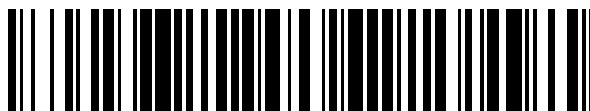


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 568**

51 Int. Cl.:
A61K 31/519 (2006.01)
C07D 473/00 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08781709 .4**
96 Fecha de presentación: **11.07.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2175859**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.04.2010**

54 Título: **Heteroaril piridil y fenil bencenosulfonamidas condensadas como moduladores de CCR2 para el tratamiento de la inflamación**

30 Prioridad:
12.07.2007 US 949328 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
22.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
22.06.2012

73 Titular/es:
CHEMOCENTRYX, INC.
850 MAUDE AVENUE
MOUNTAIN VIEW CALIFORNIA 94043, US

72 Inventor/es:
KRASINSKI, Antoni;
PUNNA, Sreenivas;
UNGASHE, Solomon;
WANG, Qiang y
ZENG, Yibin

74 Agente/Representante:
de Elizaburu Márquez, Alberto

ES 2 383 568 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

Heteroaril piridil y fenil bencenosulfonamidas condensadas como moduladores de CCR2 para el tratamiento de la inflamación

ANTECEDENTES

5 La presente invención proporciona compuestos, composiciones farmacéuticas que contienen uno o más de esos compuestos o sus sales farmacéuticamente aceptables, que son eficaces para inhibir la unión o la función de diversas quimiocinas a receptores de quimiocinas. Como antagonistas o moduladores de los receptores de quimiocinas, los compuestos y las composiciones tienen utilidad en el tratamiento de diversos trastornos, afecciones y enfermedades inmunitarias.

10 Las quimiocinas, también conocidas como citocinas quimiotácticas, son un grupo de proteínas de peso molecular pequeño que son liberadas por una amplia diversidad de células y que tienen una diversidad de actividades biológicas. Las quimiocinas atraen diversos tipos de células del sistema inmunitario, tales como macrófagos, células T, eosinófilos, basófilos y neutrófilos, y hacen que migren desde la sangre hasta diversos tejidos linfoides y no linfoides. Actúan como mediadores en la infiltración de células inflamatorias en sitios de inflamación, y son responsables del inicio y de la perpetuación de muchas enfermedades inflamatorias (revisadas en Schall, Cytokine, 3:165-183 (1991), Schall et al., Curr. Opin. Immunol., 6:865-873 (1994)).

20 Además de estimular la quimiotaxia, las quimiocinas pueden inducir otros cambios en las células sensibles, que incluyen cambios en la forma de la célula, exocitosis de gránulos, aumento de integrinas, formación de lípidos bioactivos (p.ej., leucotrienos), estallido respiratorio asociado a la activación de leucocitos, proliferación celular, resistencia a la inducción de la apoptosis y de la angiogénesis. Así, las quimiocinas son agentes desencadenantes tempranos de la respuesta inflamatoria, que provocan la liberación de mediadores inflamatorios, la quimiotaxia y la extravasación a sitios de infección o de inflamación. También son estimuladores de una multitud de procesos celulares que poseen funciones fisiológicas importantes, así como consecuencias patológicas.

25 Las quimiocinas ejercen su efecto activando los receptores de quimiocinas expresados por las células sensibles. Los receptores de quimiocinas son una clase de receptores acoplados a proteína G, también conocidos como receptores de siete dominios transmembrana, hallados en la superficie de una amplia diversidad de tipos de células tales como leucocitos, células endoteliales, células musculares lisas y células tumorales.

30 Las quimiocinas y los receptores de quimiocinas se expresan en las células renales intrínsecas y las células infiltrantes durante la inflamación renal (Segeer et al., J. Am. Soc. Nephrol., 11:152-76 (2000); Morii et al., J. Diabetes Complications, 17:11-5 (2003); Lloyd et al. J. Exp. Med., 185:1371-80 (1997); Gonzalez-Cuadrado et al. Clin. Exp. Immunol., 106: 518-22, (1996); Eddy & Giachelli, Kidney Int., 47:1546-57 (1995); Diamond et al., Am. J. Physiol., 266:F926-33 (1994)). En seres humanos, CCR2 y el ligando MCP-1 están entre las proteínas expresadas en la fibrosis renal, y están correlacionados con el grado de infiltración de macrófagos en el intersticio (Yang et al., Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 81:73-7 (2001); Stephan et al., J. Urol., 167:1497-502 (2002); Amann et al., Diabetes Care, 26:2421-5 (2003); Dai et al., Chin. Med. J. (Engl), 114:864-8 (2001)). En modelos en animales de fibrosis renal, el bloqueo de CCR2 o de MCP-1 conduce a una reducción notable de la gravedad de la inflamación renal (Kitagawa et al., Am. J. Pathol., 165:237-46 (2004); Wada et al., Am. J. Pathol., 165:237-46 (2004); Shimizu et al., J. Am. Soc. Nephrol., 14:1496-505 (2003)).

40 La artritis reumatoide es una enfermedad crónica de las articulaciones caracterizada por una inflamación sinovial que conduce a la destrucción del cartílago y el hueso. Aunque las causas subyacentes de la enfermedad son desconocidas, se cree que los macrófagos y las células T de tipo Th-1 desempeñan un papel fundamental en el inicio y la perpetuación del proceso inflamatorio crónico (Vervoordeltonk et al., Curr. Rheumatol. Rep., 4:208-17 (2002)).

45 MCP-1 está entre las diversas quimiocinas, que incluyen MIP-1 α e IL-8, identificadas en el líquido sinovial reumatoide (Villiger et al., J. Immunol., 149:722-7 (1992); Scaife et al., Rheumatology (Oxford), 43:1346-52 (2004); Shadidi et al., Scand. J. Immunol., 57:192-8 (2003); Taylor et al., Arthritis Rheum., 43:38-47 (2000); Tucci et al., Biomed. Sci. Instrum., 34:169-74 (1997)). Los receptores de quimiocinas CCR1, CCR2, CCR3 y CCR5 están aumentados en las articulaciones de ratones artríticos (Plater-Zyberk et al., Immunol. Lett., 57:117-20 (1997)). Se ha demostrado que el bloqueo de la actividad de MCP-1 mediante el uso de un antagonista de CCR2 o un anticuerpo hacia MCP-1 es eficaz para reducir la inflamación de las articulaciones en modelos experimentales de artritis reumatoide (Gong et al., J. Exp. Med., 186:131-7 (1997); Ogata et al., J. Pathol., 182:106-14 (1997)).

55 La infiltración de macrófagos mediada por receptores de quimiocinas en los tejidos grasos puede contribuir también a las complicaciones que surgen de la obesidad, una afección que es el resultado del almacenamiento excesivo de grasa en el organismo. La obesidad predispone a los individuos afectados a muchos trastornos, tales como diabetes no insulino dependiente, hipertensión, ictus, y arteriopatía coronaria. En la obesidad, los tejidos adiposos tienen funciones metabólicas y endocrinas alteradas que conducen a una liberación incrementada de ácidos grasos, hormonas, y moléculas pro-inflamatorias. Se cree que los macrófagos del tejido adiposo son una fuente importante de citocinas pro-inflamatorias que incluyen TNF- α , iNOS e IL-6 (Weisberg et al., J. Clin. Invest., 112:1796-808

(2003)). El desplazamiento de macrófagos al tejido adiposo está mediado probablemente por MCP-1 producido por los adipocitos (Christiansen T, et al., *Int J Obes (Lond)*. Enero de 2005; 29(1):146-50; Sartipy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100:7265-70 (2003)).

5 El MCP-1 elevado puede inducir la diferenciación de los adipocitos y la resistencia a la insulina, y contribuir a las patologías asociadas a la hiper-insulinemia y la obesidad. MCP-1 se sobreexpresa en el plasma en ratones obesos en comparación con los controles delgados, y el tejido adiposo blanco es una fuente importante. También se ha demostrado que MCP-1 acelera la cicatrización de heridas, y tiene un efecto angiogénico directo sobre las células epiteliales, y puede desempeñar un papel directo en la remodelación del tejido adiposo en la obesidad. (Sartipy P, Loskutoff DJ., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100:7265 (2003)).

10 Los niveles plasmáticos de MCP-1 están sustancialmente incrementados en los ratones con obesidad inducida por la dieta (DIO), y se ha identificado una correlación intensa entre los niveles plasmáticos de MCP-1 y el peso corporal. Además, la elevación de MCP-1 inducida por una dieta elevada en grasas provoca cambios en la población de monocitos positivos para CD11b en los ratones DIO. (Takahashi K, et al., *J. Biol. Chem.*, 46654 (2003)).

15 Además, se cree que la inflamación crónica en el tejido graso desempeña un papel crucial en el desarrollo de la resistencia a la insulina relacionada con la obesidad (Xu H, et al., *J Clin Invest*. dic. de 2003; 112(12):1821-30). Se ha propuesto que la resistencia a la insulina relacionada con la obesidad es, al menos en parte, una enfermedad inflamatoria crónica iniciada en el tejido adiposo. Muchos genes específicos de los macrófagos y de la inflamación están drásticamente activados en el tejido adiposo blanco en modelos de ratón de obesidad genética e inducida por una dieta elevada en grasas (DIO), y esta activación precede a un incremento drástico de la insulina circulante.

20 Se descubrieron niveles incrementados de expresión de CCR2 de monocitos y proteína-1 quimioatrayente de monocitos en pacientes con diabetes mellitus (*Biochemical and Biophysical Research Communications*, 344(3):780-5 (2006)) en un estudio que implicó a pacientes diabéticos. Las concentraciones séricas de MCP-1 y la expresión superficial de CCR2 en monocitos en los pacientes diabéticos fueron significativamente mayores que en los no diabéticos, y los niveles séricos de MCP-1 se correlacionaron con HbA1c, triglicéridos, IMC, hs-CRP. Los niveles de expresión superficial de CD36 y CD68 en los monocitos se incrementaron significativamente en los pacientes diabéticos y aumentaron más por MCP-1 en los diabéticos, aumentando la captación de ox-LDL, y por lo tanto aumentando la transformación en células espumosas. El MCP-1 sérico elevado y la expresión incrementada de CCR2, CD36, CD68 en monocitos se correlacionaron con un control escaso de la glucemia, y se correlacionaron potencialmente con una captación incrementada de monocitos en las paredes de los vasos.

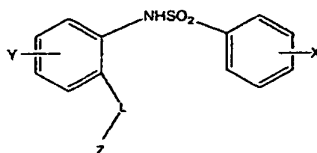
30 MCP-1 es un actor potencial en las interacciones negativas entre el tejido adiposo y el músculo esquelético (Bianco JJ, et al., *Endocrinology*, 2458 (2006)). MCP-1 puede reducir de manera significativa la captación de glucosa estimulada por la insulina, y es un inductor destacado de la resistencia a la insulina en las células musculares esqueléticas humanas. El tejido adiposo es un órgano activo secretor y endocrino importante que produce proteínas bioactivas que regulan el metabolismo energético y la sensibilidad a la insulina.

35 CCR2 modula los efectos inflamatorios y metabólicos de la alimentación elevada en grasas (Weisberg SP, et al., *J. Clin. Invest.*, 115 (2006)). La deficiencia genética de CCR2 redujo la ingestión de alimentos y atenuó el desarrollo de la obesidad en ratones alimentados con una dieta elevada en grasas. En los ratones obesos clasificados por adiposidad, la deficiencia de CCR2 redujo el contenido de macrófagos y el perfil inflamatorio del tejido adiposo, incrementó la expresión de adiponectina, y mejoró la homeostasis de la glucosa y la sensibilidad a la insulina. En los animales delgados, no se descubrió ningún efecto del genotipo de CCR2 sobre el rasgo metabólico. En los ratones con una dieta elevada en grasas, el genotipo de CCR2 moduló la alimentación, el desarrollo de obesidad y la inflamación del tejido adiposo. Una vez establecido, se demostró que el antagonismo a corto plazo atenuaba la acumulación de macrófagos en el tejido adiposo y la resistencia a la insulina.

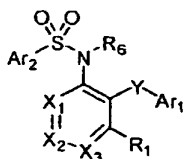
45 Las quimiocinas y los receptores de quimiocinas son reguladores clave del tráfico de las células inmunitarias. MCP-1 es un agente quimioatrayente potente de monocitos y células T; su expresión se induce en condiciones inflamatorias que incluyen la estimulación de citocinas proinflamatorias y la hipoxia. La interacción entre MCP-1 y CCR2 media en la migración de los monocitos, macrófagos así como de las células T activadas, y desempeña un papel clave en la patogénesis de muchas enfermedades inflamatorias. La inhibición de las funciones de CCR2 mediante el uso de antagonistas de moléculas pequeñas descrita en esta invención representa una aproximación nueva para los tratamientos de los trastornos inflamatorios.

55 La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por la hiperproliferación de queratinocitos y una infiltración pronunciada de leucocitos. Se sabe que los queratinocitos de la lesión psoriásica expresan abundante ligando MCP-1 de CCR2, en particular cuando se estimula mediante citocinas proinflamatorias tales como TNF- α (Vestergaard et al., *Acta. Derm. Venereol.*, 84(5):353-8 (2004); Gillitzer et al., *J. Invest. Dermatol.*, 101(2):127-31 (1993); Deleuran et al., *J. Dermatol. Sci.*, 13(3):228-36 (1996)). Debido a que MCP-1 puede atraer la migración tanto de macrófagos como de células dendríticas que expresan CCR2 hacia la piel, se cree que esta pareja de receptor y ligando son importantes en la regulación de la interacción entre los queratinocitos en proliferación y los macrófagos dérmicos durante el desarrollo de la psoriasis. Así, un antagonista de molécula pequeña puede ser útil en el tratamiento de la psoriasis.

