetato de etilo/éter de petróleo (1/20). Las fracciones adecuadas se combinaron y concentraron bajo presión reducida. Esto dio como resultado 300 g (79 %) de 5-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-4-nitro-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1H-pirazol como un sólido de color amarillo claro en términos generales. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,27 (s, 1H), 7,68 (dd, $J = 8,7, 2,4$ Hz, 1H), 7,62 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,19 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,39 (t, $J = 72,5$ Hz, 1H), 5,44 – 5,19 (m, 2H), 3,72 – 3,54 (m, 2H), 0,94 – 0,89 (m, 2H), 0,02 (s, 9H).

Etapa 3: Síntesis de 5-(5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil)-1-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1H-pirazol-4-amina



A una solución de 5-(5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil)-4-nitro-1-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1*H*-pirazol (50,1 g, 108 mmol) en etanol (2000 ml) y agua (200 ml) se añadió hierro en polvo (60,1 g, 1,07 mol) y NH₄Cl (28,0 g, 0,523 mol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura de reflujo durante 3 horas en nitrógeno. Los sólidos se filtraron, y se lavaron con etanol (100 ml). El filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se disolvió en 3000 ml de acetato de etilo. La solución de acetato de etilo se lavó con 1x500 ml de salmuera, se secó en sulfato de sodio anhidro y se concentró bajo presión reducida para producir 50,1 g de 5-(5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil)-1-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1*H*-pirazol-4-amina en bruto como un aceite de color amarillo. El producto en bruto se usó para la siguiente etapa sin otra purificación. LC/MS (Procedimiento G, ESI): [M+H]⁺ = 434,2, R_T = 0,93 min.

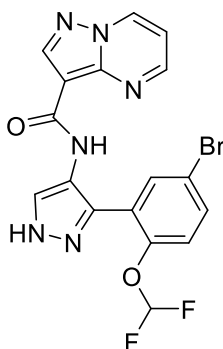
Etapa 4: Síntesis de *N*-(5-(5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil)-1-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



A una solución de 5-(5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil)-1-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1*H*-pirazol-4-amina (50,1 g, 115 mmol) en DMA (1500 ml) se añadió ácido pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxílico (32,1 g, 196,0 mmol), PyAOP (102 g, 196 mmol), DMAP (1,41 g, 11,0 mmol) y DIPEA (44,1 g, 0,341 mol). La solución resultante se agitó durante 3 h a 60 °C en un baño de aceite, y después se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Después la mezcla de reacción se dividió entre agua/hielo (2000 ml) y acetato de etilo (2000 ml). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2x). Las capas orgánicas se

combinaron, se lavaron con salmuera (1000 ml), se secaron en sulfato de sodio anhidro y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice mediante la elución con acetato de etilo/éter de petróleo (4:1). Las fracciones adecuadas se combinaron y concentraron bajo presión reducida. Se añadió agua (150 ml) al residuo y la mezcla se agitó en agua durante 1 hora a temperatura ambiente. El sólido se recogió mediante filtración y se secó al aire para dar 60,1 g (91 %) de *N*-(5-(5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil)-1-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color amarillo claro. LC/MS (Procedimiento G, ESI): $[M+H]^+ = 579,1$ y $581,1$, $R_T = 1,10$ min. ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,62 (s, 1H), 8,80 (dd, $J = 6,9, 1,7$ Hz, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,53 (dd, $J = 4,2, 1,7$ Hz, 1H), 8,38 (s, 1H), 7,79 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,67 (dd, $J = 8,8, 2,5$ Hz, 1H), 7,29 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 7,00 (dd, $J = 6,9, 4,2$ Hz, 1H), 6,43 (t, $J = 72,6$ Hz, 1H), 5,53 – 5,27 (m, 2H), 3,73 – 3,50 (m, 2H), 0,88 (ddd, $J = 9,5, 6,4, 4,4$ Hz, 2H), 0,00 (s, 9H).

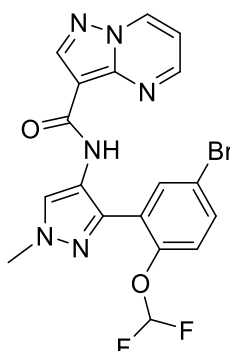
Intermediario 2



N-[3-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

N-[5-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (Intermediario 1, 5,00 g, 8,63 mmol) se trató con HCl/dioxano (150 ml, 4 M) durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró bajo presión reducida. Esto dio como resultado 3,80 g de *N*-[3-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color amarillo. La pureza del intermediario fue suficiente para su uso en la próxima etapa sin otra purificación. LC/MS (Procedimiento I, ESI): $[M+H]^+ = 449,0$, $R_T = 1,02$ min. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 9,11 (dd, $J = 6,8, 1,6$ Hz, 1H), 8,67 – 8,64 (m, 2H), 8,32 (s, 1H), 7,80 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,72 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H), 7,37 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,23 (dd, $J = 7,0, 4,2$ Hz, 1H), 6,81 (t, $J = 73,2$ Hz, 1H).

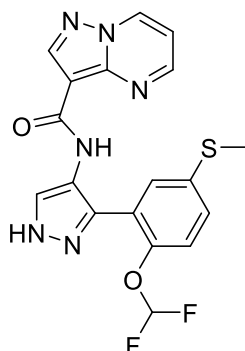
Intermediario 3



***N*-[3-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4- il]pirazolo [1,5- a]pirimidin-3-carboxamida**

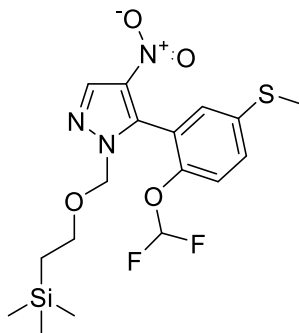
- 5 A una solución de *N*-[5-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-
pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (Intermediario 1, 10,1 g, 17,3 mmol)
en diclorometano (200 ml) se añadió Me₃OBf₄ (2,81 g, 18,9 mmol) a temperatura
ambiente. La solución resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente.
Después se añadió EtOH 10 ml a la mezcla de reacción, y la mezcla de reacción se
10 agitó durante 1 hora, A esta solución se añadieron 5,0 ml de HCl (conc.), y se agitó
durante 1 hora. La mezcla resultante se concentró a vacío. El valor de pH de la
solución se ajustó a 8 con bicarbonato de sodio (20 %). La solución resultante se
extrajo con 3x300 ml de acetato de etilo y las capas orgánicas se combinaron y
secaron en sulfato de sodio anhidro y se concentraron a vacío. El residuo se aplicó en
15 una columna de gel de sílice que se eluyó con acetato de etilo/éter de petróleo (80 %)
para producir 5,5 g (69 %) de *N*-[3-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil 1*H*-pirazol-
4- il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color amarillo claro. ¹H
NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9,86 (s, 1H), 8,80 (dd, *J* = 7,0, 1,6 Hz, 1H), 8,74 (s,
1H), 8,60 (dd, *J* = 4,2, 1,6 Hz, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,85 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,58 (dd, *J* =
20 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,24 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,02 (dd, *J* = 7,0, 4,2 Hz, 1H), 6,49 (t, *J* =
74,0 Hz, 1H), 4,01 (s, 3H).

Intermediario 4



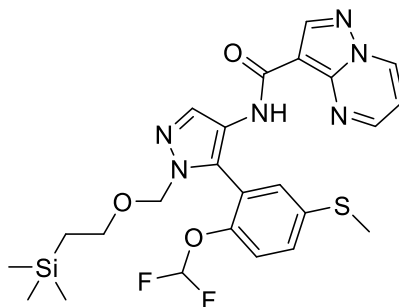
***N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-(metiltio)fenil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida**

Etapa 1: Síntesis de 5-[2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfanil)fenil]-4-nitro-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol.



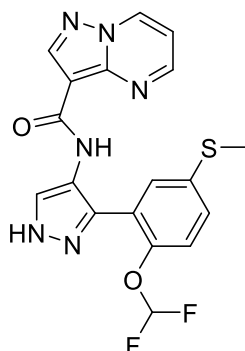
En un matraz de fondo redondo de 1000 ml purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se introdujo tolueno (500 ml), 5-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-4-nitro-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi] metil]-1*H*-pirazol (60 g, 129 mmol), NaSMe (26 g, 371 mmol), Pd₂(dba)₃.CHCl₃ (6,7 g, 6,47 mmol), XantPhos (7,5 g, 12,96 mmol). La mezcla resultante se agitó durante la noche a 85 °C. La mezcla resultante se concentró a vacío. Esta reacción se repitió tres veces. El residuo se aplicó en una columna de gel de sílice que se eluyó con acetato de etilo/éter de petróleo (1:20). Las fracciones adecuadas se combinaron y concentraron a vacío. Esto dio como resultado 171 g de 5-[2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfanil)fenil]-4-nitro-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol como un sólido de color amarillo en términos generales. LC/MS (Procedimiento F, ESI): [M+H]⁺ = 432,1, RT = 1,23 min; ¹H NMR (300 MHz, CDC13) δ: (ppm) 8,25 (s, 1H), 7,42 (dd, *J* = 8,7, 2,4 Hz, 1H), 7,34 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 7,23 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,39 (t, *J* = 72,9 Hz, 1H), 5,36 – 5,22 (m, 2H), 3,74 – 3,55 (m, 2H), 2,51 (s, 3H), 0,94 – 0,90 (m, 2H), 0,02 (s, 9H).

Etapa 2: Síntesis de *N*-[5-[2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfanil)fenil]-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi] metil] -1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



A una mezcla de 5-[2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfanil)fenil]-4-nitro-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol (171 g, 408 mmol), etanol (2000 ml), agua (200 ml) se añadió hierro en polvo (228 g, 4,08 mol), NH₄Cl (120 g, 2,24 mol). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 3 horas en nitrógeno, y se enfrió a temperatura ambiente. Los sólidos se filtraron. El filtrado se concentró a vacío. El residuo se disolvió en 3000 ml de acetato de etilo y se lavó con 1 x 500 ml de salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a vacío. Esto dio como resultado 148 g de 5-[2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfanil)fenil]-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol-5-amina como aceite de color amarillo. LC/MS (Procedimiento F, ESI): [M+H]⁺ = 402,1, R_T = 0,93 min. En un matraz de fondo redondo con 3 cuellos de 3000 ml, se introdujo DMA (1500 ml), 5-[2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfanil)fenil]-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol-4-amina (148 g), ácido pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxílico (102 g), HATU (325 g), 4-dimetilaminopiridina (4,5 g), DIPEA (142 g). La solución resultante se agitó durante 3 horas a 60 °C, se vertió en agua helada (2000 ml), se extrajo con 3x2000 ml de acetato de etilo y las capas orgánicas se combinaron. La mezcla resultante se lavó con 1x1000 ml de salmuera. La mezcla se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a vacío. El residuo se aplicó en una columna de gel de sílice que eluyó con acetato de etilo/éter de petróleo (4:1) para producir 200 g de *N*-[5-[2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfanil)fenil]-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color amarillo claro. LC/MS (Procedimiento A, ESI) : [M+H]⁺ = 547,2, RT = 1,10 min; ¹H NMR (300 MHz, CDC13) δ: (ppm) 9,63 (s, 1H), 8,77 (dd, *J* = 7,0, 1,7 Hz, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,51 (dd, *J* = 4,2, 1,8 Hz, 1H), 8,38 (s, 1H), 7,50 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,39 (dd, *J* = 8,7, 2,4 Hz, 1H), 7,30 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,98 (dd, *J* = 6,9, 4,2 Hz, 1H), 6,39 (t, *J* = 73,2 Hz, 1H), 5,46 – 5,38 (m, 2H), 3,70 – 3,59 (m, 2H), 2,52 (s, 3H), 0,92-0,85 (m, 2H), 0,03 (s, 9H).

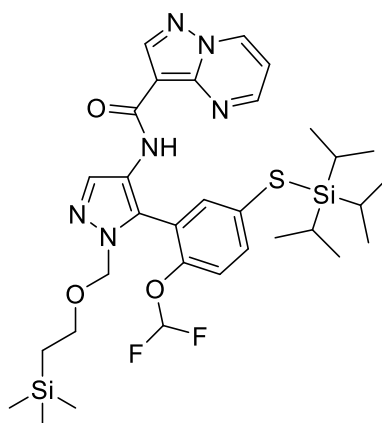
Etapas 3: Síntesis de *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-(metiltio)fenil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



A una solución de *N*-[5-[2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfanil)fenil]-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (60 g) en metanol (600 ml) se añadió una solución de HCl concentrado (300 ml). La solución
 5 resultante se agitó durante la noche a 35 °C. La mezcla resultante se concentró a vacío. Los sólidos se recolectaron mediante filtración. El sólido se suspendió en 200 ml de agua. El valor de pH de la solución se ajustó a 8 con bicarbonato de sodio saturado. El producto se recogió mediante filtración, se secó para producir 30 g (66 %) de
 10 *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-(metiltio)fenil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color amarillo claro. LC/MS (Procedimiento G, ESI): [M+H]⁺ = 417,0, R_T = 0,80 min; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: (ppm) 13,02 (s, 1H), 9,71 (s, 1H), 9,33 (dd, *J* = 6,9, 1,5 Hz, 1H), 8,68 (dd, *J* = 4,1, 1,4 Hz, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,47 – 7,36 (m, 3H), 7,27 (dd, *J* = 6,9, 4,2 Hz, 1H), 7,17 (t, *J* = 73,8 Hz, 1H), 2,51 (s, 3H).

15

Intermediario 5



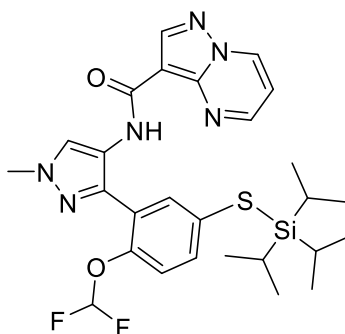
N-(5-(2-(difluorometoxi)-5-((triisopropilsilil)tio)fenil)-1-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

A una solución de *N*-(5-(5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil)-1-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 1**, 4,00 g, 6,90
 20

mmol) en tolueno (20 ml) se añadió hidruro de sodio (415 mg, 10,4 mmol, 60 % en aceite mineral), Pd₂(dba)₃.CHCl₃ (735 mg, 0,710 mmol) y XantPhos (800 mg, 1,38 mmol) y tris(propan-2-il)silanotiol (1,97 g, 10,4 mmol) en nitrógeno. La solución resultante se agitó durante 20 min a 90 °C. La mezcla resultante se concentró a vacío.

- 5 El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice mediante la elución con acetato de etilo/éter de petróleo (80/20). Las fracciones adecuadas se combinaron y concentraron a vacío. Esto dio como resultado 3,30 g (69 %) de *N*-(5-(2-(difluorometoxi)-5-((trisisopropilsilil)tio)fenil)-1-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido blancuzco. LC/MS
- 10 (Procedimiento B, ESI): [M+H]⁺ = 689,4, R_T = 1,51 min.

Intermediario 6



N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[[tris(propan-2-il)silil] sulfanil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

- 15 A una suspensión de hidruro de sodio (260 mg, 10,8 mmol) en tolueno (40 ml) se añadió por goteo tris(propan-2-il)silanotiol (1,23 g, 6,47 mmol) a temperatura ambiente y en nitrógeno. La mezcla se agitó durante 1 hora a esta temperatura hasta que la mezcla se volvió transparente, después *N*-[3-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo [1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 3**, 2,50 g, 5,40
- 20 mmol), Pd₂(dba)₃.CHCl₃ (184 mg, 0,178 mmol) y XantPhos (250 mg, 0,432 mmol) se añadieron a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. La solución resultante se agitó durante 30 min a 90 °C bajo N₂. La reacción se inactivó después mediante la adición de 50 ml de NH₄Cl acuoso. La solución resultante se diluyó con 100 ml de EA. La capa orgánica se separó y se lavó con 3x50 ml de agua y 2x50 ml de salmuera. La
- 25 mezcla se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a vacío. El residuo se aplicó en una columna de gel de sílice que eluyó con acetato de etilo/éter de petróleo (1/1) para producir 2,35 g (76 %) de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[[tris(propan-2-il)silil] sulfanil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido blancuzco. TLC: PE/EA = 1/1, R_f = 0,4.

