

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 377 469**

51 Int. Cl.:
C07D 513/04 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07835061 .8**
96 Fecha de presentación: **27.09.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2069364**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.06.2009**

54 Título: **Nuevos derivados 5,7-disustituídos de [1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona y su uso en terapia**

30 Prioridad:
29.09.2006 US 827460 P
04.10.2006 US 828125 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
27.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
27.03.2012

73 Titular/es:
AstraZeneca AB
51 85 Södertälje, SE

72 Inventor/es:
JOHANSSON, Rolf;
KARLSTRÖM, Sofia;
KERS, Annika;
NORDVALL, Gunnar;
REIN, Tobias y
SLIVO, Can

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 377 469 T3

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

DESCRIPCIÓN

Nuevos derivados 5,7-disustituídos de [1,3] tiazolo [4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona y su uso en terapia

Campo de la invención

5 La presente invención divulga nuevos derivados 5,7-disustituídos de [1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona junto con los procesos para su preparación, las formulaciones farmacéuticas que los contienen y dichos compuestos para uso en terapia.

Fundamentos de la invención

10 Las quimioquinas desempeñan un papel importante en la respuesta inmune e inflamatoria en varias enfermedades y trastornos, incluidas el asma, aterosclerosis y enfermedades alérgicas, así como patologías autoinmunes, tales como artritis reumatoide y esclerosis múltiple. Estas pequeñas moléculas secretadas son una superfamilia creciente de proteínas 8-14 KDa caracterizadas por un motivo cisteína conservado. A día de hoy, la superfamilia de quimioquinas comprende cuatro grupos que exhiben motivos estructurales característicos, las familias C-X-C, C-C, C-X₃-C y XC. Las familias C-X-C y C-C tienen similitud secuencial y se distinguen una de otra basándose en una única inserción de aminoácido entre el par de residuos de cisteína contiguo a NH. La familia C-X₃-C se distingue de 15 las otras dos familias basándose en que tiene una triple inserción de aminoácido entre el par de residuos de cisteína contiguo a NH. Por el contrario, los miembros de la familia XC carecen de uno de los dos primeros residuos de cisteína.

Las quimioquinas C-X-C incluyen varios quimioattractantes y activadores de neutrófilos potentes, tales como interleuquina-8 (IL-8) y péptido activador de neutrófilos 2 (NAP-2).

20 Las quimioquinas C-C incluyen quimioattractantes de monocitos, linfocitos y neutrófilos potentes. Los ejemplos incluyen proteínas quimiotácticas monocíticas 1-3 humanas (MCP-1, MCP-2 y MCP-3, por sus siglas en inglés), RANTES (citoquina expresada y secretada por el linfocito T normal en función de su grado de activación), eotaxina y las proteínas inflamatorias macrófagas 1 α y 1 β (MIP-1 α y MIP-1 β).

25 La quimioquina C-X₃-C (también conocida como fractalquina) es un quimioattractante y activador potente de microglia en el sistema nervioso central (SNC), así como monocitos, linfocitos T, células NK y mastocitos.

30 Los estudios han demostrado que las acciones de las quimioquinas están mediadas por las superfamilias de proteínas G acopladas a receptores, entre los cuales se encuentran los receptores denominados CCR1, CCR2, CCR2A, CCR2B, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10 y CCR11 (para la familia C-C); CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4 y CXCR5 (para la familia C-X-C) y CX₃CR1 para la familia C-X₃-C. Estos receptores representan objetivos buenos para el desarrollo de fármacos, ya que los agentes que modulan estos receptores podrían ser útiles en el tratamiento de trastornos y enfermedades tales como las mencionadas anteriormente.

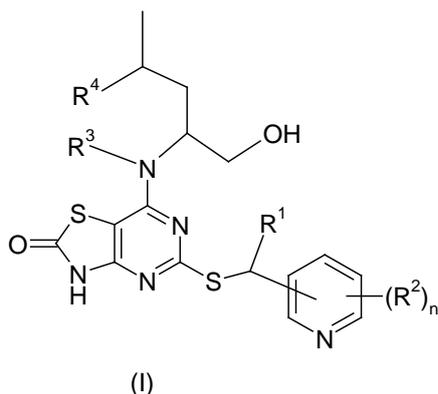
WO 01/25242 divulga ciertos derivados de tiazolo[4,5-d]pirimidina que son útiles como antagonistas de receptores relacionados con las familias C-X-C y C-C de quimioquinas, particularmente como antagonistas del receptor CXCR2,

35 El documento WO 2005/033115 divulga derivados sustituidos de 4-aminotiazolo-[4,5-d] pirimidina como antagonistas de receptores de quimioquinas especialmente CX₃CR1,

La presente invención se refiere a un grupo de compuestos relacionados con los compuestos divulgados en los documentos WO 01/25242 y WO2005/033115, pero son de un tipo estructural no ejemplarizado específicamente en dicho documento. Al comprarlos con los Ejemplos divulgados en WO 01/58907, los compuestos de la presente invención exhiben propiedades sorprendentemente útiles como antagonistas del receptor CX₃CR1,

40 Descripción de la invención

La presente invención estipula compuestos de fórmula (I)



donde:

R¹ representa CH₃ o CF₃;

R² representa halo, CN o alquilo C₁₋₆;

5 R³ representa H o CH₃;

R⁴ representa H o CH₃;

n representa 0, 1 ó 2;

como una base libre o una de sus sales, solvatos o solvatos de una sal farmacéuticamente aceptables.

En una realización de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde n representa 1,

10 En otra realización de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde R¹ representa CH₃,

En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde R² representa halo o CN.

En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde R² representa F o Cl.

En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde R² representa CN.

15 En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde n representa 1; R¹ representa CH₃; y R² representa F, Cl o CN.

En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde la piridina está enlazada en su posición 5 y tiene Cl en la posición 2,

En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde la piridina está enlazada en su posición 2 y tiene CN en la posición 4,

20 En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde la piridina está enlazada en su posición 2 y tiene F en la posición 5,

En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde la piridina está enlazada en su posición 2 y tiene Cl en la posición 5,

25 En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde la piridina está enlazada en su posición 2 y tiene F en la posición 3,

En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde la piridina está enlazada en su posición 4 y tiene F en la posición 3,

En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde R³ representa H.

En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), donde R⁴ representa CH₃,

30 En otra realización más de la invención, se estipulan compuestos de fórmula (I), seleccionados de:

5-[[1S]-1-(5-cloropiridin-2-il)etil]tio]-7-[[1R]-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona;

5-[[1S)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etil]tio]-7-[[1R)-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona;

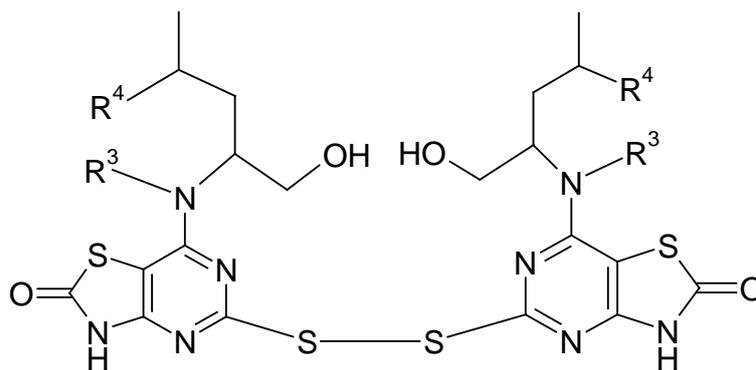
5-[[1-(3-fluoropiridin-4-il)etil]tio]-7-[[1*R*]-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona;
 5-[[1(*S*)-1-(3-fluoropiridin-4-il)etil]tio]-7-[[1*R*]-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona;
 5-[[1*R*]-1-(3-fluoropiridin-4-il)etil]tio]-7-[[1(*R*)-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona;
 5-[[1(*S*)-1-(3-fluoropiridin-2-il)etil]tio]-7-[[1(*R*)-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona;
 5 2-[[1(*S*)-1-[[7-[[1(*R*)-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino]-2-oxo-2,3-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-5-il]tio]etil]isonicotinonitrilo;
 5-[[1(*S*)-1-(6-cloropiridin-3-il)etil]tio]-7-[[1(*R*)-1-(hidroximetil)butil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona; y
 5-[[1(*S*)-1-(6-cloropiridin-3-il)etil]tio]-7-[[1(*R*)-1-(hidroximetil)butil](metil)amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona;
 como una base libre o una de sus sales, solvatos o solvatos de una sal farmacéuticamente aceptables.

10 Los compuestos de fórmula (I) pueden presentarse en formas estereoisoméricas y/o tautoméricas. Se debe entender que todos los enantiómeros, diastereoisómeros, racematos, tautómeros y sus mezclas están incluidos dentro del alcance de la invención.

Al compararlos con los compuestos divulgados en WO 01/25242, los compuestos de la presente invención se caracterizan por la presencia de grupos tioalquilpiridilo ramificados en la posición 5 del sistema de anillo tiazolopirimidina. Es decir, los compuestos de la presente invención incorporan un grupo R¹ que no es hidrógeno.

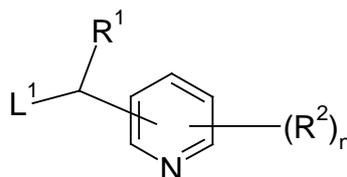
15 Según la invención, los inventores estipulan además un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (I), o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables, que comprende:

a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II):



(II)

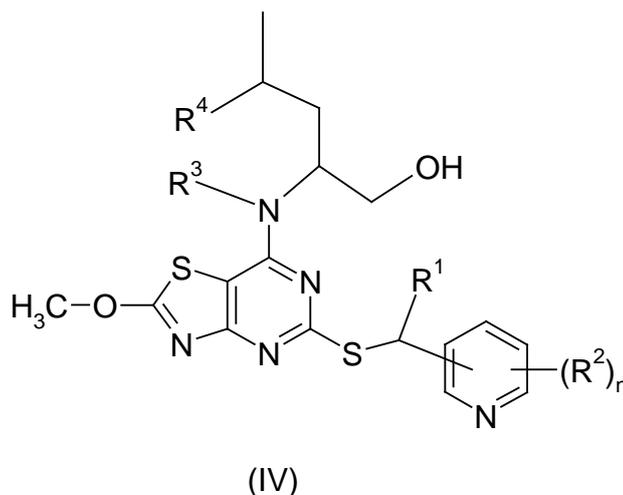
20 donde R³ y R⁴ son como se definieron para la fórmula (I);
 con un compuesto de fórmula (III):



(III)

donde R¹, R² y n son como se definieron para la fórmula (I) y L¹ representa un grupo saliente; o

b) hidrolizar un compuesto de fórmula (IV)



donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y n son como se definieron para la fórmula (I);

5 y, cuando sea necesario, convertir el compuesto de fórmula (I) resultante, u otra de sus sales, en una sal farmacéuticamente aceptable de éste; o convertir el compuesto de fórmula (I) resultante en un compuesto adicional de fórmula (I); y, cuando se desee, convertir el compuesto de fórmula (I) resultante en uno de sus isómeros ópticos.

10 En el proceso (a), los reactivos (II) y (III) se unen en un solvente orgánico adecuado, tal como dimetilsulfóxido (DMSO), acetonitrilo o 1-metil-2-pirrolidinona (NMP). La reacción se lleva a cabo opcionalmente en presencia de una base orgánica o inorgánica añadida, tal como trietilamina, *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) o hidruro de sodio. La reacción se lleva a cabo en presencia de un agente reductor moderado, tal como borohidruro de sodio. La reacción se lleva a cabo a una temperatura adecuada, normalmente entre temperatura ambiente y el punto de ebullición del solvente. La reacción continúa, generalmente, durante un periodo de aproximadamente una hora a una semana, o hasta que un análisis indique que la formación del producto requerido ha finalizado. Un grupo saliente adecuado L^1 es halógeno, particularmente cloro o bromo. En una realización, L^1 representa cloro.

15 En el proceso (b), el reactivo (IV) se somete a hidrólisis catalizada con ácido en un solvente orgánico adecuado tal como 1,4-dioxano, tetrahidrofurano (THF), sulfóxido de dimetilo (DMSO) o 1-metil-2-pirrolidinona (NMP). Los ácidos adecuados incluyen ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico o ácido bromhídrico, o ácidos orgánicos fuertes tales como ácido trifluoroacético. La reacción se lleva a cabo a una temperatura adecuada, normalmente de entre temperatura ambiente y el punto de ebullición del solvente. La reacción continúa, generalmente, durante un periodo de aproximadamente una hora a un día, o hasta que un análisis indique que la formación del producto requerido ha finalizado.

20 En el proceso (b), el reactivo (IV) se somete a hidrólisis ácida catalizada en un solvente orgánico adecuado, tal como 1,4-dioxano, tetrahidrofurano (THF), dimetilsulfóxido (DMSO) o 1-metil-2-pirrolidinona (NMP). Los ácidos adecuados incluyen ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico o ácido bromhídrico, o ácidos orgánicos fuertes, tales como ácido trifluoroacético. La reacción se lleva a cabo a una temperatura adecuada, normalmente entre temperatura ambiente y el punto de ebullición del solvente. La reacción continúa, generalmente, durante un periodo de aproximadamente una hora a un día, o hasta que un análisis indique que la formación del producto requerido ha finalizado.

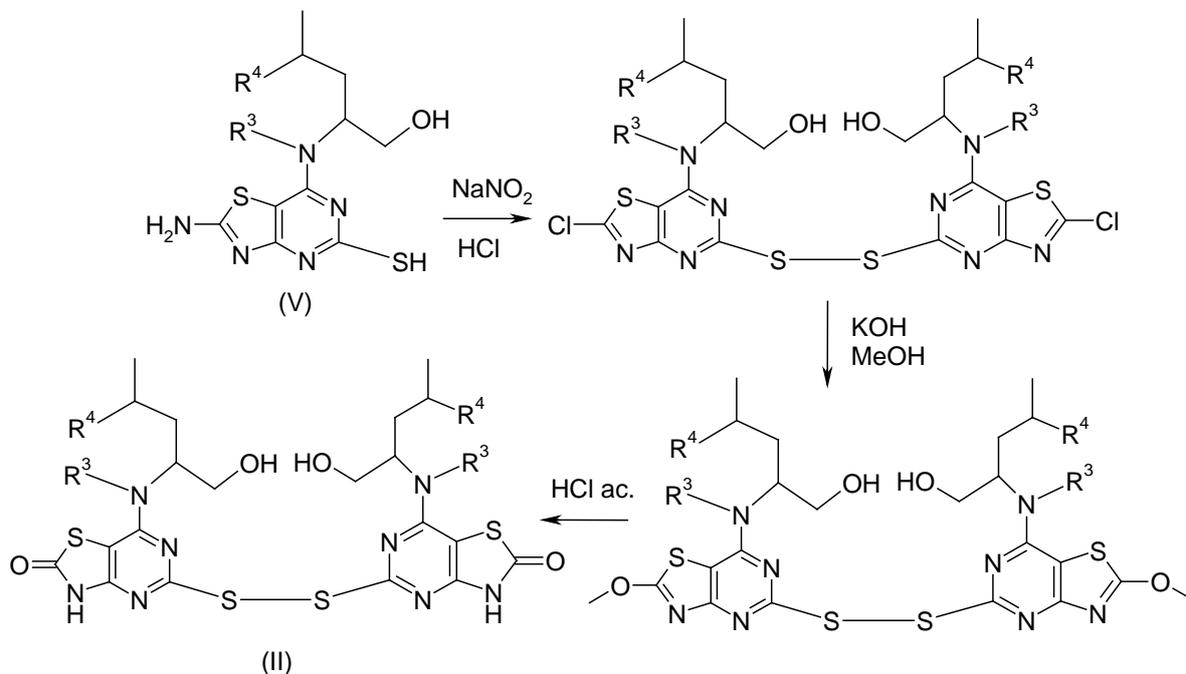
25 Será evidente para un experto en la materia que en los procesos anteriores puede ser conveniente o necesario proteger una amina, hidroxilo u otro grupo potencialmente reactivo. Los grupos protectores adecuados y los detalles de los procesos para añadir o eliminar tales grupos son, en general, conocidos en la materia. Véase, por ejemplo, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3.^a edición (1999) de Greene y Wuts.

30 La presente invención incluye compuestos de fórmula (I) en forma de sales. Las sales adecuadas incluyen las que se forman con ácidos orgánicos o inorgánicos, o con bases orgánicas o inorgánicas. Tales sales serán normalmente farmacéuticamente aceptables, aunque las sales de ácidos o bases que no son farmacéuticamente aceptables pueden ser de utilidad en la preparación y purificación del compuesto en cuestión.

35 Las sales de los compuestos de fórmula (I) se pueden formar al reaccionar el compuesto libre, o una sal, enantiómero o racemato de éste, con uno o más equivalentes del ácido o de la base adecuada. La reacción puede llevarse a cabo en un solvente o medio en el cual la sal es insoluble o en un solvente en el cual la sal es soluble, por ejemplo, agua, dioxano, etanol, tetrahidrofurano o dietil éter, o una mezcla de solventes, los cuales se pueden eliminar al vacío o mediante liofilización. La reacción también puede ser un proceso metatético o puede llevarse a cabo sobre una resina de intercambio iónico.