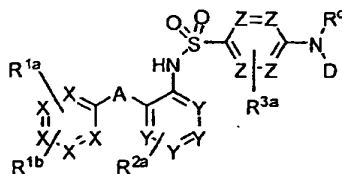
- Además de las enfermedades inflamatorias, las quimiocinas y los receptores de quimiocinas también se han implicado en el cáncer (Broek et al., Br. J. Cancer, 88(6):855-62 (2003)). Las células tumorales estimulan la formación del estroma que secreta diversos mediadores fundamentales para el crecimiento tumoral, que incluyen factores de crecimiento, citocinas y proteasas. Se cree que el nivel de MCP-1 está asociado significativamente a la acumulación de macrófagos asociada al tumor, y el análisis pronóstico revela que la expresión elevada de MCP-1 es un indicador significativo de la recidiva temprana en el cáncer de mama (Ueno et al., Clin. Cancer Res., 6(8):3282-9 (2001)). Un antagonista de molécula pequeña de una quimiocina puede ser capaz así de reducir la liberación de citocinas estimulantes del crecimiento bloqueando la acumulación de macrófagos en los sitios de formación de tumores.
- 5 El documento US 6.939.885 (ChemoCentryx, Inc.) describe compuestos útiles para modular la actividad de la quimiocina de CCR9 de la fórmula



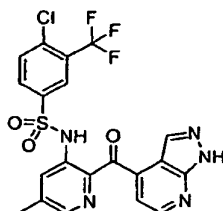
La solicitud PCT publicada WO 2003/099773 (Millennium Pharmaceuticals, Inc.) describe compuestos que se pueden unir a receptores CCR9 de la fórmula



- 15 La solicitud PCT publicada WO 2005/004810 (Merck & Co., Inc.) describe antagonistas de bradiquinina B1 o agonistas inversos de la fórmula



- 20 La solicitud de patente publicada de EE.UU. 2007/0037794 A1 (ChemoCentryx, Inc.) describe moduladores de CCR2, que incluyen el compuesto siguiente:



- Desafortunadamente, el compuesto anterior experimenta una eliminación rápida *in vivo*. Tales fármacos requieren a menudo múltiples administraciones del fármaco para alcanzar niveles sanguíneos terapéuticamente eficaces a lo largo de un periodo significativo de tiempo. También están disponibles otros métodos que incluyen las formulaciones y dispositivos de liberación sostenida.
- 25

El documento WO 2004/046092 describe aril sulfonamidas como antagonistas del receptor CCR2. El documento WO 2008/008374 describe aril sulfonamidas como antagonistas de los receptores CCR2 y CCR9. El documento WO 2006/076644 describe aril sulfonamidas como antagonistas del receptor CCR9.

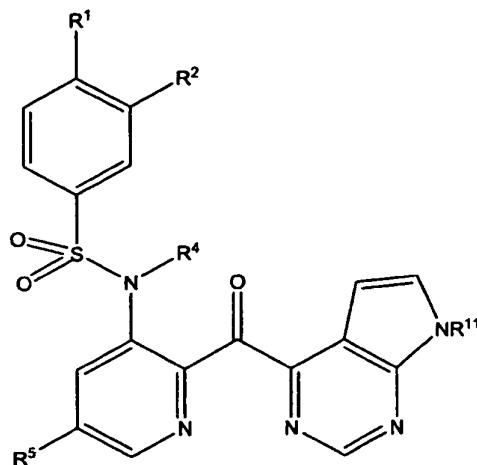
SUMARIO BREVE

- 30 La presente invención se dirige a compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, a composiciones, y a su uso para modular la actividad de quimiocinas. Los compuestos y las sales de los mismos, las composiciones, y los métodos descritos en la presente memoria son útiles para el tratamiento o la prevención de

afecciones o enfermedades mediadas por quimiocinas, que incluyen ciertos trastornos y enfermedades inflamatorias e inmunorregulatorias.

Se ha demostrado que los compuestos de la presente invención modulan uno o más de CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CXCR3, CXCR4, CXCR5, y CX3CR1. En particular, diversos compuestos de la presente invención modulan CCR2 como se demuestra en los ejemplos.

En ciertas realizaciones, la presente invención se refiere a un compuesto de la fórmula (II) o una sal del mismo:



en la que:

R¹ y R² son cada uno independientemente hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₈, -CN, o haloalquilo C₁₋₈, con tal de que al menos uno de R¹ o R² sea distinto de hidrógeno;

R⁴ es hidrógeno;

R⁵ es halógeno o alquilo C₁₋₈;

R¹¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈, arilo C₆₋₁₀ sustituido o sin sustituir, heteroarilo de 5 a 10 miembros sustituido o sin sustituir y heterociclo de 3 a 10 miembros sustituido o sin sustituir.

En ciertas realizaciones, para los compuestos de fórmula II, R¹ es Cl.

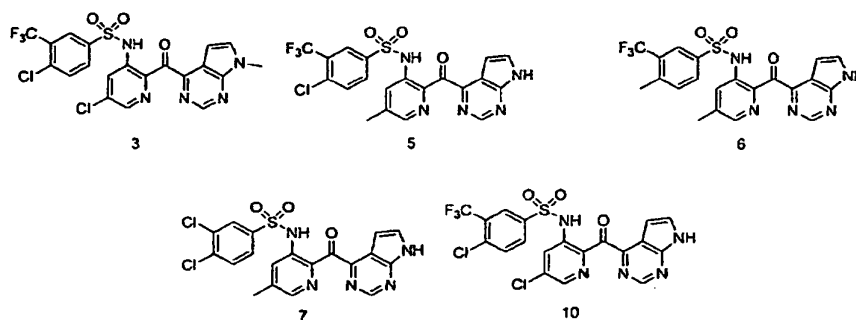
En ciertas realizaciones, para los compuestos de fórmula II, R² es -CF₃.

En ciertas realizaciones, para los compuestos de fórmula II, R⁵ es Cl o metilo.

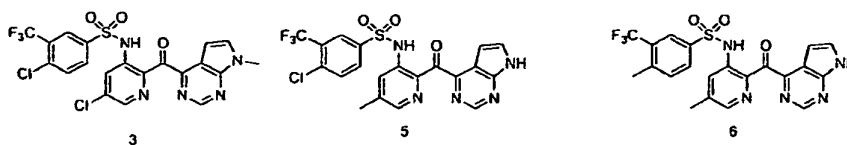
En ciertas realizaciones, para los compuestos de fórmula II, R⁵ es metilo.

En ciertas realizaciones, para los compuestos de fórmula II, R¹ es Cl, R² es CF₃, R⁵ es Cl.

En un aspecto particular, la presente invención se refiere a un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



En otro aspecto particular, la presente invención se refiere a un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones útiles para modular la actividad de quimiocinas. En una realización, una composición según la presente invención comprende un compuesto según la invención y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para la modulación de la función de quimiocinas en una célula in vitro que comprende poner en contacto la célula con una cantidad moduladora de CCR2 de un compuesto o composición según la invención.

También se contempla un método para la modulación de la función de quimiocinas, que comprende poner en contacto un receptor de quimiocina con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o composición según la invención.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de una afección o enfermedad mediada por quimiocinas, que comprende la administración a un sujeto de una cantidad segura y eficaz de un compuesto o composición según la invención.

En un aspecto particular, la presente invención se refiere a un método para el tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que comprende la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula II. En ciertas realizaciones, una afección o enfermedad mediada por CCR2 es aterosclerosis. En ciertas realizaciones, una afección o enfermedad mediada por CCR2 es reestenosis. En ciertas realizaciones, una afección o enfermedad mediada por CCR2 es esclerosis múltiple. En ciertas realizaciones, una afección o enfermedad mediada por CCR2 se selecciona del grupo que consiste en enfermedad inflamatoria intestinal, fibrosis renal, artritis reumatoide, obesidad y diabetes no insulino dependiente. En ciertas realizaciones, una afección o enfermedad mediada por CCR2 es diabetes tipo 2. En ciertas realizaciones, una afección o enfermedad mediada por CCR2 se selecciona del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis pulmonar idiopática y síndrome de neumonía idiopática.

Además de los compuestos proporcionados en la presente memoria, la presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas que contienen uno o más de estos compuestos, así como métodos para el uso de estos compuestos en métodos terapéuticos, principalmente para tratar enfermedades asociadas a la actividad de señalización de las quimiocinas.

En otro aspecto, la presente invención proporciona formas cristalinas de la sal sódica de 4-Cloro-N-[5-metil-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida. En ciertas realizaciones, una forma cristalina de la sal sódica de 4-Cloro-N-[5-metil-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida tiene una difracción de rayos X en polvo que comprende los siguientes valores de 2-theta \pm 0,2 medidos mediante el uso de radiación CuK α de 6,9, 7,7, 20,0, 24,3, 24,7, y 25,1. En otras realizaciones, una forma cristalina de la reivindicación 23, en la que dicha forma cristalina tiene una difracción de rayos X en polvo que comprende los siguientes valores de 2-theta \pm 0,2 medidos mediante el uso de radiación CuK α : 6,9, 7,7, 10,6, 11,3, 11,8, 12,5, 13,7, 15,1, 15,3, 16,1, 16,9, 17,3, 18,2, 18,5, 19,5, 20,0, 21,6, 21,8, 22,6, 24,3, 24,7, 25,1, 25,6, 26,3, 27,5, 28,5, 28,8, 29,3, 31,4, y 32,4.

BREVE DESCRIPCIÓN DEL DIBUJO

La FIG. 1 representa un espectro de XPRD (difracción de rayos X en polvo) de la sal sódica de 4-cloro-N-[5-metil-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida como se describe en el Ejemplo 14.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

General

La presente invención se dirige a compuestos y sales de los mismos, a composiciones y métodos útiles en la modulación de la función de los receptores de quimiocinas, en particular la función de CCR2. La modulación de la actividad de los receptores de quimiocinas, tal como se usa en la presente memoria en sus diversas formas, pretende abarcar el antagonismo, agonismo, antagonismo parcial, agonismo inverso y/o agonismo parcial de la actividad asociada a un receptor de quimiocina particular, preferiblemente el receptor de CCR2. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención son compuestos que modulan al menos una función o característica de CCR2 de mamífero, por ejemplo, una proteína CCR2 humana. La capacidad de un compuesto de modular la función de CCR2 se puede demostrar en un ensayo de unión (p.ej., unión de ligando o unión de agonista), un ensayo de

migración, un ensayo de señalización (p.ej., activación de una proteína G de mamífero, inducción del incremento rápido y transitorio de la concentración de calcio libre citosólico), y/o un ensayo de respuesta celular (p.ej., estimulación de la quimiotaxia, exocitosis o liberación de mediadores inflamatorios por los leucocitos).

Abreviaturas y Definiciones

- 5 Cuando se describen los compuestos, composiciones, métodos y procedimientos de esta invención, los siguientes términos tienen los significados siguientes, a menos que se indique de otra manera.

"Alquilo", por sí solo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un grupo hidrocarburo que puede ser lineal, cíclico, o ramificado o una combinación de los mismos que tiene el número de átomos de carbono indicado (es decir, C₁₋₈ significa uno a ocho átomos de carbono). Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, 10 isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, ciclohexilo, ciclopentilo, (ciclohexil)metilo, ciclopropilmetilo, biciclo[2.2.1]heptano, biciclo[2.2.2]octano. Los grupos alquilo pueden estar sustituidos o sin sustituir, a menos que se indique de otra manera. Los ejemplos de alquilo sustituido incluyen haloalquilo, tioalquilo, aminoalquilo.

"Alcoxi" se refiere a -O-alquilo. Los ejemplos de un grupo alcoxi incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi.

15 "Alquenilo" se refiere a un grupo hidrocarburo insaturado que puede ser lineal, cíclico o ramificado, o una combinación de los mismos. Se prefieren los grupos alquenilo con 2-8 átomos de carbono. El grupo alquenilo puede contener 1, 2 ó 3 enlaces dobles carbono-carbono. Los ejemplos de grupos alquenilo incluyen etenilo, n-propenilo, isopropenilo, n-but-2-enilo, n-hex-3-enilo, ciclohexenilo, ciclopentenilo. Los grupos alquenilo pueden estar sustituidos o sin sustituir, a menos que se indique de otra manera.

20 "Alquinilo" se refiere a un grupo hidrocarburo insaturado que puede ser lineal, cíclico o ramificado, o una combinación de los mismos. Se prefieren los grupos alquinilo con 2-8 átomos de carbono. El grupo alquinilo puede contener 1, 2 ó 3 enlaces triples carbono-carbono. Los ejemplos de grupos alquinilo incluyen etinilo, n-propinilo, n-but-2-inilo, n-hex-3-inilo. Los grupos alquinilo pueden estar sustituidos o sin sustituir, a menos que se indique de otra manera.

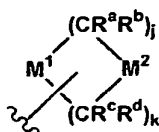
25 "Ariilo" se refiere a un grupo hidrocarburo aromático poliinsaturado que tiene un único anillo (monocíclico) o múltiples anillos (bicíclico), que pueden estar condensados entre sí o unidos de manera covalente. Se prefieren los grupos ariilo con 6-10 átomos de carbono, en los que este número de átomos de carbono se puede indicar mediante C₆₋₁₀, por ejemplo. Los ejemplos de grupos ariilo incluyen fenilo y naftalen-1-ilo, naftalen-2-ilo, bifenilo. Los grupos ariilo pueden estar sustituidos o sin sustituir, a menos que se indique de otra manera.

"Halo" o "halógeno", por sí solo o como parte de un sustituyente, se refiere a un átomo de cloro, bromo, yodo, o flúor.

30 "Haloalquilo", como un grupo alquilo sustituido, se refiere a un grupo monohaloalquilo o polihaloalquilo, muy generalmente sustituido con 1-3 átomos de halógeno. Los ejemplos incluyen 1-cloroetilo, 3-bromopropilo, trifluorometilo.

35 "Heterocicliilo" se refiere a un anillo no aromático saturado o insaturado que contiene al menos un heteroátomo (en general 1 a 5 heteroátomos) seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre. El anillo heterocicliilo puede ser monocíclico o bicíclico. Preferiblemente, estos grupos contienen 0-5 átomos de nitrógeno, 0-2 átomos de azufre y 0-2 átomos de oxígeno. Más preferiblemente, estos grupos contienen 0-3 átomos de nitrógeno, 0-1 átomos de azufre y 0-1 átomos de oxígeno. Los ejemplos de grupos heterociclo incluyen pirrolidina, piperidina, imidazolidina, pirazolidina, butirrolactama, valerolactama, imidazolidinona, hidantoína, dioxolano, ftalimida, piperidina, 1,4-dioxano, morfolina, tiomorfolina, tiomorfolin-S-óxido, tiomorfolin-S,S-dióxido, piperazina, pirano, piridona, 3-pirrolina, tiopirano, 40 pirona, tetrahidrofurano, tetrahidrotiofeno, quinuclidina. Los grupos heterocíclicos preferidos son monocíclicos, aunque pueden estar condensados o unidos de manera covalente a un sistema de anillos ariilo o heteroarilo.