Cn1nc(C2=CC=C(C=C2)C(=C3C=CC(=C3)S(=O)(=O)O)OC(F)F)C(=O)c4cnc5cccnc45

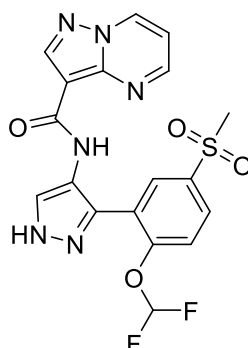
5 En un matraz de fondo redondo de 100 ml, se introdujo *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-
[[tris(propan-2-il)silil]sulfanil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-
carboxamida (**Intermediario 6**, 360 mg, 0,63 mmol, 1,00 equiv.), diclorometano (30
ml), *m*-CPBA (217 mg, 1,26 mmol, 2,0 equiv.). La solución resultante se agitó durante
5 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a vacío. El residuo se
10 aplicó en una columna sobre gel de sílice con diclorometano/metanol (6:4). Esto dio
como resultado 210 mg (72 %) de ácido 4-(difluorometoxi)-3-(1-metil-4-[pirazolo[1,5-
a]pirimidin-3-amido]-1*H*-pirazol-3-il)benceno-1-sulfónico como un sólido de color
amarillo. LC/MS (Procedimiento I, ESI): [M+H]⁺ = 465,1, R_T = 0,684 min.

Cn1nc(C2=CC(=C(C=C2)S)OC(F)F)c(NC(=O)c3cc4nnc5cccnc34)n1

A una solución de *N*-[3-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 3**, 3000 mg, 6,48 mmol), tris(propan-2-il)silanotiol (1,48 g, 1,67 ml, 7,77 mmol), XantPhos Pd G2 (575 mg, 0,648 mmol) y XantPhos (375 mg, 0,648 mmol) en tolueno (100 ml) y enfriada a 0 °C se añadió NaH (518 mg, 13,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a 0

°C, a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se agitó a 90 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano, se filtró a través de Celite, que eluyó con diclorometano y el filtrado se concentró a vacío. El residuo se adsorbió en sílice y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida con 10-80 % de 3:1 MeOH : iPrOAc en heptano para producir *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-mercaptofenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como sólido de color marrón (2,32 g, 86 %). El producto se contaminó con algún dímero y se usó sin otra purificación. LC/MS (Procedimiento W, ESI): [M+H]⁺ = 417,1, R_T = 1,09 min.

Intermediario 9



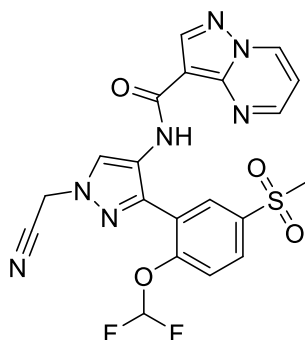
N-(3-(2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfonyl)fenil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

A una solución de *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-(metiltio)fenil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 4**, 500 mg, 1,20 mmol) en diclorometano (5,0 ml) se añadió *m*-CPBA (623 mg, 3,61 mmol). La solución resultante se agitó durante 5 min a temperatura ambiente y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice mediante la elución con diclorometano/metanol (25/1). Las fracciones adecuadas se recogieron y concentraron a vacío para producir 523 mg (97 %) de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-metanosulfonilfenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color amarillo. LC/MS (Procedimiento G, ESI): [M+H]⁺ = 449,2, R_T = 0,99 min; ¹H NMR (300MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 13,18 (s, 1H), 9,68 (s, 1H), 9,33 (dd, *J* = 6,9, 1,5 Hz, 1H), 8,70 (dd, *J* = 4,2, 1,5 Hz, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,12 - 8,09 (m, 2H), 7,68 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,47 (t, *J* = 72,6 Hz, 1H), 7,30 (dd, *J* = 6,9, 4,2 Hz, 1H), 3,28 (s, 3H).

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se enumeran de acuerdo con los ejemplos en la tabla 1 anteriormente.

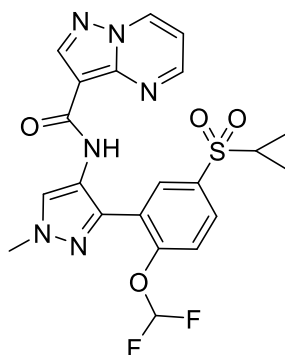
Ejemplo 28



***N*-(1-(cianometil)-3-(2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfonil)fenil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida**

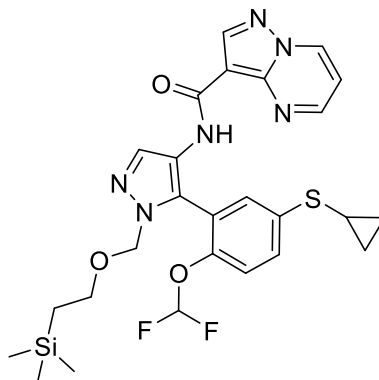
- 5 En un frasco de 10 ml, se introdujo *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-metanosulfonilfenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 9**, 100 mg, 0,223 mmol), carbonato de cesio (146 mg, 0,447 mmol, 2,00 equiv.), *N,N*-dimetilformamida (2 ml), y 2-bromoacetronitrilo (39,8 mg, 0,332 mmol, 1,49 equiv.). La solución resultante se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó después
- 10 mediante la adición de 3 ml de agua. La solución resultante se extrajo con 3x3 ml de acetato de etilo y las capas orgánicas se combinaron y concentraron a vacío. El producto en bruto (3 ml) se purificó mediante Prep-HPLC con las siguientes condiciones (2#-Analizar HPLC-SHIMADZU(HPLC-10)): Columna, columna C18 EVO Kinetex, 30*150, 5µm; fase móvil, agua (10 mmol/L NH₄HCO₃) y ACN (19,0 % de ACN hasta 27,0 % en 7 min); Detector, UV 254/220 nm para producir 40,7 mg (37 %) de *N*-[1-(cianometil)-3-[2-(difluorometoxi)-5-metanosulfonilfenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-
- 15 *a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color amarillo. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 9,76 (s, 1H), 9,36 (dd, *J*=6,9, 1,5 Hz, 1H), 8,69 – 8,67 (m, 2H), 8,54 (s, 1H), 8,16 (dd, *J*=8,7, 2,4 Hz, 1H), 8,08 (d, *J*=1,6 Hz, 1H), 7,74 – 7,26 (m, 3H), 5,64
- 20 (s, 2H), 3,32 (s, 3H). LC/MS (Procedimiento A, ESI): [M+H]⁺= 488,2, R_T = 1,42 min.

Ejemplo 22



***N*-(3-(5-(ciclopropilsulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida**

Etapa 1: Síntesis de *N*-[5-[5-(ciclopropilsulfanil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



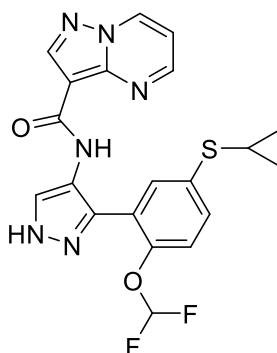
5

En un matraz de fondo redondo de 250 ml purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se introdujeron *N*-[5-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

(Intermediario 3, 4 g, 6,90 mmol), Pd₂(dba)₃·CHCl₃ (1,4 g, 1,35 mmol, 0,20 equiv.),
 10 XantPhos (1,6 g, 2,77 mmol, 0,401 equiv.), carbonato de potasio (1,9 g, 13,7 mmol, 2,0 equiv.), tolueno (100 ml) y ciclopropanotiol (2 g, 27 mmol, 3,9 equiv.). La solución resultante se agitó durante 20 horas a 100 °C. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a vacío. El residuo se aplicó en una columna de gel de sílice con acetato de etilo/hexano (1/1,4/1). Las fracciones recogidas se
 15 combinaron y concentraron a vacío. Esto dio como resultado 3,5 g (89 %) de *N*-[5-[5-(ciclopropilsulfanil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como aceite de color amarillo. LC/MS (Procedimiento J, ESI): [M+H]⁺ = 573,3, R_T = 1,34 min.

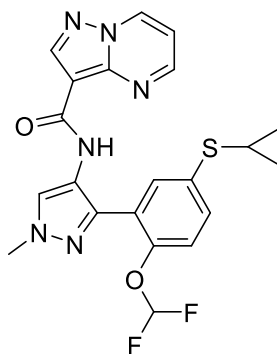
Etapa 2: Síntesis de *N*-[3-[5-(ciclopropilsulfanil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

20



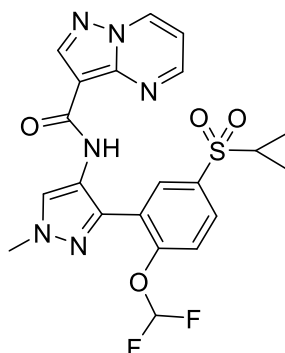
En un matraz de fondo redondo de 100 ml, se introdujo *N*-[5-[5-(ciclopropilsulfanil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-[[2-(trimetilsilil)etoxi]metil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (3,87 g, 6,76 mmol), diclorometano (20 ml) y CF₃COOH (10 ml). La solución resultante se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a vacío. La solución resultante se diluyó con acetato de etilo. Los sólidos se recolectaron mediante filtración. Esto dio como resultado 3,01 g (bruto) de *N*-[3-[5-(ciclopropilsulfanil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color marrón. LC/MS (Procedimiento H, ESI): [M+H]⁺ = 443,15, R_T = 1,24 min.

- 10 Etapa 3: Síntesis de *N*-[3-[5-(ciclopropilsulfanil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



- En un matraz de fondo redondo de 25 ml, se introdujo *N*-[3-[5-(ciclopropilsulfanil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (250 mg, 0,565 mmol), *N,N*-dimetilformamida (4 ml), carbonato de cesio (294 mg, 0,902 mmol, 2,00 equiv.), yodometano (77 mg, 0,542 mmol, 1,20 equiv.). La solución resultante se agitó durante 2 horas a 30 °C. La mezcla resultante se concentró a vacío. El residuo se aplicó en una columna de gel de sílice con acetato de etilo/éter de petróleo (2:1). Esto dio como resultado 150 mg (58 %) de *N*-[3-[5-(ciclopropilsulfanil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color amarillo. LC/MS (Procedimiento H, ESI): [M+H]⁺ = 457,2, R_T = 1,24 min.

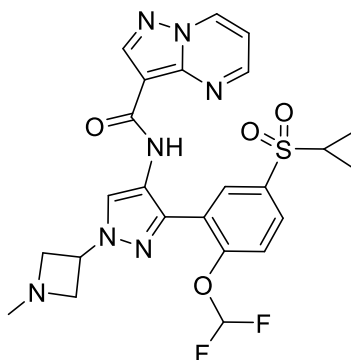
Etapa 4: Síntesis de *N*-[3-[5-(ciclopropanosulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se introdujo *N*-[3-[5-(ciclopropilsulfanil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (280 mg, 0,613 mmol), diclorometano (20 ml), *m*-CPBA (212 mg, 1,23 mmol, 2,00 equiv.).

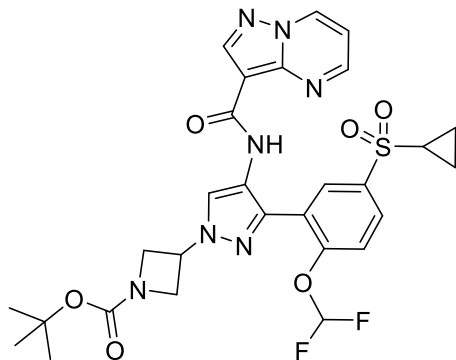
- 5 La solución resultante se agitó durante 5 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a vacío. El residuo se aplicó en una columna sobre gel de sílice con diclorometano/metanol (95:5). El producto en bruto se purificó mediante Prep-HPLC con las siguientes condiciones (2#-Analizar HPLC-SHIMADZU(HPLC-10)): Columna, columna C18 EVO Kinetex, 30*150, 5 μ m; fase móvil, agua (NH_4HCO_3 a 10 mmol/L) y ACN (25,0 % de ACN hasta 33,0 % en 8 min); Detector, UV 254/220 nm.
10 Esto dio como resultado 42,9 mg (14 %) de *N*-[3-[5-(ciclopropanosulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color blanco. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) 9,68 (s, 1H), 9,34 (dd, $J=6,8$, 1,4 Hz, 1H), 8,70 – 8,67 (m, 2H), 8,33 (s, 1H), 8,07 (dd, $J=8,8$, 2,4 Hz, 1H), 8,02 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 7,69 – 7,28 (m, 3H), 3,96 (s, 3H), 3,01 – 2,95 (m, 1H), 1,16 – 1,12 (m, 2H), 1,08 – 1,06 (m, 2H). LC/MS (Procedimiento A, ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+= 489,2$, $R_T = 1,47$ min.
15

Ejemplo 52



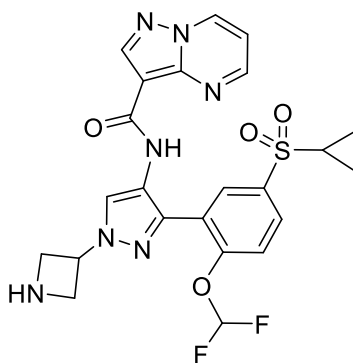
- 20 ***N*-(3-(5-(ciclopropilsulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil)-1-(1-metilazetidín-3-il)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida**

Etapa 1: 3-(3-(5-(ciclopropilsulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil)-4-(pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamido)-1*H*-pirazol-1-il)azetidin-1-carboxilato de *terc*-butilo



A un frasco se añadió *N*-[3-[5-ciclopropilsulfonil-2-(difluorometoxi)fenil]-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (51 mg, 0,11 mmol) y carbonato de cesio (105 mg, 0,32 mmol) seguido de *N,N*-dimetilformamida (1,1 ml) y *terc*-butil-3-yodoazetidin-1-carboxilato (107 mg, 0,065 ml, 0,38 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 16 horas. La reacción se inactivó mediante la adición de cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y concentraron a vacío. El residuo se adsorbió en sílice y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida con 10-80 % de 3:1 MeOH:iPrOAc en heptano para producir el compuesto deseado como aceite de color amarillo (35,6 mg, 53 %).

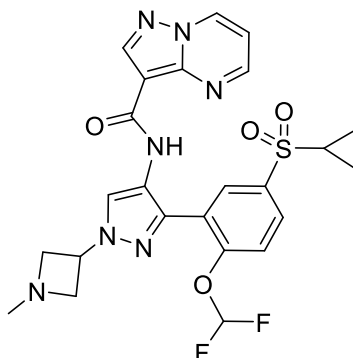
Etapa 2: *N*-(1-(azetidin-3-il)-3-(5-(ciclopropilsulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

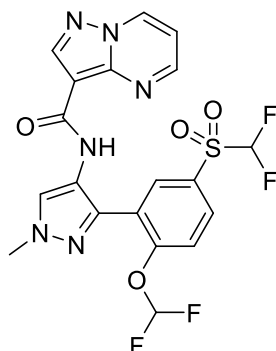


A una solución de 3-[3-[5-ciclopropilsulfonil-2-(difluorometoxi)fenil]-4-(pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carbonilamino)pirazol-1-il]azetidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (35,6 mg, 0,057 mmol) en diclorometano (1 ml) se añadió ácido trifluoroacético (0,25 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró a vacío después se recogió en 2 ml de diclorometano. MP-carbonato (180 mg, 0,57 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas. La mezcla

de reacción se filtró y el filtrado se concentró a *vacío* para producir el compuesto deseado como un sólido de color blanco. Se asumió la conversión completa y se llevó como bruto a la próxima etapa. LC/MS (Procedimiento W, ESI): $[M+H]^+ = 530,2$, $R_T = 0,83$ min.