Los compuestos de fórmula (II) pueden, en general, prepararse utilizando métodos conocidos que serán fácilmente reconocidos por los expertos en la materia. Se muestra en el Esquema 1 una de tales rutas adecuadas.

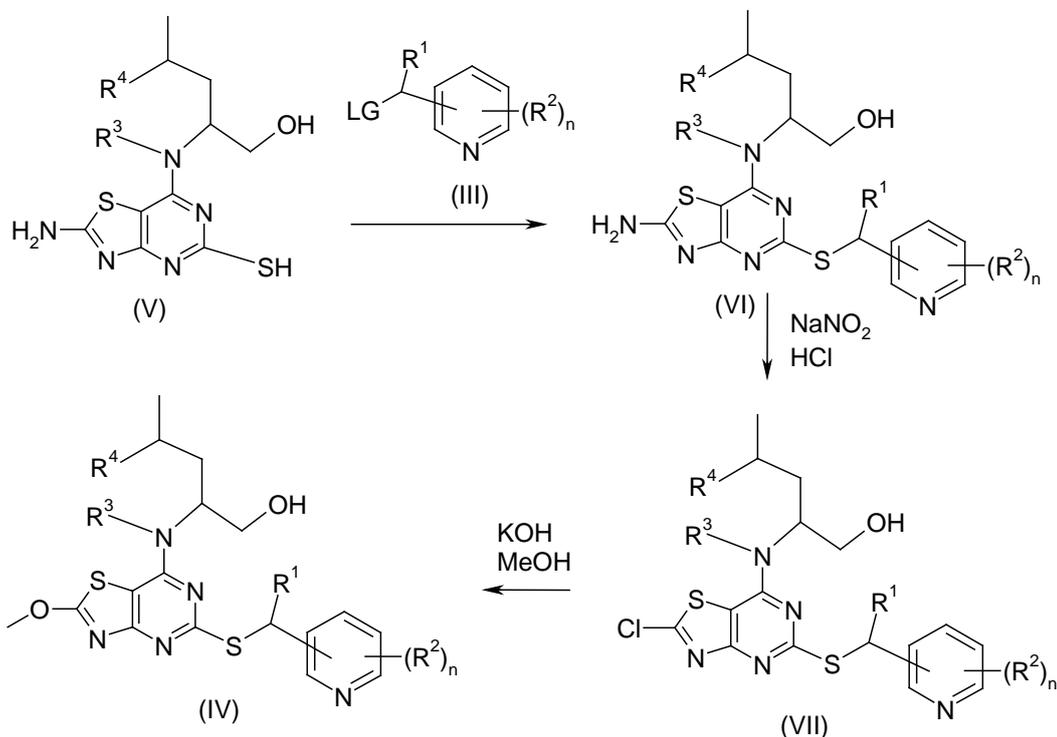
Esquema 1



5 Los compuestos de fórmula (III) están disponibles comercialmente, o se conocen por medio de la bibliografía, o se pueden preparar utilizando técnicas conocidas que serán fácilmente reconocidas por los expertos en la materia.

Los compuestos de fórmula (IV) se conocen por, por ejemplo, WO 01/25242 ó WO 05/33115, o se pueden preparar utilizando métodos conocidos que serán fácilmente reconocidos por los expertos en la materia. Se muestra en el Esquema 2 una de tales vías adecuadas.

Esquema 2

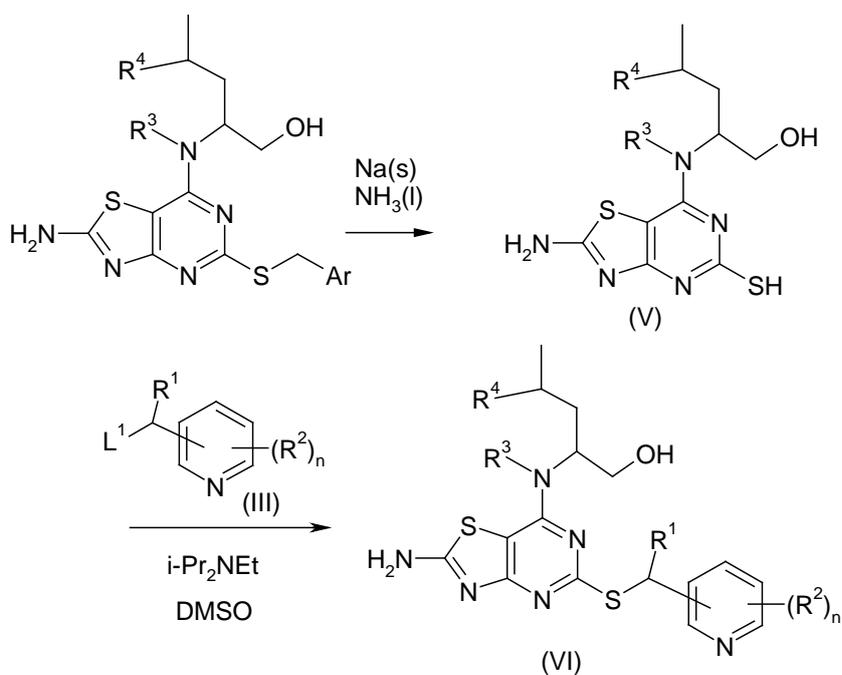


Los compuestos de fórmula (V) se conocen por WO 01/58907, WO 01/25242 ó WO 02/76990, o se pueden preparar utilizando métodos conocidos que serán fácilmente reconocidos por los expertos en la materia.

Por ejemplo, los compuestos de fórmula (V) y, por consiguiente, los de fórmula (VI) pueden prepararse como se muestra en el Esquema 3:

5

Esquema 3



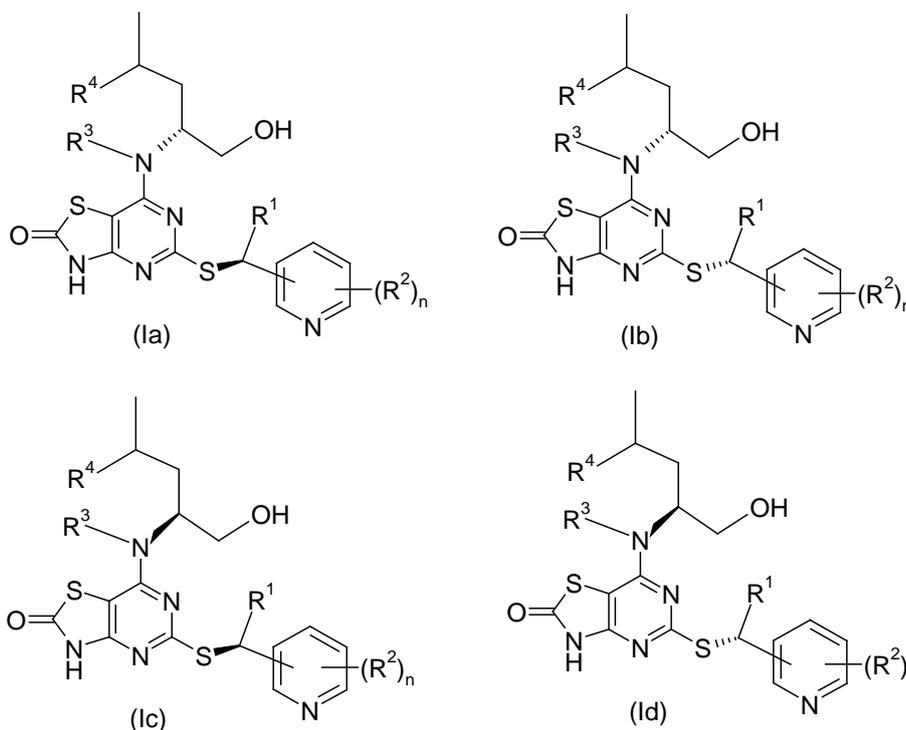
Los métodos específicos adecuados para la preparación de los compuestos de las fórmulas (II), (III), (IV), (V) y (VI) se exponen con detalle en la sección de los ejemplos de la presente solicitud y tales métodos representan realizaciones específicas de los procesos de la invención.

Se pueden utilizar los compuestos intermedios como tales o en forma protegida. Los grupos protectores adecuados y los detalles de los procesos para añadir o eliminar tales grupos son, en general, conocidos en la materia. Véase, por ejemplo, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3.^a edición (1999) de Greene y Wuts.

5 Los compuestos de la invención y sus intermedios pueden aislarse de sus mezclas de reacción y, si fuera necesario, purificarse utilizando técnicas estándares.

10 Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en formas estereoisoméricas. Por lo tanto, todos los enantiómeros, diastereoisómeros, racematos y sus mezclas están incluidos dentro del alcance de la invención. Los diferentes isómeros ópticos se pueden aislar separando una mezcla estereoisomérica de los compuestos utilizando técnicas convencionales, por ejemplo, cristalización fraccionada o HPLC. Como alternativa, los diferentes isómeros ópticos pueden prepararse directamente utilizando materiales de partida ópticamente activos.

Los compuestos de fórmula (I) contienen dos centros estereogénicos y pueden, por lo tanto, existir en cuatro formas estereoisoméricas discretas como se muestra en las fórmulas de (Ia) a (Id):



15 Por lo tanto, tales cuatro estereoisómeros y cualquiera de sus mezclas están incluidos dentro del alcance de la invención. En una realización, los compuestos de fórmula (I) tienen la estereoquímica que se muestra en la fórmula (Ia). En otra realización, los compuestos de fórmula (I) tienen la estereoquímica que se muestra en la fórmula (Ib).

Los compuestos intermedios también pueden presentarse en formas estereoisoméricas y se pueden utilizar como enantiómeros purificados, diastereoisómeros, racematos o mezclas.

20 En esta descripción, el término "C₁₋₆alquilo" incluye tanto cadenas lineales como ramificadas, así como grupos alquilo cíclicos. C₁₋₆alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono y puede ser, pero no se limita a, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *i*-butilo, *s*-butilo, *t*-butilo, *n*-pentilo, *i*-pentilo, *t*-pentilo, neopentilo, *n*-hexilo, *i*-hexilo o ciclohexilo.

En esta descripción, el término "halo" o "halógeno" se refiere a fluoro, cloro, bromo y yodo.

25 Los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables son útiles porque poseen actividad farmacológica como antagonistas del receptor CX₃CR1. En particular, cuando se comparan con los compuestos especialmente ejemplificados en WO 01/25242, los compuestos de fórmula (I) de la presente invención poseen potencias de inhibición del receptor CX₃CR1 significativamente mayores y/o potencias de inhibición del receptor CXCR2 menores. Los compuestos preferidos de la presente invención exhiben tanto una mayor potencia de inhibición de CX₃CR1 como una potencia de inhibición de CXCR2 menor.

30 En un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para su uso como un medicamento.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de enfermedades o afecciones en las cuales el antagonismo del receptor CX₃CR1 es beneficioso.

5 En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de trastornos neurodegenerativos, desmielinización, trastornos ateroscleróticos cardio y cerebrovasculares, enfermedad de las arterias periféricas, artritis reumatoide, enfermedades pulmonares, tales como EPOC, asma o dolor.

10 En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de esclerosis múltiple (EM).

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de aterosclerosis mediante la prevención y/o reducción de la formación de nuevas lesiones o placas ateroscleróticas y/o la prevención o ralentización de la progresión de lesiones o placas existentes.

15 En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de aterosclerosis mediante un cambio de la composición de las placas para reducir el riesgo de ruptura de las placas y de episodios aterotrombóticos.

20 En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis del accidente cerebrovascular o la lesión cerebral transitoria (TBI, por sus siglas en inglés).

25 En otro aspecto, la invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, mezclado con un adyuvante, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento o profilaxis de enfermedades o afecciones en las cuales el antagonismo del receptor CX₃CR1 es beneficioso.

30 En otro aspecto, la invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, mezclado con un adyuvante, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento o profilaxis de trastornos neurodegenerativos, desmielinización, trastornos ateroscleróticos cardio y cerebrovasculares, enfermedad de las arterias periféricas, artritis reumatoide, EPOC, asma o dolor.

En otro aspecto, la invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, mezclado con un adyuvante, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento o profilaxis de esclerosis múltiple.

35 En otro aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, mezclado con un adyuvante, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento o profilaxis de aterosclerosis mediante la prevención y reducción de la formación de nuevas lesiones y/o placas ateroscleróticas y/o la prevención o ralentización de la progresión de lesiones o placas existentes.

40 Los compuestos se pueden utilizar en monoterapia, o en terapia combinada, bien como tratamiento profiláctico o terapéutico de afecciones y enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central, tales como accidente cerebrovascular y lesión cerebral transitoria (TBI). (Soriano et al. *J. Neuroimmunology* **2002**, 125, 59-65).

45 En otro aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, mezclado con un adyuvante, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento o profilaxis de aterosclerosis mediante un cambio de la composición de las placas para reducir el riesgo de ruptura de las placas y de episodios aterotrombóticos.

Los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables están indicados para su uso en el tratamiento o profilaxis de enfermedades o afecciones en las cuales la modulación de la actividad del receptor CX₃CR1 es deseable.

50 En particular, los compuestos están indicados para su uso en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos o desmielinización en mamíferos, incluido el ser humano. Más particularmente, los compuestos se indican para su uso en el tratamiento de esclerosis múltiple. Los compuestos también se indican como útiles en el tratamiento de dolor, artritis reumatoide, osteoartritis, trastornos ateroscleróticos cardio y cerebrovasculares, enfermedad de las arterias periféricas y hipertensión arterial pulmonar.

Las afecciones que se pueden mencionar específicamente son: enfermedades neurodegenerativas y demencias, por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica y otras enfermedades neuromotoras, enfermedad de Creutzfeldt-Jacob y otras enfermedades priónicas, encefalopatía por VIH, enfermedad de Huntington, demencia frontotemporal, demencia con cuerpos de Lewy y demencia vascular; polineuropatías, por ejemplo, síndrome de Guillain-Barré, polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, neuropatía multifocal motora y plexopatías; desmielinización del SNC, por ejemplo, encefalomiелitis diseminada/hemorrágica aguda y panencefalitis esclerosante subaguda; trastornos neuromusculares, por ejemplo, miastenia grave y síndrome de Lambert-Eaton; trastornos medulares, por ejemplo, paraparesia espástica tropical y síndrome de stiff-man; síndromes paraneoplásicos, por ejemplo, degeneración del cerebelo y encefalomiелitis; lesión cerebral traumática; migraña; cáncer; rechazo de aloinjerto; esclerosis sistémica; infecciones víricas; enfermedades transmitidas por parásitos, por ejemplo, malaria; enfermedad periodontal; infarto de miocardio; accidente cerebrovascular; enfermedad coronaria cardíaca; enfermedad cardíaca isquémica; y restenosis; artritis reumatoide; enfermedades pulmonares, tales como EPOC; asma o dolor.

Los compuestos de la invención también están indicados para su uso en el tratamiento de aterosclerosis mediante la prevención y/o reducción de la formación de nuevas lesiones o placas ateroscleróticas y/o la prevención o ralentización de la progresión de lesiones o placas existentes.

Los compuestos de la invención también están indicados para su uso en el tratamiento de aterosclerosis mediante un cambio de la composición de las placas para reducir el riesgo de ruptura de las placas y de episodios aterotrombóticos.

Los compuestos de la invención también están indicados para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino (IBD, por sus siglas en inglés), por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa, mediante la inducción de la remisión y/o la conservación de la remisión de IBD.

Se espera que la profilaxis sea particularmente importante para el tratamiento de personas que han padecido episodios previos de, o bien se considera que corren un gran riesgo de padecer, la enfermedad o afección en cuestión. Las personas que corren riesgo de padecer una enfermedad o afección particular generalmente incluyen aquellas que tienen antecedentes familiares de la enfermedad o afección, o las que han sido identificadas por pruebas genéticas o de detección sistemática como particularmente propensas a padecer la enfermedad o afección.

Para las indicaciones terapéuticas mencionadas precedentemente, la dosificación administrada variará, por supuesto, con el compuesto empleado, el modo de administración y el tratamiento deseado.

Sin embargo, en general, se obtienen resultados satisfactorios cuando los compuestos se administran en dosificaciones de la forma sólida de entre 1 mg y 2000 mg por día.

Los compuestos de fórmula (I) y sus derivados farmacéuticamente aceptables, pueden utilizarse por sí solos, o en forma de composiciones farmacéuticas apropiadas en las cuales el compuesto o derivado está mezclado con un adyuvante, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable. La administración puede ser, pero no se limita a, entérica (incluida oral, sublingual o rectal), intranasal, intravenosa, tópica o por otras vías parenterales. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación de formulaciones farmacéuticas adecuadas se describen en, por ejemplo, "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988, La composición farmacéutica comprende, preferentemente, menos del 80% y más preferentemente menos del 50% de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

También se proporciona un proceso para la preparación de una composición farmacéutica tal que comprende mezclar los ingredientes.

También se proporciona un proceso para la preparación de una composición farmacéutica tal que comprende mezclar los ingredientes.