En una realización preferida, los grupos heterocíclicos se pueden representar mediante la fórmula (AA) siguiente:



AA

45 en la que la fórmula (AA) está unida por medio de una valencia libre en M¹ o M²; M¹ representa O, NR^e, o S(O)_i; M² representa CR^fR^g, O, S(O)_i, o NR^e; l es 0, 1 ó 2; j es 1, 2 ó 3 y k es 1, 2 ó 3, con la condición de que j + k sea 3, 4, o 5; y R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f, y R^g se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₈ sin sustituir o sustituido, alquenilo C₂₋₈ sin sustituir o sustituido, alquinilo C₂₋₈ sin sustituir o sustituido, -COR^h, -CO₂R^h, -CONR^hRⁱ, -NR^hCORⁱ, -SO₂R^h, -SO₂NR^hRⁱ, -NSO₂R^hRⁱ-NR^hRⁱ, -OR^h, -Q¹COR^h, -Q¹CO₂R^h, -Q¹CONR^hRⁱ, -Q¹NR^hCORⁱ, -Q¹SO₂R²⁸, -Q¹SO₂NR^hRⁱ, -Q¹NSO₂R^hRⁱ, -Q¹NR^hRⁱ, -Q¹OR^h, en la que Q¹ es un miembro

- seleccionado del grupo que consiste en alquileo C₁₋₄₇, alquenileno C₂₋₄ y alquinileno C₂₋₄, y R^h y Rⁱ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₈, y en la que las porciones alifáticas de cada uno de los sustituyentes R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f, R^g, R^h y Rⁱ están sustituidas opcionalmente con uno a tres miembros seleccionados del grupo que consiste en halógeno, -OH, -ORⁿ, -OC(O)NHRⁿ, -OC(O)NRⁿR^o, -SH, -SRⁿ, -S(O)Rⁿ, -S(O)₂Rⁿ, -SO₂NH₂, -S(O)₂NHRⁿ, -S(O)₂NRⁿR^o, -NHS(O)₂Rⁿ, -NRⁿS(O)₂R^o, -C(O)NH₂, -C(O)NHRⁿ, -C(O)NRⁿR^o, -C(O)Rⁿ, -NHC(O)R^o, -NRⁿC(O)R^o, -NHC(O)NH₂, -NRⁿC(O)NH₂, -NRⁿC(O)NHR^o, -NHC(O)NHRⁿ, -NRⁿC(O)NR^oR^p, -NHC(O)NRⁿR^o, -CO₂H, -CO₂Rⁿ, -NHCO₂Rⁿ, -NRⁿCO₂R^o, -CN, -NO₂, -NH₂, -NHRⁿ, -NRⁿR^o, -NRⁿS(O)NH₂ y -NRⁿS(O)₂NHR^o, en la que Rⁿ, R^o y R^p son independientemente un alquilo C₁₋₈ sin sustituir. Además, dos cualquiera de R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f y R^g se pueden combinar para formar sistema de anillos en puente o espirocíclico.
- En una realización preferida, el número de grupos R^a + R^b + R^c + R^d que son distintos de hidrógeno es 0, 1 ó 2. En una realización más preferida, R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f, y R^g se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₈ sin sustituir o sustituido, -COR^h, -CO₂R^h, -CONR^hRⁱ, -NR^hCOR^h, -SO₂R^h, -SO₂NR^hRⁱ, -NSO₂R^hRⁱ, -NR^hRⁱ, y -OR^h, en las que Rⁿ y Rⁱ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₈ sin sustituir y en las que las porciones alifáticas de cada uno de los sustituyentes R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f y R^g están sustituidas opcionalmente con uno a tres miembros seleccionados del grupo que consiste en halógeno, -OH, -ORⁿ, -OC(O)NHRⁿ, -OC(O)NRⁿR^o, -SH, -SRⁿ, -S(O)R^o, -S(O)₂Rⁿ, -SO₂NH₂, -S(O)₂NHRⁿ, -S(O)₂NRⁿR^o, -NHS(O)₂Rⁿ, -NRⁿS(O)₂R^o, -C(O)NH₂, -C(O)NHRⁿ, -C(O)NRⁿR^o, -C(O)Rⁿ, -NHC(O)Rⁿ, -NRⁿC(O)R^o, -NHC(O)NH₂, -NRⁿC(O)NH₂, -NRⁿC(O)NHR^o, -NHC(O)NHRⁿ, -NRⁿC(O)NR^oR^p, -NHC(O)NRⁿR^o, -CO₂H, -CO₂Rⁿ, -NHCO₂Rⁿ, -NRⁿCO₂R^o, -CN, -NO₂, -NH₂, -NHRⁿ, -NRⁿR^o, -NRⁿS(O)NH₂ y -NRⁿS(O)₂NHR^o, en las que Rⁿ, R^o y R^p son independientemente un alquilo C₁₋₈ sin sustituir.
- En una realización más preferida, R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f, y R^g son independientemente hidrógeno o alquilo C₁₋₄. En otra realización preferida, al menos tres de R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f, y R^g son hidrógeno.
- "Heteroarilo" se refiere a un grupo aromático que contiene al menos un heteroátomo, en el que el grupo heteroarilo puede ser monocíclico o bicíclico. Los ejemplos incluyen piridilo, piridazinilo, pirazinilo, pirimidinilo, triazinilo, quinolinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinnolinilo, ftalazinilo, benzotriazinilo, purinilo, bencimidazolilo, benzopirazolilo, benzotriazolilo, bencisoxazolilo, isobenzofurilo, isoindolilo, indolizínilo, benzotriazinilo, tienopiridinilo, tienopirimidinilo, pirazolopirimidinilo, imidazopiridinas, benzotiazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, indolilo, azaindolilo, azaindazolilo, quinolilo, isoquinolilo, isotiazolilo, pirazolilo, indazolilo, pteridinilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, pirrolilo, tiazolilo, furilo o tienilo. Los grupos heteroarilo son aquellos que tienen al menos un átomo de nitrógeno en el anillo arilo, tales como quinolinilo, quinoxalinilo, purinilo, bencimidazolilo, benzopirazolilo, benzotriazolilo, benzotiazolilo, indolilo, quinolilo, isoquinolilo. Los sistemas heteroarilo de anillos de 6 miembros incluyen piridilo, piridazinilo, pirazinilo, pirimidinilo, triazinilo y similares. Los sistemas heteroarilo de anillos de 5 miembros incluyen isotiazolilo, pirazolilo, imidazolilo, tienilo, furilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, pirrolilo, tiazolilo.
- El heterociclilo y heteroarilo se pueden unir en cualquier carbono o heteroátomo del anillo disponible. Cada heterociclilo y heteroarilo puede tener uno o más anillos. Cuando hay presentes múltiples anillos, pueden estar condensados entre sí o unidos de manera covalente. Cada heterociclilo y heteroarilo debe contener al menos un heteroátomo (en general 1 a 5 heteroátomos) seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre. Preferiblemente, estos grupos contienen 0-5 átomos de nitrógeno, 0-2 átomos de azufre y 0-2 átomos de oxígeno. Más preferiblemente, estos grupos contienen 0-3 átomos de nitrógeno, 0-1 átomos de azufre y 0-1 átomos de oxígeno. Los grupos heterociclilo y heteroarilo pueden estar sustituidos o sin sustituir, a menos que se indique de otra manera. Para los grupos sustituidos, la sustitución puede estar en un carbono o heteroátomo. Por ejemplo, cuando la sustitución es oxo (=O o -O⁻), el grupo resultante puede tener un carbonilo (-C(O)-) o un N-óxido (-N⁺-O⁻).
- Los sustituyentes adecuados para alquilo sustituido, alqueno sustituido, y alquino sustituido incluyen halógeno, -CN, -CO₂R', -C(O)R', -C(O)NR'R'', oxo (=O o -O⁻), -OR', -OC(O)R', -OC(O)NR'R'', -NO₂, -NR'C(O)R', -NR''C(O)NR'R'', -NR'R'', -NR'CO₂R'', -NR'S(O)R'', -NR'S(O)₂R'', -NR'''S(O)NR'R'', -NR'''S(O)₂NR'R'', -SR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -NR'-C(NHR'')=NR''', -SiR'R''R''', -N₃, arilo C₆₋₁₀ sustituido o sin sustituir, heteroarilo de 5 a 10 miembros sustituido o sin sustituir, y heterociclilo de 3 a 10 miembros sustituido o sin sustituir. El número de sustituyentes posibles oscila de cero a (2m'+1), en la que m' es el número total de átomos de carbono en tal radical.
- Los sustituyentes adecuados para arilo sustituido, heteroarilo sustituido y heterociclilo sustituido incluyen halógeno, -CN, -CO₂R', -C(O)R', -C(O)NR'R'', oxo (=O o -O⁻), -OR', -OC(O)R', -OC(O)NR'R'', -NO₂, -NR'C(O)R'', -NR''C(O)NR'R'', -NR'R'', -NR'CO₂R'', -NR'S(O)R'', -NR'S(O)₂R'', -NR'''S(O)NR'R'', -NR'''S(O)₂NR'R'', -SR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -NR'-C(NHR'')=NR''', -SiR'R''R''', -N₃, alquilo C₁₋₈ sustituido o sin sustituir, alqueno C₂₋₈ sustituido o sin sustituir, alquino C₂₋₈ sustituido o sin sustituir, arilo C₆₋₁₀ sustituido o sin sustituir, heteroarilo de 5 a 10 miembros sustituido o sin sustituir, y heterociclilo de 3 a 10 miembros sustituido o sin sustituir. El número de sustituyentes posibles oscila de cero al número total de valencias libres en el sistema de anillo aromático.
- Tal como se usó anteriormente, R', R'' y R''' se refieren cada uno independientemente a una diversidad de grupos, que incluyen hidrógeno, alquilo C₁₋₈ sustituido o sin sustituir, alqueno C₂₋₈ sustituido o sin sustituir, alquino C₂₋₈ sustituido o sin sustituir, arilo sustituido o sin sustituir, heteroarilo sustituido o sin sustituir, heterociclilo sustituido o sin sustituir, arilalquilo sustituido o sin sustituir, ariloxialquilo sustituido o sin sustituir. Cuando R' y R'' están unidos al

mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 3, 4, 5, 6, o 7 miembros (por ejemplo, -NR'R" incluye 1-pirrolidinilo y 4-morfolinilo). Además, R' y R", R" y R"', o R' y R"' pueden formar, junto con el/los átomo(s) a el/los que están unidos, un anillo de 5, 6 ó 7 miembros sustituido o sin sustituir.

- 5 Dos de los sustituyentes en átomos adyacentes de un anillo arilo o heteroarilo se pueden sustituir opcionalmente con un sustituyente de la fórmula -T-C(O)-(CH₂)_q-U-, en la que T y U son independientemente -NR''', -O-, -CH₂- o un enlace simple, y q es un número entero de 0 a 2. De manera alternativa, dos de los sustituyentes en átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo se pueden sustituir opcionalmente con un sustituyente de la fórmula -A'-(CH₂)_rB'-, en la que A' y B' son independientemente -CH₂-, -O-, -NR''', -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂NR'''- o un enlace simple, y r es un número entero de 1 a 3. Uno de los enlaces simples del anillo nuevo así formado se puede sustituir
- 10 opcionalmente con un enlace doble. De manera alternativa, dos de los sustituyentes en átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo se pueden sustituir opcionalmente con un sustituyente de la fórmula -(CH₂)_s-X-(CH₂)_t-, en la que s y t son independientemente números enteros de 0 a 3, y X es -O-, -NR''', -S-, -S(O)-, -S(O)₂, o -S(O)₂NR'''-. R''' se selecciona de hidrógeno o alquilo C₁₋₈ sin sustituir.

"Heteroátomo" pretende incluir oxígeno (O), nitrógeno (N), azufre (S) y silicio (Si).

- 15 Un vehículo, diluyente o excipiente "farmacéuticamente aceptable" es un vehículo, diluyente, o excipiente compatible con los otros ingredientes de la formulación, y no es perjudicial para el receptor del mismo.

"Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal que es aceptable para la administración a un paciente, tal como un mamífero (p.ej., sales que tienen una seguridad aceptable en mamíferos para un régimen de dosificación dado). Tal sales pueden proceder de bases orgánicas o inorgánicas farmacéuticamente aceptables y de ácidos orgánicos o inorgánicos farmacéuticamente aceptables, dependiendo de los sustituyentes particulares hallados en los compuestos descritos en la presente memoria. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funciones relativamente ácidas, se pueden obtener las sales de adición de base poniendo en contacto la forma neutra de tales compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, por sí sola o en un disolvente inerte adecuado. Las sales derivadas de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen aluminio, amonio, calcio, cobre, férrico, ferroso, litio, magnesio, mangánico, manganeso, potasio, sodio, zinc. Las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de aminas primarias, secundarias, terciarias y cuaternarias, que incluyen aminas sustituidas, aminas cíclicas, aminas que se dan de manera natural, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funciones relativamente básicas, se pueden obtener las sales de adición de ácido poniendo en contacto la forma neutra de tales compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, por sí solo o en un disolvente inerte adecuado. Las sales derivadas de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de ácido acético, ascórbico, bencenosulfónico, benzoico, canfosulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glucurónico, glutámico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, lactobiónico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mícico, naftalenosulfónico, nicotínico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico.

20

25

30

35

- 40 También se incluyen las sales de aminoácidos tales como arginato y similares, y las sales de ácidos orgánicos como los ácidos glucurónico o galacturónico (véase, por ejemplo, Berge, S.M. et al, "Pharmaceutical Salts", *J. Pharmaceutical Science*, 1977, 66:1-19). Ciertos compuestos específicos de la presente invención contienen funciones tanto básicas como ácidas que permiten que los compuestos se conviertan en sales de adición de base o ácido.

- 45 Las formas neutras de los compuestos se pueden regenerar poniendo en contacto la sal con una base o ácido y aislando el compuesto original de manera convencional. La forma original del compuesto difiere de las diversas formas salinas en ciertas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares, pero por otra parte las sales son equivalentes a la forma original del compuesto para los fines de la presente invención.

- 50 "Sal del mismo" se refiere a un compuesto formado cuando el hidrógeno de un ácido se sustituye por un catión, tal como un catión metálico o un catión orgánico. Preferiblemente, la sal es una sal farmacéuticamente aceptable, aunque esto no es necesario para las sales de compuestos intermedios que no se van a destinar a la administración a un paciente.

- 55 Los profármacos de los compuestos descritos en la presente memoria son aquellos compuestos que experimentan fácilmente cambios químicos en condiciones fisiológicas para proporcionar los compuestos de la presente invención. Además, los profármacos se pueden convertir en los compuestos de la presente invención mediante métodos químicos o bioquímicos en un medio *ex vivo*. Por ejemplo, los profármacos se pueden convertir lentamente en los compuestos de la presente invención cuando se colocan en el depósito de un parche transdérmico con una enzima o reactivo químico adecuado.