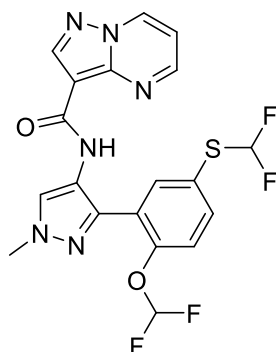
- 5 Etapa 3: *N*-(3-(5-(ciclopropilsulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil)-1-(1-metilazetidin-3-il)-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida





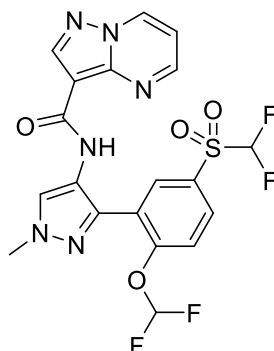
***N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((difluorometil)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida**

Etapas 1: *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((difluorometil)tio)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



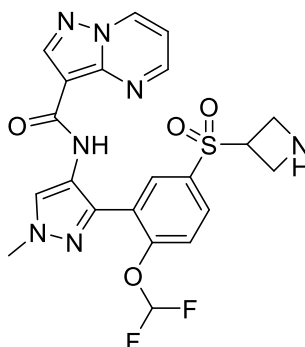
En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se introdujo 2-cloro-2,2-difluoroacetato de sodio (617 mg, 4,05 mmol, 1,00 equiv.), *N,N*-dimetilformamida (10 ml, 129 mmol, 1,00 equiv.), carbonato de cesio (704 mg, 2,16 mmol, 2,00 equiv.), *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[[tris(propan-2-il)silil] sulfanil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 6**, 328 mg, 0,59 mmol, 2,00 equiv.). La solución resultante se agitó a 100 °C. La mezcla resultante se concentró a vacío. El residuo se aplicó en una columna de gel de sílice con acetato de etilo/éter de petróleo (1:1). Esto dio como resultado 100 mg (5 %) de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[[difluorometil]sulfanil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color amarillo. LC/MS (Procedimiento H, ESI): [M+H]⁺ = 467,2, R_T = 1,20 min.

Etapas 2: *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((difluorometil)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



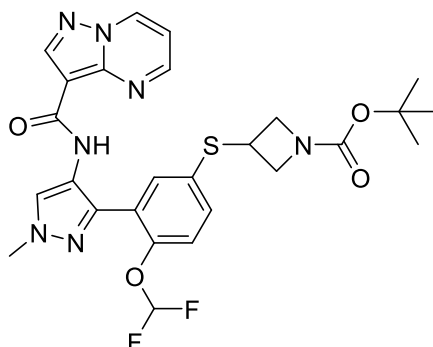
En un matraz de fondo redondo de 25 ml, se introdujo *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-
 [(difluorometil)sulfanil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-
 carboxamida (100 mg, 0,22 mmol, 1,00 equiv.), diclorometano (4 ml, 62,9 mmol, 1,00
 5 equiv.), *m*-CPBA (74,4 mg, 0,43 mmol, 2,00 equiv.). La solución resultante se agitó
 durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a vacío. El
 residuo se aplicó en una columna sobre gel de sílice con diclorometano/metanol
 (20:1). Esto dio como resultado 6,2 mg (6 %) de *N*-[3-[5-(difluorometano)sulfonil-2-
 (difluorometoxi)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida
 10 como un sólido de color amarillo. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 9,66 (s, 1H),
 9,35 (dd, *J*=6,9, 1,5 Hz, 1H), 8,70 – 8,67 (m, 2H), 8,35 (s, 1H), 8,18 (dd, *J*=8,7, 2,4 Hz,
 1H), 8,07 (d, *J*=2,4 Hz, 1H), 7,81 – 7,22 (m, 4H), 3,97 (s, 1H). LC/MS (Procedimiento
 A, ESI): [M+H]⁺= 499,2, *R*_T = 1,56 min.

Ejemplo 4



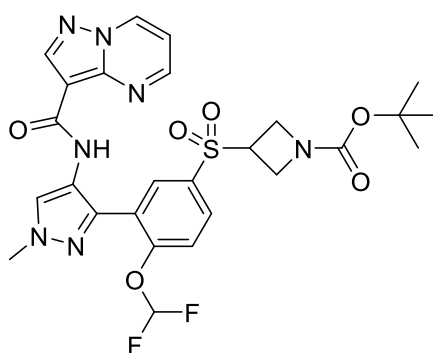
N-(3-(5-(azetidin-3-ylsulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4- il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

Etapas 1: Síntesis de 3-((4-(difluorometoxi)-3-(1-metil-4-(pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-
 carboxamido)-1*H*-pirazol-3-il)fenil)sulfonil)azetidin-1-carboxilato de *tert*-butilo



- En un tubo sellado de 30 ml, purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocaron *N*-[3-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 3**, 1,00 g, 2,16 mmol),
- 5 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (104 mg, 0,114 mmol, 0,053 equiv.), 3-sulfanilazetidín-1-carboxilato de terc-butilo (500 mg, 2,64 mmol, 1,22 equiv.), XantPhos (116 mg, 0,20 mmol, 0,093 equiv.), carbonato de potasio (552 mg, 3,99 mmol, 1,85 equiv.) y tolueno (15 ml). La solución resultante se agitó durante la noche a 100 °C y después se concentró a vacío. El residuo se aplicó en una columna de gel de sílice con diclorometano/metanol (94/6).
- 10 Las fracciones recogidas se combinaron y concentraron a vacío. Esto dio como resultado 1,5 g (122 %) de 3-[[4-(difluorometoxi)-3-(1-metil-4-[pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-amido]-1*H*-pirazol-3-il)fenil]sulfanil]azetidín-1-carboxilato de terc-butilo como un sólido de color rojo. LC/MS (Procedimiento A, ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+= 572,3$, $R_T = 1,28$ min.

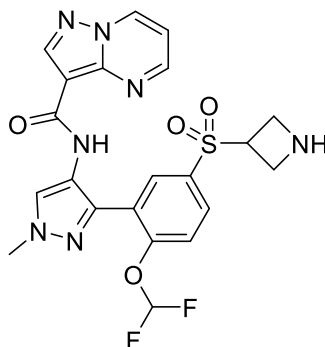
- Etapas 2: Síntesis de 3-[[4-(difluorometoxi)-3-(1-metil-4-[pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-amido]-1*H*-pirazol-3-il)benceno]sulfonil]azetidín-1-carboxilato de *terc*-butilo
- 15



- En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se introdujeron 3-[[4-(difluorometoxi)-3-(1-metil-4-[pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-amido]-1*H*-pirazol-3-il)fenil]sulfanil]azetidín-1-carboxilato de terc-butilo (100 mg, 0,175 mmol), diclorometano (10 ml), y ácido 3-clorobenceno-1-carboperoxoico (60 mg, 0,35 mmol, 2,0 equiv.). La solución resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a vacío. El residuo se aplicó en una columna de gel de sílice con diclorometano/metanol
- 20

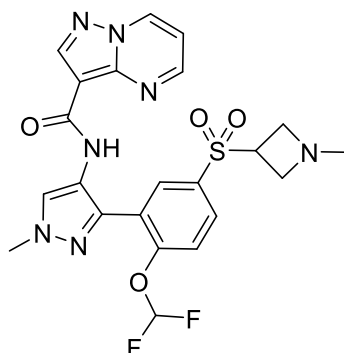
(92/8). Las fracciones recogidas se combinaron y concentraron a vacío. Esto dio como resultado 100 mg (95 %) de 3-[[4-(difluorometoxi)-3-(1-metil-4-[pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-amido]-1*H*-pirazol-3-il)benceno]sulfonil]azetidin-1-carboxilato de terc-butil como un sólido de color marrón. LC/MS (Procedimiento I, ESI): [M+H]⁺= 604,3, R_T = 1,05 min.

- 5 Etapa 3: Síntesis de *N*-(3-(5-(azetidin-3-ilsulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



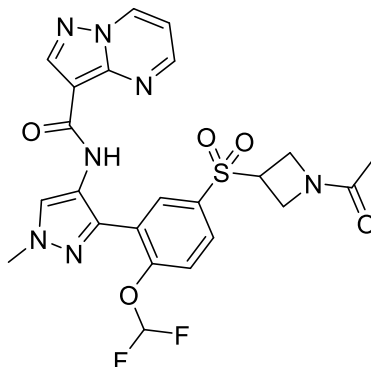
- En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se colocaron 3-[[4-(difluorometoxi)-3-(1-metil-4-[pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-amido]-1*H*-pirazol-3-il)benceno]sulfonil]azetidin-1-carboxilato de terc-butilo (100 mg, 0,166 mmol, 1,00 equiv.), ácido trifluoroacético (1 ml, 13,5 mmol, 82 equiv.) y diclorometano (10 ml). La solución resultante se agitó durante 6 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a vacío. El producto en bruto (5 ml) se purificó mediante HPLC preparativa ultrarrápida con las siguientes condiciones (IntelFlash-1): Columna, gel de sílice; fase móvil, H₂O(NH₄HCO₃)/CH₃CN= 90/10 creciente hasta H₂O(NH₄HCO₃)/CH₃CN= 50/50 dentro de 10 min; Detector, UV 254 nm. Esto dio como resultado 11,6 mg (14 %) de *N*-[3-[5-(azetidin-3-sulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 9,67 (s, 1H), 9,35 (dd, *J*=6,8, 1,6 Hz, 1H), 8,70 – 8,66 (m, 2H), 8,34 (s, 1H), 8,07 (dd, *J*=4,4, 1,6 Hz, 1H), 8,00 (s, *J*=2,4 Hz, 1H), 7,70 – 7,29 (m, 3H), 4,67 – 4,59 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,80 – 3,77 (m, 2H), 3,60 – 3,56 (m, 2H). LC/MS (Procedimiento A, ESI): [M+H]⁺= 504,2, R_T = 1,12 min.

Ejemplo 3



***N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((1-metilazetidín-3-il)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidín-3-carboxamida**

En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se colocaron *N*-[3-[5-(azetidín-3-sulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidín-3-carboxamida (50 mg, 0,099 mmol, 1,00 equiv.), metanol (1 ml), NaBH(AcO)₃ (200 mg, 0,94 mmol, 9,5 equiv.), y diclorometano (10 ml). La solución resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a vacío. El producto en bruto (5 ml) se purificó mediante HPLC preparativa ultrarrápida con las siguientes condiciones (IntelFlash-1): Columna, gel de sílice; fase móvil, H₂O(NH₄HCO₃)/CH₃CN= 90/10 aumentar to H₂O(NH₄HCO₃)/CH₃CN = 50/50 dentro de 10 min; Detector, UV 254 nm. Esto dio como resultado 18,1 mg (35 %) de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1-metilazetidín-3-sulfonil)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidín-3-carboxamida como un sólido blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 9,67 (s, 1H), 9,35 (dd, *J*=6,8, 1,6 Hz, 1H), 8,70 – 8,66 (m, 2H), 8,34 (s, 1H), 8,07 (dd, *J* = 4,4, 1,6 Hz, 1H), 8,00 (s, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,70 – 7,29 (m, 3H), 4,67 – 4,59 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,80 – 3,77 (m, 2H), 3,60 – 3,56 (m, 2H). LC/MS (Procedimiento A, ESI): [M+H]⁺= 518,3, R_T = 1,14 min.

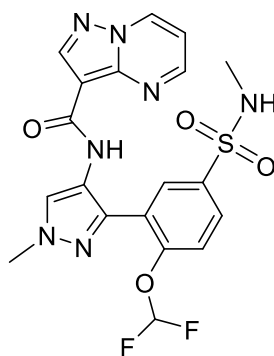


***N*-(3-(5-((1-acetilazetidín-3-il)sulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidín-3-carboxamida**

En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se introdujo *N*-[3-[5-(azetidin-3-sulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (80 mg, 0,159 mmol), diclorometano (15 ml), piridina (60 mg, 0,76 mmol, 4,8 equiv.). Se añadió cloruro de acetilo (15 mg, 0,19 mmol, 1,20 equiv.) a la solución a 0 °C. La solución resultante se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. La reacción se inactivó después mediante la adición de 10 ml de agua. La solución resultante se extrajo con 2x20 ml de diclorometano y las capas orgánicas se combinaron, secaron y concentraron a vacío. El residuo se aplicó en una columna sobre gel de sílice con diclorometano/metanol (93:7). El producto en bruto se purificó mediante Prep-HPLC con las siguientes condiciones (2#-Analizar HPLC-SHIMADZU(HPLC-10)): Columna, columna C18 EVO Kinetex, 30*150, 5 µm; fase móvil, agua (10 mmol/L NH₄HCO₃) y ACN (21,0 % de ACN hasta 25,0 % en 8 min); Detector, UV 254/220 nm. Esto dio como resultado 5,8 mg (7 %) de *N*-[3-[5-(1-acetilazetidin-3-sulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color blanco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 9,68 (s, 1H), 9,36 (dd, *J*=6,8, 1,6 Hz, 1H), 8,70 – 8,68 (m, 2H), 8,34 (s, 1H), 8,16 (dd, *J*=6,8, 2,4 Hz, 1H), 8,07 (d, *J*=2,4 Hz, 1H), 7,72 – 7,30 (m, 3H), 4,62 – 4,55 (m, 1H), 4,38 – 4,34 (m, 2H), 4,07 – 3,98 (m, 2H), 3,97 (s, 3H), 2,08 (s, 3H). LC/MS (Procedimiento A, ESI): [M+H]⁺= 546,2, R_T = 1,32 min.

20

Ejemplo 26

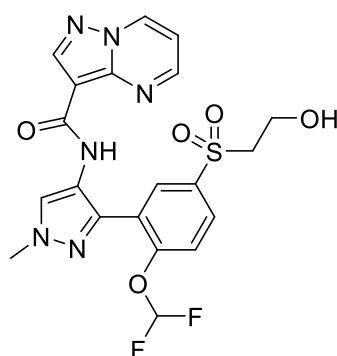


N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfamoil)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

En un matraz de fondo redondo con 2 cuellos de 25 ml purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se introdujeron ácido 4-(difluorometoxi)-3-(1-metil-4-[pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-amido]-1*H*-pirazol-3-il)benceno-1-sulfónico (**Intermediario 7**, 150 mg, 0,323 mmol), diclorometano (10 ml), *N,N*-dimetilformamida (0,05 ml, 0,646 mmol, 2,00 equiv.), cloruro de oxalilo (0,50 ml, 5,87 mmol, 18,2 equiv.), piridina (100

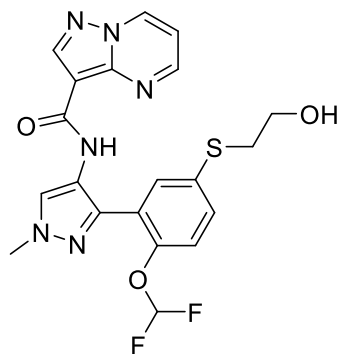
mg, 1,26 mmol, 3,91 equiv.) y metilamina (0,50 ml, 14,4 mmol, 44,7 equiv.). La solución resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó después mediante la adición de 10 ml de agua. La solución resultante se extrajo con 2x20 ml de diclorometano y las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron a vacío. El residuo se aplicó en una columna sobre gel de sílice con diclorometano/metanol (93:7). El producto en bruto (20 mg) se purificó mediante Prep-HPLC con las siguientes condiciones (2#- Analizar HPLC-SHIMADZU(HPLC-10)): Columna, columna C18 EVO Kinetex, 30*150, 5 µm; fase móvil, agua (NH₄HCO₃ a 10 mmol/l) y ACN (20 % de ACN hasta 35 % en 7 min); Detector, UV 254/220 nm. Esto dio como resultado 8,6 mg (6 %) de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfamoil)fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color blanco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 9,70 (s, 1H), 9,35 (dd, *J*=7,2, 1,6 Hz, 1H), 8,70 – 8,68 (m, 2H), 8,34 (s, 1H), 7,96 – 7,93 (m, 2H), 7,66 – 7,26 (m, 4H), 3,96 (s, 3H), 2,44 (s, 3H). LC/MS (Procedimiento A, ESI): [M+H]⁺= 478,2, R_T = 1,39 min.

Ejemplo 5



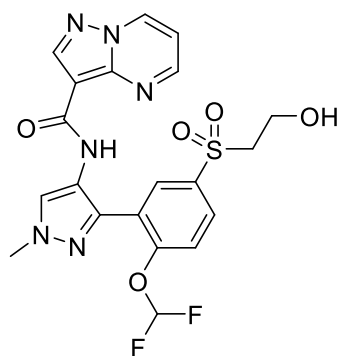
N-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((2-hidroxietil)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

20 Etapa 1: Síntesis de *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((2-hidroxietil)tio)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



A una solución de *N*-[3-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 3**, 20,0 g, 43,2 mmol), DIEA (11,2 g, 86,5 mmol), Pd₂(dba)₃·CH₃Cl (2,24 g, 2,16 mmol) y XantPhos (2,5 g, 4,32 mmol) en 1,4-dioxano (200 ml) y en nitrógeno, se añadió 2-mercaptoetanol (3,19 ml, 45,3 mmol) a temperatura ambiente. La solución resultante se agitó durante 4 horas a 95 °C. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró a vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice que eluyó con MeOH/DCM (3 %) para producir *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((2-hidroxietil)tio)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (16,8 g, 36,5 mmol, 84,5 % de rendimiento) como un sólido blancuzco. LC/MS (Procedimiento A, ESI): [M+H]⁺ = 461,1, R_T = 1,02 min.