La invención se refiere además a terapias combinadas donde un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o una composición o formulación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), se administra al mismo tiempo que o secuencialmente con terapia y/o un agente para el tratamiento de cualquiera de los trastornos ateroscleróticos cardio y cerebrovasculares y la enfermedad de las arterias periféricas.

En particular, un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables puede administrarse asociado a compuestos de uno o más de los siguientes grupos:

1) agentes antiinflamatorios, por ejemplo,

- a) AINE (p.ej., ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, naproxeno, flurbiprofeno, diclofenaco, indometacina);
- b) inhibidores de la síntesis de leucotrienos (inhibidores de 5-LO, p. ej., AZD4407, zileuton, licofelona, CJ13610 y CJ13454; inhibidores de FLAP, p. ej., BAY-Y-1015, DG-031, MK591, MK886 y A81834; inhibidores de LTA4 hidrolasa, p. ej., SC56938 y SC57461A);
- c) antagonistas de receptores de leucotrienos; (p. ej., CP195543, amelubant, LY293111, accolate y MK571);

- 2) agentes antihipertensivos, por ejemplo,
- bloqueadores beta (p. ej., metoprolol, atenolol y sotalol);
 - inhibidores de enzima convertidora de angiotensina (p. ej., captopril, ramipril, quinapril y enalapril);
 - bloqueadores de canales de calcio (p. ej., verapamilo, diltiazem, felodipina y amlodipina);
 - antagonistas de receptores de angiotensina II (p. ej., irbesartán, candesartán, telemisartán y losartán);
- 3) anticoagulantes, por ejemplo,
- inhibidores de trombina (p. ej., ximelagatrán), heparinas, inhibidores del factor Xa;
 - inhibidores de la agregación plaquetaria (p. ej., clopidogrel, ticlopidina, prasugel y AZ4160);
- 4) moduladores del metabolismo lipídico, por ejemplo,
- sensibilizadores de insulina, tales como agonistas de PPAR (p. ej., pioglitazona, rosiglitazona, galida, muraglitazar, gefemrozil y fenofibrato);
 - inhibidores de HMG-CoA reductasa, estatinas (p. ej., simvastatina, pravastatina, atorvastatina, rosuvastatina, fluvastatina y pitavastatina);
 - inhibidores de la absorción de colesterol (p. ej., ezetimiba);
 - inhibidores de IBAT (p. ej., AZD-7806);
 - agonistas de LXR (p. ej., GW-683965A y T-0901317);
 - moduladores de receptores FXR;
 - inhibidores de fosfolipasas;
- 5) agentes antianginales, por ejemplo, nitratos y nitritos;
- 6) moduladores del estrés oxidativo, por ejemplo, antioxidantes (probucool), inhibidores de mieloperoxidasa.

La invención se ilustra, pero no de manera limitante, mediante los siguientes ejemplos:

Métodos Generales

Todos los solventes utilizados eran de grado analítico, y se utilizaron rutinariamente en las reacciones solventes anhidros comercialmente disponibles. Las reacciones se llevaron a cabo típicamente en atmósfera inerte de nitrógeno o argón.

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C se registraron a 400 MHz para el protón y a 100 MHz para el carbono-13 en un espectrómetro Varian Unity+ 400 RMN equipado con una sonda BBO de 5mm con gradientes Z, o un espectrómetro Bruker Avance 400 RMN equipado con una sonda dual de flujo inverso de 60 μl con gradientes Z, o un espectrómetro Bruker DPX 400 RMN equipado con una sonda de 4 núcleos con gradientes Z. Los espectros de ^1H RMN a 600 MHz se registraron en un espectrómetro Bruker av 600 RMN equipado con un cabezal de sonda BBI de 5 mm. Los espectros de ^1H RMN a 300 MHz se registraron en un espectrómetro Varian Gemini 300 RMN equipado con un cabezal de sonda BBI de 5 mm con gradientes Z. Los espectros de ^1H NMR a 500 MHz se registraron en un espectrómetro Varian Inova 500 MHz operando a un campo magnético de 11,74 T, equipado con una sonda de gradiente con un núcleo de 5 mm. A no ser que se indique específicamente en los ejemplos, los espectros se registraron a 400 MHz para el protón y a 100 MHz para el carbono-13. Se utilizaron las siguientes señales de referencia: la señal residual de DMSO- d_6 δ 2,50 (^1H), δ 39,51 (^{13}C); la señal residual de CD_3OD δ 3,31 (^1H) o δ 49,15 (^{13}C); acetona- d_6 2,04 (^1H), 206,5 (^{13}C); y CDCl_3 δ 7,26 (^1H), la señal residual de CDCl_3 δ 77,16 (^{13}C) (a no ser que se indique lo contrario).

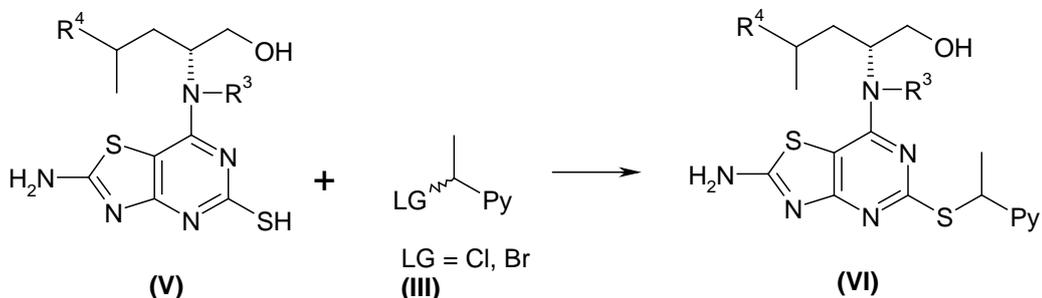
El exceso enantiomérico (e.e.) se determinó mediante CG en una columna Cyclodex B (elución isotérmica a 100 $^\circ\text{C}$) o en una columna Cyclosil B (gradiente de temperatura 110-130 $^\circ\text{C}$). El exceso diastereoisomérico (e.d.) se determinó mediante HPLC.

Los espectros de masas se registraron en un LCMS Waters que constaba de un Alliance 2795 (CL) y un espectrómetro de masas cuadrupolar simple ZQ. El espectrómetro de masas se equipó con una fuente de ionización por electronebulización (ESI) operada en modo de ionización positivo o negativo. El voltaje capilar era de 3 kV y se realizó un barrido del espectrómetro de masas de m/z 100-700 con un tiempo de barrido de 0,3 ó 0,8 s. Las separaciones se llevaron a cabo con Waters X-Terra MS, en columnas C8, (3,5 μm , 50 ó 100 mm x 2,1 mm de

- diámetro interno), o en una columna ACE 3 AQ de ScantecLab (100 mm x 2,1 mm de diámetro interno). La temperatura de la columna se fijó a 40 °C. Se aplicó un gradiente lineal utilizando un sistema de fase móvil neutra o ácida, pasando de 0% a 100% de fase orgánica en 4-5 minutos, velocidad de flujo 0,3 ml/min. Sistema de fase móvil neutra: acetonitrilo/[NH₄OAc 10 mM (ac.)/MeCN (95:5)] o [10 mM NH₄OAc (ac.)/MeCN (1/9)] / [10 mM NH₄OAc (ac.)/MeCN (9/1)]. Sistema de fase móvil ácida: [133 mM HCOOH (ac.)/MeCN (5/95)] / [8 mM HCOOH (ac.)/MeCN (98/2)]. Como alternativa, los espectros de masas se registraron en un espectrómetro Micromass LCT equipado con una fuente de ionización por electronebulización (ESI) operada en modo de ionización positivo.
- La identificación del compuesto se realizó en un sistema GC-MS (GC 6890, 5973N MSD) provisto por Agilent Technologies. La columna que se utilizó fue una VF-5 MS, 0,25 mm x 30 m, 0,25 μm de diámetro interno (Varian Inc.). Se aplicó un gradiente lineal de temperatura de 25 °C/minuto comenzando a 40 °C (mantenida durante 1 min) y terminando a 300 °C (mantenida durante 1 min). El MS se equipó con una fuente de ionización EI. Se realizó un barrido de MS de *m/z* 50-500 y se fijó la velocidad de barrido a 3,25 barridos/s. El voltaje electrónico se fijó a 70 eV.
- Los análisis HPLC se llevaron a cabo en un sistema Agilent HP1000 que constaba de un desgasificador a microvacío G1379A, una bomba binaria G1312A, un automuestreador de placa de pocillos G1367A, un compartimiento de columna termostático G1316A y un detector de haz de diodos G1315B. Columna: X-Terra MS, Waters, 4,6 x 50 mm, 3,5 μm. La temperatura de la columna se fijó a 40 °C y la velocidad de flujo en 1,5 ml/min. Se realizó un barrido del detector de haz de diodos de 210–300 nm, la amplitud del paso y de la señal se fijaron a 2 nm y 0,05 min, respectivamente. Se aplicó un gradiente lineal, pasando de 0% a 100% de acetonitrilo, en 4 min. Fase móvil: acetonitrilo/10 mM acetato amónico en 5 % de acetonitrilo en agua MilliQ.
- Un procedimiento de tratamiento típico después de una reacción consistía en la extracción del producto con un solvente, tal como acetato de etilo, el lavado con agua, seguido por el secado de la fase orgánica con MgSO₄ o Na₂SO₄ y la concentración de la solución al vacío.
- La cromatografía en capa fina (TLC) se realizó en placas de TLC de Merck (gel de sílice 60 F₂₅₄) y se utilizó una lámpara UV para visualizar las manchas. La cromatografía ultrarrápida (flash) se llevó a cabo en un Combi Flash[®] Companion[™] utilizando columnas ultrarrápidas de fase normal RediSep[™] o utilizando gel de sílice 60 de Merck (0,040–0,063 mm). Los solventes típicos utilizados para la cromatografía ultrarrápida eran mezclas de cloroformo/metanol, tolueno/acetato de etilo y acetato de etilo/hexanos.
- La cromatografía preparativa se realizó en un HPLC Gilson autopreparativo con un detector de haz de diodos utilizando una columna XTerra MS (C8, 19 x 300 mm, 7 μm), y un gradiente con acetonitrilo/acetato de amonio 0,1M en 5% de acetonitrilo en agua MilliQ, pasando de 20% a 60% de acetonitrilo en 13 min, y una velocidad de flujo de 20 ml/min, a no ser que se indique lo contrario en los ejemplos. Como alternativa, la purificación se llevó a cabo en un HPLC Shimadzu LC-8A semipreparativo con un detector vis-UV Shimadzu SPD-10A equipado con una columna Waters Symmetry[®] (C18, 5 μm, 100 mm x 19 mm). Gradiente con acetonitrilo/0,1% de ácido trifluoroacético en agua MilliQ, pasando de 35% a 60% de acetonitrilo en 20 min. Velocidad de flujo: 10ml/min. Como alternativa, la HPLC preparativa se realizó en un instrumento Agilent 1100 con detección UV. Columna: Kromasil-C18, 20 x 250 mm, 10 μm. Elución isocrática con fase móvil acetonitrilo/agua MilliQ/ácido fórmico (46/54/0,1). Velocidad de flujo: 19 ml/min.
- La recristalización se llevó a cabo, típicamente, en solventes o mezclas de solventes, tales como éter, acetato de etilo/heptanos y metanol/agua.
- Se han utilizado las siguientes abreviaturas: DCM = diclorometano; e.d.= exceso diastereoisomérico; DIPCl = β-clorodiisopinocampenilborano (DIP-Chloride[™]); DIPEA = *N,N*-diisopropiletilamina; DMF = *N,N*-dimetilformamida; DMSO = dimetilsulfóxido; e.e. = exceso enantiomérico; NCS = *N*-clorosuccinimida; NMP = 1-metil-2-pirrolidiona; THF = tetrahidrofurano; ac. = acuoso; conc. = concentrado.
- Los materiales de partida utilizados estaban disponibles de fuentes comerciales o se prepararon según los procedimientos de la bibliografía y presentaban datos experimentales de acuerdo con los reportados. Los siguientes son ejemplos de materiales de partida que se prepararon:
- (2*R*)-2-[(2-Amino-5-mercapto[1,3]tiazol[4,5-*d*]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol: WO 02/076990 (Ejemplos 1-4);
- 5-(Benciltio)-7-cloro[1,3]tiazol[4,5-*d*]pirimidin-2-amina: WO 00/09511 (Ejemplos 6 y 7);
- 5-Fluoropiridina-2-carbonitrilo: WO 2005/066155 (Ejemplo 2);
- 1-(3-Fluoropiridin-4-il)etanol: Marsais, F. et al. *Tetrahedron* **1983**, 39, 2009-2021 (Ejemplo 3);
- 2-Acetil-isonicotinonitrilo: Citterio et al. *J. Chem. Res. Synopses* **1982**, 10, 272-273 (Ejemplo 5);
- 1-(6-Cloropiridin-3-il)etanona: Lee, C. et al. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2133 (Ejemplos 6 y 7).

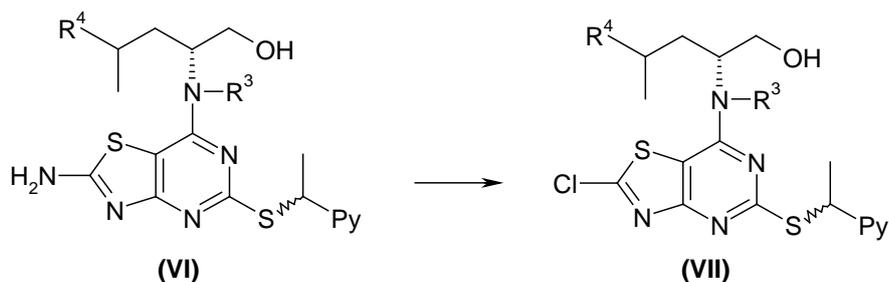
En los siguientes métodos generales, R³ y R⁴ son como se definieron en la fórmula (I); Py representa un piridilo opcionalmente sustituido, y LG representa un grupo saliente.

Método general A



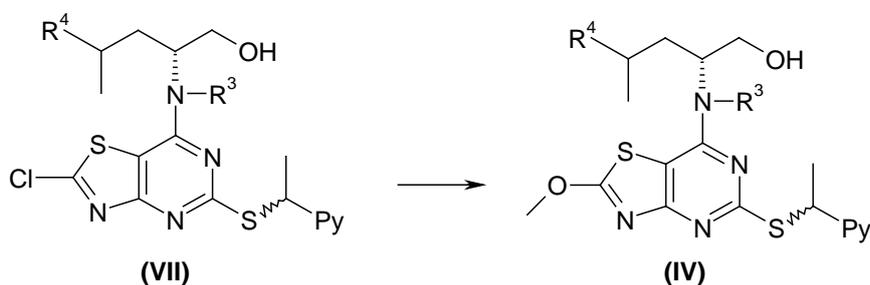
- 5 Se añadió **(V)** (1,0 equiv.) en DMSO a borohidruro sódico (0,1 equiv.), DIPEA (1,5 equiv.) y **(III)** (1,2 equiv.) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción resultante se agitó a 40 °C hasta que la reacción finalizó (monitorizada mediante LC-MS, HPLC o TLC). La mezcla se vertió sobre agua helada y el producto se extrajo con DCM o EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron y se concentraron al vacío. El producto crudo se purificó, si se requería, utilizando HPLC preparativa o cromatografía ultrarrápida en columna.

10 Método general B

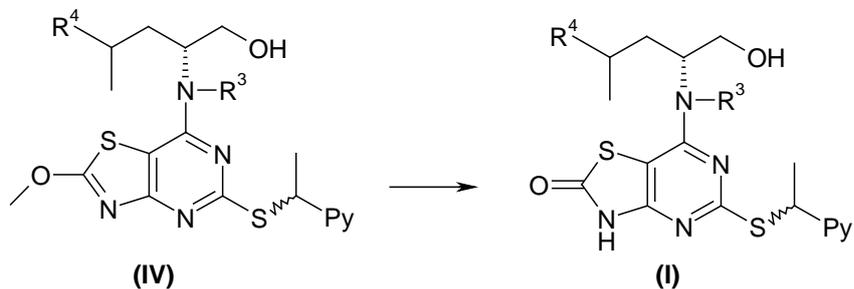


- 15 Se añadió HCl conc. (2,5 mL/mmol **(VI)**) a **(VI)** (1,0 equiv.) en CH₃CN. La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo, y se añadió nitrato de sodio (2,0 equiv.) disuelto en una cantidad mínima de agua gota a gota. La reacción se agitó a 0 °C hasta que la reacción finalizó (monitorizada mediante LC-MS, HPLC o TLC) y, posteriormente, se vertió sobre agua helada, se neutralizó con bicarbonato sódico y se extrajo con DCM o EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron y se concentraron al vacío para dar el producto.