Los profármacos se pueden preparar modificando los grupos funcionales presentes en los compuestos en tal

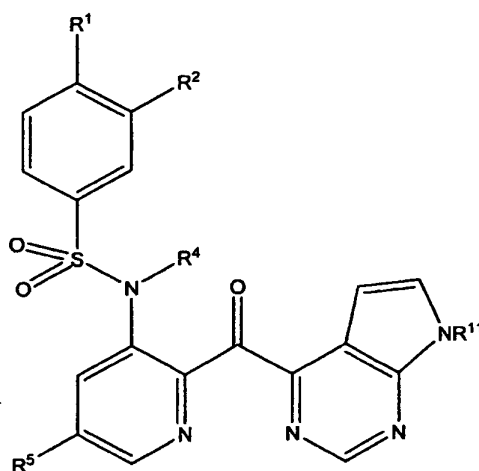
- manera que las modificaciones se escinden, en una manipulación rutinaria o in vivo, hasta los compuestos originales. Los profármacos incluyen compuestos en los que los grupos hidroxilo, amino, sulfhidrilo, o carboxilo están unidos a cualquier grupo que, cuando se administran a un sujeto mamífero, se escinden para formar un grupo hidroxilo, amino, sulfhidrilo, o carboxilo libre, respectivamente. Los ejemplos de profármacos incluyen derivados de acetato, formiato y benzoato de grupos funcionales alcohol y amina en los compuestos de la invención. La preparación, selección, y uso de los profármacos se discute en T. Higuchi y V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", Vol. 14 de la A.C.S. Symposium Series; "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985; y en Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, 1987.
- Los compuestos de la invención pueden estar presentes en forma de metabolitos farmacéuticamente aceptables de los mismos. La expresión "metabolito" significa una forma farmacéuticamente aceptable de un derivado metabólico de un compuesto de la invención (o una sal del mismo). En ciertos aspectos, el metabolito puede ser un derivado funcional de un compuesto que es fácilmente convertible in vivo en un compuesto activo. En otros aspectos, el metabolito puede ser un compuesto activo.
- "Cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad suficiente para llevar a cabo el tratamiento cuando se administra a un paciente que necesita tal tratamiento.
- "Tratar" o "tratamiento", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a tratar o al tratamiento de una enfermedad o afección médica (tal como una infección viral, bacteriana o fúngica u otras enfermedades infecciosas, así como afecciones autoinmunitarias o inflamatorias) en un paciente, tal como un mamífero (en particular un ser humano o animal de compañía) que incluye mejorar la enfermedad o afección médica, es decir, eliminar o provocar la regresión de la enfermedad o afección médica en un paciente; reducir la enfermedad o afección médica, es decir, frenar o detener el desarrollo de la enfermedad o afección médica en un paciente; o aliviar los síntomas de la enfermedad o afección médica en un paciente.
- Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas sin solvatar, así como en formas solvatadas, que incluyen las formas hidratadas. En general, se pretende que tanto las formas solvatadas como las formas sin solvatar estén abarcadas dentro del alcance de la presente invención. Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas (es decir, como polimorfos). En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente invención y se pretende que se hallen dentro del alcance de la presente invención.
- Será evidente para un experto en la técnica que ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas tautoméricas, y todas las formas tautoméricas de los compuestos están dentro del alcance de la invención. Ciertos compuestos de la presente invención poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos) o enlaces dobles; se pretende que todos los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos e isómeros individuales (p.ej., diferentes enantiómeros) estén abarcados dentro del alcance de la presente invención. Los compuestos de la presente invención también pueden contener proporciones artificiales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen tales compuestos. Por ejemplo, los compuestos se pueden radiomarcarse con isótopos radiactivos, tales como, por ejemplo, tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I) o carbono-14 (^{14}C). Todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención, ya sean radiactivas o no, pretenden estar incluidas en el alcance de la presente invención.
- Los compuestos de la presente invención pueden incluir un marcador detectable. Un marcador detectable es un grupo que es detectable a concentraciones bajas, normalmente menos de micromolar, posiblemente menos de nanomolar, y que se pueden distinguir fácilmente de otras moléculas, debido a diferencias en una propiedad molecular (p.ej., peso molecular, proporción masa-carga, radioactividad, potencial redox, luminiscencia, fluorescencia, propiedades electromagnéticas, propiedades de unión). Los marcadores detectables se pueden detectar mediante medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos, eléctricos, magnéticos, electromagnéticos, ópticos o químicos.
- Una amplia diversidad de marcadores detectables están dentro del alcance de la presente invención, que incluyen marcadores de haptenos (p.ej., biotina, o marcadores usados junto con anticuerpos detectables tales como anticuerpos unidos a peroxidasa de rábano); marcadores de masa (p.ej. marcadores de isótopos estables); marcadores radioisotópicos (que incluyen H^3 , ^{1125}I , S^{35} , C^{14} , o P^{32}); marcadores de quelatos metálicos; marcadores luminiscentes, que incluyen marcadores fluorescentes (tales como fluoresceína, isotiocianato, rojo Texas, rodamina, proteína fluorescente verde), marcadores fosforescentes, y marcadores quimioluminiscentes, que tienen en general un rendimiento cuántico mayor de 0,1; marcadores electroactivos y de transferencia de electrones; marcadores moduladores enzimáticos que incluyen coenzimas, catalizadores organometálicos, peroxidasa de rábano, fosfatasa alcalina y otros usados habitualmente en un ELISA; marcadores fotosensibilizantes; marcadores de esferas magnéticas, que incluyen Dynabeads; marcadores colorimétricos tales como oro coloidal, plata, selenio, u otros metales, y marcadores de soles metálicos (véase la patente de EE.UU. nº 5.120.643), o marcadores de esferas de vidrio o plástico coloreado (p.ej., poliestireno, polipropileno, látex); y marcadores de negro de carbono. Las patentes que enseñan el uso de tales marcadores detectables incluyen las pat. de EE.UU. nºs 3.817.837; 3.850.752; 3.939.350; 3.996.345; 4.277.437; 4.275.149; 4.366.241; 6.312.914; 5.990.479; 6.207.392; 6.423.551; 6.251.303;

6.306.610; 6.322.901; 6.319.426; 6.326.144; y 6.444.143.

- 5 Los marcadores detectables están disponibles comercialmente o se pueden preparar como conoce un experto en la técnica. Los marcadores detectables se pueden unir de manera covalente a los compuestos mediante el uso de un grupo funcional reactivo, que se puede localizar en cualquier posición adecuada. Los métodos para unir un marcador detectable son conocidos para un experto en la técnica. Cuando el grupo reactivo se une a un alquilo, o cadena alquilo sustituida que pende de un núcleo arilo, el grupo reactivo se puede localizar en una posición terminal de una cadena de alquilo.

Compuestos

- 10 En ciertas realizaciones, los compuestos de la presente invención son compuestos de la fórmula (II), o sales de los mismos:



en la que:

- R^1 y R^2 son cada uno independientemente hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-8} , -CN, o haloalquilo C_{1-8} , con tal de que al menos uno de R^1 o R^2 sea distinto de hidrógeno;
- 15 R^4 es hidrógeno;
- R^5 es halógeno o alquilo C_{1-8} ;
- R^{11} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{2-8} , alquino C_{2-8} , arilo C_{6-10} sustituido o sin sustituir, heteroarilo de 5 a 10 miembros sustituido o sin sustituir y heterociclo de 3 a 10 miembros sustituido o sin sustituir.
- 20 **Realizaciones Preferidas en cualquiera de la fórmula II:**
- R^1 es halógeno.
- R^2 es haloalquilo C_{1-8} .
- R^1 es Cl y R^2 es CF_3 .
- R^1 es metilo y R^2 es CF_3 .
- 25 R^5 es halógeno.
- R^5 es cloro.
- R^5 es alquilo C_{1-8} .
- R^5 es metilo.
- R^{11} es H o alquilo C_{1-4} , lo más preferiblemente H.
- 30 **Compuestos que Modulan la Actividad de CCR2**

La presente invención proporciona compuestos que modulan al menos una actividad de CCR2. Los receptores de quimiocinas son proteínas de membrana integrales que interaccionan con un ligando extracelular, tal como una

quimiocina, y actúan como mediadores en una respuesta celular al ligando, p.ej., quimiotaxia, concentración de iones calcio intracelular incrementada. Por lo tanto, la modulación de una función del receptor de quimiocinas, p.ej., la interferencia con una interacción ligando-receptor de quimiocinas, modulará la respuesta mediada por el receptor de quimiocinas, y tratará o prevendrá una afección o enfermedad mediada por el receptor de quimiocinas. La modulación de una función del receptor de quimiocinas incluye tanto la inducción como la inhibición de la función. El tipo de modulación llevada a cabo dependerá de las características del compuesto, es decir, antagonista o agonista completo, parcial o inverso.

Sin pretender limitarse a ninguna teoría particular, se cree que los compuestos proporcionados en la presente memoria interfieren con la interacción entre un receptor de quimiocinas y uno o más ligandos afines. En particular, se cree que los compuestos interfieren con la interacción entre CCR2 y un ligando de CCR2, tal como MCP-1. Los compuestos contemplados por la invención incluyen los compuestos ejemplares proporcionados en la presente memoria y las sales de los mismos.

Por ejemplo, los compuestos de esta invención actúan como antagonistas potentes de CCR2, y esta actividad antagonista se ha confirmado adicionalmente en ensayos con animales para la inflamación, uno de los estados patológicos característicos de CCR2. Por lo tanto, los compuestos proporcionados en la presente memoria son útiles en composiciones farmacéuticas, métodos para el tratamiento de enfermedades mediadas por CCR2, y como controles en ensayos para la identificación de antagonistas competitivos de CCR2.

Composiciones que modulan la Actividad de las Quimiocinas

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones que modulan la actividad de quimiocinas, específicamente la actividad de CCR2. En general, las composiciones para modular la actividad de receptores de quimiocinas en seres humanos y animales comprenderán un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable y un compuesto que tiene la fórmula proporcionada anteriormente como la fórmula (II).

El término "composición", tal como se usa en la presente memoria, pretende abarcar un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directamente o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas. "Farmacéuticamente aceptable" significa que el vehículo, diluyente o excipiente debe ser compatible con los otros ingredientes de la formulación, y no perjudicial para el receptor del mismo.

Las composiciones farmacéuticas para la administración de los compuestos de esta invención se pueden presentar de manera conveniente en una forma farmacéutica unitaria, y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos conocidos en la técnica farmacéutica. Todos los métodos incluyen la etapa de asociar el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes secundarios. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan asociando de manera uniforme e íntima el ingrediente activo con un vehículo líquido o un vehículo sólido finamente dividido o ambos, y después, si es necesario, moldeando el producto hasta la formulación deseada. En la composición farmacéutica, el compuesto objetivo activo se incluye en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado sobre el proceso o el estado de las enfermedades.

Las composiciones farmacéuticas que contienen el ingrediente activo pueden estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, en forma de comprimidos, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones y auto-emulsificaciones como se describe en la patente de EE.UU. 6.451.339, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a uso oral se pueden preparar según cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas. Tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados de agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y de sabor agradable. Los comprimidos contienen el ingrediente activo mezclado con otros excipientes atóxicos farmacéuticamente aceptables que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes tales como celulosa, dióxido de silicio, óxido de aluminio, carbonato cálcico, carbonato sódico, glucosa, manitol, sorbitol, lactosa, fosfato cálcico o fosfato sódico; agentes de granulación y desintegrantes, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo PVP, celulosa, PEG, almidón, gelatina o goma arábiga, y agentes lubricantes, por ejemplo estearato magnésico, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin revestir, o se pueden revestir de manera entérica o de otra forma mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal, y por lo tanto proporcionar una acción mantenida a lo largo de un periodo de tiempo. Por ejemplo, se puede emplear un material que retrasa el tiempo de liberación tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. También se pueden revestir mediante las técnicas descritas en las pat. de EE.UU. n°s 4.256.108; 4.166.452; y 4.265.874 para formar comprimidos terapéuticos osmóticos para controlar la liberación.

Las formulaciones para uso oral se pueden presentar también en forma de cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato cálcico, fosfato cálcico o caolín, o en forma de cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo aceite de cacahuete, parafina líquida, o aceite de oliva. Además, las emulsiones se pueden preparar con un ingrediente inmiscible con el agua tal como aceites, y se pueden estabilizar con tensioactivos tales como mono-

diglicéridos, ésteres de PEG.

5 Las suspensiones acuosas contienen los materiales activos mezclados con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinil-pirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; los agentes dispersantes o humectantes pueden ser un fosfolípido natural, por ejemplo lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes de cadena alifática larga, por ejemplo heptadecaetilenoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de polietileno sorbitán. Las suspensiones acuosas pueden contener también uno o más conservantes, por ejemplo p-hidroxibenzoato de etilo, o de n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes, y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

15 Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Se pueden añadir agentes edulcorantes, tales como los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral de sabor agradable. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

20 Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo mezclado con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes adecuados y los agentes de suspensión se ejemplifican mediante los ya mencionados anteriormente. También puede haber presentes excipientes adicionales, por ejemplo edulcorantes, aromatizantes y agentes colorantes.

25 Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo aceite de oliva o de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo parafina líquida o mezclas de los mismos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas naturales, por ejemplo goma arábiga o goma de tragacanto, fosfolípidos naturales, por ejemplo soja, lecitina, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de sorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo monooleato de polioxietileno sorbitán. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

30 Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes edulcorantes, por ejemplo glicerol, propileno glicol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones pueden contener también un demulcente, un conservante, y agentes aromatizantes y colorantes. Las soluciones orales se pueden preparar en combinación con, por ejemplo, ciclodextrina, PEG y tensioactivos.

35 Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular según la técnica conocida mediante el uso de los agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable atóxico, por ejemplo en forma de una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están el agua, disolución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico. Además, se emplean de manera convencional aceites fijos estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, se puede emplear cualquier aceite fijo suave, lo que incluye los mono- o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico tienen utilidad en la preparación de composiciones inyectables.

40 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar también en forma de supositorios para la administración rectal del fármaco. Estas composiciones se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a las temperaturas habituales, pero líquido a la temperatura rectal, y que por lo tanto se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales son la manteca de cacao y los polietileno glicoles. Además, los compuestos se pueden administrar mediante administración ocular por medio de soluciones o pomadas. Además, la administración transdérmica de los compuestos en cuestión se puede llevar a cabo por medio de parches iontoforéticos y similares.

45 Para el uso tópico, se emplean cremas, pomadas, gelatinas, soluciones o suspensiones que contienen los compuestos de la presente invención. Tal como se usa en la presente memoria, la aplicación tópica también pretende incluir el uso de elixires bucales y enjuagues.

50 Las composiciones farmacéuticas y los métodos de la presente invención pueden comprender además otros compuestos terapéuticamente activos como se indica en la presente memoria, tales como los que se aplican en el tratamiento de las afecciones patológicas anteriormente mencionadas.

En una realización, la presente invención proporciona una composición que consiste de un vehículo

farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la invención.