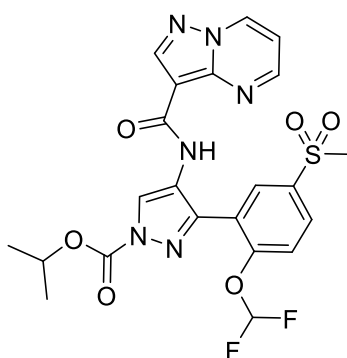
Etapas 2: Síntesis de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxietilsulfonyl)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



El peroxomonosulfato de potasio (125 g, 204 mmol) se disolvió en agua (450 ml) a 25 °C con agitación y después se añadió a una suspensión de *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((2-hidroxietil)tio)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (45 g, 97 mmol) en metanol (900 ml). La suspensión resultante se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente. Se añadió agua (1 L), y la suspensión resultante se concentró a vacío para eliminar el metanol. Después de la filtración, los sólidos se recogieron y se lavaron con agua (100 ml). El sólido se secó a 50 °C y se suspendió con agua (500 ml). Después de la filtración, los sólidos se recogieron y se lavaron con agua (50 ml). El sólido se secó a 50 °C durante la noche para producir 44 g. El sólido se suspendió con EtOH (400 ml) a 80 °C durante 3 horas y después se enfrió a temperatura ambiente en baño de aceite. Después de la filtración, los sólidos se recogieron y se lavaron con EtOH (20 ml). El sólido se suspendió con EtOH (300 ml) a 80 °C durante 3 horas y después se enfrió a temperatura ambiente en baño de aceite y se agitó durante la noche. Después de la filtración, los sólidos se recogieron y se

lavarón con EtOH (50 ml). El sólido se secó a 50 °C durante la noche para producir *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxiethylsulfonil)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-
a]pirimidin-3-carboxamida (43,3 g, 87,9 mmol, 90,4 % de rendimiento) como un sólido
blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) 9,68 (s, 1H), 9,34 (dd, *J* = 7,0, 1,6 Hz, 1H),
5 8,68 (dd, *J* = 4,2, 1,6 Hz, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 8,11 8,01 (m, 2H), 7,67 – 7,29
(m, 3H), 4,89 (t, *J* = 5,3 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,71 (m, 2H), 3,53 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H).
LC/MS (Procedimiento A, ESI): [M+H]⁺ = 493,2, R_T = 1,27 min.

Ejemplo 34

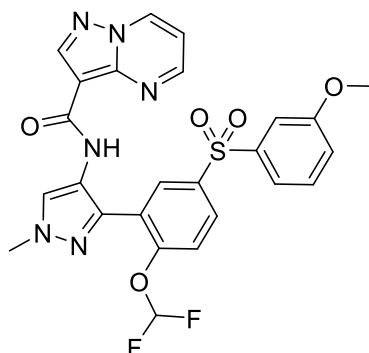


10 **3-(2-(Difluorometoxi)-5-(metilsulfonil)fenil)-4-(pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-
carboxamido)-1H-pirazol-1-carboxilato de isopropilo**

En un matraz de fondo redondo con 3 cuellos de 100 ml, se colocaron *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-metanosulfonilfenil]-1H-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-
carboxamida (100 mg, 0,223 mmol), trifenilfosfina (76 mg, 0,29 mmol, 1,3 equiv.),
15 DIAD (58,6 mg, 0,290 mmol, 1,30 equiv.) y tolueno (6 ml). La solución resultante se
agitó durante la noche a 95 °C. La mezcla resultante se concentró a vacío. El residuo
se aplicó en una columna de gel de sílice con acetato de etilo/éter de petróleo (4:1).
Esto dio como resultado 20 mg (17 %) de 3-(2-(difluorometoxi)-5-(metilsulfonil)fenil)-4-
(pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamido)-1H-pirazol-1-carboxilato de isopropilo como
20 un sólido de color blanco. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) 9,87 (s, 1H), 9,37 (dd, *J* =
7,2, 1,5 Hz, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,64 (dd, *J* = 4,2, 1,8 Hz, 1H), 8,25 (dd, *J* =
8,9, 2,7 Hz, 1H), 8,16 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,80 – 7,26 (m, 3H), 5,26 – 5,18 (m, 1H),
3,33 (s, 1H), 1,42 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H). LC/MS (Procedimiento A, ESI): [M+H]⁺ = 535,2,
R_T = 1,68 min.

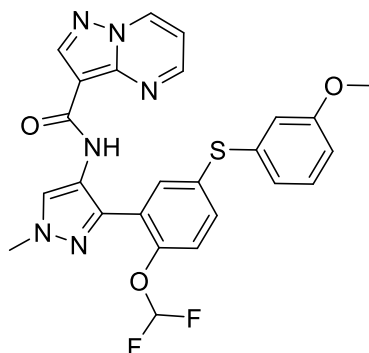
25

Ejemplo 12



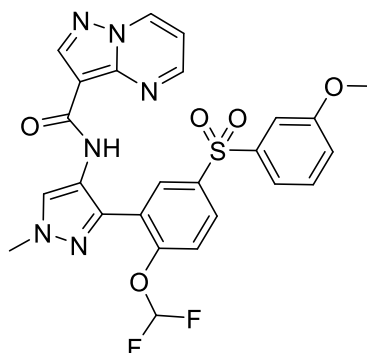
***N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((3-metoxifenil)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida**

Etapla 1: Síntesis de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(3-metoxifenil)sulfanil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



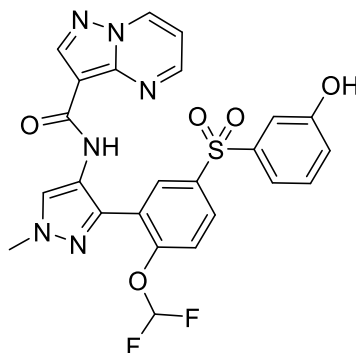
En un tubo de 30 ml sellado purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se introdujo *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[[tris(propan-2-il)silil]sulfanil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 6**, 1,10 g, 1,92 mmol, 1,00 equiv.), fluoruro de cesio (658 mg, 4,33 mmol, 2,26 equiv.), isopropanol (20 ml), 1-bromo-3-metoxibenceno (809 mg, 4,33 mmol, 2,25 equiv.), Pd₂(dba)₃.CHCl₃ (117 mg, 0,113 mmol, 0,059 equiv.), carbonato de cesio (1,40 g, 4,30 mmol, 2,24 equiv.). La solución resultante se agitó durante 6 horas a 90 °C. La mezcla resultante se concentró a vacío. El residuo se aplicó en una columna de gel de sílice con diclorometano/metanol (95/5). Las fracciones recogidas se combinaron y concentraron a vacío. Esto dio como resultado 1,2 g (120 %) de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(3-metoxifenil)sulfanil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color rojo.

Etapla 2: Síntesis de *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((3-metoxifenil)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida.



En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se introdujo *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(3-metoxifenil)sulfanil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (800 mg, 1,53 mmol), diclorometano (10 ml), ácido 3-clorobenceno-1-carboxiperoico (753 mg, 4,36 mmol, 1,00 equiv.). La solución resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se concentró y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna para dar *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-[(3-metoxifenil)sulfonil]fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 9,67 (s, 1H), 9,32 (dd, *J*=7,2, 1,5 Hz, 1H), 8,65 – 8,60 (m, 2H), 8,31 (s, 1H), 8,20 (dd, *J*=8,7, 2,4 Hz, 1H), 8,08 – 7,20 (m, 7H), 3,95 (s, 3H), 3,81 (s, 3H). LC/MS (Procedimiento A, ESI): [M+H]⁺= 555,3, R_T = 1,65 min.

Ejemplo 11

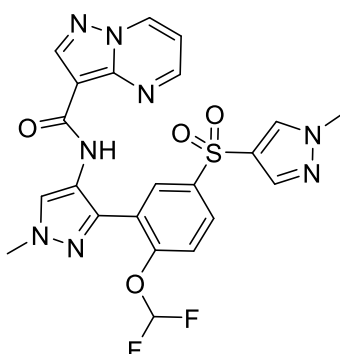


N-(3-(2-(difluorometoxi)-5-[(3-hidroxifenil)sulfonil]fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

En un matraz de fondo redondo de 50 ml purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se introdujo *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(3-metoxibenceno)sulfonil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (410 mg, 0,739 mmol), diclorometano (10 ml), y tribromoborano (1,5 ml, 12,0 mmol, 16,2 equiv.). La solución resultante se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a vacío y se purificó mediante cromatografía en columna. Esto dio como resultado 76,5 mg (19 %) de *N*-[3-[2-

(difluorometoxi)-5-[(3-hidroxibenceno)sulfonil]fenil]-1-metil-1*H*-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-
a]pirimidin-3-carboxamida como un sólido blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ
(ppm) 10,26 (s, 1H), 9,67 (s, 1H), 9,32 (dd, *J*=7,2, 1,5 Hz, 1H), 8,66 – 8,63 (m, 2H),
8,33 (s, 1H), 8,12 (dd, *J*=8,8, 2,4 Hz, 1H), 8,02 (d, *J*=2,4 Hz, 1H), 7,66 – 7,26 (m, 6H),
5 7,06 – 7,01 (m, 1H), 3,96 (s, 3H). LC/MS (Procedimiento A, ESI): [M+H]⁺= 541,3, R_T =
1,51 min.

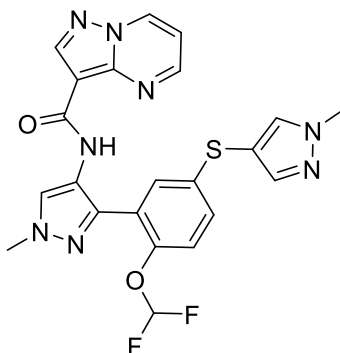
Ejemplo 35



N-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((1-metil-1*H*-pirazol-4-il)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*- pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

10

Etapas 1: Síntesis de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1-metilpirazol-4-il)sulfanil-fenil]-1-metil-
pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

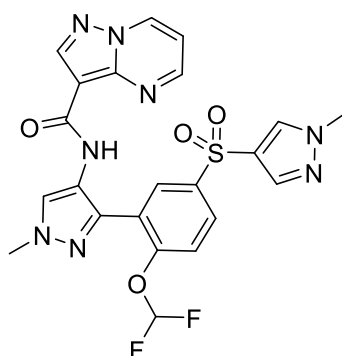


15

A un frasco se añadieron *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-
il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 8**, 1,05 g, 2,52 mmol) y
XantPhos Pd G3 (201 mg, 0,202 mmol). *N,N*-dimetilformamida (16,8 ml) se añadió
seguido de 4-bromo-1-metil-1*H*-pirazol (837 mg, 0,537 ml, 5,04 mmol) y *N,N*-
diisopropiletilamina (978 mg, 1,32 ml, 7,56 mmol), y se burbujeó nitrógeno a través de
la mezcla de reacción durante 3 min. La mezcla de reacción se calentó a 180 °C en un
20 reactor de microondas durante 30 min. La mezcla de reacción se inactivó mediante la
adición de cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo (3x).
Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de

sodio, se filtraron y concentraron a vacío. El residuo se adsorbió en sílice y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida con 10-80 % de 3:1 MeOH : iPrOAc en heptano para producir *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1-metilpirazol-4-il)sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como espuma de color amarillo (555 mg, 44 %). LC/MS (Procedimiento W, ESI): [M+H]⁺ = 497,2 R_T = 1,09 min.

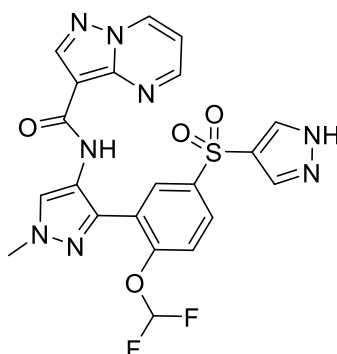
5 Etapa 2: Síntesis de *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((1-metil-1*H*-pirazol-4-il)sulfonyl)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



A una solución de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1-metilpirazol-4-il)sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (651 mg, 1,31 mmol) en diclorometano (16,4 ml) se añadió ácido 3-cloro-perbenzoico (1,18 g, 5,25 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó con cloruro de amonio acuoso saturado. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a vacío. Esta reacción se repitió con aumento para *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1-metilpirazol-4-il)sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (555 mg), y las dos porciones se combinaron para la recristalización. Los lotes combinados se disolvieron completamente en 410 ml de EtOH en ebullición. El calentamiento se detuvo y la solución se dejó enfriar a temperatura ambiente lentamente, con agitación, después se enfrió en un baño de hielo. El precipitado se filtró, se recogió y se secó a vacío para dar *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((1-metil-1*H*-pirazol-4-il)sulfonyl)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (372 mg, 29 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,64 (s, 1H), 9,33 (dd, *J* = 7,0, 1,7 Hz, 1H), 8,67 – 8,61 (m, 2H), 8,51 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,10 (dd, *J* = 8,8, 2,5 Hz, 1H), 8,03 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 0,9 Hz, 1H), 7,64 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,42 (t, *J* = 72,5 Hz, 1H), 7,28 (dd, *J* = 7,0, 4,3 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,83 (s, 3H). LC/MS (Procedimiento X, ESI): [M+H]⁺ = 529,1 R_T = 3,96 min.

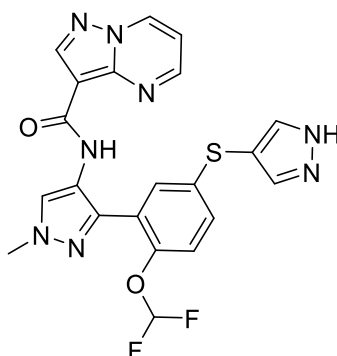
10
15
20
25

Ejemplo 41



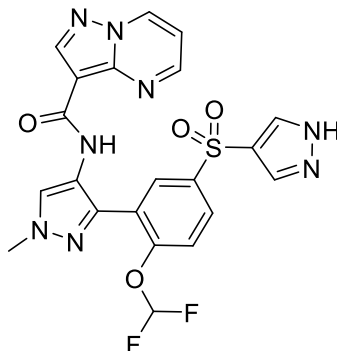
***N*-(3-(5-((1*H*-pirazol-4-il)sulfonyl)-2-(difluorometoxi)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida**

- 5 Etapa 1: Síntesis de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1*H*-pirazol-4-ilsulfanil)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



- A un frasco se añadió *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 8**, 1000 mg, 2,40 mmol), 4-bromo-1*H*-pirazol (706 mg, 4,80 mmol), y XantPhos Pd G3 (240 mg, 0,240 mmol). Se añadió *N,N*-dimetilformamida (16,0 ml) seguido de *N,N*-diisopropiletilamina (931 mg, 1,26 ml, 7,20 mmol), y se burbujeó nitrógeno a través de la mezcla de reacción durante 3 min. La mezcla de reacción se calentó a 180 °C en un reactor de microondas durante 45 min. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de
- 15 cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y concentraron a vacío. El residuo se adsorbió en sílice y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida con 10-80 % de 3:1 MeOH : iPrOAc en heptano para dar *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1*H*-pirazol-4-ilsulfanil)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida como un sólido de color naranja (517 mg, 45
- 20 %).

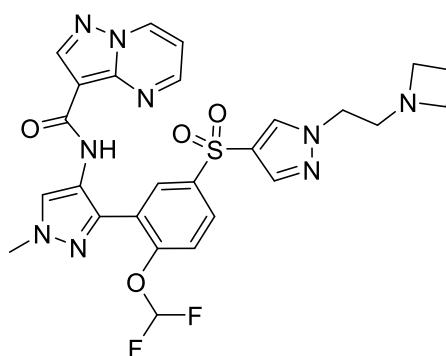
Etapa 2: Síntesis de *N*-(3-(5-((1*H*-pirazol-4-il)sulfonil)-2-(difluorometoxi)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



A una solución de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1*H*-pirazol-4-il)sulfanil]fenil]-1-metil-
 5 pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (517 mg, 1,07 mmol) en
 diclorometano (10 ml) se añadió ácido 3-cloroperbenzoico (961 mg, 4,29 mmol) y la
 reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se
 diluyó con diclorometano y se vertió en un embudo separador que contenía
 bicarbonato de sodio acuoso saturado. Las capas se separaron y la capa acuosa se
 10 extrajo con diclorometano (2x). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre
 sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se adsorbió en sílice
 y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida con 10-80 % de 3:1
 MeOH:iPrOAc en heptano para dar *N*-(3-(5-((1*H*-pirazol-4-il)sulfonil)-2-
 (difluorometoxi)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida
 15 como sólido de color marrón (383 mg, 69 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,78
 (s, 1H), 9,64 (s, 1H), 9,32 (dd, *J* = 7,0, 1,7 Hz, 1H), 8,65 (s, 1H), 8,63 (dd, *J* = 4,3, 1,7
 Hz, 1H), 8,40 – 8,18 (m, 3H), 8,11 (dd, *J* = 8,8, 2,5 Hz, 1H), 8,05 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H),
 7,63 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,41 (t, *J* = 72,5 Hz, 1H), 7,27 (dd, *J* = 7,0, 4,2 Hz, 1H), 3,95
 (s, 3H). LC/MS (Procedimiento X, ESI): [M+H]⁺ = 515,1 R_T = 3,71 min.