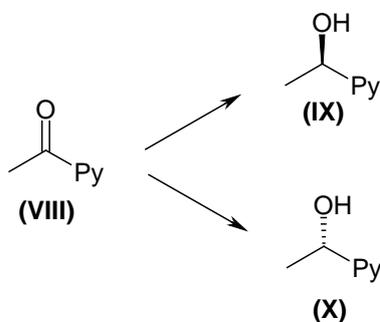
Método general C



- 20 Se añadió gota a gota hidróxido de potasio (2,0 equiv.) disuelto en metanol a una solución enfriada a (0 °C) de **(VII)** (1,0 equiv.) en metanol. La mezcla resultante se agitó a 0 °C hasta que la reacción finalizó (monitorizada mediante LC-MS, HPLC o TLC). El solvente se evaporó y el producto se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Método general D

- 5 Se añadió una solución de HCl conc. (1,0 equiv.) a una solución enfriada (0 °C) de **(IV)** (1,0 equiv.) en 1,4-dioxano. La mezcla resultante se agitó a 40 °C hasta que la reacción finalizó (monitorizada mediante LC-MS, HPLC o TLC). La mezcla de reacción se neutralizó con NaHCO₃ (ac.) y se evaporó el dioxano. El residuo se disolvió en DCM o EtOAc, se lavó con solución acuosa saturada de cloruro sódico, se secó y concentró al vacío. El producto crudo se purificó, si se requería, utilizando HPLC o cromatografía ultrarrápida en columna.

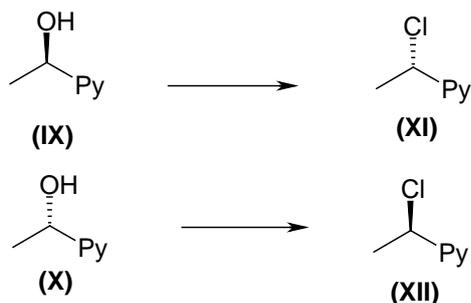
Método general E1

- 10 Se añadió **(VIII)** (1,0 equiv.) en THF a 0 °C a (+)-DIPCl (para dar **(IX)**) o (-)-DIPCl (para dar **(X)**) (1,5 equiv.) en THF en atmósfera de argón. Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara lentamente temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó, seguido de la adición de Et₂O y dietanolamina (2,2 equiv.). La mezcla se agitó hasta que la reacción finalizó (monitorizada mediante LC-MS, HPLC o TLC). El precipitado que se formó se filtró y lavó con Et₂O, y el filtrado se concentró al vacío. El producto crudo se purificó, si se requería, utilizando HPLC preparativa o cromatografía ultrarrápida en columna.
- 15

Método general E2

- 20 Se disolvió (R)-(+)-2-metil-CBS-oxazaborolidina (1M en tolueno, 0,1-1 equiv.) en THF y se enfrió a 0 °C. El complejo borano-sulfuro de metilo (2M en THF, 1 equiv.) se añadió gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió a -10 °C y se añadió **(VIII)** (1 equiv.) disuelto en THF gota a gota en el transcurso de 0,5 h. La mezcla resultante se agitó durante 1 h, o hasta que la reacción finalizó, y la temperatura se aumentó lentamente a 10 °C. Se añadió HCl ac. 1M para detener la reacción. Se añadió NaHCO₃ ac. saturado hasta que el pH fue aproximadamente 8, El producto se extrajo con DCM. Los extractos orgánicos combinados se secaron con Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para dar **(X)**. El producto se purificó opcionalmente mediante cromatografía en columna.

- 25 **Método general F1**

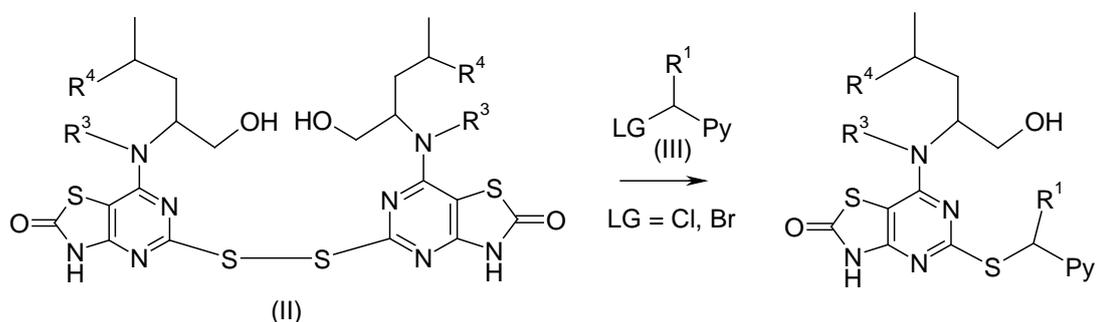


- 5 Se añadió trifetilfosfina (1,3 equiv.) en THF a 0 °C a NCS (1,3 equiv.) en THF en atmósfera de argón. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se añadieron **(IX)** o **(X)** (1 equiv.) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta que la reacción finalizó (monitorizada mediante LC-MS, HPLC o TLC). El solvente se evaporó, seguido de la adición de hexano y la eliminación del precipitado por filtración. El filtrado se concentró al vacío, y el producto crudo se purificó, si se requería, utilizando HPLC preparativa o cromatografía ultrarrápida en columna.

Método general F2

- 10 Se disolvió cloruro cianúrico (0,6 equiv.) en acetato de etilo. Se añadió DMF (1,5 equiv.) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se disolvió **(IX)** o **(X)** (1 equiv.) en acetato de etilo y se añadió gota a gota en el transcurso de 10 min. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió isopropanol (ca. 0,25 mL / mmol **(IX)** o **(X)**). El precipitado se filtró y se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró para dar **(XI)** o **(XII)**.

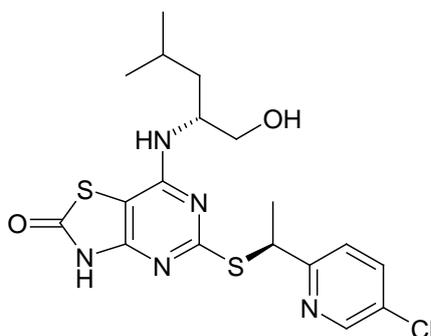
Método general G



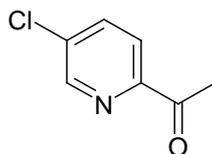
- 15 Se añadió borohidruro sódico (1 ó 2 equiv.) a **(II)** (1,0 equiv.) en DMSO. Una vez finalizada la efervescencia, se añadió **(III)** (2-2,5 equiv.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 40 °C hasta que la reacción finalizó (monitorizada mediante LC-MS, HPLC o TLC). La purificación, si se requería, se llevó a cabo utilizando HPLC preparativa o cromatografía ultrarrápida en columna.

Ejemplo 1

- 20 5-[[1*S*]-1-(5-Cloropiridin-2-il)etil]tio]-7-[[1*R*]-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona



a) 1-(5-Cloropiridin-2-il)etanona

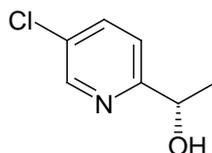


- 25 Se disolvió 5-Cloropiridina-2-carbonitrilo (10,71 g, 77 mmol) en dietiléter (65 mL) y THF (35 mL) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfrió hasta que la temperatura interna fue -63 °C. Se añadió bromuro de metilmagnesio (3M en THF, 35 mL, 105 mmol) en el transcurso de 30 min. Posteriormente, la mezcla de reacción se dejó agitando a -60 °C durante 45 min y, después, se calentó hasta temperatura ambiente. Se añadieron 50 mL de THF para disolver cualquier material precipitado. Después de 1h a temperatura ambiente, se confirmó que la reacción había

finalizado mediante HPLC. Se añadió ácido clorhídrico 2M (ac., 100 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h. Se ajustó a pH 7 con bicarbonato sódico. Se separaron las fases y el producto se extrajo de la fase acuosa dos veces con DCM. Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía en columna (con un gradiente de heptano: acetato de etilo como eluyente) para dar 7,9 g (64% de rendimiento) del compuesto del título.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ ppm 8,62 (m, 1H); 8,00 (m, 1H); 7,80 (m, 1H); 2,70 (s, 3H).

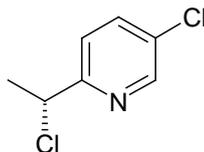
b) (1S)-1-(5-Cloropiridin-2-il)etanol



El compuesto del título se preparó mediante el método general E2, partiendo de 1-(5-cloropiridin-2-il)etanol (780 mg, 5 mmol). La purificación mediante cromatografía ultrarrápida en columna dio 695 mg (88% de rendimiento) del compuesto del título con 92% de e.e.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 8,47 (s, 1H); 7,65 (d, 1H); 7,26 (d, 1H); 4,87 (c, 1H); 3,87 (s ancho, 1H); 1,47 (d, 3H); MS (ESI) m/z 140 y 142 $[\text{M}+1]^+$.

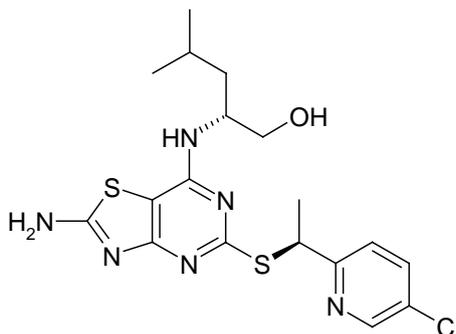
c) 5-Cloro-2-[(1R)-1-cloroetil]piridina



El compuesto del título se preparó mediante el método general F2, partiendo de (1S)-1-(5-cloropiridin-2-il)etanol (695 mg, 4,41 mmol). El producto crudo se utilizó en el paso siguiente sin purificación.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ ppm 8,46 (d, 1 H), 7,64 (dd, 1 H), 7,41 (d, 1 H), 5,08 (c, 1 H), 1,80 (d, 3 H); MS (ESI) m/z 176 y 178 $[\text{M}+1]^+$.

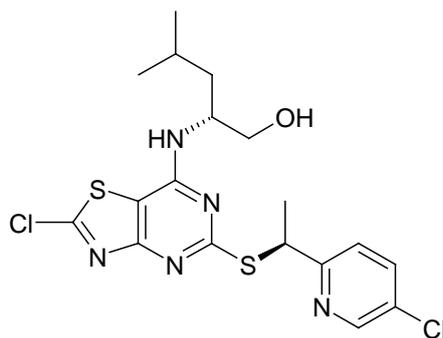
d) (2R)-2-[(2-Amino-5-[(1S)-1-(5-cloropiridin-2-il)etil]tio)[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol



El compuesto del título se preparó mediante el método general A, partiendo de (2R)-2-[(2-amino-5-mercapto[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol (823 mg, 2,75 mmol) y 5-cloro-2-[(1R)-1-cloroetil]piridina (<4,4 mmol). La purificación mediante cromatografía ultrarrápida en columna (con un gradiente de DCM: metanol como eluyente) dio 350 mg (30% de rendimiento) del compuesto del título.

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD): \square ppm 8,49 (d, 1 H), 7,79 (dd, 1 H), 7,66 (d, 1 H), 5,22 (c, 1 H), 4,46 (s ancho, 1 H), 3,40 - 3,57 (m, 2 H), 1,66 - 1,78 (m, 4 H), 1,40 - 1,61 (m, 2 H), 0,93 - 1,03 (m, 6 H); MS (ESI) m/z 439 y 441 $[\text{M}+1]^+$.

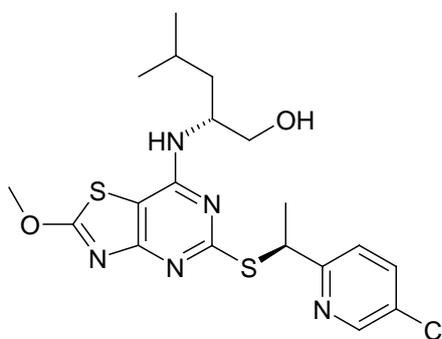
e) (2R)-2-[(2-Cloro-5-[(1S)-1-(5-cloropiridin-2-il)etil]tio)[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol



El compuesto del título se preparó mediante el método general B, partiendo de (2R)-2-[(2-amino-5-[(1S)-1-(5-cloropiridin-2-il)etil]tio)[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol (340 mg, 0,77 mmol).

MS (ESI) m/z 458 y 460 $[M+1]^+$.

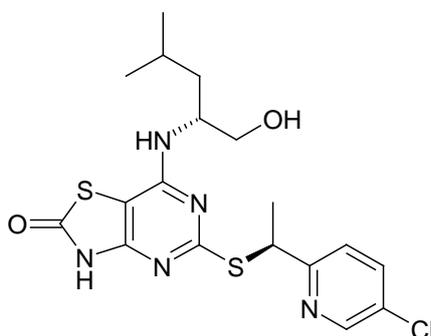
5 f) (2R)-2-[(5-[(1S)-1-(5-Cloropiridin-2-il)etil]tio)-2-metoxi[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol



10 El compuesto del título se preparó partiendo de (2R)-2-[(2-cloro-5-[(1S)-1-(5-cloropiridin-2-il)etil]tio)[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol del paso anterior utilizando el método general C, salvo que la mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante 1 h. Una vez la reacción finalizó, la mezcla de reacción se diluyó con agua y el producto se extrajo con DCM (cuatro veces). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato sódico y se concentraron al vacío para dar el compuesto del título, el cual se utilizó en el paso siguiente sin purificar.

MS (ESI) m/z 453 y 455 $[M+1]^+$.

g) 5-[(1S)-1-(5-Cloropiridin-2-il)etil]tio)-7-[(1R)-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona

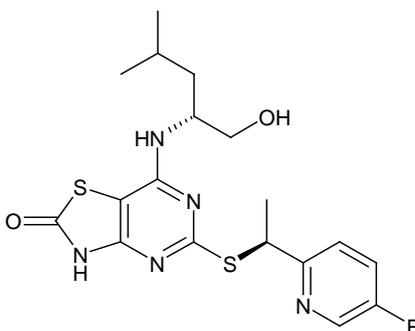


15 El compuesto del título se preparó partiendo de (2R)-2-[(5-[(1S)-1-(5-cloropiridin-2-il)etil]tio)-2-metoxi[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol del paso anterior utilizando el método general D, salvo que la mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 2,5 h y, después, a temperatura ambiente durante la noche. Una vez la reacción finalizó, la mezcla de reacción se diluyó con solución acuosa saturada de cloruro sódico y se extrajo con DCM (tres veces). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna (con un gradiente de DCM: metanol como eluyente) para dar 160 mg. Una purificación adicional mediante HPLC preparativa (columna: Chiralcel OJ, eluyente: etanol/heptano 30/70, flujo: 12 ml/min) dio 82 mg del compuesto del título.

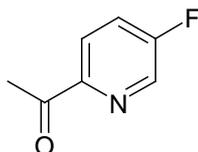
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD): \square ppm 8,24 (d, 1 H), 7,56 (dd, 1 H), 7,38 (d, 1 H), 4,90 (c, 1 H), 4,19 (s ancho, 1 H), 3,16 - 3,30 (m, 2 H), 1,39 - 1,51 (m, 4 H), 1,15 - 1,34 (m, 2 H), 0,68 - 0,76 (m, 6 H); ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$) \square ppm 12,36 (s ancho, 1H), 8,57 (d, 1H), 7,86 (dd, 1H); 7,57 (d, 1H); 7,23 (d, 1H); 5,03 (c, 1H); 4,69 (t, 1H); 4,29 (s ancho, 1H); 3,40-3,25 (m, 2H), 1,66 (d, 3H), 1,63-1,52 (m, 1H); 1,48-1,32 (m, 2H), 0,88 (d, 3H), 0,85 (d, 3H); MS (ESI) m/z 440 y 442 $[\text{M}+1]^+$, 438 y 440 $[\text{M}-1]^+$.

Ejemplo 2

5-[[*(1S)*-1-(5-Fluoropiridin-2-il)etil]tio]-7-[[*(1R)*-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3*H*)-ona



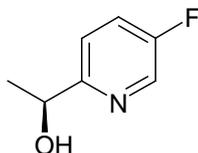
a) 1-(5-Fluoropiridin-2-il)etanona



10 Se disolvió 5-fluoro-piridina-2-carbonitrilo (29 g, 240 mmol) en THF (150 mL) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta una temperatura interna de -64°C . Se añadió bromuro de metilmagnesio (3M en THF, 105 mL, 315 mmol) en el transcurso de 40 min. La mezcla de reacción se agitó a -65°C durante 1,5 h y, después, se calentó hasta temperatura ambiente. Se añadió THF (50 mL) y la mezcla se agitó 3 h más. Se añadió ácido clorhídrico 2M (ac., 100 mL) hasta que la mezcla se hizo ligeramente ácida, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después se añadió bicarbonato sódico para neutralizar la mezcla de reacción. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con DCM. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con solución acuosa saturada de cloruro sódico, se secaron con sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna para dar 18 g (55% de rendimiento) del compuesto del título.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 8,50 (m, 1H); 8,10 (m, 1H); 7,52 (m, 1H); 2,70 (s, 3H).