Medida de la Eficacia de los Moduladores de Quimiocinas

Ensayos In Vitro

5 Se puede usar una diversidad de ensayos para estudiar los compuestos proporcionados en la presente memoria, que incluyen ensayos de señalización, ensayos de migración, ensayos de unión de ligandos, y otros ensayos de la respuesta celular. Se pueden usar ensayos de señalización de receptores de quimiocinas para medir la capacidad de un compuesto, tal como un antagonista potencial de CCR2, de bloquear la señalización inducida por el ligando de CCR2 (p.ej. MCP-1). Se puede usar un ensayo de migración para medir la capacidad de un compuesto de interés, tal como un posible antagonista de quimiocina, de bloquear la migración celular mediada por quimiocinas in vitro. Se cree que este último se parece a la migración celular inducida por quimiocinas in vivo. Se puede usar un ensayo de unión de ligando para medir la capacidad de un compuesto, tal como un antagonista potencial de CCR2, de bloquear la interacción de MCP-1 con su receptor.

15 En un ensayo adecuado, se usa una proteína quimiocina (aislada o recombinante) que tiene al menos una propiedad, actividad, o característica funcional de una proteína quimiocina de mamífero. La propiedad puede ser una propiedad de unión (por ejemplo, a un ligando o inhibidor), una actividad de señalización (p.ej., la activación de una proteína G de mamífero, la inducción de un incremento rápido y transitorio de la concentración de ión calcio libre citosólico), una función de respuesta celular (p.ej., la estimulación de la quimiotaxia o la liberación de mediadores inflamatorios por los leucocitos).

20 El ensayo puede ser un ensayo basado en células que utiliza células transfectadas de manera estable o transitoria con un vector o casete de expresión que tiene una secuencia de ácido nucleico que codifica el receptor de quimiocina. También se pueden usar líneas celulares que expresan de manera natural la quimiocina. Las células se mantienen en condiciones adecuadas para la expresión del receptor, y se ponen en contacto con un supuesto agente en condiciones adecuadas para que se dé la unión. La unión se puede detectar mediante el uso de técnicas habituales. Por ejemplo, se puede determinar el grado de unión respecto de un control adecuado (por ejemplo, respecto del valor inicial en ausencia de un supuesto agente, o respecto de un ligando conocido). Opcionalmente, se puede usar una fracción celular, tal como una fracción de membrana, que contiene el receptor en lugar de células completas.

30 La detección de la unión o la formación del complejo se puede detectar directamente o indirectamente. Por ejemplo, el supuesto agente se puede marcar con un marcador adecuado (p.ej., marcador fluorescente, marcador quimioluminiscente, marcador isotópico, marcador enzimático), y la unión se puede determinar mediante la detección del marcador. La unión específica y/o competitiva se puede determinar mediante estudios de competición o desplazamiento, mediante el uso de un agente sin marcar o un ligando (p.ej., MCP-1) como competidor.

35 Se pueden usar ensayos de inhibición de la unión para estudiar los presentes compuestos. En estos ensayos, los compuestos se estudian como inhibidores de la unión del ligando mediante el uso, por ejemplo, de MCP-1. En una realización, el receptor de CCR2 se pone en contacto con un ligando tal como MCP-1 y se realiza una medida de la unión del ligando. Después se pone en contacto el receptor con un agente de ensayo en presencia de un ligando (p.ej., MCP-1) y se realiza una segunda medida de la unión. Una reducción del grado de unión del ligando indica la inhibición de la unión por el agente de ensayo. Los ensayos de inhibición de la unión se pueden llevar a cabo mediante el uso de células completas que expresan la quimiocina, o una fracción de la membrana de células que expresan la quimiocina.

45 La unión de un receptor acoplado a proteína G, por ejemplo, por un agonista, puede dar como resultado un suceso de señalización por el receptor. Por lo tanto, los ensayos de señalización también se pueden usar para estudiar los compuestos de la presente invención, y la inducción de la función de señalización por un agente se puede monitorizar mediante el uso de cualquier método adecuado. Por ejemplo, la actividad de la proteína G, tal como la hidrólisis de GTP hasta GDP, o los sucesos de señalización posteriores desencadenados por la unión del receptor se pueden ensayar mediante métodos conocidos (véase, por ejemplo, el documento PCT/US97/15915; Neote et al., *Cell*, 72:415425 (1993); Van Riper et al., *J. Exp. Med.*, 177:851-856 (1993) y Dahinden et al., *J. Exp. Med.*, 179:751-756 (1994)).

50 También se pueden usar ensayos de quimiotaxia para determinar la función del receptor y estudiar los compuestos proporcionados en la presente memoria. Estos ensayos se basan en la migración funcional de las células in vitro o in vivo inducida por un agente, y se pueden usar para determinar la unión y/o el efecto sobre la quimiotaxia de los ligandos, inhibidores, o agonistas. Se conoce en la técnica una diversidad de ensayos de quimiotaxia, y se puede usar cualquier ensayo adecuado para estudiar los compuestos de la presente invención. Los ejemplos de ensayos adecuados incluyen los descritos en el documento PCT/US97/15915; Springer et al., documento WO 94/20142; Berman et al., *Immunol. Invest.*, 17:625-677 (1988); y Kavanaugh et al., *J. Immunol.*, 146:4149-4156 (1991)).

55 Los ensayos de señalización de calcio miden la concentración de calcio a lo largo del tiempo, preferiblemente antes y después de la unión al receptor. Estos ensayos se pueden usar para cuantificar la generación de un mediador de la señalización del receptor, Ca^{++} , tras la unión del receptor (o la ausencia de la misma). Estos ensayos son útiles

para determinar la capacidad de un compuesto, tal como los de la presente invención, de generar el mediador de la señalización del receptor por la unión a un receptor de interés. Además, estos ensayos son útiles para determinar la capacidad de un compuesto, tal como los de la presente invención, de inhibir la generación del mediador de la señalización del receptor interfiriendo con la unión entre un receptor de interés y un ligando.

- 5 En los ensayos de señalización de calcio usados para determinar la capacidad de un compuesto de interferir con la unión entre un receptor de quimiocinas y un ligando de quimiocinas conocido, las células que expresan el receptor de quimiocinas (células que expresan CCR2, tales como las células THP-1) se incuban primero con un compuesto de interés, tal como un antagonista potencial de quimiocinas, a concentraciones crecientes. El número de células puede ser de 10^5 a 5×10^5 células por pocillo en una placa de microtitulación de 96 pocillos. La concentración del compuesto a ensayar puede oscilar de 0 a 100 μM . Tras un periodo de incubación (que puede oscilar de 5 a 60 minutos), las células tratadas se colocan en un lector de placas por imagen fluorimétrica (FLIPR[®]) (disponible de Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El sistema FLIPR[®] es muy conocido para los expertos en la técnica como método estándar para llevar a cabo los ensayos. Las células se estimulan después con una cantidad adecuada del ligando de quimiocina (MCP-1 para CCR2) a una concentración final 5-100 nM, y se registra la señal del incremento del calcio intracelular (también denominado flujo de calcio). La eficacia de un compuesto como inhibidor de la unión entre la quimiocina y el ligando se puede calcular como la CI_{50} (la concentración necesaria para provocar un 50% de inhibición de la señalización) o CI_{90} (un 90% de inhibición).

- Los ensayos de migración celular in vitro se pueden llevar a cabo mediante el uso de la microcámara de 96 pocillos (denominada ChemoTX[™]). El sistema ChemoTX[™] es muy conocido para los expertos en la técnica como un tipo de instrumento de migración quimiotáctica/celular. En este ensayo, las células que expresan CCR2 (tales como THP-1) se incuban primero con un compuesto de interés, tal como un posible antagonista de CCR2, respectivamente, a concentraciones crecientes. El general, se usan cincuenta mil células por pocillo, pero la cantidad puede oscilar en 10^3 - 10^6 células por pocillo. El ligando de quimiocina (por ejemplo, ligando de CCR2 MCP-1), en general a 0,1 nM (pero puede oscilar en 5-100 nM) se coloca en la cámara inferior, y se monta el aparato de migración. Después se colocan veinte microlitros de células tratadas con el compuesto de ensayo sobre la membrana. Se deja que la migración tenga lugar a 37 °C durante un periodo de tiempo, generalmente 1,5 horas para CCR2. Al final de la incubación, se cuantifica el número de células que migraron a través de la membrana hasta la cámara inferior. La eficacia de un compuesto como inhibidor de la migración celular mediada por quimiocinas se calcula como una CI_{50} (la concentración necesaria para reducir la migración celular en un 50%) o CI_{90} (para un 90% de inhibición).

30 **Ensayo BiRAM**

- Los ejemplos de cribados primarios para identificar antagonistas de quimiocinas incluyen el ensayo BiRAM (documentos WO 02101350, US2004023286), que detecta resultados positivos potenciales por su capacidad de activar la migración celular a una concentración de quimiocina inhibitoria. Para comenzar tal ensayo, se recogen células que expresan quimiocinas (tales como células THP-1 para el ensayo de CCR2) mediante centrifugación de una suspensión de células a 1000 RPM en una centrifuga GS-6R de Beckman. El sedimento celular se resuspende en tampón de quimiotaxia (HBSS/0,1% de BSA) a 10×10^6 células/mL para el ensayo de CCR2. Se mezclan veinticinco microlitros de células con un volumen igual de un compuesto de ensayo diluido hasta 20 μM en el mismo tampón. Se transfieren veinte microlitros de la mezcla al filtro en la cámara superior de quimiotaxia, y se colocan 29 μL de disolución de quimiocina que contiene ligando de quimiocina (100 nM de quimiocina MCP-1 y proteína MIP-1 α para el ensayo de CCR2) en la cámara inferior. Tras una incubación a 37 °C (90 minutos para CCR2), el ensayo se termina retirando las gotas de células de la parte superior del filtro. Para cuantificar las células que migraron a través de la membrana, se añaden 5 μL de disolución CyQUANT[®] 7X a cada pocillo de la cámara inferior, y se mide la señal de fluorescencia en un lector de placas de fluorescencia Spectrafluor Plus (TECAN, Durham, NC).

- Para la selección de los resultados positivos potenciales, se calcula el nivel de activación de la migración como un índice RAM, la proporción entre la señal de un pocillo particular y la señal mediana de la placa completa. Los compuestos con un índice RAM mayor de 1,5 para el ensayo de CCR2 se consideran RAM-positivos, y se seleccionan para las determinaciones de CI_{50} en ensayos funcionales convencionales.

Ensayo de flujo de calcio

- El ensayo de flujo de calcio mide un incremento del calcio intracelular tras la activación del receptor inducida por el ligando, y se puede emplear como ensayo secundario tras el cribado primario. Tal ensayo se puede llevar a cabo, por ejemplo, en un aparato FLIPR[®] (Molecular Devices, Mountain View, CA). Para comenzar un ensayo, se recogen células que expresan quimiocinas (tales como células THP-1 para el ensayo de CCR2) mediante centrifugación de una suspensión celular, y se resuspenden a $1,5 \times 10^6$ células/mL en HBSS (con un 1% de suero bovino fetal). Las células se marcan después con el colorante indicador de calcio Fluo-4 AM durante 45 minutos a 37 °C con agitación suave. Tras la incubación, las células se sedimentan, se lavan una vez con HBSS y se resuspenden en el mismo tampón a una densidad de $1,6 \times 10^6$ células/mL. Cien microlitros de células marcadas se mezclan con 10 μL de compuesto de ensayo a las concentraciones adecuadas en una placa de ensayo. La proteína quimiocina (MCP-1 a una concentración final de 0,1 nM para el ensayo de CCR2) se añade para activar el receptor. El grado de inhibición se determina comparando las señales de calcio entre las células tratadas con el compuesto y las células sin tratar. Los cálculos de CI_{50} se llevan a cabo posteriormente mediante análisis de regresión de mínimos cuadrados no lineal

mediante el uso de Graphpad Prism (Graphpad Software, San Diego, CA).

Ensayo de unión de ligando

El ensayo de unión de ligando se puede usar para determinar la capacidad de los antagonistas potenciales de CCR2 de bloquear la interacción entre CCR2 y su ligando MCP-1. Las células THP-1 que expresan CCR2 se centrifugan y se resuspenden en tampón de ensayo (HEPES 20 mM de pH 7,1, NaCl 140 mM, CaCl₂ 1 mM, MgCl₂ 5 mM, y con un 0,2% de albúmina de suero bovino) a una concentración de $2,2 \times 10^5$ células/mL. Los ensayos de unión se desarrollan como sigue. En primer lugar, se añadieron 0,09 mL de células (1×10^5 células THP-1/pocillo) a las placas de ensayo que contenían los compuestos, lo que proporcionó una concentración final de ~2-10 μ M de cada compuesto para el cribado (o parte de una respuesta a dosis para las determinaciones de CI₅₀ del compuesto). Después se añaden 0,09 mL de MCP-1 marcado con ¹²⁵I (obtenido de Amersham; Piscataway, NJ) diluido en tampón de ensayo a una concentración final de ~50 pM, lo que produce ~30.000 cpm por pocillo, las placas se sellan y se incuban durante aproximadamente 3 horas a 4 °C en una plataforma de agitación. Las reacciones se aspiran en filtros de vidrio GF/B pre-humedecidos con un 0,3% de disolución de polietilenoimina (PEI), en un recolector de células a vacío (Packard Instruments; Meriden, CT). Se añade líquido de centelleo (50 μ L; Microscint 20, Packard Instruments) a cada pocillo, las placas se sellan y se mide la radiactividad en un contador de centelleo Top Count (Packard Instruments). Los pocillos de control que contienen diluyente solamente (para los recuentos totales) o MCP-1 en exceso (1 μ g/mL para la unión inespecífica) se usan para calcular el porcentaje de inhibición total para el compuesto. Se usa el programa informático Prism de GraphPad, Inc. (San Diego, Ca) para calcular los valores de CI₅₀. Los valores de CI₅₀ son las concentraciones necesarias para reducir la unión de MCP-1 marcado al receptor en un 50%.

Métodos de Tratamiento

Dependiendo de la enfermedad a tratar y del estado del sujeto, los compuestos y las composiciones de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral (p.ej., inyección o infusión intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, ICV, intracisternal, inyección subcutánea, o implante), inhalación, vía de administración nasal, vaginal, rectal, sublingual, o tópica, y se pueden formular, solos o juntos, en formulaciones farmacéuticas unitarias adecuadas que contienen vehículos farmacéuticamente aceptables atóxicos convencionales, adyuvantes y vehículos adecuados para cada vía de administración. La presente invención también contempla la administración de los compuestos y las composiciones de la presente invención en una formulación de liberación lenta.