20

Ejemplo 53

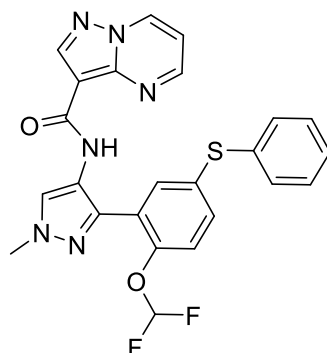


A una solución de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(1*H*-pirazol-4-ilsulfonil)fenil]-1-metilpirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (50 mg, 0,097 mmol), PS-trifenilfosfina (85,0 mg, 0,20 mmol), azodicarboxilato de di-*tert*-butilo (49,2 mg, 0,21 mmol) en tetrahidrofurano (1,5 ml) se añadió 2-(azetidín-1-il)etanol (20,3 mg, 0,019 ml, 0,19 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 90 min. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró *a vacío*. La mezcla en crudo se recogió en diclorometano (3 ml) y HCl (2,0 mol/L en éter dietílico, 0,73 ml, 1,46 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró *a vacío* y se captó en diclorometano. Se añadió MP-carbonato (464 mg, 1,458 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró *a vacío* y se purificó mediante HPLC de fase inversa para proporcionar el compuesto del título (25,4 mg, 44 %) como un sólido de color blanco.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,64 (s, 1H), 9,33 (dd, *J* = 7,0, 1,6 Hz, 1H), 8,66 – 8,63 (m, 2H), 8,52 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,24 (s, 2H), 8,11 (dd, *J* = 8,7, 2,5 Hz, 1H), 8,03 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 7,99 – 7,94 (m, 1H), 7,64 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,42 (t, *J* = 72,5 Hz, 1H), 7,28 (dd, *J* = 7,0, 4,3 Hz, 1H), 4,02 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 3,95 (s, 3H), 2,97 (t, *J* = 7,0 Hz, 4H), 1,87 – 1,76 (m, 2H). LC/MS (Procedimiento X, ESI): [M+H]⁺ = 598,2 *R*_T = 3,07 min.

Cn1c(C2=CC=C(C=C2)C(=C3C=CC(=C3)C(=O)N3C=CC4=C3N=CN=C4)OC(F)F)nn1S(=O)(=O)c5ccccc5

25 Etapa 1: Síntesis de *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-(feniltio)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

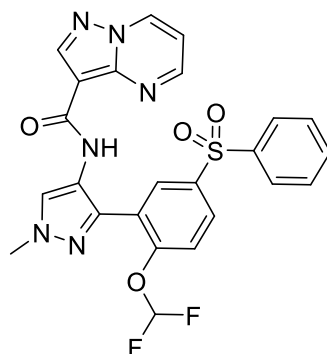


A una solución de *N*-[3-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 3**, 200 mg, 0,43 mmol), tiofenol (57 mg, 0,053 ml, 0,52 mmol), XantPhos Pd G2 (38,3 mg, 0,0432 mmol) y

5 XantPhos (25 mg, 0,0432 mmol) en tolueno (11 ml) enfriado a 0 °C se añadió NaH (34,5 mg, 0,86 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 min a 0 °C, 1 hora a temperatura ambiente, y después se calentó a 90 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano, se filtró a través de Celite, que eluyó con diclorometano, y el filtrado se concentró *a vacío*. La *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-

10 (feniltio)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida en bruto se usó sin otra purificación. LC/MS (Procedimiento W, ESI): [M+H]⁺ = 593,1 *R*_T = 1,34 min.

Etapas 2: Síntesis de *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-(fenilsulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

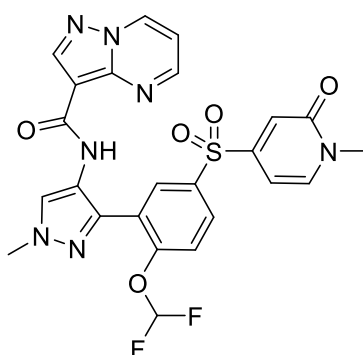


15 A una solución de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-fenilsulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (213 mg, 0,432 mmol) en diclorometano (4,0 ml) se añadió ácido 3-cloroperbenzoico (203 mg, 0,91 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 d. Se añadió ácido 3-cloroperbenzoico (68 mg, 0,302

20 mmol), y después de 1 hora se añadió una segunda porción (25 mg). Después de 1 hora, la mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se vertió en un embudo separador que contenía bicarbonato de sodio acuoso saturado. Las capas se

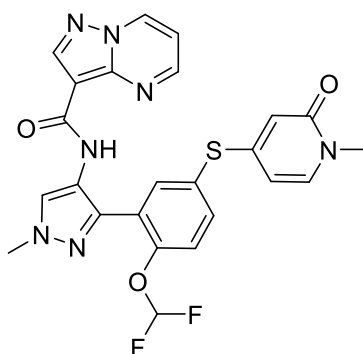
separaron y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (2x). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó por HPLC de fase inversa para proporcionar el compuesto del título (107,2 mg, 47 %) como un sólido de color blanco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,61 (s, 1H), 9,32 (dd, J = 7,0, 1,5 Hz, 1H), 8,64 (s, 1H), 8,62 (dd, J = 4,3, 1,7 Hz, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,15 (dd, J = 8,8, 2,5 Hz, 1H), 8,06 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 8,03 – 7,93 (m, 2H), 7,71 – 7,22 (m, 6H), 3,95 (s, 3H). LC/MS (Procedimiento X, ESI): [M+H]⁺ = 525,1 R_T = 4,58 min.

Ejemplo 44



N-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-4-il)sulfonil)fenil)-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

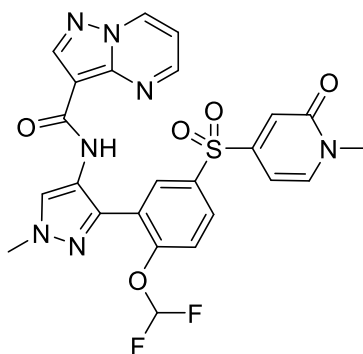
Etapla 1: Síntesis de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(1-metil-2-oxo-4-piridil)sulfanil]fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



A un frasco se añadió *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 3**, 50 mg, 0,12 mmol) y XantPhos Pd G3 (9,60 mg, 0,0096 mmol). *N,N*-dimetilformamida (1,5 ml) se añadió seguido de 4-bromo-1-metilpiridin-2(1H)-ona (47,5 mg, 0,240 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (46,6 mg, 0,0628 ml, 0,360 mmol), y se burbujeó nitrógeno a través de la mezcla de reacción durante 3 min. La mezcla de reacción se calentó a 180 °C en un reactor de microondas durante 30 min. La mezcla de reacción se inactivó mediante

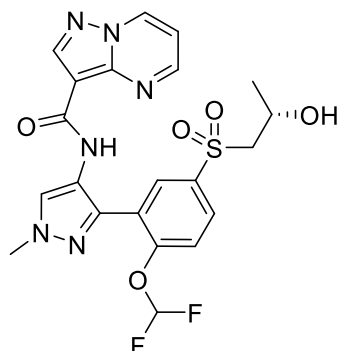
la adición de cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y concentraron *a vacío* para producir *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(1-metil-2-oxo-4-piridil)sulfanil]fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida.

- 5 Etapa 2: Síntesis de *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-4-il)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida



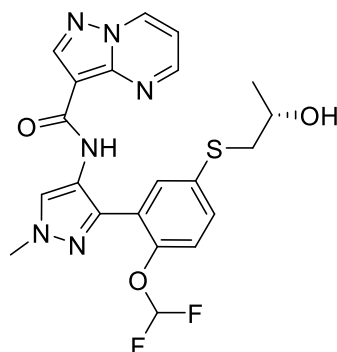
- A una solución de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(1-metil-2-oxo-4-piridil)sulfanil]fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida (63 mg, 0,120 mmol) en
 10 diclorometano (2,0 ml) se añadió ácido 3-cloroperbenzoido (108 mg, 0,48 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se vertió en un embudo separador que contenía bicarbonato de sodio acuoso saturado. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (2x). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre
 15 sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron *a vacío*. El residuo se purificó adicionalmente mediante RP-HPLC para proporcionar el compuesto del título (29,2 mg, 44 %) como un sólido de color blanco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,63 (s, 1H), 9,33 (dd, *J* = 6,9, 1,6 Hz, 1H), 8,66 – 8,63 (m, 2H), 8,32 (s, 1H), 8,22 (dd, *J* = 8,8, 2,5 Hz, 1H), 8,09 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 7,90 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,68 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H),
 20 7,48 (t, *J* = 72,3 Hz, 1H), 7,28 (dd, *J* = 7,0, 4,3 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 6,60 (dd, *J* = 7,1, 2,1 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,40 (s, 3H). LC/MS (Procedimiento X, ESI): [M+H]⁺ = 556,1 *R*_T = 3,18 min.

Ejemplo 15



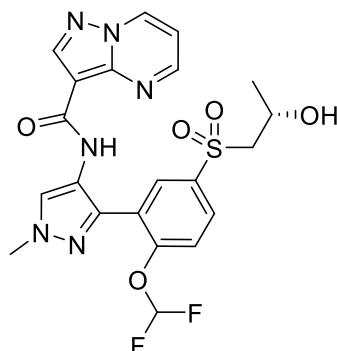
(S)-N-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((2-hidroxiopropil)sulfonil)fenil)-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

Etapla 1: Síntesis de (S)-N-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((2-hidroxiopropil)tio)fenil)-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida



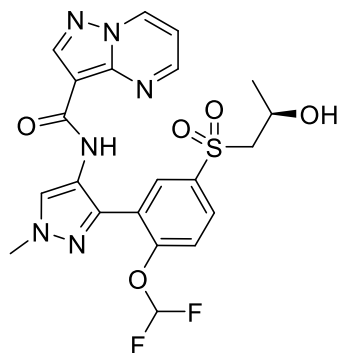
A una solución de N-[3-(2-(difluorometoxi)-5-sulfanil-fenil)-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida (**Intermediario 8**, 950 mg, 2,28 mmol) en metanol (10 ml) se añadió óxido de (S)-(-)-propileno (250 mg, 4,3 mmol) y DIEA (900 mg, 6,98 mmol) y la mezcla se agitó a 80 °C durante 3 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa [fase móvil A: agua (0,1 % NH₄HCO₃), fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 10 % de B a 40 % de B en 50 min] para producir N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(2S)-2-hidroxiopropil]sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida (730 mg, 1,54 mmol, 67 % de rendimiento) como un sólido de color amarillo claro. LC/MS (Procedimiento O, ESI): [M+H]⁺ = 475,2 R_T = 1,43 min.

Etapla 2: Síntesis de (S)-N-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((2-hidroxiopropil)sulfonil)fenil)-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida



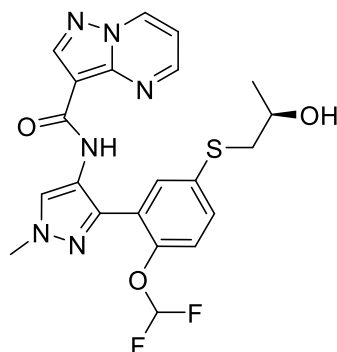
A una solución de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(2*S*)-2-hidroxiopropil]sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (730 mg, 1,54 mmol) en metanol (10 ml) se añadió una solución de oxone (2,0 g, 3,25 mmol) en agua (5,0 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente orgánico se eliminó a vacío y se añadieron 10 ml de agua. El sólido se recogió mediante filtración. La torta del filtro se lavó con agua (5,0 ml x5) y se secó a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparatoria (columna: columna C18 OBD Prep XBridge, 30×150 mm, 5 µm; fase móvil A: agua (NH₄HCO₃) a 10 mmol/L, Fase móvil B: ACN; caudal:60 ml/min; gradiente: 16 % de B a 37 % de B en 8 min; 254 nm; R_T 1:7,45 min). El producto se agitó en 3,0 ml de etanol durante la noche a temperatura ambiente para producir *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(2*S*)-2-hidroxiopropil]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (783 mg, 1,52 mmol) como un sólido blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,69 (s, 1H), 9,35 (dd, *J* = 6,8, 1,6 Hz, 1H), 8,70 – 8,68 (m, 2H), 8,34 (s, 1H), 8,09 – 8,04 (m, 2H), 7,68 – 7,29 (m, 3H), 4,90 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,10 – 4,04 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,50 – 3,40 (m, 2H), 1,12 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H). LC/MS (Procedimiento O, ESI): [M+H]⁺ = 507,2 R_T = 1,26 min.

Ejemplo 25



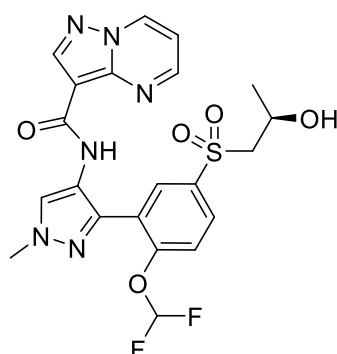
(*R*)-*N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((2-hidroxiopropil)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida

Etapa 1: Síntesis de (*R*)-*N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((2-hidroxiopropil)tio)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



A una solución de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (1,10 g, 2,64 mmol) en metanol (10 ml) se añadió óxido de (*R*)-(+)-propileno (300 mg, 5,17 mmol) y DIEA (1,00 g, 7,75 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 3 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, el disolvente se eliminó a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa [fase móvil A: agua (0,1 % NH₄HCO₃), fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 10 % de B a 40 % de B en 50 min] para producir *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(2*R*)-2-hidroxiopropil]sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (780 mg, 1,64 mmol, 62 % de rendimiento) como un sólido blancuzco. LC/MS (Procedimiento O, ESI): [M+H]⁺ = 475,2 R_T = 1,43 min.

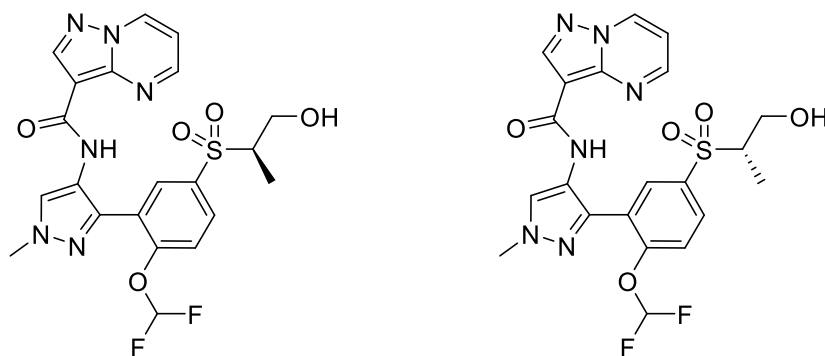
Etapa 2: Síntesis de (*R*)-*N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((2-hidroxiopropil)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



A una solución de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-[(2*R*)-2-hidroxiopropil]sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (780 mg, 1,64 mmol) en metanol (10 ml) se añadió una solución de oxone (2,0 g, 3,26 mmol) en agua (5,0 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente orgánico se eliminó a vacío. Se añadió agua (10 ml) y el sólido se recogió mediante filtración. La torta del filtro se lavó con agua (5,0 ml x5) y después se secó a vacío. El residuo se purificó

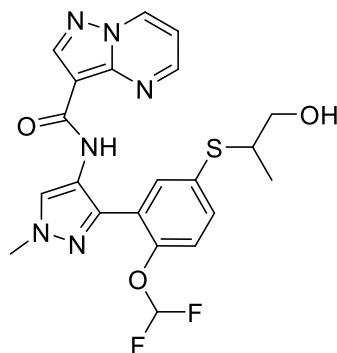
mediante HPLC prep. (columna: columna C18 OBD Prep XBridge, 30×150 mm 5 μ m; fase móvil A: agua (NH_4HCO_3 a 10 mmol/L), fase móvil B: ACN; caudal:60 ml/min; gradiente:16 % de B a 37 % de B en 8 min; 254 nm; R_T 1:7,45 min). El producto se agitó en 3,0 ml de etanol durante la noche a temperatura ambiente para producir *N*-[3-
 5 [2-(difluorometoxi)-5-[(2*S*)-2-hidroxiopropil]sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-
 a]pirimidin-3-carboxamida (771 mg,1,51 mmol, 92 % de rendimiento) como un sólido blancuzco. LC/MS (Procedimiento O, ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+=507,2$ R_T = 1,26 min. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,69 (s, 1H), 9,35 (dd, J = 6,8, 1,6 Hz, 1H), 8,70 – 8,68 (m, 2H), 8,34 (s, 1H), 8,10 – 8,04 (m, 2H), 7,68 – 7,29 (m, 3H), 4,90 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 4,10 – 4,04
 10 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,50 – 3,40 (m, 2H), 1,12 (d, J = 6,0 Hz, 3H).