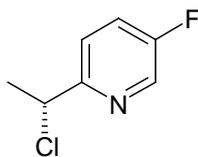
b) (*1S*)-1-(5-Fluoropiridin-2-il)etanol



25 El compuesto del título se preparó mediante el método general E2, partiendo de 1-(5-fluoropiridin-2-il)etanona (3,18 g, 22,9 mmol). La purificación mediante cromatografía ultrarrápida en columna dio 2,73 g (84% de rendimiento) del compuesto del título con 84% de e.e.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 8,38 (m, 1H); 7,5-7,2 (m, 2H); 4,89 (c, 1H); 3,9 (s ancho, 1H); 1,49 (d, 3H).

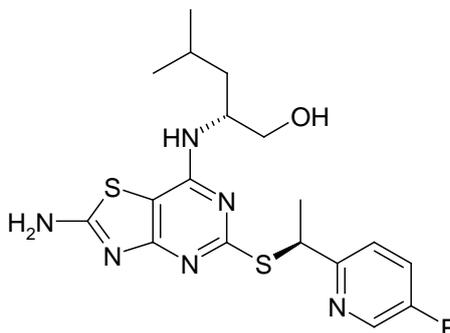
c) 2-[(*1R*)-1-Cloroetil]-5-fluoropiridina



El compuesto del título con 80% de e.e. se preparó mediante el método general F2, partiendo de (1S)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etanol (720 mg, 5,1 mmol). El producto crudo se utilizó en el paso siguiente sin purificación.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 8,44-8,40 (m, 1H); 7,6-7,4 (m, 2H); 5,16 (c, 1H), 1,86 (d, 3H).

5 d) (2R)-2-[(2-Amino-5-[(1S)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etil]tio)[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol

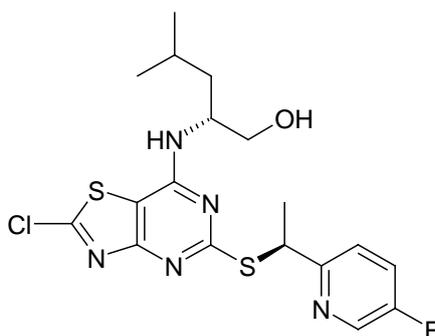


El compuesto del título se preparó mediante el método general A, partiendo de (2R)-2-[(2-amino-5-mercapto[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol (940 mg, 3,1 mmol) y 2-[(1R)-1-cloroetil]-5-fluoropiridina (0,81 g, 5,1 mmol). El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna para dar 0,75 g (56% de rendimiento) del compuesto del título.

10

^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) □ ppm 8,51 (d, 1H), 7,98 (s, 2H), 7,65 (dt, 1H); 7,58 (dd, 1H), 6,88 (d, 1H); 5,12 (c, 1H); 4,66 (t, 1H); 4,27 (s ancho, 1H); 3,41-3,27 (m, 2H), 1,66 (d, 3H), 1,65-1,55 (m, 1H); 1,48-1,35 (m, 2H), 0,88 (d, 3H), 0,85 (d, 3H); MS (ESI) m/z 423 $[\text{M}+1]^+$.

e) (2R)-2-[(2-Cloro-5-[(1S)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etil]tio)[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol

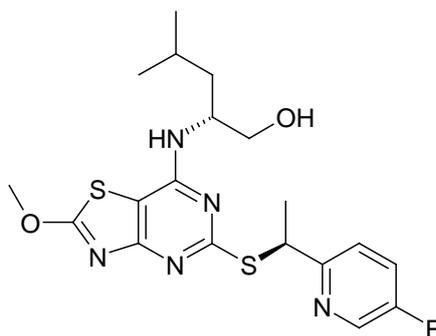


15

El compuesto del título se preparó mediante el método general B, partiendo de (2R)-2-[(2-amino-5-[(1S)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etil]tio)[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol (750 mg, 1,77 mmol).

MS (ESI) m/z 442 y 444 $[\text{M}+1]^+$.

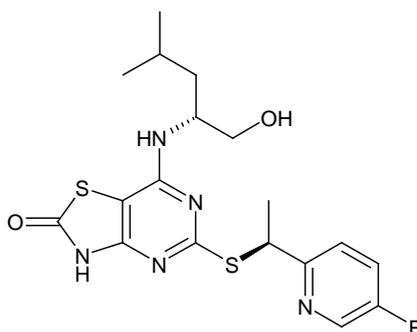
f) (2R)-2-[(5-[(1S)-1-(5-Fluoropiridin-2-il)etil]tio)-2-metoxi[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol



5 El compuesto del título se preparó partiendo de (2*R*)-2-[(2-cloro-5-[(1*S*)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etil]tio)[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol del paso anterior utilizando el método general C, salvo que la mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante 1,5 h. Una vez la reacción finalizó, la mezcla de reacción se diluyó con agua y solución acuosa saturada de cloruro de sodio, y el producto se extrajo con cloroformo (tres veces). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de magnesio y se concentraron al vacío para dar el compuesto del título, el cual se utilizó sin purificar.

MS (ESI) m/z 438 [M+1]⁺.

10 *g*) 5-[[1*S*)-1-(5-Fluoropiridin-2-il)etil]tio]-7-[[1*R*)-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona

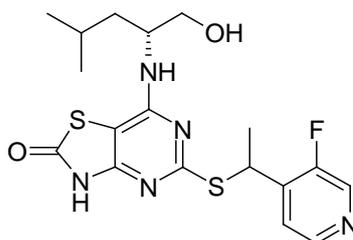


15 El compuesto del título se preparó partiendo de (2*R*)-2-[(5-[(1*S*)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etil]tio)-2-metoxi[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol del paso anterior utilizando el método general D, salvo que la mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 3 h. Una vez la reacción finalizó, la mezcla de reacción se diluyó con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, y el producto se extrajo con DCM (tres veces). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de magnesio y se concentraron al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (con un gradiente de DCM: metanol como eluyente). Una purificación adicional mediante HPLC preparativa (columna: Chiralcel OJ, eluyente: etanol, flujo: 8 mL/min) dio 113 mg del compuesto del título.

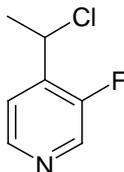
20 ¹H RMN (CD₃OD): □ ppm 8,19 (d, 1 H), 7,46 (dd, 1 H), 7,36 (dt, 1 H), 4,97 (c, 1 H), 4,26 (s ancho, 1 H), 3,23- 3,34 (m, 2 H), 1,44 - 1,55 (m, 4 H), 1,19 - 1,37 (m, 2 H), 0,75 (dd, 6 H); ¹H RMN (DMSO-*d*₆) □ ppm 12,36 (s ancho, 1H), 8,52 (d, 1H), 7,66 (dt, 1H); 7,60 (dd, 1H), 7,23 (d, 1H); 5,07 (c, 1H); 4,69 (t, 1H); 4,30 (s ancho, 1H); 3,40-3,26 (m, 2H), 1,67 (d, 3H), 1,64-1,53 (m, 1H); 1,48-1,33 (m, 2H), 0,88 (d, 3H), 0,85 (d, 3H); MS (ESI) m/z 424 [M+1]⁺. OK

Ejemplo 3

25 5-[[1-(3-Fluoropiridin-4-il)etil]tio]-7-[[1*R*)-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona



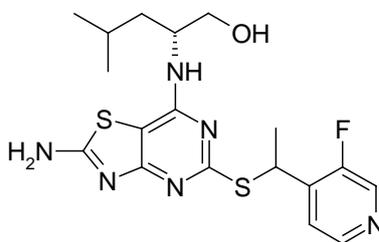
a) 4-(1-Cloroetil)-3-fluoropiridina



Se trató 1-(3-fluoropiridin-4-il)etanol (0,8 g, 5,7 mmol) con cloruro de tionilo (5 mL) y la mezcla resultante se calentó a 80 °C durante 2 h. Se añadieron agua (10 mL) y bicarbonato sódico sat. (ac., 10 mL). El producto se extrajo con DCM (tres veces). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con solución acuosa saturada de cloruro sódico, se secaron con sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna (con un gradiente de heptano: acetato de etilo como eluyente) para dar 0,36 g (39% de rendimiento) del compuesto del título.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 8,45 (m, 2H), 7,50 (m, 1H), 5,34 (c, 1H), 1,83 (d, 3H).

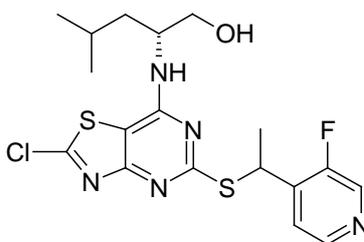
10 b) (2R)-2-[(2-Amino-5-[[1-(3-fluoropiridin-4-il)etil]tio][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol



El compuesto del título (370 mg, 47% de rendimiento) se preparó mediante el método general A, partiendo de (2R)-2-[(2-amino-5-mercapto[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol (560 mg, 1,87 mmol).

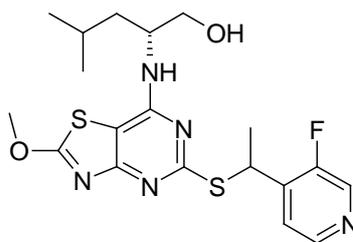
MS (ESI) m/z 423 $[\text{M}+1]^+$.

15 c) (2R)-2-[(2-Cloro-5-[[1-(3-fluoropiridin-4-il)etil]tio][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol



El compuesto del título se preparó utilizando el método general B, partiendo de (2R)-2-[(2-amino-5-[[1-(3-fluoropiridin-4-il)etil]tio][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol (370 mg, 0,84 mmol).

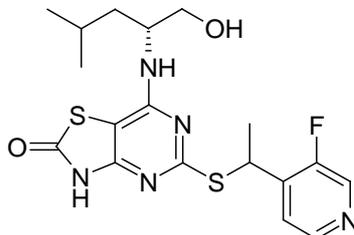
d) (2R)-2-[(5-[[1-(3-Fluoropiridin-4-il)etil]tio]-2-metoxi[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol



El compuesto del título se preparó partiendo de (2R)-2-[(2-cloro-5-[[1-(3-fluoropiridin-4-il)etil]tio][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol del paso anterior utilizando el método general C, salvo que la mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante 1,5 h. Una vez la reacción finalizó, la mezcla de reacción se diluyó con agua y solución acuosa saturada de cloruro de sodio (1:1), y el producto se extrajo con DCM (dos veces). Después, el pH

de la fase acuosa se ajustó a 7 con cloruro de amonio, y el producto se extrajo con DCM (dos veces). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de sodio y se concentraron al vacío para dar el compuesto del título.

e) 5-[[1-(3-Fluoropiridin-4-il)etil]tio]-7-[[1(1R)-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona

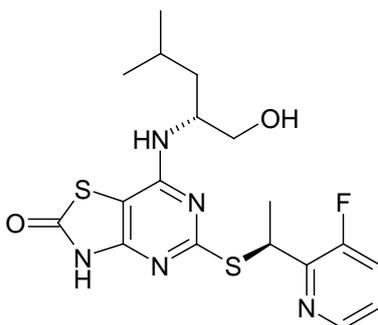


- 5 El compuesto del título se preparó partiendo de (2R)-2-[[5-[[1-(3-fluoropiridin-4-il)etil]tio]-2-metoxi[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol del paso anterior utilizando el método general D, salvo que la mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 2 h. Una vez la reacción finalizó, la mezcla de reacción se diluyó con bicarbonato de sodio ac. sat. y agua (1:1), y se extrajo con DCM (tres veces). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna (con un gradiente de heptano: acetato de etilo) para dar el compuesto del título como una mezcla de diastereoisómeros (194 mg).

MS (ESI) m/z 424 $[M+1]^+$.

Ejemplo 4

5-[[1(1S)-1-(3-Fluoropiridin-2-il)etil]tio]-7-[[1(1R)-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona



15

a) 1-(6-Bromo-3-fluoropiridin-2-il)etanona

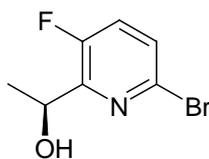


- 20 Se disolvió 2-bromo-5-fluoropiridina (11 g, 62,5 mmol) en dietiléter a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta que la temperatura interna fue -66 °C. Se añadió butillitio (2,5 M en hexanos, 26 mL, 65 mmol) gota a gota en el transcurso de 0,5 h. La mezcla de reacción resultante se dejó a -65 °C durante 1 h. Se añadió *N,N*-dimetilacetamida (6,5 mL, 70 mmol) en el transcurso de 10 min y la mezcla de reacción se agitó a -65 °C durante 2 h. Se añadió ácido clorhídrico ac. 1M (50 mL) y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. El pH se ajustó a 7 con ácido clorhídrico adicional. La fase acuosa se extrajo con dietiléter tres veces. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa saturada de cloruro sódico, se secaron con sulfato de sodio y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida en columna (con gradiente de heptano: dietiléter como eluyente) dio 4,6 g (34% de rendimiento) del compuesto del título.

25

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6): 8,0-7,8 (m, 2H); 2,57 (s, 3H); MS (ESI) m/z 218 y 220 $[M+1]^+$.

b) (1S)-1-(6-Bromo-3-fluoropiridin-2-il)etanol



5 El compuesto del título se preparó mediante el método general E2, partiendo de 1-(6-bromo-3-fluoropiridin-2-il)etanona (1,76 g, 8,19 mmol). El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna (con un gradiente de heptano: acetato de etilo como eluyente) para dar 1,31 g (73% de rendimiento) del compuesto del título con 80% de e.e.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 7,38 (m, 1H); 7,26 (m, 1H); 5,06 (c, 1H); 3,38 (s ancho, 1H); 1,47 (d, 3H); MS (ESI) m/z 220 y 222 $[\text{M}+1]^+$, m/z 202 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$.

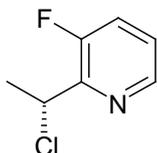
c) (1S)-1-(3-Fluoropiridin-2-il)etanol



10 Se mezclaron (1S)-1-(6-bromo-3-fluoropiridin-2-il)etanol (1,3 g, 5,9 mmol), trietilamina (1,6 mL, 11,5 mmol) y paladio sobre carbón (0,64 g, 0,34 mmol) en DCM (25 mL). El matraz se vació/llenó con hidrógeno gaseoso en 4 ciclos y, posteriormente, se dejó a temperatura ambiente a 2,5 atm de presión de hidrógeno gaseoso durante 24 h. La mezcla se filtró y el sólido se lavó con DCM. El filtrado se lavó con agua y solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secó con sulfato sódico y se concentró al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna (con un gradiente de DCM: metanol como eluyente) para dar 0,54 g (65% de rendimiento) del compuesto del título.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 8,38 (m, 1H); 7,39 (m, 1H); 7,26 (m, 1H); 5,11 (c, 1H); 4,16 (s ancho, 1H); 1,49 (d, 3H).

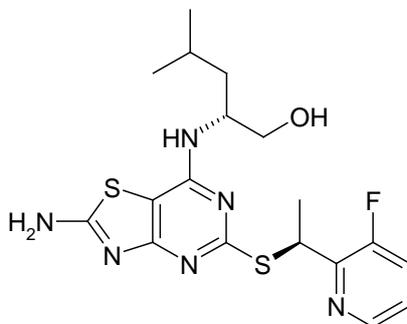
d) 2-((R)-1-Cloroetil)-3-fluoropiridina



20 El compuesto del título (0,24 g) se preparó mediante el método general F2, partiendo de (1S)-1-(3-fluoropiridin-2-il)etanol (254 mg, 1,8 mmol).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 8,46 (m, 1H); 7,47 (m, 1H); 7,34 (m, 1H); 5,48 (c, 1H), 1,94 (d, 3H); MS (ESI) m/z 160 y 162 $[\text{M}+1]^+$.

e) (2R)-2-[(2-Amino-5-[(1S)-1-(3-fluoropiridin-2-il)etil]tio)[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol

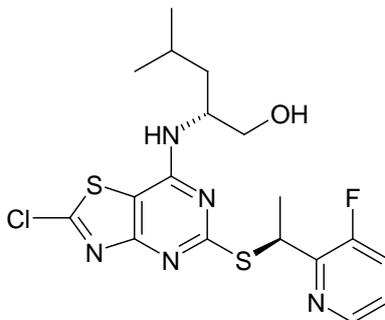


25 El compuesto del título se preparó utilizando el método general A, partiendo de (2R)-2-[(2-amino-5-mercapto[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol (348 mg, 1,16 mmol) y 2-((R)-1-cloroetil)-3-fluoropiridina (240 mg, 1,5 mmol). La purificación mediante cromatografía ultrarrápida en columna (con un gradiente

de DCM: metanol como eluyente) dio 190 mg (47% de rendimiento) del compuesto del título con un exceso diastereoisomérico del 60%.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) □ ppm 8,40 (dt, 1H), 7,98 (s, 2H), 7,70 (m, 1H), 7,40 (m, 1H); 6,92 (d, 1H); 5,45 (c, 1H); 4,65 (t, 1H); 4,27 (s ancho, 1H); 3,45-3,30 (m, 2H), 1,69 (d, 3H), 1,66-1,58 (m, 1H), 1,50-1,35 (m, 2H), 0,88 (d, 3H), 0,85 (d, 3H); MS (ESI) *m/z* 423 [M+1]⁺. MS (ESI) *m/z* 423 [M+1]⁺.