En el tratamiento o la prevención de afecciones que requieren la modulación de un receptor de quimiocinas, un nivel de dosis adecuado será en general de 0,001 a 100 mg por kg de peso corporal del paciente por día, que se pueden administrar en dosis únicas o múltiples. Preferiblemente, el nivel de dosis será de 0,01 a 25 mg/kg por día; más preferiblemente de 0,05 a 10 mg/kg por día. Un nivel de dosis adecuado puede ser de 0,01 a 25 mg/kg por día, 0,05 a 10 mg/kg por día, o 0,1 a 5 mg/kg por día. En este intervalo, la dosis puede ser de 0,005 a 0,05, 0,05 a 0,5, 0,5 a 5,0, o 5,0 a 50 mg/kg por día. Para la administración oral, las composiciones se proporcionan preferiblemente en forma de comprimidos que contienen 1,0 a 1000 miligramos del ingrediente activo, en particular 1,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 50,0, 75,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 400,0, 500,0, 600,0, 750,0, 800,0, 900,0, y 1000,0 miligramos del ingrediente activo para el ajuste sintomático de la dosis al paciente a tratar. Los compuestos se pueden administrar en un régimen de 1 a 4 veces al día, preferiblemente una o dos veces al día.

Se entenderá, sin embargo, que el nivel específico de dosis y la frecuencia de la dosificación para cualquier paciente particular puede variar, y dependerá de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la longitud de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, las características hereditarias, la salud general, el sexo, la dieta, el modo y el momento de la administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad de la afección particular, y el hospedador que se somete a la terapia.

Agentes farmacológicos a usar junto con los compuestos de CCR2

Los agentes farmacológicos que se pueden usar junto con los antagonistas de CCR2 de la presente invención incluyen los usados para los tratamientos de aterosclerosis, reestenosis, esclerosis múltiple, fibrosis pulmonar, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reumatoide, enfermedad de injerto contra el hospedador, fibrosis renal, psoriasis, rechazo de trasplante, obesidad, diabetes, hipercolesterolemia y cáncer.

En otras realizaciones, los presentes métodos se dirigen al tratamiento de enfermedades alérgicas, en los que un compuesto o composición de la invención se administra solo o en combinación con un segundo agente terapéutico, en el que dicho segundo agente terapéutico es una antihistamina. Cuando se usan en combinación, el médico que aplica el tratamiento puede administrar una combinación del compuesto o composición de la presente invención y un segundo agente terapéutico. Además, el compuesto o la composición y el segundo agente terapéutico se pueden administrar de manera secuencial, en cualquier orden.

Los compuestos y las composiciones de la presente invención se pueden combinar con otros compuestos y composiciones que tienen utilidades relacionadas para prevenir y tratar la afección o enfermedad de interés, tales como afecciones y enfermedades inflamatorias, que incluyen la enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedades

alérgicas, psoriasis, dermatitis atópica y asma, y las patologías indicadas anteriormente. Un experto en la técnica puede seleccionar los agentes adecuados para el uso en las terapias de combinación. La combinación de agentes terapéuticos puede actuar de manera sinérgica para llevar a cabo el tratamiento o la prevención de los diversos trastornos. Mediante el uso de esta aproximación, se puede ser capaz de conseguir una eficacia terapéutica con dosis inferiores de cada agente, por lo que se reduce así la posibilidad de efectos secundarios adversos.

En el tratamiento, la prevención, la mejora, el control o la reducción del riesgo de inflamación, los compuestos de la presente invención se pueden usar junto con un agente antiinflamatorio o analgésico tal como un agonista opiáceo, un inhibidor de lipoxigenasa, tal como un inhibidor de 5-lipoxigenasa, un inhibidor de ciclooxigenasa, tal como un inhibidor de ciclooxigenasa-2, un inhibidor de interleucina, tal como un inhibidor de interleucina-1, un antagonista de NMDA, un inhibidor de óxido nítrico o un inhibidor de la síntesis de óxido nítrico, un agente antiinflamatorio no esteroideo, o un agente antiinflamatorio inhibidor de citocinas, por ejemplo con un compuesto tal como acetaminofeno, aspirina, codeína, secuestrantes biológicos de TNF, fentanilo, ibuprofeno, indometacina, cetorolaco, morfina, naproxeno, fenacetina, piroxicam, un analgésico esteroideo, sufentanilo, sunlindac, tenidap.

De forma similar, los compuestos de la presente invención se pueden administrar con un analgésico; un potenciador tal como cafeína, un antagonista H₂, simeticona, hidróxido de aluminio o de magnesio; un anticongestivo tal como pseudoefedrina; un antitusivo tal como codeína; un diurético; una antihistamina sedante o no sedante; un antagonista de antígeno muy tardío (VLA-4); un inmunodepresor tal como ciclosporina, tacrólimus, rapamicina, agonistas del receptor de EDG, u otros inmunodepresores de tipo FK-506; un esteroide; un agente anti-asmático no esteroideo tal como un agonista β₂, antagonista de leucotrienos, o inhibidor de la biosíntesis de leucotrienos; un inhibidor de fosfodiesterasa tipo IV (PDE-IV); un agente reductor del colesterol tal como un inhibidor de la HMG-CoA reductasa, un secuestrante, o un inhibidor de la absorción de colesterol; y un agente antidiabético tal como insulina, inhibidores de α-glucosidasa o glitazonas.

La proporción de peso del compuesto de la presente invención respecto del segundo ingrediente activo puede variar, y dependerá de las dosis eficaces de cada ingrediente. En general, se usará una dosis eficaz de cada uno. Así, por ejemplo, cuando un compuesto de la presente invención se combina con un NSAID, la proporción en peso del compuesto de la presente invención respecto del NSAID oscilará en general de alrededor de 1000:1 a alrededor de 1:1000, preferiblemente alrededor de 200:1 a alrededor de 1:200. Las combinaciones de un compuesto de la presente invención y otros ingredientes activos también estarán en general en el intervalo anteriormente mencionado, pero en cada caso se debería usar una dosis eficaz de cada ingrediente activo.

Tratamiento o Prevención de Afecciones o Enfermedades mediadas por CCR2

En otro aspecto, la presente invención se refiere al tratamiento o la prevención de una afección o enfermedad mediada por CCR2 mediante la administración a un sujeto que tiene tal afección o enfermedad de una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquier compuesto de fórmula (II) anterior. Los compuestos para el uso en los presentes métodos incluyen los compuestos según la fórmula (II), los proporcionados anteriormente como realizaciones, los ejemplificados específicamente en los Ejemplos siguientes, y los proporcionados con las estructuras específicas de la presente memoria. El "sujeto" se define en la presente memoria para incluir animales tales como mamíferos, que incluyen, pero sin limitación, primates (p.ej., seres humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones y similares. En las realizaciones preferidas, el sujeto es un ser humano.

Tal como se usa en la presente memoria, la frase "afección o enfermedad mediada por CCR2" y las frases y expresiones relacionadas se refieren a una afección o enfermedad caracterizada por una actividad funcional de CCR2 inadecuada, es decir, menor o mayor que la normal. La actividad funcional inadecuada de CCR2 podría surgir como resultado de la expresión de CCR2 en células que normalmente no expresan CCR2, la expresión incrementada de CCR2 (que conduce, p.ej., a trastornos y enfermedades inflamatorias e inmunoregulatorias) o la expresión disminuida de CCR2. La actividad funcional inadecuada de CCR2 podría surgir también como resultado de la secreción de MCP-1 por células que normalmente no secretan MCP-1, la expresión incrementada de MCP-1 (que conduce, p.ej., a trastornos y enfermedades inflamatorias e inmunoregulatorias) o la expresión disminuida de MCP-1. Una afección o enfermedad mediada por CCR2 puede estar mediada completamente o parcialmente por una actividad funcional de CCR2 inadecuada. Sin embargo, una afección o enfermedad mediada por CCR2 es una en la que la modulación de CCR2 da como resultado cierto efecto sobre la afección o enfermedad subyacente (p.ej., un antagonista de CCR2 da como resultado cierta mejora en el bienestar del paciente en al menos algunos pacientes). Además, MCP-2, 3 y 4 son también ligandos de CCR2.

En una realización, la presente invención se refiere al tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que implica la administración a un sujeto de una cantidad segura y eficaz del compuesto o composición de la invención.

En una realización, la presente invención se refiere al tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que implica la administración a un sujeto una cantidad segura y eficaz del compuesto o composición de la invención, en la que la afección o enfermedad mediada por CCR2 es aterosclerosis.

En una realización, la presente invención se refiere al tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que implica la administración a un sujeto una cantidad segura y eficaz del compuesto o composición de la invención, en la que la afección o enfermedad mediada por CCR2 es reestenosis.

5 En una realización, la presente invención se refiere al tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que implica la administración a un sujeto una cantidad segura y eficaz del compuesto o composición de la invención, en la que la afección o enfermedad mediada por CCR2 es esclerosis múltiple.

10 En una realización, la presente invención se refiere al tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que implica la administración a un sujeto de una cantidad segura y eficaz del compuesto o composición de la invención, en el que la afección o enfermedad mediada por CCR2 se selecciona del grupo que consiste en enfermedad inflamatoria intestinal, fibrosis renal, artritis reumatoide, obesidad y diabetes no insulino dependiente.

En una realización, la presente invención se refiere al tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que implica la administración a un sujeto una cantidad segura y eficaz del compuesto o composición de la invención, en la que la afección o enfermedad mediada por CCR2 es diabetes tipo 2.

15 En una realización, la presente invención se refiere al tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que implica la administración a un sujeto de una cantidad segura y eficaz del compuesto o composición de la invención, en el que la afección o enfermedad mediada por CCR2 se selecciona del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis pulmonar idiopática y síndrome de neumonía idiopática.

20 En una realización, la presente invención se refiere al tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que implica la administración a un sujeto de una cantidad segura y eficaz del compuesto o composición de la invención, en el que la administración es oral, parenteral, rectal, transdérmica, sublingual, nasal o tópica.

En una realización, la presente invención se refiere al tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que implica la administración a un sujeto de una cantidad segura y eficaz del compuesto o composición de la invención, en el que el compuesto se administra en combinación con un agente antiinflamatorio o analgésico.

25 En una realización, la presente invención se refiere al tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que implica la administración a un sujeto de una cantidad segura y eficaz del compuesto o composición de la invención, en el que también se administra un agente antiinflamatorio o analgésico.

En una realización, la presente invención se refiere a la modulación de una función de CCR2 en una célula, en la que la función de CCR2 en la célula se modula poniendo en contacto la célula con una cantidad moduladora de CCR2 del compuesto de la presente invención.

30 En una realización, la presente invención se refiere al tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 que implica la administración a un sujeto de una cantidad segura y eficaz del compuesto o composición de la invención, en el que la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en fibrosis pulmonar, rechazo de trasplante, enfermedad de injerto contra el hospedador y cáncer.

35 Aún en otras realizaciones, la presente invención se dirige al tratamiento de psoriasis en el que un compuesto o composición de la invención se usa solo o en combinación con un segundo agente terapéutico tal como un corticosteroide, un lubricante, un agente queratolítico, un derivado de la vitamina D₃, PUVA y antralina.

En otras realizaciones, la presente invención se dirige al tratamiento de la dermatitis atópica mediante el uso de un compuesto o composición de la invención solo o en combinación con un segundo agente terapéutico, tal como un lubricante y un corticosteroide.

40 En realizaciones adicionales, la presente invención se dirige al tratamiento del asma mediante el uso de un compuesto o composición de la invención solo o en combinación con un segundo agente terapéutico, tal como un agonista β₂ y un corticosteroide.

Preparación de moduladores

Los ejemplos siguientes se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar, la invención reivindicada.

45 Además, los expertos en la técnica reconocerán que las moléculas reivindicadas de esta patente se pueden sintetizar mediante el uso de una diversidad de transformaciones habituales de la química orgánica.

50 Ciertos tipos de reacciones generales empleados frecuentemente para sintetizar los compuestos de interés de esta invención se resumen en los ejemplos. De manera específica, se proporcionan procedimientos genéricos para la formación de sulfonamidas, para la formación de N-óxido de piridina y para la síntesis de 2-aminofenil-arilmetanona por medio de aproximaciones de tipo Friedel-Crafts, pero se describen muchos otros procedimientos químicos habituales, y se emplearon de manera rutinaria.

Aunque no pretenden ser exhaustivas, las transformaciones orgánicas sintéticas representativas que se pueden usar

para preparar los compuestos de la invención se incluyen más adelante.

5 Estas transformaciones representativas incluyen; manipulaciones de grupos funcionales habituales; reducciones tales como nitro a amino; oxidaciones de grupos funcionales, que incluyen alcoholes y piridinas; sustitución de arilos por medio de *IPSO* u otros mecanismos para la introducción de una diversidad de grupos que incluyen nitrilo, metilo y halógeno; introducciones y eliminaciones de grupos protectores; formación de reactivos de Grignard y reacción con un electrófilo; acoplamiento cruzados mediados por metales que incluyen, pero sin limitación, las reacciones de Buchwald, Suzuki y Sonigashira; halogenaciones y otras reacciones de sustitución aromática electrófila; formación de sales de diazonio y reacciones de estas especies; eterificaciones; condensaciones de ciclación, deshidrataciones, oxidaciones y reducciones que conducen a grupos heteroarilo; metalaciones de arilos y transmetalaciones, y reacción de las especies aril-metálicas consiguientes con un electrófilo tal como un cloruro de ácido o amida de Weinreb; amidaciones; esterificaciones; reacciones de sustitución nucleófila; alquilaciones; acilaciones; formación de sulfonamida; clorosulfonilaciones; hidrólisis de ésteres e hidrólisis relacionadas.

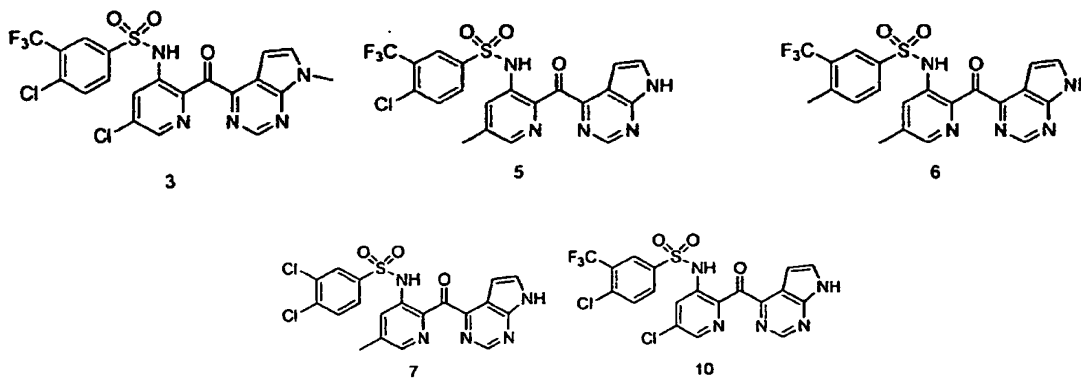
Ciertas moléculas reivindicadas en esta patente pueden existir en diferentes formas enantioméricas y diastereoméricas, y tales variantes de estos compuestos están dentro del alcance de la invención.