Ejemplo 23 y 24



**(*R*)-*N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((1-hidroxiopropan-2-il)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-
 pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida y (*S*)-*N*-(3-(2-(difluorometoxi)-
 15 5-((1-hidroxiopropan-2-il)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-
 a]pirimidin-3-carboxamida**

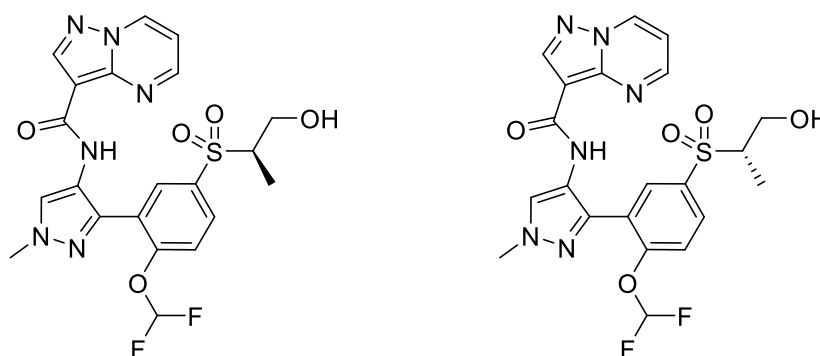
Etapas 1: Síntesis de *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((1-hidroxiopropan-2-il)tio)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



20 A una solución de *N*-[3-[5-bromo-2-(difluorometoxi)fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (2,00 g, 4,32 mmol) en 1,4-dioxano (100 ml) se añadió $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (396 mg, 0,431 mmol), Xantphos (500 mg, 0,864 mmol) y DIPEA

(1,67 g, 13,0 mmol) a temperatura ambiente en nitrógeno. La solución resultante se agitó durante 15 minutos en RT y se calentó a 90 °C. Se añadió 2-sulfanilpropan-1-ol (580 mg, 6,29 mmol) a la mezcla de reacción y la mezcla resultante se agitó a 90 °C durante 10 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y la suspensión se
 5 filtró a través de Celite. El filtrado se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice que eluyó con DCM/EA (0 %~100 %) para proporcionar *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxi-1-metil-etil)sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (1,74 g, 3,67 mmol, 85 % de rendimiento) como un sólido blancuzco. LC/MS (Procedimiento I, ESI): [M+H]⁺= 507,2
 10 *R*_T = 0,97 min.

Etapla 2: Síntesis de *N*-(3-(2-(difluorometoxi)-5-((1-hidroxiopropan-2-il)sulfonil)fenil)-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida



Una solución de *N*-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxi-1-metil-etil)sulfanil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida (850 mg, 1,79 mmol) en metanol (8,0 ml) se agitó a 0 °C durante 5 min. Después se añadió una solución de oxone (2,20 g, 3,58 mmol) en agua (8,0 ml) a 0 °C. La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró y se filtró. La torta del
 15 filtro se mezcló con DCM (10 ml) y se filtró. El filtrado se concentró a vacío para producir el producto (779 mg, 1,54 mmol, 86 % de rendimiento). Esta reacción se repitió a la misma escala y se combinó para producir 1,10 g (61 % de rendimiento de racemato). El producto combinado se purificó mediante SFC quiral con las siguientes condiciones: columna: celulosa 4 Lux 5 um, 5 * 25 cm, 5 μm; Fase móvil A: CO₂, fase móvil B: EtOH:ACN = 2:1 (2 mM NH₃-MeOH); caudal:150 ml/min; gradiente: 40 % de
 20 B; 220 nm; *R*_T1: 9,03 min; *R*_T2: 10,79 min. Las fracciones que contienen los dos enantiómeros se combinaron y concentraron, y ambos se recrystalizaron mediante agitación en 2 ml de isopropanol durante 2 días a temperatura ambiente. Los
 25

productos se aislaron mediante filtración para proporcionar los compuestos del título, con asignaciones estereoquímicas realizadas arbitrariamente.

Máximo 1: (*R*)-(N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxi-1-metil-etil)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida, 341 mg) se obtuvo como un sólido blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,67 (s, 1H), 9,34 (dd, *J* = 7,0, 1,6 Hz, 1H), 8,79 – 8,55 (m, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,17 – 7,85 (m, 2H), 7,79 – 7,16 (m, 3H), 4,96 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,70 (m, 1H), 3,60 – 3,27 (m, 2H), 1,22 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H). LC/MS (Procedimiento X, ESI): [M+H]⁺ = 507,1 R_T = 3,59 min.

Máximo 2: (*S*)-(N-[3-[2-(difluorometoxi)-5-(2-hidroxi-1-metil-etil)sulfonil-fenil]-1-metil-pirazol-4-il]pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-carboxamida, 411 mg) se obtuvo como un blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,67 (s, 1H), 9,34 (dd, *J* = 7,0, 1,6 Hz, 1H), 8,79 – 8,45 (m, 2H), 8,32 (s, 1H), 8,17 – 7,86 (m, 2H), 7,86 – 7,16 (m, 3H), 4,96 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,70 (m, 1H), 3,60 – 3,28 (m, 2H), 1,22 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H). LC/MS (Procedimiento X, ESI): [M+H]⁺ = 507,1 R_T = 3,56 min.

15

Ensayos

Agentes de prueba

Las muestras de los agentes de prueba se proporcionaron como soluciones a una concentración de 10 mM en dimetil sulfóxido (DMSO) y se almacenaron en la oscuridad a temperatura ambiente antes de su uso.

20

Ensayos bioquímicos de JAK1 y JAK2

Los ensayos bioquímicos *in vitro* cuantifican la fosforilación catalizada por JAK- de un péptido sintético, como se detecta usando un instrumento de cambio de movilidad microfluida LabChip® EZ Reader II (PerkinElmer; Waltham, MA). El sustrato péptido Y-1B tiene la secuencia 5-FAM-VALVDGYFRLTT-NH₂. Y-1B se marca de manera fluorescente en el extremo N-terminal con 5-FAM (5-carboxifluoresceína) y contiene un residuo de tirosina único (Y) que puede fosforilarse por la actividad JAK. La reserva del sustrato peptídico se prepara en DMSO a 5 mM. La proteína con dominio de cinasa JAK1 humana recombinante purificada (residuos 854–1154) se expresó en células de insecto y se obtuvo de Proteros Biostructures GmbH (Martinsried, Alemania). La proteína con dominio de cinasa JAK2 humana recombinante (Residues 812–1132) se expresó en células de insecto y se purificó en Genentech, Inc. (South San Francisco, CA).

Las mezclas de reacción con cinasa contenían tampón de ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanosulfónico (HEPES) 100 mM (pH 7,2), cloruro de magnesio 10 mM, 0,015

% de Brij® 35, ditioneitol 4 mM, 1,5 µM sustrato peptídico Y-1B, trifosfato de adenosina (ATP) 25 µM, JAK1 total 1 nM o JAK2 total 0,2 nM, y hasta 1000 nM del compuesto de prueba en una concentración final de 2 % de DMSO (volumen a volumen [v/v]). En cada experimento de titulación, el compuesto de prueba se sometió a prueba por duplicado en cada una de las doce concentraciones. Las reacciones de blanco contenían ATP, péptido y DMSO, pero no JAK o compuesto de prueba, mientras que las reacciones de control sin inhibición contenían ATP, péptido, JAK y DMSO, pero no compuesto de prueba.

Se añadió la mezcla de péptido más ATP (24 µL) a 1 µL de compuesto de prueba en DMSO (o DMSO solo). Las reacciones se iniciaron mediante la adición de 25 µL de la enzima JAK a la mezcla del inhibidor/péptido/ATP antes de mezclar completamente la solución resultante. Las reacciones se incubaron a temperatura ambiente (22°C–23°C) en un volumen final de 50 µL por pocillo en placas de 384-pocillos. Después de una incubación de 30-minutos, las reacciones se detuvieron mediante la adición de 25 µL de ácido etilendiaminotetraacético 150 mM en tampón HEPES 100 mM (pH 7,2) que contenía 0,015 % de Brij 35 por cada pocillo.

En cada reacción, el sustrato Y-1B residual y el producto fosfo-peptídico generado se separaron usando el instrumento EZ Reader II. La separación electroforética de las moléculas del producto a partir de las moléculas de sustrato se logró usando voltajes anteriores y posteriores de –500 y –2600 V, respectivamente, en una presión de funcionamiento de –1,3 psi. El grupo 5-FAM presente tanto en el sustrato como en los péptidos productos se excitó a 488 nm, la fluorescencia se detectó a 530 nm, y se informaron las alturas de los máximos.

Análisis de los datos

El grado (o por ciento) de conversión de sustrato a producto se calculó a partir de las alturas de los máximos correspondiente en el electroferograma usando el programa informático HTS Well Analyzer, versión 5.2 (PerkinElmer), y la siguiente ecuación (Ecuación 1):

Ecuación 1

$$\% \text{ de conversión} = [P \div (S + P)] \times 100$$

donde S y P representan las alturas de los máximos del sustrato y el producto, respectivamente. Después que cualquier señal inicial de los pocillos de blanco que no contenían JAK se restó de la señal de todos los pocillos de prueba, los datos de % de conversión se convirtieron a actividad fraccionada como se muestra en la ecuación 2,

donde v_i y v_o son el % de conversión en presencia y ausencia del compuesto de prueba, respectivamente. El % de conversión observado en las reacciones de control sin inhibir que contenían JAK y vehículo DMSO, pero no compuesto de prueba, se definió que tiene actividad fraccionada = 1 (sin inhibidor presente, $v_i = v_o$), mientras que se definió que los pocillos de blanco sin JAK tienen actividad fraccionada = 0. La actividad fraccionada se graficó contra la concentración del compuesto de prueba y los datos se ajustaron usando el programa informático XLfit (IDBS; Guildford, Reino Unido) a una ecuación cuadrática con constante de inhibición aparente de unión-estrecha (K_i^{ap}) (véase la ecuación 2) (Williams JW, Morrison JF. The kinetics of reversible tight-binding inhibition. *Methods Enzymol* 1979;**63**:437–67.), que se usó para calcular la actividad fraccionada y la K_i^{ap}

Ecuación 2

$$\text{Actividad fraccionada} = \frac{v_i}{v_o} = 1 - \frac{([E]_T + [I]_T + K_i^{ap}) - \sqrt{([E]_T + [I]_T + K_i^{ap})^2 - 4[E]_T[I]_T}}{2[E]_T}$$

donde $[E]_T$ y $[I]_T$ son las concentraciones totales de enzima activa (estimados iniciales de 0,15 nM para JAK1 y 0,048 nM para JAK2) y el inhibidor (el parámetro varió), respectivamente. Finalmente, la K_i se calculó a partir de la K_i^{ap} mediante la aplicación de la relación de inhibición competitiva (Ecuación 3)

Ecuación 3

$$K_i = K_i^{ap} / (1 + [ATP] / K_m^{ap})$$

donde $[ATP]$ es la concentración de ATP = 25 μ M, K_m^{ap} es la constante de Michaelis aparente para ATP = 32,1 μ M para JAK1, y $K_m^{ap} = 11,7 \mu$ M para JAK2. Para aplicar la Ecuación 2 de unión-estrecha para explicar cualquier agotamiento del inhibidor, y la relación de inhibición -competitiva Ecuación 3, la sensibilidad del ensayo puede extenderse al menos a una K_i calculada de 0,008 nM para JAK1 y 0,0015 nM para JAK2.

Selectividad de cinasas

La selectividad de cinasas *in vitro* de los agentes de prueba se evaluó a una concentración de 1 μ M en un panel de ensayos de unión y actividad cinasa humana recombinante, que incluye tirosina cinasas citoplásmicas y receptoras, serina/treonina cinasas y lípido cinasas (SelectScreen® servicios de determinación del perfil de cinasas, ThermoFisher Scientific, Madison, WI). Los ensayos de actividad cinasa miden la fosforilación peptídica (Z'-LYTE®) o la producción de ADP (Adapta®) mientras

que los ensayos de unión monitorean el desplazamiento de las sondas de unión a sitios de ATP (LanthaScreen®). Las concentraciones de ATP usadas en los ensayos de actividad se encontraban típicamente dentro de 2-veces del valor de la constante de Michaelis aparente (K_m^{ap}) determinada experimentalmente para cada cinasa mientras que las concentraciones de rastreadores de unión competitiva que se usaron en los ensayos de unión se encontraron en general dentro de 3-veces de los valores de la constante de disociación (K_d) determinada experimentalmente. Los inhibidores se analizaron por duplicado contra cada cinasa y se informan los valores medios del % de inhibición. Para las cinasas con una inhibición cercana al 50 % o mayor que este valor en la concentración de prueba 1- μ M inicial, se llevaron a cabo titulaciones del inhibidor de 10 puntos usando los mismos ensayos para determinar las concentraciones del inhibidor que causan el 50 % de inhibición (IC_{50}). La concentración total de JAK1 que se usó en este panel de ensayo fue 75 nM. Si el 100 % de la proteína JAK1 75 nM estaba catalíticamente activa, el límite de sensibilidad del inhibidor de JAK1 del ensayo de JAK1 del fabricante tendría teóricamente un valor de IC_{50} de 37,5 nM (la mitad de la concentración enzimática total). Sin embargo, el ensayo de JAK1 SelectScreen® generó valores de IC_{50} para JAK1 para numerosos inhibidores que son mucho menores que 37,5 nM y que están de acuerdo con nuestras determinaciones internas. Por tanto, la concentración enzimática de JAK1 activa en el ensayo SelectScreen® debe ser mucho menor que la concentración de proteína JAK1 nominal total de 75 nM usada en el ensayo, y la sensibilidad observada de este ensayo es mucho mejor que el límite de IC_{50} de la sensibilidad teórica de 37,5 nM.

Análisis de los datos

Para ajustar los datos en los gráficos de concentración–inhibición de cinasa, los servicios de determinación del perfil de cinasas SelectScreen® usaron el programa informático XLfit (IDBS), Modelo núm. 205 (modelos de concentración sigmoidea–respuesta), que es un modelo de ajuste logístico de cuatro-parámetros descrito por la ecuación 4

Ecuación 4

$$y = A + \{(B - A) \div [1 + (C \div x)^D]\}$$

donde x es la concentración del inhibidor, y es el % de inhibición observado, A es el -valor de y mínimo, B es el valor de y- máximo, C es el valor de IC_{50} , y D es la pendiente de Hill. En determinados casos, se usó un ajuste logístico de tres-parámetros. Por ejemplo, si la meseta de la curva a una concentración

infinitamente baja del inhibidor no ajustó entre -20 % y 20 % de inhibición, esa meseta menor se ajustó a 0 % de inhibición, mientras que si la meseta de la curva en concentración infinita del inhibidor no ajustó entre 70 % y 130 % de inhibición, esa meseta superior se ajustó a 100 % de inhibición.