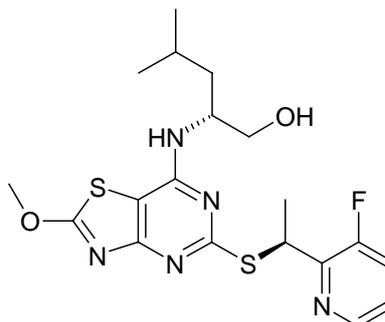
f) (2*R*)-2-[(2-Cloro-5-[[[(1*S*)-1-(3-fluoropiridin-2-il)etil]tio][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol



El compuesto del título se preparó utilizando el método general B, partiendo de (2*R*)-2-[(2-amino-5-[[[(1*S*)-1-(3-fluoropiridin-2-il)etil]tio][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol (135 mg, 0,32 mmol).

10 MS (ESI) *m/z* 442 y 444 [M+1]⁺.

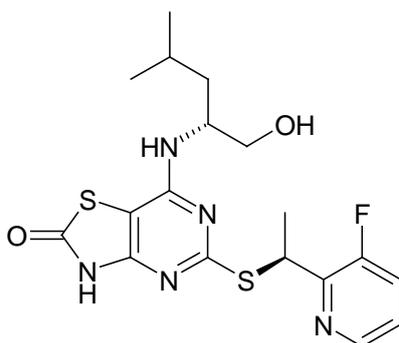
g) (2*R*)-2-[[5-[[[(1*S*)-1-(3-Fluoropiridin-2-il)etil]tio]-2-metoxi][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol



15 El compuesto del título se preparó partiendo de (2*R*)-2-[(2-cloro-5-[[[(1*S*)-1-(3-fluoropiridin-2-il)etil]tio][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol del paso siguiente utilizando el método general C, salvo que la mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante 1,5 h. Una vez la reacción finalizó, la mezcla de reacción se diluyó con agua y solución acuosa saturada de cloruro de sodio (2:1), y el producto se extrajo con cloroformo (tres veces). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de magnesio y se concentraron al vacío para dar el compuesto del título.

MS (ESI) *m/z* 438 [M+1]⁺.

20 h) 5-[[[(1*S*)-1-(3-Fluoropiridin-2-il)etil]tio]-7-[[[(1*R*)-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona



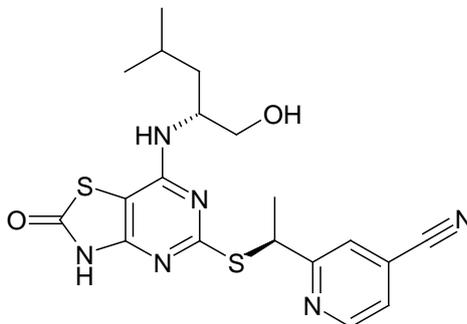
El compuesto del título se preparó partiendo de (2R)-2-[(5-[(1S)-1-(3-fluoropiridin-2-il)etil]tio)-2-metoxi[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il)amino]-4-metilpentan-1-ol

- 5 utilizando el método general D, salvo que la mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante 1,5 h. Una vez la reacción finalizó, la mezcla de reacción se diluyó con solución acuosa saturada de cloruro sódico y se extrajo con DCM (3 veces). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato de magnesio y se concentraron al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna (con un gradiente de DCM: metanol como eluyente) seguida de HPLC preparativa para dar 20 mg del compuesto del título.

- 10 ¹H RMN (DMSO-*d*₆) □ ppm 12,37 (s ancho, 1H), 8,41 (dt, 1H), 7,72 (m, 1H); 7,42 (m, 1H); 7,27 (s ancho, 1H); 5,43 (c, 1H); 4,67 (t, 1H); 4,30 (s ancho, 1H); 3,44-3,30 (m, 2H), 1,70 (d, 3H), 1,65-1,55 (m, 1H); 1,52-1,32 (m, 2H), 0,89 (d, 3H), 0,86 (d, 3H); MS (ESI) *m/z* 424 [M+1]⁺.

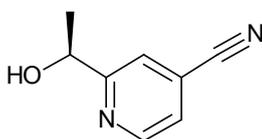
Ejemplo 5

2-[(1S)-1-[(7-[(1R)-1-(Hidroximetil)-3-metilbutil]amino)-2-oxo-2,3-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-5-il]tio]etil]isonicotinonitrilo



15

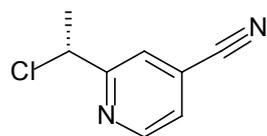
a) 2-((S)-1-Hidroxietil)isonicotinonitrilo



El compuesto del título (1,13 g, 7,63 mmol) se preparó según el método general E1, partiendo de 2-acetilisonicotinonitrilo (1,42 g, 9,72 mmol) y (-)-DIPCI (4,67 g, 14,57 mmol).

- 20 ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 8,72 (d, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,44 (dd, 1H), 4,96 (c, 1H), 1,54 (d, 3H).

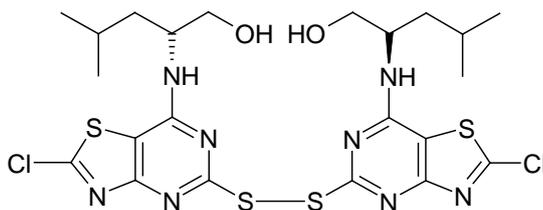
b) 2-((R)-1-Cloroetil)isonicotinonitrilo



El compuesto del título (32,2 mg, 0,19 mmol) se preparó según el método general F1, partiendo de 2-((S)-1-hidroxiethyl)-isonicotinonitrilo (400 mg, 2,7 mmol).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 8,74 (d, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,46 (dd, 1H), 5,16 (c, 1H), 1,88 (d, 3H).

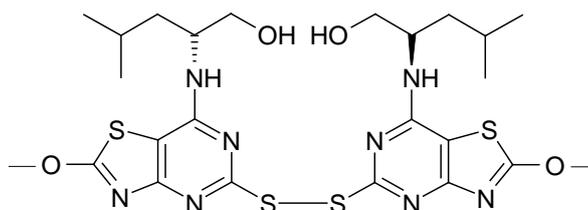
- 5 c) (2*R*)-2-{2-Cloro-5-[2-cloro-7-((1*R*)-1-hidroxi-metil-3-metilbutilamino)-tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-5-ildisulfanil]-tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-ilamino}-4-metilpentan-1-ol



10 Se añadió nitrato de sodio (5,19 g, 75 mmol) en agua (25 mL) a 0 °C gota a gota a (2*R*)-2-[[2-amino-5-mercapto[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il]amino]-4-metilpentan-1-ol (7,50 g, 25 mmol) en ácido clorhídrico conc. (150 mL) y acetonitrilo (150 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 18 h a 0 - 5 °C, después se vertió sobre hielo (500 mL) y se extrajo con acetato de etilo. Cualquier sólido restante se filtró. Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron secuencialmente con solución acuosa saturada de cloruro sódico y con solución acuosa saturada de bicarbonato sódico. La fase orgánica se secó y se evaporó, y se añadió el sólido filtrado previamente. El sólido total se suspendió en acetato de etilo, lo cual tras filtración proporcionó el compuesto del título (6,3 g, 80% de rendimiento).

^1H RMN ($\text{DMSO-}d_6$) δ 8,25 (d, 2H), 4,19 (m, 2H), 3,35 (m, 4H), 1,40 (m, 4H), 1,21 (m, 2H), 0,68 (d, 6H), 0,51 (d, 6H); MS (ESI) m/z 635 $[\text{M}+1]^+$.

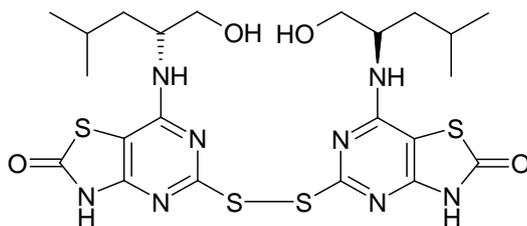
- 15 d) (2*R*)-2-{5-[7-((1*R*)-1-Hidroxi-metil-3-metilbutilamino)-2-metoxitiazolo[4,5-*d*]pirimidin-5-ildisulfanil]-2-metoxitiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-ilamino}-4-metilpentan-1-ol



20 Se añadió hidróxido de potasio (0,53 g, 9,4 mmol) en metanol (5 mL) a 0 °C a una solución de (2*R*)-2-{2-cloro-5-[2-cloro-7-((1*R*)-1-hidroxi-metil-3-metilbutilamino)-tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-5-ildisulfanil]-tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-ilamino}-4-metilpentan-1-ol (3,0 g, 4,7 mmol) en metanol (200 mL). La reacción se mantuvo a 0 - 5 °C durante 18 h. El solvente se evaporó y el residuo se disolvió en metanol/acetato de etilo (1:1). La solución se cromatógrafió rápidamente (con acetato de etilo como eluyente) para dar el compuesto del título (2,0 g, 68% de rendimiento).

MS (ESI) m/z 627 $[\text{M}+1]^+$.

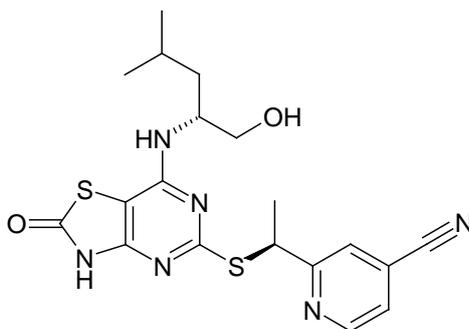
- 25 e) 5-[7-[[2-cloro-5-[(1*R*)-1-(Hidroxi-metil)-3-metilbutil]amino]-[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona-5-ildisulfanil]-7-[[2-cloro-5-[(1*R*)-1-(hidroxi-metil)-3-metilbutil]amino]-[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona



Se añadió una mezcla de ácido clorhídrico conc. (20 mL) y agua (20 mL) a una solución de (2R)-2-[5-[7-((1R)-1-hidroxi-3-metilbutilamino)-2-metoxitiazolo[4,5-d]pirimidin-5-ildisulfanil]-2-metoxitiazolo[4,5-d]pirimidin-7-ilamino)-4-metilpentan-1-ol (1,5 g, 2,4 mmol) en 1,4-dioxano (20 mL). La solución se agitó posteriormente a 45 °C durante 18 h. El solvente se evaporó y el residuo se disolvió en acetato de etilo. Cualquier residuo sin disolver se recogió por filtración. El filtrado se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (con acetato de etilo: metanol 95:5 como eluyente). El residuo sólido y el producto recogido de la cromatografía se juntaron para dar el compuesto del título (600 mg, 42% de rendimiento).

¹H RMN (DMSO-d₆) δ 12,45 (s, 2H), 7,33 (d, 2H), 4,62 (t, 2H), 4,17 (s ancho, 2H), 1,48-1,31 (m, 4H), 1,25-1,14 (m, 2H), 0,72 (d, 6H), 0,56 (d, 6H); MS (ESI) *m/z* 599 [M+1]⁺.

f) 2-((1S)-1-((7-((1R)-1-(Hidroxi-3-metilbutil)amino)-2-oxo-2,3-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-5-il)tio)etil)isonicotinonitrilo

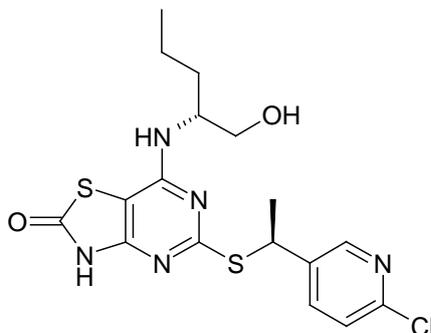


El compuesto del título se preparó según el método general G añadiendo DIPEA (2 equiv.). Partiendo de 5,5'-ditiobis[7-((1R)-1-(hidroxi-3-metilbutil)amino)[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona] (64 mg, 0,096 mmol) y 2-((R)-1-cloro-etil)-isonicotinonitrilo (32 mg, 0,192 mmol) se obtuvo el compuesto del título (39 mg) como una mezcla diastereoisomérica. La purificación mediante HPLC preparativa (columna: Kromasil-C18) dio 15 mg (36% de rendimiento) del compuesto del título con 98% de e.d.

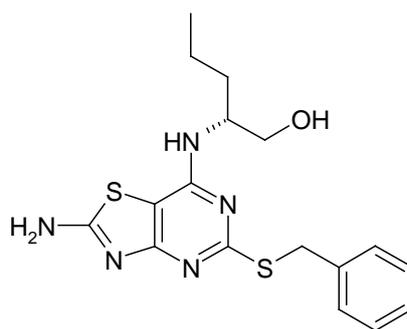
¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 8,71 (d, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,56 (d, 1H), 5,17 (c, 1H), 4,4 (s, 1H), 3,40-3,52 (m, 2H), 1,72 (d 3H), 1,60-1,71 (m 1H), 1,38-1,54 (m, 2H), 0,90-0,98 (m 6H); MS (ESI⁺) *m/z* 431 [M+H]⁺.

Ejemplo 6

5-((1S)-1-(6-Cloropiridin-3-il)etil)tio)-7-((1R)-1-(hidroxi-3-metilbutil)amino)[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona



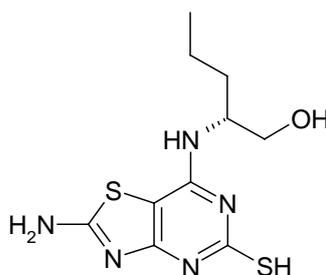
a) (2R)-2-[[2-Amino-5-(benciltio)[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-7-il]amino]pentan-1-ol



5 Se disolvió 5-(benciltio)-7-cloro[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2-amina (6,0 g, 19,4 mmol) en NMP (30 mL). Se añadieron DIPEA (8,4 mL, 48,5 mmol) y 2-amino-(2*R*)-1-pentanol (3,5 g, 33,9 mmol) y la mezcla se calentó a 110 °C durante 4 días. Después de enfriar la mezcla a temperatura ambiente, se vertió en agua (200 mL). El producto precipitado se recogió mediante filtración, se lavó con agua, y se usó en el siguiente paso sin purificación adicional (7,0 g, 97% de rendimiento).

MS (ESI⁺) *m/z* 376 [M+H]⁺.

b) (2*R*)-2-[(2-Amino-5-mercapto[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il)amino]pentan-1-ol

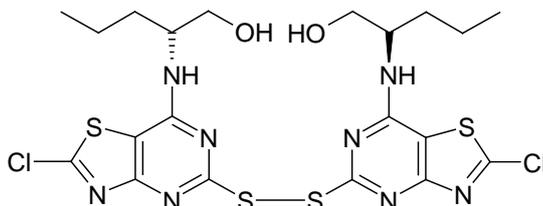


10 A un matraz aforado se le acopló un condensador de hielo seco-etanol y se sumergió en un baño de enfriamiento de hielo seco-etanol. Se condensó amoníaco (250 mL) en el matraz, seguido de la adición de (2*R*)-2-[(2-amino-5-(benciltio)[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il)amino]pentan-1-ol (6,8 g, 18,1 mmol). La mezcla resultante se dejó calentar hasta

15 – 33 °C y se añadió sodio metálico en trozos pequeños hasta que apareció un color azul y se mantuvo durante 30 segundos. La reacción se detuvo mediante la adición de una cucharada de cloruro amónico sólido. El amoníaco se evaporó y se añadió agua (250 mL) al residuo. La mezcla resultante se neutralizó con ácido clorhídrico 1M (ac.). El producto precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó al vacío para dar 4,15 g (80% de rendimiento) del compuesto del título.

MS (ESI⁺) *m/z* 286 [M+H]⁺.

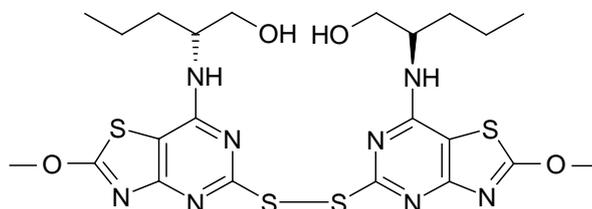
20 c) (2*R*)-2-[(2-Cloro-5-[2-cloro-7-((1*R*)-1-hidroximetilbutilamino)-tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-5-ildisulfanil]-tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-ilamino]-pentan-1-ol



25 Se disolvió (2*R*)-2-[(2-amino-5-mercapto[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il)amino]pentan-1-ol (4,0 g, 14 mmol) en acetonitrilo (100 ml) y ácido clorhídrico concentrado (150 mL). Se disolvió nitrato sódico (1,93 g, 28 mmol) en agua (10 mL) y se añadió a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó a 0 °C durante 2 días hasta que la reacción finalizó por LCMS. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo y el producto precipitado se recogió por filtración. El sólido se secó al vacío para dar 3,3 g (78% de rendimiento) del compuesto del título.