15 En las descripciones de las síntesis siguientes, algunos precursores se obtuvieron de fuentes comerciales. Estas fuentes comerciales incluyen Aldrich Chemical Co., Acros Organics, Ryan Scientific Incorporated, Oakwood Products Incorporated, Lancaster Chemicals, Sigma Chemical Co., Lancaster Chemical Co., TCI-America, Alfa Aesar, Davos Chemicals, y GFS Chemicals.

20 Los compuestos de la invención, que incluyen los enumerados en la tabla de actividades, se pueden producir mediante los métodos y aproximaciones descritas en la sección experimental siguiente, y mediante el uso de transformaciones habituales de la química orgánica que son muy conocidas para los expertos en la técnica.

Ejemplos

Los compuestos siguientes están dentro del alcance de la invención:



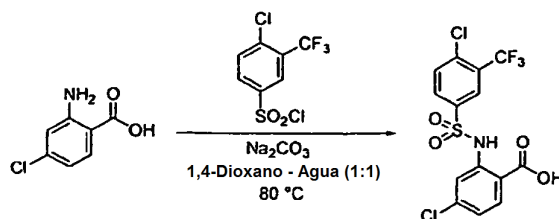
25 Los compuestos 3-10 tienen una Cl_{50} menor de 1000 nM en el ensayo de quimiotaxia de CCR2.

Se produjeron los compuestos anteriores y otros dentro del alcance de esta invención, y se descubrió que eran antagonistas activos de CCR2 mediante el uso de los procedimientos siguientes.

30 Los reactivos y disolventes usados más adelante se pueden obtener de fuentes comerciales tales como Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, EE.UU.). Los 1H -RMN se registraron en un espectrómetro de RMN de 400 MHz Varian Mercury. Los picos significativos se tabulan en el orden: multiplicidad (br, ancho; s, singlete; d, doblete; t, triplete; q, cuarteto; m, multiplete) y el número de protones. Los resultados de la espectrometría de masas se informan como la proporción de la masa respecto de la carga, seguido de la abundancia relativa de cada ión (entre paréntesis). En las tablas, se indica un único valor m/e para el ión M+H (o, como se indica, M-H) que contiene los isótopos atómicos más comunes. Los patrones isotópicos corresponden a la fórmula esperada en todos los casos. El análisis de espectrometría de masas con ionización por electronebulización (ESI) se llevó a cabo en un espectrómetro de masas con electronebulización Hewlett-Packard MSD mediante el uso del dispositivo HP1100 HPLC para el suministro de las muestras. Normalmente, el analito se disolvió en metanol a 0,1 mg/mL y se infundió 1 microlitro con el disolvente de suministro en el espectrómetro de masas, que hizo un barrido de 100 a 1500 daltons. Todos los compuestos se pudieron analizar en el modo ESI positivo, mediante el uso de acetonitrilo / agua con un 1% de ácido fórmico como disolvente de suministro. Los compuestos proporcionados más adelante también se pudieron analizar en el modo ESI negativo, mediante el uso de NH_4OAc 2 mM en acetonitrilo / agua como sistema de suministro.

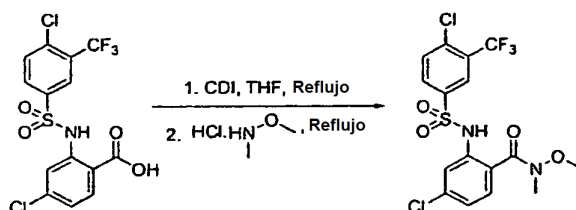
Preparación de Intermedios

Intermedio 1: Ácido 4-cloro-2-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-benzoico



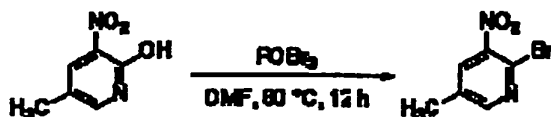
- 5 A una disolución de Na_2CO_3 (11,7 g, 110,7 mmol) en agua (50 mL) y 1,4-dioxano (50 mL) a 60 °C se le añadió ácido 2-amino-4-cloro-benzoico (5,0 g, 29,14 mmol) seguido de cloruro de 4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilo (20,15 g, 72,48 mmol) en 3 porciones, y se calentó la mezcla de reacción resultante a 80 °C durante 4 horas. Se añadió HCl 2 N hasta que la mezcla de reacción se hizo ácida ($\text{pH} \approx 2$) y el sólido blanco obtenido se filtró, se lavó con agua, se secó a alto vacío para obtener el compuesto del título (7,8 g) con un rendimiento del 65%. MS (ES) M+Na esperado 436,0, hallado 435,8.

- 10 Intermedio 2: 4-Cloro-2-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-N-metoxi-N-metil-benzamida



- 15 A una disolución de ácido 4-cloro-2-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-benzoico (5,0 g, 12,1 mmol) en THF (20 mL) se le añadió N,N'-carbonildiimidazol (CDI, 2,45 g, 15,13 mmol) en porciones (¡Precaución!: $\text{CO}_2\uparrow$). La mezcla de reacción resultante se calentó después a reflujo. Después de 4 horas, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se cargó con hidrocloruro de N,O-dimetilhidroxilamina (1,3 g, 13,31 mmol) y se calentó a reflujo durante 1 hora. Se añadió agua (100 mL) seguido de EtOAc (100 mL) con agitación. Se separó la capa de EtOAc, y la capa acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc (2 x 50 mL). Las capas de EtOAc combinadas se lavaron con HCl ac. 2 N (50 mL), disolución saturada de NaHCO_3 (50 mL), salmuera (50 mL), se secaron (Na_2SO_4) y se evaporaron. El producto bruto obtenido se purificó mediante cromatografía de fase normal automatizada (50% de EtOAc en hexanos) para proporcionar el compuesto del título (4,0 g) con un rendimiento del 73%. MS (ES) M+H esperado 457,0, hallado 456,9.
- 20

Intermedio 3: 2-Bromo-5-metil-3-nitropiridina:



- 25 Se añadió POBr_3 (222,8 g, 0,78 mol) en porciones a 2-hidroxi-5-metil-3-nitropiridina (100 g, 0,65 mol) en DMF (500 mL) con agitación a 0-10 °C, y después la mezcla de reacción se agitó a 80 °C bajo nitrógeno durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió y se vertió en hielo picado (1 Kg), el sólido obtenido se filtró, se lavó a fondo con agua helada (2 x 500 mL), se secó en un desecador a alto vacío durante un día para obtener 2-bromo-5-metil-3-nitropiridina en forma de un sólido amarillo (121 g) con un rendimiento del 86%. (M+H) Esperado: 217; hallado 216,9.

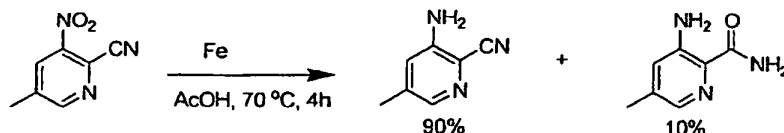
Intermedio 4: 2-Ciano-5-metil-3-nitropiridina:



- 30 Un matraz de fondo redondo se cargó con 2-bromo-5-metil-3-nitropiridina (60,53 g, 278,9 mmol) y CuCN (27,52 g, 307,3 mmol). El matraz se vació, y se volvió a llenar con nitrógeno. Se añadió DMF (150 mL) a través de una cánula. La disolución se calentó a 70 °C durante 1,5 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de

reacción se vertió en EtOAc (500 mL) y agua (250 mL). Ambas fases se filtraron a través de un lecho de 1 cm de Celite. Las capas se separaron, y la fase orgánica se lavó con agua (2 x 100 mL) y después con una disolución sat. ac. de NH_4Cl / NH_4OH 1:1 (2 x 100 mL). Las capas acuosas combinadas se extrajeron con EtOAc (2 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron a vacío para proporcionar el compuesto del título (36,10 g, rendimiento del 79%).

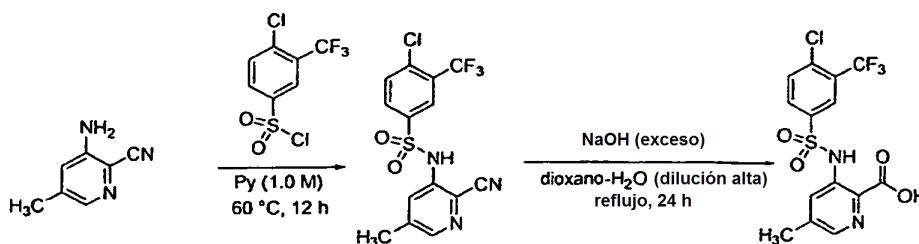
Intermedio 5: 3-Amino-2-ciano-5-metilpiridina:



A ácido acético (300 mL) en un matraz de fondo redondo de 2 litros y 3 bocas equipado con un agitador mecánico y un termómetro se le añadió polvo de Fe (99,6 g, 1,78 mol) con agitación a 60 °C. Se disolvió 2-ciano-5-metil-3-nitropiridina (97 g, 0,59 mol) en ácido acético (400 mL) con calentamiento suave, y se añadió a la mezcla de reacción anterior gota a gota con una agitación eficaz de manera que la temperatura de la reacción se mantuvo por debajo de 80 °C a lo largo de 3,5 horas. La mezcla de reacción se agitó adicionalmente durante otros 30 min, se enfrió, se diluyó con EtOAc (750 mL), se filtró a través de Celite y se lavó con EtOAc (1 x 500 mL, 3 x 250 mL). Las capas de EtOAc combinadas se evaporaron hasta sequedad para obtener un sólido marrón oscuro que se neutralizó con una disolución saturada de NaHCO_3 (850 mL), tras la adición de agua (250 mL) para obtener una mezcla homogénea, esta capa acuosa se extrajo con EtOAc (1 x 750 mL, 2 x 500 mL). Las capas de EtOAc combinadas se filtraron a través de una almohadilla pequeña de gel de sílice (arena- SiO_2 -arena en un embudo sinterizado), se secaron (Na_2SO_4) y se evaporaron para obtener 3-amino-2-ciano-5-metilpiridina (60 g) en forma de un sólido amarillo con un rendimiento del 76%, que incluía un ~10% de la amida correspondiente.

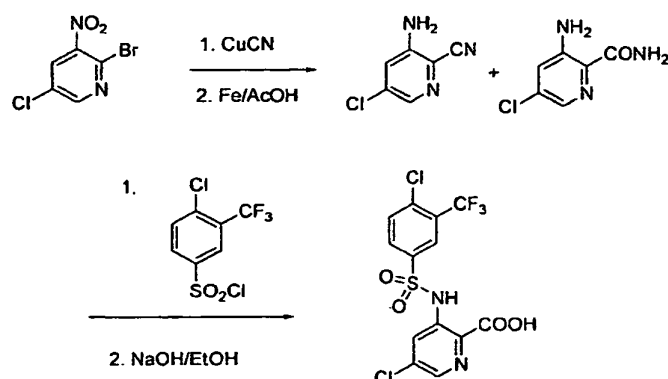
A la 3-amino-2-ciano-5-metilpiridina bruta (que contenía ~10% de carboxamida) (49 g) se le añadió EtOAc (441 mL, proporción en volumen 9:1 respecto de anilina), la suspensión resultante se calentó a reflujo para formar una disolución clara. Después de enfriar a temperatura ambiente, el cristal resultante se recogió mediante filtración, se lavó con una pequeña cantidad de EtOAc frío (44 mL (1/10 del volumen inicial) X 2), y se secó a vacío para proporcionar la 3-amino-2-ciano-5-metilpiridina pura (35 g) en forma de agujas amarillas pálidas. El licor madre se concentró a presión reducida, al sólido amarillo resultante se le añadió EtOAc (136 mL) y se repitió el procedimiento anterior para proporcionar otros 4 g de 3-amino-2-ciano-5-metilpiridina pura; rendimiento de recuperación total del 79,5%. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,89 (1H, s), 6,90 (1H, s), 4,39 (2H, ancho), 2,30 (3H, s). MS (ES) M+H esperado 134,0, hallado 134,0.

Intermedio 6: Ácido 3-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-5-metil-piridin-2-carboxílico:



A 3-amino-5-metilpicolinonitrilo (9,6 g, 72 mmol) en piridina (63 mL) se le añadió cloruro de 4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilo (19,6 g, 80 mmol) en una porción y la mezcla de reacción resultante se agitó a 60 °C durante la noche. La piridina se eliminó a vacío, se añadió HCl 2 N (100 mL), se extrajo con EtOAc (3 x 300 mL; Nota: debido a la presencia de amida, la solubilidad en EtOAc es baja). Las capas de EtOAc combinadas se secaron (Na_2SO_4), se evaporaron para obtener 26,3 g del producto bruto que contenía una cantidad pequeña de bis-sulfonamida que se sometió a hidrólisis en THF (200 mL) con NaOH 2 N (100 mL) a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió HCl 2 N (100 mL), se extrajo con EtOAc (1 x 700 mL, 1x 250 mL), las capas de EtOAc combinadas se lavaron con una disolución saturada de NaHCO_3 (2 x 250 mL), se secaron (Na_2SO_4) y se evaporaron para obtener 22 g de monosulfonamida. A este dioxano (350 mL), se le añadió agua (450 mL) (Nota: requiere una dilución elevada para una reacción rápida), seguido de NaOH (30 g, 0,75 mol) y se agitó a reflujo durante 24 horas. El dioxano se eliminó a vacío y se añadió lentamente HCl conc. (75 mL) con refrigeración. El sólido resultante se filtró, se lavó con agua y se secó a vacío para proporcionar el compuesto del título (22 g, 88% para 2 etapas) en forma de un sólido amarillo claro. (M+H) Esperado: 395,0; hallado 394,9.