5 **Ensayos de selectividad de fosfo-STAT de las vías de JAK1 y JAK2 en la línea celular TF-1**

Las células de eritroleucemia humanas TF-1 (ATCC®; Manassas, VA; catálogo núm. CRL-2003™) se cultivaron en medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) complementado con 10 % de suero fetal bovino inactivado por -calor (FBS), factor
10 estimulante de colonias-de granulocitos y - macrófagos a 2 ng/ml, aminoácidos no esenciales 1 ×-(NEAA), y piruvato de sodio 1 mM. El día antes del ensayo, los cultivos se transfirieron a Opti-MEM™, 1 × NEAA, piruvato de sodio 1 mM y FBS desprovisto de carbón- al 0,5 % (medio con restricción de nutrientes). Las soluciones de reserva del inhibidor (5 mM en DMSO) se diluyeron en serie 1:2 en DMSO para generar una
15 titulación de concentración de 10-puntos (a 500 × de concentración de prueba), que se diluyó adicionalmente en una dilución de 50-veces en medio del ensayo (RPMI que contenía 1 × NEAA y piruvato de sodio 1 mM) para generar una titulación de concentración de 10 × (en DMSO al 2 %). Las células (300 000 células/pocillo en 35 µL de medio del ensayo) se sembraron en placas Greiner de 384-pocillos. El
20 inhibidor diluido a una concentración de 10 × (5 µL) se añadió a las células y las placas se incubaron durante 30 minutos a 37 °C en una incubadora humidificada. Las células se estimularon con la citocina humana recombinante en las concentraciones EC₉₀ respectivas, como se determinó previamente para cada lote individual. Para el ensayo del transductor de señales fosforilado y activador de la transcripción 6 (P-STAT6)
25 TF-1 + interleucina-13 (IL-13), se añadieron 10 µL de 250 ng/ml de IL-13 (R&D Systems; Minneapolis, MN) a las células, que se incubaron después durante 10 minutos a 37°C. Para el ensayo de P-STAT5 TF-1 + eritropoyetina (EPO), se añadieron 10 µL de EPO a 110 IU/ml (Gibco Life Technologies, catálogo núm. PHC2054) a las células, que se incubaron después durante 30 min a 37°C. Para
30 ambos ensayos, después de la incubación de las células se adicionaron 5 µL de tampón de lisis celular -frío 10 × (Cell Signaling Technologies; Danvers, MA; catálogo núm. 9803S) que contenía fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) 1 mM. Las placas del ensayo se congelaron a -80°C durante un mínimo de 1 hora. En el ensayo de IL-13, P-STAT6 se midió mediante recubrimiento de las placas de caprino anti-conejo (GAR)

(Meso Scale Discovery [MSD]; Rockville, MD; catálogo núm. MSD L21RA-1) con anticuerpo de conejo anti-STAT6 humano total (Cell Signaling Technologies; catálogo núm. 9362S), incubación de los lisados celulares en las placas recubiertas durante la noche a 4 °C, y después detección con anticuerpo de ratón Clon 16E12 anti-P-STAT6 (Tyr641) (MilliporeSigma; Burlington, MA; catálogo núm. 05-590, con marcaje personalizado mediante MSD con etiqueta SULFO-) usando protocolos estándar de procesamiento de placas, lavado y detección de MSD. En el ensayo de EPO, se detectó P-STAT5 mediante el uso del kit completo de lisado celular para fosfo-STAT5a,b (MSD; catálogo núm. K150IGD-1). La señal de electroquimioluminiscencia (ECL) de los pocillos se leyó en el lector MESO SECTOR S600 (MSD).

Análisis de los datos

El análisis de los datos se realizó mediante la sustracción del valor medio de ECL del control negativo (células estimuladas con citocina y tratadas con inhibidor control 20 μ M) del valor de ECL de todos los pocillos, determinación del por ciento del control para los valores de ECL de los pocillos con el compuesto de prueba con respecto al valor medio de ECL del control positivo (células estimuladas con citocina y tratadas con DMSO), y la determinación de la IC₅₀ para compuestos de prueba con un modelo de ajuste logístico de cuatro-parámetros como se muestra en la ecuación 4.

20 Ensayo de células P-STAT6 BEAS-2B + IL-13

Para estudiar el efecto de inhibidores de JAK1 en una línea celular que es relevante a la biología celular del asma en seres humanos, se desarrolló un ensayo de fosforilación de STAT6 con estimulación de IL-13– en la línea celular BEAS-2B de epitelio bronquial pulmonar humano.

25 Las células BEAS-2B (ATCC® CRL-9609™) se cultivaron en medio de cultivo de epitelio bronquial (BEGM) (Lonza catálogo núm. CC-3170; Walkersville, MD; o PromoCell catálogo núm. C-21060; Heidelberg, Alemania). Las soluciones de reserva de los compuestos de prueba (0,5 mM en DMSO) se diluyeron en serie 1:2 en DMSO para generar una curva de concentración de 10-puntos (a 500 $\times$ de concentración de prueba), que se diluyó adicionalmente mediante una etapa de dilución de 50-veces en
30 BEGM para generar una curva de concentración 10 $\times$ (en DMSO al 2 %). Las células se sembraron en 100 000 células/pocillo en 200 μ L de BEGM en placas de 96-pocillos y se incubaron durante 48 horas a 37°C en una incubadora humidificada. El medio se aspiró de las células y se reemplazó con 70 μ L de BEGM fresco. El compuesto de

prueba diluido (10 μ L; o DMSO al 2 % en medio del ensayo) se añadió a las células, y las placas se incubaron durante 1 hora a 37°C en una incubadora humidificada. Después se añadieron veinte μ L de IL-13 humana recombinante a 250 ng/ml (Bio Techne catálogo núm. 213-ILB) a las células y se incubaron durante 15 minutos a 37°C. El medio se aspiró de las células y se añadieron 60 μ L de tampón de lisis celular -frío 1 $\times$ (Cell Signaling Technologies; catálogo núm. 9803S) que contenía PMSF 1 mM a las células. Las placas del ensayo se incubaron a -80°C durante al menos 1 hora. P-STAT6 se midió mediante recubrimiento placas GAR (MSD; catálogo núm. L45RA-1) con anticuerpo de conejo anti-STAT6 humano total (Cell Signaling Technologies; catálogo núm. 9362S), incubación de los lisados celulares en las placas recubiertas durante la noche a 4 °C, y después detección con anticuerpo de ratón clon 16E12 anti-fosfo-STAT6 (Tyr641) (Millipore; catálogo núm. 05-590, con marcaje personalizado mediante MSD con etiqueta SULFO-) usando protocolos estándar de procesamiento de placas, lavado y detección de MSD. Las placas se leyeron en el MESO SECTOR S600.

Análisis de los datos

El análisis de los datos se realizó mediante sustracción de los valores del control negativo de todos los pocillos y determinación del por ciento del control mediante el uso de los valores del control positivo; la IC₅₀ se determinó con un modelo de ajuste logístico de cuatro-parámetros como se muestra en la ecuación 4.

Ensayos de citotoxicidad celular

Se usaron células A549 (ATCC® CCL-185™), Jurkat clon E6-1 (ATCC® TIB-152™) y HEK-293T (ATCC® CRL-1573™) mantenidas a una densidad de subconfluencia en matraces T175. Las células en fase de crecimiento exponencial se sembraron (450 células en 45 μ L de medio) en placas Greiner de 384 pocillos negras/transparentes tratadas con cultivo de tejidos (Greiner catálogo núm. 781091). Después de dispensar las células, las placas se dejaron alcanzar el equilibrio a temperatura ambiente durante 30 minutos, después de ese tiempo las placas de células se colocaron durante la noche en una incubadora a 37 °C con control de CO₂ y de la humedad. El día siguiente, las células se trataron con agente de prueba diluido en DMSO al 100 % (0,5 % concentración final de DMSO en las células) con una titulación de 10 puntos y una concentración superior de 50 μ M. Las células y los compuestos se incubaron después durante 72 horas en una incubadora a 37 °C con control de CO₂ y de la humedad, después de ese tiempo se midió la viabilidad celular mediante la adición del reactivo

CellTiter-Glo® (Promega G7572) a todos los pocillos. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 20 minutos y después la luminiscencia de los pocillos se leyó en un lector de placas EnVision (Perkin Elmer Life Sciences).

Los datos de los ensayos de JAK1 y JAK2 anteriores para los compuestos de la tabla

5 1 se muestran en la tabla 2 a continuación.

Tabla 2

	Enzima JAK1 Ki (nM)	Enzima JAK2 Ki (nM)	IC ₅₀ de JAK1 PSTAT6 BEAS2 B+IL13 celular (nM)	IC ₅₀ de JAK1 PSTAT6 TF- 1+IL13 celular (nM)	IC ₅₀ de JAK2 PSTAT5 TF-1+EPO celular (nM)	LC/MS Pro- cedi- miento	Ret, Tiem- po (min)	m/z
1	0,56	0,25	31	6,3	12	D	2,44	491,2
2	0,5	0,2	15	14	12	A	1,53	503,2
3	2	0,66	58			A	1,15	518,3
4	1,4	0,6	180			A	1,13	504,2
5	0,43	0,19	35	16	29	A	1,27	493,2
6	0,48	0,22	18			A	1,42	477,2
7	0,88	0,49	32	21	22	A	1,13	520,3
8	0,82	0,48	92			A	1,12	492,2
9	0,27	0,18	15			A	1,56	499,2
10	0,95	0,6	52			A	1,15	518,3
11	0,21	0,12	17			A	1,52	541,3
12	0,24	0,14	18	8,7	9,1	A	1,65	555,3
13	0,4	0,19	33	34	28	D	2,1	505,2
14	0,49	0,22	23			A	1,4	507,2
15	0,43	0,16	20			T	0,94	507,2
16	0,32	0,19	15			A	1,47	526,3
17	0,22	0,1	14			A	1,36	463,1
18	0,43	0,4	290			B	2,14	568,2
19	4	1,7	120			A	1,15	532,3
20	1,5	0,65	65			A	1,16	532,3
21	0,22	0,16	14			A	1,49	504,3
22	0,46	0,19	23	4,6	14	A	1,47	489,2
23	0,26	0,13	14	20	22	A	1,33	507,2
24	0,46	0,19	30			A	1,33	507,2
25	0,48	0,2	20	20	39	A	1,33	507,2
26	0,16	0,097	11			A	1,39	478,2
27	0,59	0,26	99			A	1,13	546,2
28	0,24	0,14	9,5	3,1	26	A	1,43	488,2
29	0,58	0,37	25			A	1,61	524,1
30	0,22	0,14	11			D	2,47	492,1
31	0,84	0,38	51			B	2,2	464,1
32	1,1	0,62	120			B	2,41	533,2
33	0,4	0,23	99			B	2,41	533,2
34	0,31	0,29	21			A	1,68	535,2
35	0,3	0,19	24	5,8	14	X	3,96	529,2
36	1,8	1,1		71	120	U	2,22	532,1
37	0,69	0,54	46	51	38	U	2,22	532,1
38	0,34	0,25	89			X	3,98	573,2

39	1,5	0,53	230			X	4,33	533,1
40	0,21	0,11	24	3,1	6,4	X	4,67	525,1
41	0,18	0,1	37	15	34	X	3,71	515,1
42	0,42	0,24	30	2,6	21	X	4,15	526,1
43	0,5	0,27	1000			X	3,75	542,1
44	0,52	0,34	29	14	15	X	3,18	556,1
45	0,71	0,35	35	10	38	D	2,49	514,1
46	0,26	0,087	49	27	61	B	2,19	490,1
47	0,31	0,33	210			X	2,98	558,2
48	0,52	0,39	130			X	3,11	572,2
49	0,5	0,37	28	20	34	X	3,02	586,2
50	1,7	1,9	50	27	160	X	2,97	546,2
51	0,39	0,21	100			X	3,82	530,1
52	2,2	1	96			X	3	544,2
53	0,94	0,19	50			X	3,07	598,2
54	1,2	0,21	140			X	3,1	641,2
55	0,93	0,98	71			X	3,19	624,2
56	0,71	0,76	56			X	3,16	626,2
57	0,57	0,54	54			X	3,15	626,2
58	0,89	0,86	40	24	32	X	3,12	600,2
59	0,53	0,54	32	13	28	X	3,09	600,2
60	1,1	2,5	44	24	170	X	3,06	572,2
61	0,81	0,77	34	190	200	X	3,06	584,2
62	2	0,93	150			X	3,83	592,1
63	0,58	0,28	71			X	3,53	507,1
64	1,9	0,84	210			X	3,8	592,2
65	0,72	0,24	72			X	3,66	529,1
66	0,55	0,18	380			X	3,5	515,1
67	0,48	0,24	25			X	2,97	527,1
68	0,6	0,25	62			X	3,78	521,2
69			77			X	3,72	521,2
70	1	0,33	75			X	3,79	521,2
71	1,4	0,46	110			X	3,78	521,2
72	0,94	1,5	31			X	2,89	546,2
73	0,63	0,21	53			A	1,32	522,2

- Como puede observarse en la tabla 2, todos los compuestos de la invención son muy activos en los ensayos bioquímicos de JAK1 y JAK2 así como, en la mayoría de los casos, uno o más de los ensayos basados en células para JAK1 y JAK2. Numerosos de los compuestos son sustancialmente equipotentes para JAK1 y JAK2.

La Tabla 3 a continuación proporciona los datos de unión a tejido pulmonar (LTB) de ratón (% unido) y los datos de citotoxicidad para compuestos seleccionados de la tabla 1.

Tabla 3

	% de LTB de ratón	EC ₅₀ en K-293 citotox (μM)	EC ₅₀ en Jurkat citotox (μM)	EC ₅₀ en A549 citotox (μM)
2	88,1	27,5	38,5	25,5
5	80,1	10,2	23	45,5
6		6,05	21,5	6,75

7	78,8	6,9	2,1	4,1
9		2,2	3,5	1,66
11		3,7	5,5	6,4
12	97,1	36	50	50
13	85	31	50	44
14	80,1	32	50	50
15	85,7	25	35	25
16	87,3	7,6	6,2	7,4
17	85,8	7,3	11	8,7
21	83	4,8	11	7,5
22	88,7	43	50	50
23	82,1	11	24	28
24	81,7	22	37	50
25	85	48	50	50
26	86,9	5,8	12	11
28	70,8	24	39	50
30	83,1	2,4	9,2	6,1
35	86,2	17	21	22
37	90,1	31	50	50
40	95,6	50	50	50
41	91,2	28	35	50
44	86,5	7	11	24
45	87,9	50	50	50
46	89,9	50	50	50
48	91,3			
49	84,4	14	24	33
68		19	32	50
56	91,4	10	24	50
59		14	30	43
63	80,5	20	35	50
69	78,4			
72		20	49	50
73	81,8	2,9	8,4	50

Tabla 3

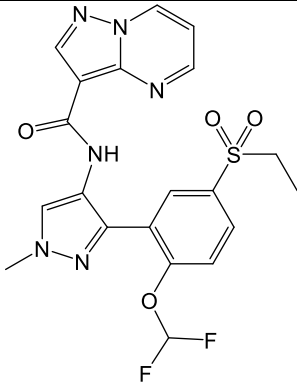
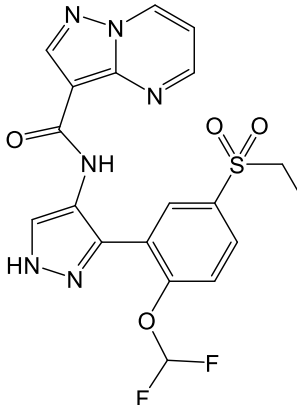
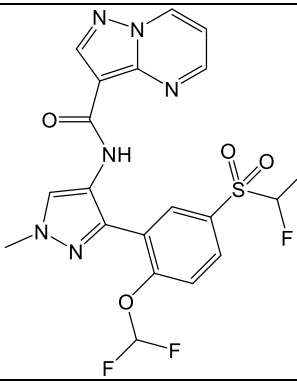
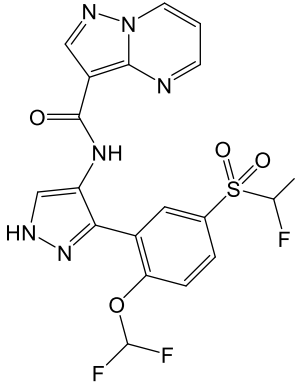
A partir de los datos en la tabla 3, se descubrió que los compuestos 1-metil-pirazol (es decir, R¹ en las fórmulas (I) - (III) es metil) tienen una citotoxicidad sorprendentemente menor en los ensayos de las líneas celulares K-293, Jurkat y A549 cuando se comparan con los análogos desmetilados correspondientes (R¹ es hidrógeno). La

5 Tabla 4 a continuación proporciona comparaciones de pares de análogos metilados-desmetilados (R¹ = metilo vs R¹ = hidrógeno) para los ejemplos 6, 9 y 17 de las Tablas 1 y 2.