^1H RMN ($\text{DMSO-}d_6$) \square 8,27 (d, 1H), 4,32–3,81 (m, 2H), 3,50–3,23 (m, 2H), 1,37–1,19 (m, 2H), 1,10–0,93 (m, 1H), 0,94 - 0,78 (m, 1H), 0,49 (t, 3H); MS (ESI) m/z 607 [$\text{M}+1$] $^+$.

d) (2*R*)-2-{5-[7-((1*R*)-1-Hidroximetilbutilamino)-2-metoxitiazolo[4,5-*d*]pirimidin-5-ildisulfanil]-2-metoxitiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-ilamino}-pentan-1-ol



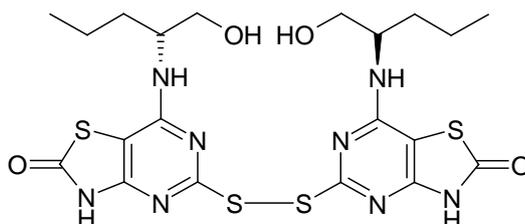
5

Se añadió hidróxido de potasio (495 mg, 8,8 mmol) a (2*R*)-2-{2-cloro-5-[2-cloro-7-((1*R*)-1-hidroximetilbutilamino)-tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-5-ildisulfanil]-tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-ilamino}-pentan-1-ol (2,68 g, 4,41 mmol) en metanol (200 mL) a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante la noche y después se evaporó el metanol. El residuo se vertió sobre agua y el precipitado resultante se recogió por filtración. El producto crudo húmedo se utilizó en el paso siguiente sin ninguna purificación adicional.

10

MS (ESI) m/z 599 [$\text{M}+1$] $^+$.

e) 5-[7-((1*R*)-1-(Hidroximetil)amino)-[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona-5-ildisulfanil]-7-((1*R*)-1-(hidroximetilbutil)amino)[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona



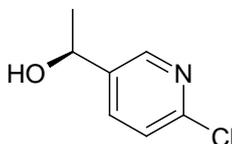
15

(2*R*)-2-{5-[7-((1*R*)-1-Hidroximetilbutilamino)-2-metoxitiazolo[4,5-*d*]pirimidin-5-ildisulfanil]-2-metoxitiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-ilamino}-pentan-1-ol (4,41 mmol) crudo del paso anterior se disolvió en 1,4-dioxano (100 mL). Se añadieron ácido clorhídrico conc. (2 mL) y agua (2 mL) y la mezcla resultante se agitó a 45 °C durante la noche. El solvente se evaporó al vacío y el producto precipitó mediante la adición de agua. El precipitado se recogió por filtración y se lavó con agua. El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna (con un gradiente de DCM: acetato de etilo como eluyente) para dar 1,5 g (59% de rendimiento) del compuesto del título.

20

^1H RMN ($\text{DMSO-}d_6$) \square 12,46 (s, 1H), 7,33 (d, 1H), 4,61 (t, 1H), 4,10 (s ancho, 1H), 3,35 (t, 2H), 1,37-1,20 (m, 2H), 1,13-1,10 (m, 1H), 0,96-0,82 (m, 1H), 0,59 (t, 3H); MS (ESI) m/z 571 [$\text{M}+1$] $^+$.

f) (1*S*)-1-(6-Cloropiridin-3-il)etanol



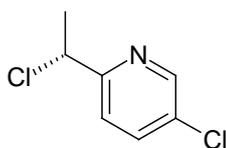
25

El compuesto del título se preparó según el método general E1, utilizando

1-(6-cloropiridin-3-il)etanol (0,80 g, 5,14 mmol), para dar 0,71 g (88% de rendimiento) del compuesto del título.

^1H RMN (CDCl_3) \square ppm 8,40-8,28 (m, 1H), 7,75-7,63 (m, 1H), 7,35-7,24 (m, 1H), 5,04-4,79 (m, 1H), 1,63-1,45 (m, 3H); MS (ESI) m/z 158 y 160 [$\text{M}+1$] $^+$.

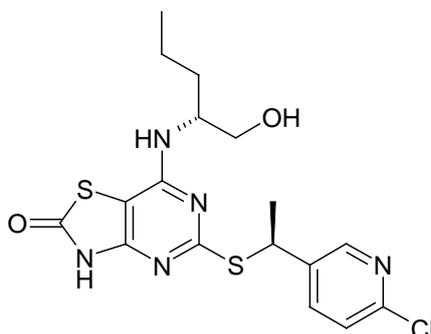
g) 2-Cloro-5-((1*R*)-1-cloroetil)piridina



El compuesto del título se preparó según el método general F1 utilizando (1S)-1-(6-cloropiridin-3-il)etanol (0,20 g, 1,27 mmol), para dar 0,16 g (72% de rendimiento) del compuesto del título.

5 ^1H RMN (CDCl_3) \square ppm 8,458,35 (m, 1H), 7,79-7,70 (m, 1H), 7,39-7,29 (m, 1H), 5,07 (c, 1H), 1,85-1,78 (m, 3H); MS (ESI) m/z 176 y 178 $[\text{M}+1]^+$.

h) 5-[[1S)-1-(6-Cloropiridin-3-il)etil]tio]-7-[[1R)-1-(hidroximetil)butil]amino][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona



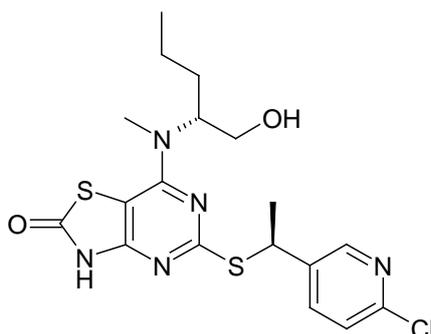
10 El compuesto del título se preparó según el método general G, utilizando 5-[7-[[1R)-1-(hidroximetil)amino]-[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona-5-ildisulfanil]-7-[[1R)-1-(hidroximetil)butil]amino][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona (0,10 g, 0,175 mmol), 2-cloro-5-[[1R)-1-cloroetil]piridina (0,069 g, 0,39 mmol) y borohidruro sódico (0,040 g, 1,05 mmol), para dar 0,055 g (37% de rendimiento) del compuesto del título.

^1H RMN (CDCl_3) \square ppm 8,52-8,38 (m, 1H), 7,87-7,72 (m, 1H), 7,30-7,26 (m, 1H), 4,91-4,81 (m, 1H), 4,74-4,65 (m, 1H), 4,29-4,17 (m, 1H), 3,68-3,52 (m, 2H), 1,69-1,64 (m, 3H), 1,56-1,46 (m, 2H), 1,46-1,32 (m, 2H), 0,98-0,90 (m, 3H);

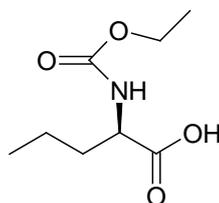
15 MS (ESI) m/z 426 y 428 $[\text{M}+1]^+$.

Ejemplo 7

5-[[1S)-1-(6-Cloropiridin-3-il)etil]tio]-7-[[1R)-1-(hidroximetil)butil](metil)amino][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona



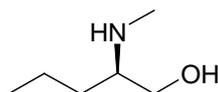
a) N-(Etoxicarbonil)-D-norvalina



Se disolvió *D*-norvalina (10,0 g, 85,3 mmol) en hidróxido sódico acuoso (4M, 25 mL). Se añadieron cloroformiato de etilo (10,6 mL, 111 mmol) e hidróxido sódico acuoso (4M, 25 mL) en el transcurso de 15 min a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó a esta temperatura durante 4 h. La mezcla de reacción se lavó con dietiléter tres veces y después se acidificó con ácido clorhídrico acuoso (2M). El producto se extrajo con dietiléter tres veces. Las fases orgánicas combinadas se secaron con sulfato de magnesio y se concentraron al vacío para dar el compuesto del título con un rendimiento cuantitativo.

¹H RMN (CDCl₃) □ ppm 6,43 (s ancho, 1H), 5,22 (d, 1H), 4,37 (c, 1H), 4,13 (c, 2H), 1,84 (m, 1H), 1,68 (sext, 1H), 1,42 (sext, 1H), 1,25 (t, 3H), 0,95 (t, 3H); MS (CI) 144 (100%), 190 [M+1]⁺.

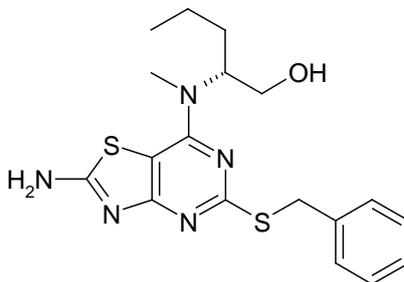
b) (2*R*)-2-(Metilamino)pentan-1-ol



Se suspendió hidruro de litio y aluminio (6,5 g, 171 mmol) en THF a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. Se disolvió *N*-(etoxicarbonil)-*D*-norvalina en THF y se añadió gota a gota a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante la noche. Tras enfriar a temperatura ambiente, se añadió sulfato sódico acuoso saturado para formar una suspensión. La mezcla resultante se filtró a través de celita. El sólido se lavó con DCM hasta que se extrajo todo el producto. Los filtrados combinados se secaron con sulfato de sodio y se concentraron al vacío. La destilación de matraz a matraz a 0,1 mbar recogiendo la fracción de entre 75-85 °C dio 7,1 g (71% de rendimiento) del compuesto del título.

¹H RMN (CDCl₃) 3,63 (dd, 1H); 3,30 (dd, 1H); 2,51 (m, 1H); 2,41 (s, 3H); 2,09 (s ancho, 2H); 1,50-1,28 (m, 4H); 0,93 (t, 3H); MS (CI) 86 (100%), 118 [M+1]⁺.

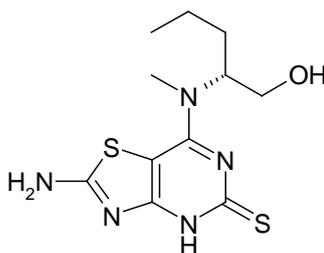
c) (2*R*)-2-[(2-Amino-5-(benciltio)[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il)(metil)amino]pentan-1-ol



Se disolvió 5-(benciltio)-7-cloro[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2-amina (6,0 g, 19,4 mmol) en NMP (25 mL). Se añadieron DIPEA (6,8 mL, 38,8 mmol) y (2*R*)-2-(metilamino)pentan-1-ol (3,4 g, 29,1 mmol), y la mezcla se calentó a 120 °C durante 3 días. Se añadieron (2*R*)-2-(metilamino)pentan-1-ol (350 mg, 2,99 mmol) y DIPEA (1 mL, 5,74 mmol) adicionales y la mezcla de reacción se calentó durante 6 h a 120 °C. Tras enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se vertió sobre hielo. El producto precipitado se recogió por filtración y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna (con un gradiente de DCM: acetato de etilo como eluyente) para dar el compuesto del título (5,74 g, 76% de rendimiento).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) 7,98 (s ancho, 2H), 7,41 (m, 2H), 7,29 (m, 2H), 7,22 (m, 1H), 4,73 (t, 1H), 4,54 (s ancho, 1H), 4,33 (m, 2H), 3,55-3,40 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 1,52-1,44 (m, 2H), 1,25-1,10 (m, 2H), 0,84 (t, 3H); MS (ESI) *m/z* 390 [M+1]⁺.

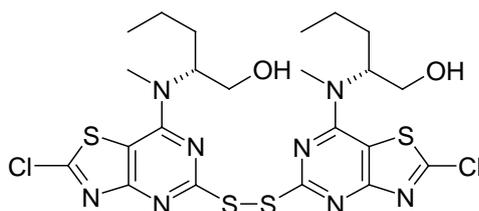
d) (2*R*)-2-[(2-Amino-5-mercapto[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il)(metil)amino]pentan-1-ol



A un matraz aforado se le acopló un condensador de hielo seco-etanol y se sumergió en un baño de enfriamiento de hielo seco-etanol. Se condensó amoníaco (200 mL) en el matraz, seguido de la adición de (2*R*)-2-[[2-amino-5-(benciltio)[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il](metil)amino]pentan-1-ol (5,43 g, 13,9 mmol). La mezcla resultante se dejó calentar hasta -33°C y se añadió sodio metálico en trozos pequeños hasta que apareció un color azul y se mantuvo durante 30 segundos. Después la reacción se detuvo mediante la adición de una cucharada de cloruro amónico sólido. El amoníaco se evaporó y se añadió agua (250 mL) al residuo. La mezcla resultante se neutralizó con ácido clorhídrico 1M (ac.). El producto precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua y acetonitrilo, y se secó al vacío para dar 3,38 g (81% de rendimiento) del compuesto del título.

¹H RMN (DMSO-*d*₆) 12,81 (s ancho, 1H); 8,45 (s ancho, 2H), 4,84 (s ancho, 1H), 3,55-3,40 (m, 2H), 3,02 (s, 3H), 1,48 (m, 2H), 1,21 (m, 2H), 0,87 (t, 3H); MS (ESI) *m/z* 300 [M+1]⁺.

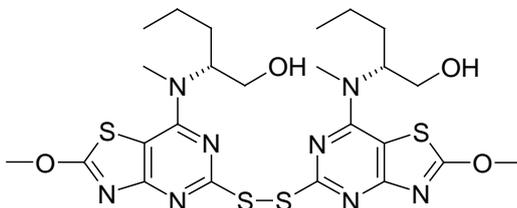
e) (2*R*,2'*R*)-2,2'-{Ditiobis[(2-cloro[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidina-5,7-diil)(metilimino)]}dipentan-1-ol



(2*R*)-2-[(2-Amino-5-mercapto[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-7-il) (metil)amino]pentan-1-ol (1,0 g, 3,34 mmol) se disolvió en acetonitrilo (25 ml) y ácido clorhídrico concentrado (40 mL). Se disolvió nitrato sódico (461 mg, 6,67 mmol) en agua (2 mL) y se añadió a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó a 0 °C durante tres días. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo, el producto precipitado se recogió por filtración y se lavó con agua. El secado al vacío dio 800 mg (75% de rendimiento) del compuesto del título.

MS (ESI) *m/z* 635 y 637 [M+1]⁺.

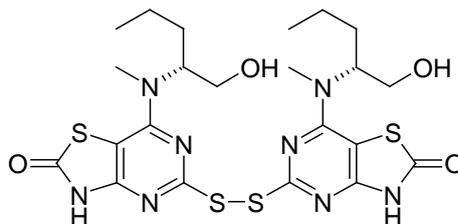
f) (1*R*,2'*R*)-2,2'-{Ditiobis[(2-metoxi[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidina-5,7-diil)(metilimino)]}dipentan-1-ol



Se añadió hidróxido de potasio (210 mg, 3,75 mmol) disuelto en metanol (20 mL) a (2*R*,2'*R*)-2,2'-{ditiobis[(2-cloro[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidina-5,7-diil)(metilimino)]}dipentan-1-ol (795 mg, 1,25 mmol) en metanol (40 mL) a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante la noche y después el metanol se evaporó. El residuo se vertió sobre hielo y el precipitado resultante se recogió por filtración. El filtrado se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio y se concentró al vacío y el residuo se combinó con el sólido recogido previamente para dar el compuesto del título el cual se utilizó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional.

MS (ESI) *m/z* 627 [M+1]⁺.

g) 5-[7-[[[(1*R*)-1-(Hidroximetil)](metil)amino]-[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona-5-ildisulfanil]-7-[[[(1*R*)-1-(hidroximetilbutil)amino]]1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona

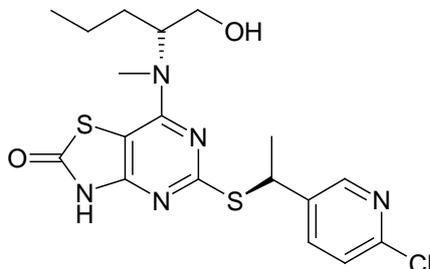


Se disolvió (2*R*,2'*R*)-2,2'-{ditiobis[(2-metoxi[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidina-5,7-diil)(metilimino)]}dipentan-1-ol crudo (1,25 mmol) del paso anterior en 1,4-dioxano (25 mL). Se añadieron ácido clorhídrico conc. (0,5 mL) y agua (0,5 mL), y la mezcla resultante se agitó a 45 °C durante la noche. El dioxano se evaporó al vacío y el residuo se vertió sobre hielo

para precipitar el producto el cual se recogió por filtración. El secado al vacío dio 590 mg (78% de rendimiento de dos pasos) del compuesto del título.

MS (ESI) m/z 599 $[M+1]^+$.

h) 5-[[*(1S)*-1-(6-Cloropiridin-3-il)etil]tio]-7-[[*(1R)*-1-(hidroximetil)butil](metil)amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona



5

El compuesto del título se preparó según el método general G, utilizando 5-[7-[[*(1R)*-1-(hidroximetil)(metil)amino]-[1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona-5-ildisulfanil]-7-[[*(1R)*-1-(hidroximetil)butil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona (0,10 g, 0,167 mmol), 2-cloro-5-[[*(1R)*-1-cloroetil]piridina (Ejemplo 6g, 0,065 g, 0,37 mmol) y borohidruro sódico (0,038 g, 1,00 mmol), para dar 0,060 g (41% de rendimiento) del compuesto del título.