10

Tabla 4

		EC50 en	EC50 en	EC50 en
--	--	---------	---------	---------

		K-293 citotox (μM)	Jurkat citotox (μM)	A549 citotox (μM)
Ejemplo 6 en la tabla 1.		6,05	21,5	6,75
Ejemplo. 192 en el documento WO201708 9390		0,436667	0,79	2,366667
Ejemplo 9 en la tabla 1.		2,2	3,5	1,66
		0,038	0,16	0,26

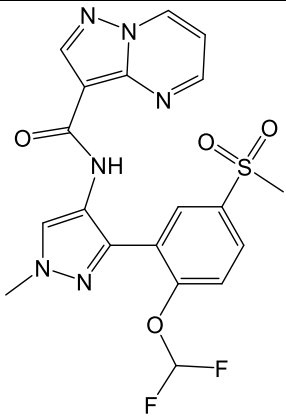
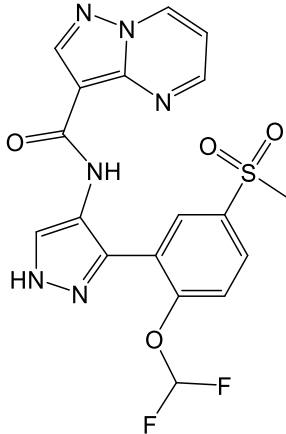
Ejemplo 17 en la tabla 1		7,3	11	8,7
Ejemplo 4 en el documento WO201708 9390		2,1	6,2	22

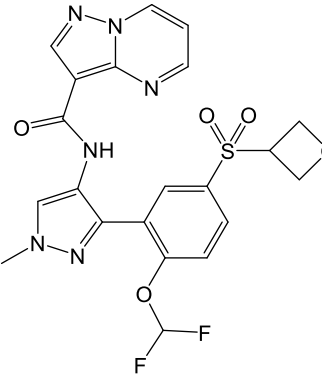
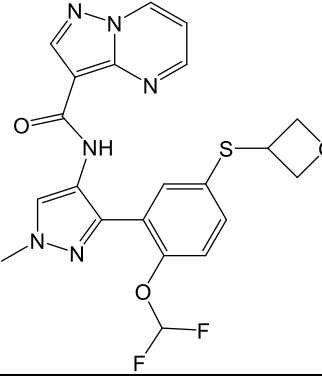
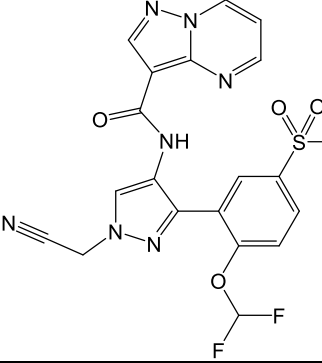
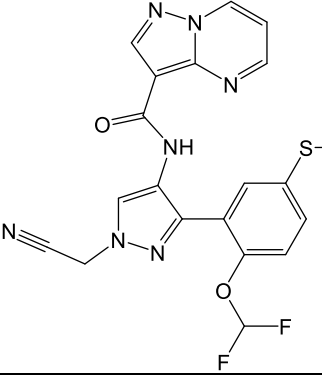
Tabla 4

A partir de los datos en la tabla 3, también se descubrió que los compuestos de sulfona de la invención presentan una unión a tejido pulmonar sorprendentemente mejorada cuando se comparan con los análogos de sulfuro correspondientes. La tabla 5 a continuación proporciona comparaciones de pares de análogos sulfona-sulfuro (R^1 = metilo vs R^1 = hidrógeno) para los ejemplos 13, 28 y 35 de las tablas 1 y 2

10

Tabla 5

		Unión a tejido pulmonar, %
--	--	-------------------------------

Ejemplo 13 en la tabla 1		85,8
		97,4
Ejemplo 28 en la tabla 1		70,8
		96,9

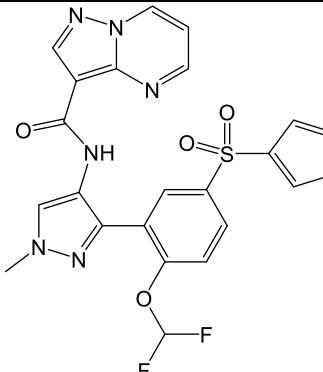
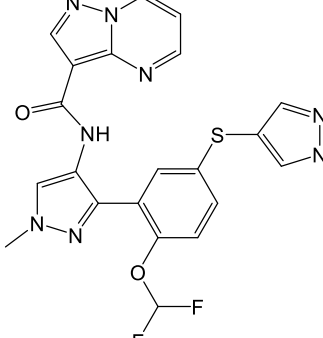
Ejemplo 35 en la tabla 1		86,2
		97

Tabla 5

Los compuestos de sulfona de la invención también presentan menor LogD, y aumento de la solubilidad cinética en comparación con los análogos de sulfuro correspondientes.

- 5 A partir de los datos en las tablas 2 y 3, también se descubrió que los compuestos de la invención en los que R¹ es metilo y R² es hidroxialquilo o alcoxialquilo presentan una afinidad buena y equilibrada para ambas JAK1 y JAK2, y además tienen unión al tejido pulmonar y citotoxicidad relativamente bajas.

Modelos animales

10 Modelo de ácaros del polvo de las casas (HDM) en ratón

Se adquirieron ratones C57BL/6J hembras de siete a ocho semanas de Jackson West. Los ratones se inmunizan en el día 0 y 14 con administración intraperitoneal de ácaros del polvo de las casas (HDM, D. Pteronyssinus, adquirido de Greer Laboratories, normalizado a un contenido de DerP1 de 0,918 ug por ratón) mezclado con 2 mg de alumbre (Thermo Scientific) diluido en PBS estéril. En los días 21 y 24, los ratones se expusieron a HDM (normalizado de nuevo para un contenido de DerP1 de 0,918 ug)

15 en PBS, dosificados mediante inhalación intratraqueal. Antes de cada exposición a HDM inhalados (y en un subconjunto de los grupos, también en los días 22 y 23), los animales reciben el compuesto de prueba por medio de inhalación solo por la nariz

20 (usando un equipo de inhalación de polvo seco de Electro-Medical Measurement

Systems (EMMS), que incluye un alimentador de polvo Wright y una torre de inhalación solo por la nariz de 4 capas/24 puertos o 2 capas/12 puertos, de flujo dirigido) que termina 1 hora antes de la exposición. Los animales de control reciben inhalación solo por la nariz de aire solamente. 24 horas después del tratamiento final, se extrae sangre de los ratones de manera retroorbital para PK en plasma, y después se realiza la eutanasia mediante inhalación de CO₂. Posterior a la eutanasia, se recoge fluido BAL para los conteos de células totales (mediante FACS, usando una cantidad conocida de microesferas de referencia añadidas) y diferencial (mediante citospina teñida con Wright Giemsa). Los pulmones y bazo se extraen, se pesan y se congelan para PK. Cada grupo tenía 5 o 6 animales.

Además, para validar la dosis suministrada a los pulmones, cada uno de los grupos satélite de PK de 3 animales sin exponer se dosifica con el compuesto de prueba por medio de inhalación solo por la nariz un único día o durante cuatro días consecutivos. Directamente después de la dosificación final por inhalación, se extrae sangre de los animales satélite para PK de manera retroorbital para PK en plasma, y después se realiza la eutanasia mediante inhalación de CO₂. Los pulmones y bazo se extraen y se pesan para análisis de PK.

Modelo de OVA en rata

Ratas Brown Norway, machos, de seis semanas de Charles River-Kingston. Las ratas se inmunizan en el día 0 con administración intraperitoneal de 150 µg de OVA (Sigma) mezclada con 40 mg de alumbre (Thermo Scientific) diluido en PBS estéril. 28 días después de la sensibilización, las ratas se expusieron con 2 % de OVA en PBS aerosolizado por medio de un nebulizador durante 30 minutos por tres días consecutivos. Antes de cada exposición a OVA, los animales reciben el compuesto de prueba para JAK1/JAK2 por medio de inhalación solo por la nariz (usando un equipo de inhalación de polvo seco de Electro-Medical Measurement Systems (EMMS), que incluye un alimentador de polvo Wright y una torre de inhalación solo por la nariz de 4 capas/24 puertos, de flujo dirigido) que termina 1 hora antes de la exposición. Los animales de control reciben tampón MCT por vía oral, o inhalación solo por la nariz de aire solamente. 24 horas después del tratamiento final, se realiza la eutanasia de las ratas mediante inhalación de CO₂. Se les extrae sangre de la aorta abdominal para PK en plasma y análisis de FACS en sangre completa. Posterior a la eutanasia, se recoge fluido BAL para los conteos de células totales (mediante FACS, usando una cantidad conocida de microesferas de referencia añadidas) y diferencial (mediante citospina teñida con Wright Giemsa). Los pulmones se extraen, se pesan y se congelan para

PK. Los bazo se pesan y cortan a la mitad para PK y para el análisis de FACS. Las muestras de sangre y bazo se analizan mediante FACS para los conteos de células totales y % de células NK (positivas a CD161a). Cada grupo tiene 6 animales, excepto el grupo control sin exposición, que tiene 5 animales.

- 5 Además, para validar la dosis suministrada a los pulmones, cada uno de los grupos satélite de PK de 3 animales sin exponer recibió el compuesto de prueba para JAK1/JAK2 por medio de inhalación solo por la nariz un único día o durante tres días. Directamente después de la dosificación final por inhalación, se realiza la eutanasia de los animales satélite de PK mediante inhalación de CO₂. Se les extrae sangre de la aorta abdominal para PK en plasma. Los pulmones y bazo se extrajeron y pesaron para el análisis de PK.

- Los niveles de los compuestos de prueba en plasma y pulmón y las relaciones de estos se determinan de la siguiente manera. Se usan ratones BALB/c de Charles River Laboratories en el ensayo. Los compuestos de prueba se formulan individualmente en Tween 80 al 0,2 % en solución salina y la solución de dosificación se introduce en la tráquea de un ratón mediante aspiración oral. En diversos puntos de tiempo (típicamente 0,167, 2, 6, 24 horas) después de la dosificación, se extraen muestras de sangre por medio de punción cardíaca y los pulmones intactos se extirpan de los ratones. Las muestras de sangre se centrifugan (centrífuga Eppendorf, 5804R) durante 4 minutos a aproximadamente 12 000 rpm a 4 °C. para recoger el plasma. Los pulmones se secan con almohadillas, se pesan y homogenizan a una dilución de 1:3 en agua estéril. Los niveles del compuesto de prueba en plasma y pulmón se determinan mediante análisis LC-MS contra estándares analíticos con los que se construye una curva estándar en la matriz de prueba. Se determina una relación de pulmón a plasma como la relación del AUC de pulmón en micro g h/g al AUC de plasma en micro g h/ml, donde AUC se define convencionalmente como el área bajo la curva de la concentración del compuesto de prueba contra el tiempo.

Farmacocinética en plasma y pulmón en ratón

- La farmacocinética de un compuesto se determina en ratones Balb/c hembras después de la administración de una dosis de 0,3 mg/kg formulada en Tween 80 al 0,2 % en solución salina mediante administración de la solución/suspensión del bolo intranasal (IN) único. Los ratones Balb/c, hembras, de 7-8 semanas, pueden adquirirse de Charles River. Los ratones se alojan en condiciones libres de patógenos específicos hasta que se usan en un estudio.

Los animales no se someten a ayuna antes de la dosificación. Se toman muestras de sangre de 3 animales por punto de tiempo a 0,083, 2, 7 y 24 horas después de la dosis, bajo anestesia (inyección intraperitoneal de pentobarbitona), por medio de punción cardíaca para microtainers recubiertos con EDTA. Las muestras de sangre se centrifugan (1500 g, 10 min a 4 °C) para separar el plasma. Las muestras de plasma se congelan a aproximadamente -80 °C. Después de la dosificación intranasal, antes de la perfusión del pulmón, los bazo se extraen, se pesan y congelan rápidamente. Después de confirmar la muerte, los pulmones de los animales dosificados se perfunden con PBS frío para eliminar la sangre residual de la vasculatura pulmonar. Después los pulmones se extirpan y se pesan (todos los pesos se registran). Todas las muestras de tejidos se congelan mediante inmersión en nitrógeno líquido. Las muestras de tejido se almacenan congeladas (*aproximadamente* -80 °C) hasta su análisis.

Antes del análisis de PK las muestras de tejido descongeladas (bazo y pulmón) se pesan y homogenizan después de la adición de 4 ml de agua con calidad para HPLC por cada gramo de tejido, usando un disruptor con microesferas Omni-Prep (Omni Inc., Kennesaw, GA) a 4 °C. Las muestras de plasma y homogenado de tejido se extraen usando precipitación de proteínas con cuatro volúmenes de acetonitrilo que contiene tolbutamida (200 ng/ml) o labetalol (100 ng/ml) como estándar interno. Las muestras se mezclan y centrifugan a 3200 g y 4 °C durante 30 minutos para eliminar las proteínas precipitadas, y el sobrenadante se diluye adecuadamente (por ejemplo 1:1, v/v) con agua con calidad para HPLC en una placa de 96 pocillos. Se analizan alícuotas representativas de muestras de plasma, bazo y pulmón para determinar las concentraciones del compuesto mediante LC-MS/MS en modo de ion positivo usando un Waters Xevo TQ-S (Waters, Elstree, UK) contra las curvas de calibración coincidentes con la matriz y estándares de control de calidad. Los estándares se preparan mediante la adición del compuesto en alícuotas de plasma, homogenado de bazo y tejido pulmonar de control y extracción como se describe para las muestras experimentales. El límite de detección del ensayo 0,168 mg/ml - 4000 ng/ml en todas las matrices.

Las concentraciones por debajo del límite de cuantificación inferior (LLOQ) se tratan como cero para el cálculo de la media y SD. Las concentraciones medias medidas en las muestras se usan para construir los perfiles de las curvas de concentración semi-logarítmica –tiempo. El análisis farmacocinético (PK) se realiza usando procedimientos no-compartimentales en Biobook (E-WorkbookIDBS).

Modelo murino de inflamación eosinofílica del pulmón inducida por Alternaria alternata

La eosinofilia de las vías respiratorias es una característica distintiva del asma en humanos. Alternaria alternata es un aeroalergeno fúngico que puede exacerbar el asma en los seres humanos e induce inflamación eosinofílica en los pulmones de ratones (Havaux et al, Clin Exp Immunol. 2005, 139(2):179-88). En ratones, se ha demostrado que Alternaria activa indirectamente las células linfoides innatas de tipo 2 residentes en el tejido pulmonar, que responden a (por ejemplo, IL-2 e IL-7) y liberan citocinas dependientes de JAK (por ejemplo, IL-5 e IL-13) y coordinan la inflamación eosinofílica (Bartemes et al, J Immunol. 2012, 188(3):1503-13).

En el estudio se usan ratones C57 machos, de siete a nueve semanas de edad, de Taconic. El día del estudio, los animales se anestesian ligeramente con isoflurano y se les administra el vehículo o el compuesto de prueba por medio de aspiración orofaríngea. Los animales se colocan en decúbito lateral después de la dosis y se controla su recuperación completa de la anestesia antes de ser devueltos a sus cajas. Una hora más tarde, los animales se anestesian de nuevo brevemente y se exponen al vehículo o a un extracto de Alternaria por medio de aspiración orofaríngea antes de controlar su recuperación de la anestesia y se devuelven a su caja. Cuarenta y ocho horas después de la administración de Alternaria, se recoge el líquido de lavado broncoalveolar (BALF) y los eosinófilos se cuentan en el BALF usando el sistema para hematología Advia 120 (Siemens).

La actividad del compuesto en el modelo se evidencia por una disminución en el nivel de eosinófilos presentes en el BALF de los animales tratados a las cuarenta y ocho horas en comparación con los animales de control expuestos a Alternaria y tratados con vehículo. Los datos se expresan como por ciento de inhibición de la respuesta de eosinófilos en el BALF expuesto a Alternaria tratados con vehículo. Para calcular el por ciento de inhibición, la cantidad de eosinófilos en el BALF para cada condición se convierte a por ciento de eosinófilos promedio en el BALF expuesto a Alternaria, tratado con vehículo, y se sustrae del cien por ciento.