10 ^1H RMN (CDCl_3) \square ppm 8,56-8,38 (m, 1H), 7,87-7,73 (m, 1H), 7,28-7,26 (m, 1H), 4,86 (c, 1H), 4,75-4,62 (m, 1H), 3,76-3,55 (m, 3H), 3,03 (s, 3H), 1,70-1,63 (m, 3H), 1,53-1,45 (m, 2H), 1,26-1,21 (m, 2H), 0,95-0,88 (m, 3H);

MS (ESI) m/z 440 y 442 $[M+1]^+$.

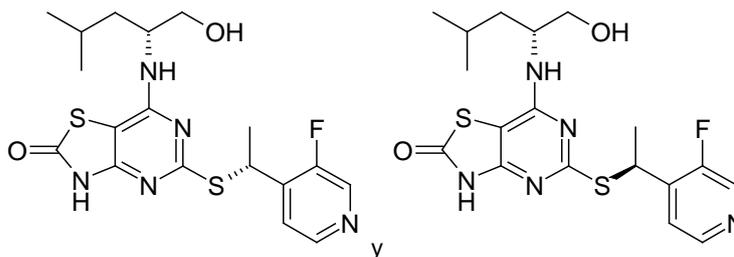
Ejemplo 8

15 Ejemplo 8a

5-[[*(1R)*-1-(3-Fluoropiridin-4-il)etil]tio]-7-[[*(1R)*-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona
y

Ejemplo 8b

5-[[*(1S)*-1-(3-Fluoropiridin-4-il)etil]tio]-7-[[*(1R)*-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona



20

La mezcla diastereoisomérica de 5-[[1-(3-fluoropiridin-4-il)etil]tio]-7-[[*(1R)*-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2(3*H*)-ona (179 mg) del Ejemplo 3 se separó mediante HPLC preparativa para dar 25 mg del isómero que se eluyó el primero:

25 ^1H RMN ($\text{DMSO-}d_6$) \square ppm 12,31 (s ancho, 1H), 8,51 (m, 1H), 8,38 (d, 1H); 7,62 (m, 1H); 6,97 (s ancho, 1H); 5,16 (c, 1H); 4,66 (t, 1H); 4,12 (m, 1H); 3,44-3,30 (m, 2H, oculto por la señal del agua), 1,66 (d, 3H), 1,61-1,27 (m, 3H), 0,84 (d, 3H), 0,74 (d, 3H); MS (ESI) m/z 424 $[M+1]^+$.

y 45 mg del isómero que se eluyó el último:

30 ^1H RMN ($\text{DMSO-}d_6$) \square ppm 12,35 (s ancho, 1H), 8,52 (d, 1H), 8,38 (d, 1H); 7,62 (dd, 1H); 7,12 (s ancho, 1H); 5,15 (c, 1H); 4,62 (t, 1H); 4,21 (m, 1H); 3,35-3,15 (m, 2H, oculto en parte por la señal del agua), 1,65 (d, 3H), 1,63-1,29 (m, 3H), 0,88 (d, 3H), 0,85 (d, 3H); MS (ESI) m/z 424 $[M+1]^+$.

Estudios farmacológicos*Materiales*

Se adquirieron fractalquina recombinante humana (hCX₃CL1) e interleuquina-8 recombinante humana (IL-8 o hCXCL8) de PeproTech Inc., Reino Unido. Se adquirieron [¹²⁵I]-fractalquina recombinante (humana) y [¹²⁵I] hIL-8 con la actividad específica 2200 Ci/mmol de NEN® Life Science Products, Inc., Reino Unido. Se adquirió Fluo4-AM de Molecular Probes, Estados Unidos. Los demás productos químicos eran de grado analítico.

Células

El ADNc de CX₃CR1 completo humano (número de acceso a GenBank U20350) se extrajo de ARNm de cerebro humano (Superscript, Life Technologies) y se ligó al vector pCR-Blunt II TOPO (Invitrogen). La inserción correspondiente a hCX₃CR1 se aisló y se subclonó adicionalmente en pcDNA3,1zeo. Se preparó ADN plásmido utilizando Plasmid Midi Kit (Qiagen). Utilizando Superfect Transfection Reagent (Qiagen) conforme al protocolo del fabricante, el plásmido de expresión para hCX₃CR1 se introdujo después en una línea celular de una suspensión embrionaria renal humana (HEKS) 293 que contenía un vector para la expresión estable de una proteína G quimérica G α_{q15} . Se generó un clon estable utilizando una selección de zeocina (500 μ g/mL) e higromicina (100 μ g/mL). Para aplicaciones adicionales, las células se mantuvieron en medio Eagle modificado por Dulbecco/mezcla de nutrientes Ham F12 (DMEM/F12) con piridoxina y suplementado con suero fetal bovino al 10% (v/v), L-glutamina 2mM, penicilina 100 U/ml y estreptomycin 100 mg/ml, zeocina 250 μ g/mL e higromicina 100 μ g/mL.

Las células que expresan CXCR2 humana obtenidas de AstraZeneca Charnwood se cultivan en EMEM con Glutamax y se suplementan con FBS al 10% (de PAA, Austria), 1% de aminoácidos no esenciales (NEAA, por sus siglas en inglés), penicilina 100 U/mL y estreptomycin (PEST) 100 μ g/mL y geneticina/G418 500 μ g/mL.

Preparación de las membranas

Las células se cultivan a 37°C y CO₂ 5%, y se cosechan a 60-80% de confluencia en un tampón que contiene Tris-HCl 10 mM pH 7,4, EDTA 5 mM y bacitracina 0,1 mg/mL. Las células se centrifugan a 300xg durante 10 min y el pellet se resuspende en el tampón de cosecha (Tris-HCl 10 mM, pH 7,4, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y 0,1 mg/mL bacitracina), se recoge y homogeniza utilizando un homogeneizador Dounce. El homogenizado se centrifuga en 48000xg durante 10 min y se resuspende en el tampón de cosecha utilizando Ultra-Turrax T8. Las alícuotas de membranas se conservan a -80°C. La concentración proteica se determinó en placas de microtitulación como describió Harrington (1990, Anal. Biochem. 186, 285 – 287).

Ensayo de unión al receptor in vitro

Los estudios de unión competitiva de [¹²⁵I]fractalquina se llevaron a cabo en placas con 96 pocillos de 2 mL de profundidad (Beckman, Alemania) en un volumen total de 1000 μ L/pocillo. Cada pocillo contera [¹²⁵I]-fractalquina 10 pM y un equivalente de membrana a una concentración de receptor de 1 pM en tampón de ensayo (Hepes-KOH 50 mM, pH 7,4, MgCl₂ 10 mM, EDTA 1 mM y gelatina 0,1% (p/v)). Se predisolvieron diez concentraciones (2 puntos/unidad log) de los compuestos de ensayo en DMSO y se añadieron para alcanzar una concentración final de DMSO 1% (v/v). El ensayo se inició con la adición de membranas e incubación a 25 °C durante 24 h. Las reacciones se detuvieron mediante filtración rápida a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/B pretratados con polietilimina al 0,3% y subsecuentemente lavados con tampón congelado (Hepes-KOH 10mM pH 7,4, NaCl 500mM) utilizando un cosechador de la unión al receptor Brandel. Se añadió el cóctel de centelleo, y se determinó la radioactividad en un contador de centelleo líquido Packard 2500TR (Perkin Elmer, Estados Unidos).

Los estudios competitivos de unión de [¹²⁵I]-hIL-8 se llevan a cabo de forma única en isoplacas con 96 pocillos de fondo blanco transparente con un volumen final de 200 μ L y cada pocillo contiene [¹²⁵I]-hIL-8 150 pM (actividad específica 2200 Ci/mmol), preparado membrana-SPA equivalente a receptores 20 pM y gotas de SPA 1,5 mg en tampón de ensayo [HEPES-KOH 50 mM pH 7,4, MgCl₂ 10 mM, EDTA 1 mM y gelatina 0,5% (p/v)]. Los compuestos de ensayo se trataron como se indicó anteriormente. La unión no específica se determina en presencia de hIL-8 no marcado 500 nM. El agonista hIL-8 (una curva de concentración-respuesta de 3 pM a 30 nM) se utiliza como compuesto de referencia para cada ensayo. La curva peptídica no contiene DMSO. La reacción de unión comienza con la adición de 140 μ L del preparado membrana-SPA, y las muestras se incuban en la oscuridad a temperatura ambiente durante 4 h. Las placas de ensayo se cuentan en un contador de centelleo líquido (Wallac MicroBeta® TriLux 1450 de PerkinElmer, Estados Unidos).

Unión de [³⁵S]GTP γ S

Los estudios de unión de [³⁵S]GTP γ S se llevaron a cabo en placas de microtitulación de fondo transparente en forma de duplicados con 10 concentraciones del inhibidor (2 conc/unidad log) diluido en DMSO (conc. final de 1%) y a temperatura ambiente. Las membranas que expresaban el receptor hCX₃CR1 (concentración final de 20 μ g proteína/pocillo) se añadieron junto con gotas de SPA (concentración final de 1 mg/pocillo) todas ellas suspendidas en tampón de unión de GTP γ S (Tris-HCl 50 mM, NaCl 100 mM, gelatina 0,1 %, saponina 15 μ g /mL y GDP 3 μ M, pH

7,4 a temperatura ambiente). Se preincubaron membranas, gotas de SPA y fármacos 30 min antes de la adición de fractalquina 310 pM para estimulación máxima. La actividad basal se definió como la actividad encontrada sin estimulación de fractalquina (tampón de unión de GTP γ S). Tras 30 min adicionales, la reacción comenzó con la adición de [³⁵S]GTP γ S a una concentración final de 0,1 nM y un volumen final de ensayo de 0,2 mL. El experimento se detuvo 30 minutos después mediante centrifugación a 2000 rpm durante 2x5 minutos (en direcciones diferentes) y la radioactividad se determinó en un contador de centelleo líquido (Wallac MicroBeta[®] TriLux 1450).

Resultados

Los valores K_i CX₃CR1 típicos para los compuestos de la presente invención entran en el rango de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000 nM. Otros valores para K_i CX₃CR1 entran en el rango de aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 500 nM. Valores adicionales para K_i CX₃CR1 entran en el rango de aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 25 nM. Se muestran los resultados del ensayo de unión a hCX₃CR *in vitro* para los compuestos finales en la Tabla 1,

Tabla 1

Ejemplo N.º	K _i (nM)
1	5,8
2	20
3	No ensayado*
4	18
5	No ensayado**
6	21,4
7	440
8a	97
8b	1,5

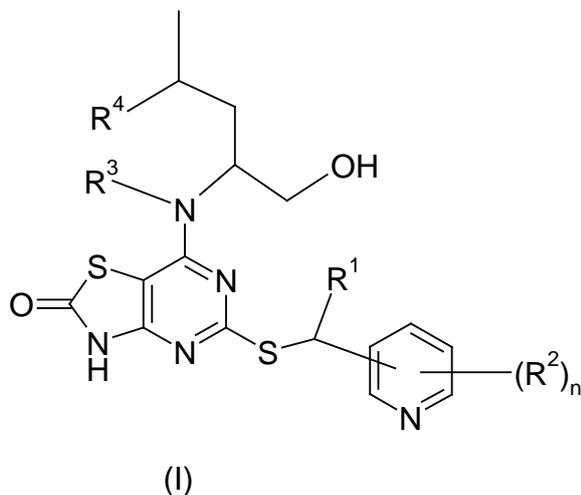
*) mezcla diastereoisomérica de los Ejemplos 8a y 8b.

**) cantidad disponible insuficiente para emplear en el ensayo de unión a hCX₃CR1 *in vitro*.

Los compuestos de la presente invención donde R¹ representa Me (que contienen un grupo tioalquilpiridilo en la posición 5) son tanto antagonistas más potentes del receptor CX₃CR1 y/o como antagonistas menos potentes del receptor CXCR2 que los compuestos de referencia correspondientes donde R¹ representa H. Tal aumento de selectividad con respecto al antagonismo del receptor CX₃CR1 se espera dé lugar a un beneficio terapéutico significativo.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



donde:

- 5 R¹ representa CH₃ o CF₃;
 R² representa halo, CN o alquilo C₁₋₆;
 R³ representa H o CH₃;
 R⁴ representa H o CH₃;
- 10 n representa 0, 1 ó 2, donde el término "alquiloC₁₋₆" incluye tanto grupos alquilo de cadena lineal y ramificada como también cíclicos;
 como una base libre o una de sus sales, solvatos o solvatos de una sal farmacéuticamente aceptables.
2. Un compuesto de la reivindicación 1, donde n representa 1,
 3. Un compuesto de la reivindicación 1, donde R¹ representa CH₃,
 4. Un compuesto de la reivindicación 1, donde R² representa halo o CN.
 15 5. Un compuesto de la reivindicación 1, donde R² representa F o Cl.
 6. Un compuesto de la reivindicación 1, donde R² representa CN.
 7. Un compuesto de la reivindicación 1, donde n representa 1; R¹ representa CH₃; y R² representa F, Cl o CN.
 8. Un compuesto de la reivindicación 1, donde la piridina está enlazada en su posición 5 y tiene Cl en la posición 2.
 9. Un compuesto de la reivindicación 1, donde la piridina está enlazada en su posición 2 y tiene CN en la posición 4.
 20 10. Un compuesto de la reivindicación 1, donde la piridina está enlazada en su posición 2 y tiene F en la posición 5.
 11. Un compuesto de la reivindicación 1, donde la piridina está enlazada en su posición 2 y tiene Cl en la posición 5.
 12. Un compuesto de la reivindicación 1, donde la piridina está enlazada en su posición 2 y tiene F en la posición 3.
 13. Un compuesto de la reivindicación 1, donde la piridina está enlazada en su posición 4 y tiene F en la posición 3.
 14. Un compuesto de la reivindicación 1, donde R³ representa H.
 25 15. Un compuesto de la reivindicación 1, donde R⁴ representa CH₃,
 16. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado de:
 5-[[1S]-1-(5-cloropiridin-2-il)etil]tio]-7-[[1R]-1-(hidroximetil)-3-metilbutil]amino][1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3H)-ona;

- 5- $\{[(1S)-1-(5\text{-fluoropiridin-2-il)etil}]\text{tio}\}$ -7- $\{[(1R)-1-(\text{hidroximetil})-3\text{-metilbutil}]\text{amino}\}$ [1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3*H*)-ona;
5- $\{[1-(3\text{-fluoropiridin-4-il)etil}]\text{tio}\}$ -7- $\{[(1R)-1-(\text{hidroximetil})-3\text{-metilbutil}]\text{amino}\}$ [1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3*H*)-ona;
5- $\{[(1S)-1-(3\text{-fluoropiridin-4-il)etil}]\text{tio}\}$ -7- $\{[(1R)-1-(\text{hidroximetil})-3\text{-metilbutil}]\text{amino}\}$ [1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3*H*)-ona;
5- $\{[(1R)-1-(3\text{-fluoropiridin-4-il)etil}]\text{tio}\}$ -7- $\{[(1R)-1-(\text{hidroximetil})-3\text{-metilbutil}]\text{amino}\}$ [1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3*H*)-ona;
5 5- $\{[(1S)-1-(3\text{-fluoropiridin-2-il)etil}]\text{tio}\}$ -7- $\{[(1R)-1-(\text{hidroximetil})-3\text{-metilbutil}]\text{amino}\}$ [1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3*H*)-ona;
2- $\{[(1S)-1-[(7- $\{[(1R)-1-(\text{hidroximetil})-3\text{-metilbutil}]\text{amino}\}$]-2-oxo-2,3-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-5-il)etil]isonicotinonitrilo}$;
5- $\{[(1S)-1-(6\text{-cloropiridin-3-il)etil}]\text{tio}\}$ -7- $\{[(1R)-1-(\text{hidroximetil})\text{butil}]\text{amino}\}$ [1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3*H*)-ona; y
5- $\{[(1S)-1-(6\text{-cloropiridin-3-il)etil}]\text{tio}\}$ -7- $\{[(1R)-1-(\text{hidroximetil})\text{butil}](\text{metil})\text{amino}\}$ [1,3]tiazolo[4,5-d]pirimidin-2(3*H*)-ona;
10 como una base libre o una de sus sales, solvatos o solvatos de una sal farmacéuticamente aceptables.
17. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar como un medicamento.
18. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, mezclado con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.
15 19. El uso de un compuesto de fórmula (I) como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de trastornos neurodegenerativos, desmielinización, trastornos ateroscleróticos cardio y cerebrovasculares, enfermedad de las arterias periféricas, artritis reumatoide y enfermedades pulmonares, tales como EPOC, asma o dolor.
20 20. El uso de un compuesto de fórmula (I) como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de esclerosis múltiple.
21. El uso de un compuesto de fórmula (I) como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de aterosclerosis mediante un cambio de la composición de las placas para reducir el riesgo de ruptura de las placas y de episodios aterotrombóticos.
25 22. El uso de un compuesto de fórmula (I) como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de aterosclerosis mediante la prevención y/o reducción de la formación de nuevas lesiones o placas ateroscleróticas y/o la prevención o ralentización de la progresión de lesiones o placas existentes.
30 23. El uso de un compuesto de fórmula (I) como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis del accidente cerebrovascular o la lesión cerebral transitoria (TBI).