Intermedio 7: Ácido 5-cloro-3-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil-sulfonamido)picolínico

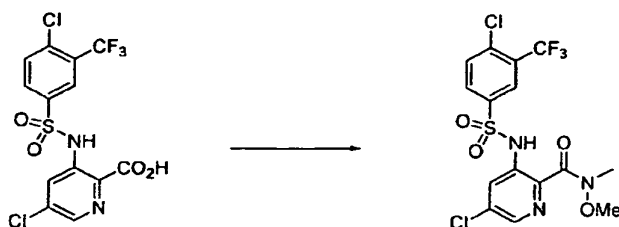


Etapa 1: Un matraz de 250 mL seco se cargó con 2-bromo-5-cloro-3-nitropiridina (24 g, 101 mmol), CuCN (19 g, 212 mmol) y DMF (100 mL). La mezcla resultante se agitó a 110 °C durante 2 horas. La mezcla se concentró a presión reducida. Se añadió agua (100 mL) y se extrajo con EtOAc (3 X 250 mL). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄) y se filtró. El disolvente se evaporó a vacío para proporcionar un sólido amarillo claro (15 g) que se usó directamente para la siguiente etapa.

Etapa 2: Un matraz de fondo redondo de 250 mL con una barra de agitación magnética se cargó con hierro en polvo (15,6 g, 0,3 mol) en ácido acético (80 mL) y se calentó a 80 °C (baño de aceite) bajo N₂. A esta mezcla se le añadió lentamente la nitrocianopiridina anterior (10 g, 55 mmol) de la etapa 1 en ácido acético (80 mL) a través de un embudo de goteo a lo largo de 15 minutos. La mezcla se agitó a 80 °C durante otros 30 min tras la adición. Después de enfriar, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se filtró a través de Celite y el disolvente se evaporó a vacío. El residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con NaOH 3 N, salmuera, se secó sobre MgSO₄, y se concentró a vacío para proporcionar una mezcla 4:1 (7,7 g) de 3-amino-2-ciano-5-cloropiridina (mayoritaria) y la 2-amida. La mezcla se usó directamente para la siguiente etapa: MS (ES) (M+H)⁺ esperado 154,0, hallado 154,0.

Etapa 3: Se cargó un matraz de fondo redondo de 100 mL con la mezcla anterior de 3-amino-2-ciano-5-cloropiridina (7,7 g, 50 mmol), cloruro de 4-cloro-3-trifluorometilbencenosulfonilo (28 g, 100 mmol), y piridina (50 mL). La disolución resultante se calentó a 70 °C y se agitó durante 5 horas. La piridina se eliminó a vacío y se añadió un 80% de EtOH ac. (260 mL), seguido de NaOH (30 g, 0,75 mol). La mezcla se agitó a reflujo durante 12 horas. El disolvente se eliminó posteriormente a vacío y se añadió hielo (100 g). El pH se ajustó a 2-3 con HCl conc. La disolución acuosa resultante se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, y se concentró a vacío. El sólido amarillo claro resultante se recrystalizó a partir de EtOAc/hexano (1:1) para proporcionar el ácido deseado en forma de agujas blancas (10 g, rendimiento global del 44%): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 10,80 (s, 1H), 8,23 (m, 3H), 8,00 (d, 1H), 7,63 (d, 1H); MS (ES) (M+H)⁺ esperado 415,0, hallado 415,0.

Intermedio 8: Metoxi-metil-amida de ácido 5-cloro-3-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-piridin-2-carboxílico



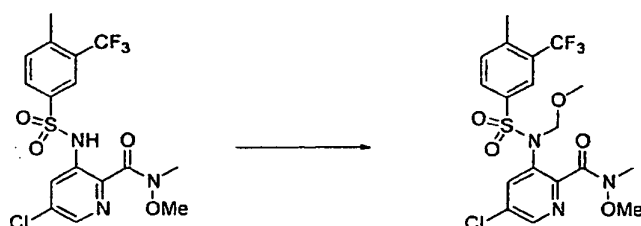
Se suspendió ácido 5-cloro-3-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-piridin-2-carboxílico (15,8 g, 38 mmol), hidrocloreto de *N,O*-dimetil hidroxilamina (11,1 g, 114 mmol), DIEA (41 mL, 228 mmol), y BOP (69 g, 156 mmol), en 80 mL de DMF y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con HCl 1 (M) (100 mL), se extrajo con EtOAc, y las porciones orgánicas se lavaron con HCl acuoso 1 (M), NaHCO₃ y salmuera. Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía rápida en columna para proporcionar metoxi-metil-amida de ácido 5-cloro-3-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-piridin-2-carboxílico: MS *m/z*: (M+H)⁺ 458,0.

Intermedio 9: Metoxi-metil-amida de ácido 5-cloro-3-(4-metil-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-piridin-2-carboxílico



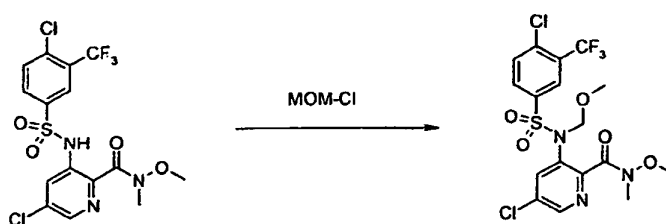
5 Intermedio 10: Metoxi-metil-amida de ácido 5-cloro-3-(4-metil-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-piridin-2-carboxílico se preparó a partir de ácido 5-cloro-3-(4-metil-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-piridin-2-carboxílico siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo precedente.

Intermedio 11: Metoxi-metil-amida de ácido 5-cloro-3-[metoximetil-(4-metil-3-trifluorometil-bencenosulfonil)-amino]-piridin-2-carboxílico



10 A una mezcla de hidruro sódico (164 mg, 4,10 mmol) en 5 mL de THF se le añadió una mezcla de metoxi-metil-amida de ácido 5-cloro-3-(4-metil-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-piridin-2-carboxílico (1,50 g, 3,42 mmol) y clorometil metil éter (0,388 mL, 5,13 mmol) en 5 mL de THF. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Tras la eliminación de los disolventes, el residuo se purificó mediante cromatografía rápida en columna (20% de acetato de etilo en hexano) para proporcionar 1,50 gramos del compuesto del título en forma de un sólido blanco:
15 (M⁺+H) esperado 482,0, hallado 482,0.

Intermedio 12: Metoxi-metil-amida de ácido 5-cloro-3-[metoximetil-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonil)-amino]-piridin-2-carboxílico



20 A una suspensión de hidruro sódico (314 mg, 7,86 mmol) en 8 mL de THF se le añadió una mezcla de metoxi-metil-amida de ácido 5-cloro-3-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-piridin-2-carboxílico (3,0 g, 6,55 mmol) y clorometil metil éter (0,741 mL, 9,825 mmol) en 8 mL de THF. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Tras la eliminación de los disolventes, el residuo se purificó mediante cromatografía rápida en columna (20% de acetato de etilo en hexano) para proporcionar 2,70 gramos del compuesto del título en forma de un sólido blanco. (M+H)⁺ esperado 502,0, hallado 502,0.

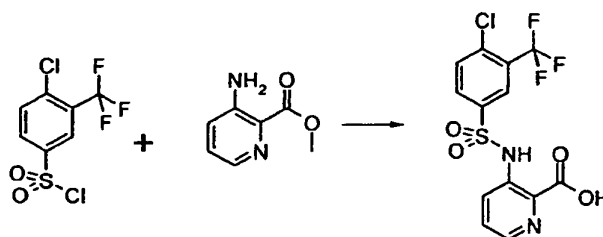
25 Intermedio 13: Éster metílico de ácido 3-amino-piridin-2-carboxílico



30 Se disolvieron 400 mg (2,9 mmol) de ácido 3-amino-piridin-2-carboxílico en 3 mL de metanol. A esta disolución se le añadieron 1,6 mL de una disolución 2 M de (trimetilsilil)diazometano en éter dietílico gota a gota a 0 °C, seguido de agitación de la mezcla durante 2 horas a temperatura ambiente. La disolución se diluyó con acetato de etilo y se lavó con una disolución acuosa de bicarbonato sódico. La cromatografía rápida proporcionó el producto de éster. LC-

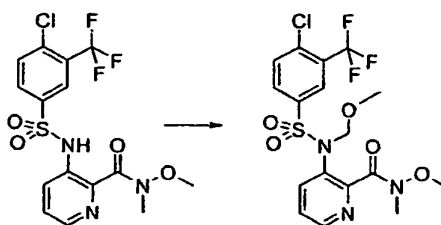
MSD, m/z para $C_7H_8N_2O_2$ $[M+H]^+ = 153,0$; Tiempo de retención en HPLC: 0,2 minutos.

Intermedio 14: Ácido 3-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-piridin-2-carboxílico



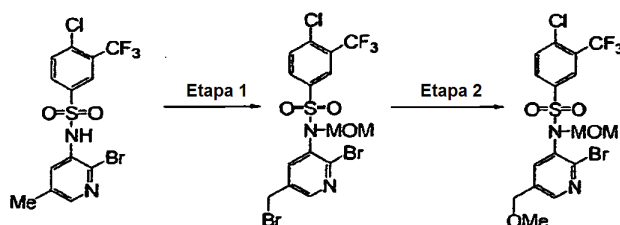
- 5 Se preparó a partir de 0,60 g (2,17 mmol) de cloruro de 4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilo y 0,30 g (1,97 mmol) de éster metílico de ácido 3-amino-piridin-2-carboxílico en 3 mL de piridina mediante el uso del procedimiento usado para preparar 4-cloro-N-(2-ciano-5-metilpiridin-3-il)-3-(trifluorometil)bencenosulfonamida en la preparación del Intermedio 6. El disolvente se cambió por THF, seguido de la adición de LiOH acuoso 1 M, y la mezcla se agitó durante 1 hora. El pH de la mezcla se ajustó a pH neutro y el producto se extrajo con acetato de etilo. LC-MSD, m/z para $C_{13}H_8ClF_3N_2O_4S$ $[M+H]^+ = 380,9, 383,0$; Tiempo de retención en HPLC: 1,8 minutos.

- 10 Intermedio 15: Metoxi-metil-amida de ácido 3-[(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonil)-metoximetil-amino]-piridin-2-carboxílico



- 15 Se preparó a partir de 1,05 g (2,48 mmol) de metoxi-metil-amida de ácido 3-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-piridin-2-carboxílico, 1,71 g de carbonato potásico y 566 μ L de cloruro de metoximetilo en 7 mL de THF mediante el uso del procedimiento usado en la preparación del Intermedio 12. Rendimiento: 420 mg de un sólido blanco. LC-MSD, m/z para $C_{17}H_{17}ClF_3N_3O_5S$ $[M+Na]^+ = 490,0, 491,9$; Tiempo de retención en HPLC: 2,5 minutos.

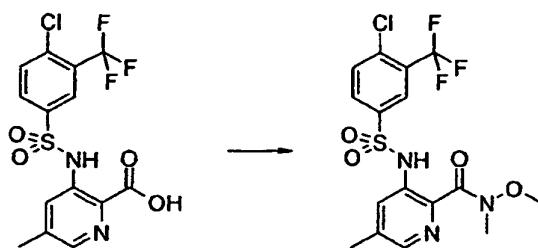
Intermedio 16: 4-Cloro-N-(2-(5-metoxi-1H-pirrololo[2,3-b]piridin-4-carbonil)-5-(metoximetil)piridin-3-il)-3-(trifluorometil) bencenosulfonamida



- 20 Etapa 1: A una disolución de la bromopiridina (132 mg, 0,28 mmol) en tetracloruro de carbono (4 mL) se le añadió *N*-bromosuccinimida (60 mg, 1,2 equiv.), seguido de 2,2'-azobisisobutironitrilo (AIBN, 4,6 mg, 0,1 equiv.). La mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, se eliminó el tetracloruro de carbono en exceso y el residuo se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (33% de EtOAc/hexanos). El producto deseado se obtuvo en forma de un sólido blanco (107 mg, 70%). MS: $(M + H)/z = 551$.

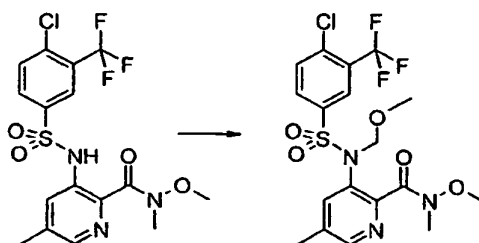
- 25 Etapa 2: El producto obtenido a partir de la etapa 1 anterior (51 mg, 0,093 mmol) se disolvió en 3 mL de metanol. A la disolución resultante se le añadió metóxido sódico (10 mg, 2,0 equiv.). La mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, la reacción se paró con una disolución saturada de cloruro amónico, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron a vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (33% de EtOAc/hexanos). El producto deseado se obtuvo en forma de un sólido blanco (42 mg, 90%). MS: $(M + H)/z = 503$.

Intermedio 17: Metoxi-metil-amida de ácido 3-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-5-metil-piridin-2-carboxílico



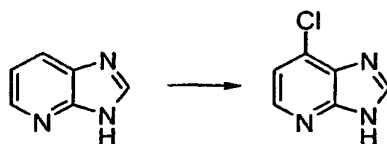
5 Se hicieron reaccionar 10,49 g (26,6 mmol) de ácido 3-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-5-metil-piridin-2-carboxílico con 5,40 g (33,2 mmol) de *N,N'*-carbonildiimidazol en 40 mL de THF a reflujo durante 3 h. La temperatura se redujo a 50 °C, se añadieron 2,86 g (29,3 mmol) de hidrocloreto de *O,N*-dimetil-hidroxilamina y la reacción se agitó durante la noche a 50 °C. La mitad del disolvente se eliminó a presión reducida y la mezcla de reacción se diluyó con 200 mL de agua fría. Los sólidos se filtraron, se lavaron con 100 mL de agua y se secaron para proporcionar 9,8 g (84%) del producto en forma de un polvo marrón.

10 Intermedio 18: Metoxi-metil-amida de ácido 3-[(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonil)-metoximetil-amino]-5-metil-piridin-2-carboxílico



15 Se preparó a partir de 223 mg (0,51 mmol) de metoxi-metil-amida de ácido 3-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-5-metil-piridin-2-carboxílico, 352 mg de carbonato potásico y 116 µL de cloruro de metoximetilo en 1 mL de THF mediante el uso del procedimiento usado para preparar el Intermedio 12. Rendimiento: 200 mg de un sólido blanco. LC-MSD, m/z para $C_{18}H_{19}ClF_3N_3O_5S$ [M+H]⁺ = 482,0. 484,0; Tiempo de retención en HPLC: 2,5 minutos.

Intermedio 19: 7-Cloro-3H-imidazo[4,5-b]piridina



20 El producto se preparó siguiendo el procedimiento de *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, 3165-3168.

Intermedio 20: 6-Yodo-9H-purina



25 Una mezcla de 6-cloro-9H-purina (684 mg, 4,46 mmol) y 6 mL de ácido yodhídrico del 57% se agitó a 0 °C durante 1,5 horas. La reacción proporcionó 840 mg del producto en forma de un polvo blanco. El sólido se filtró, se suspendió en 5 mL de agua y se llevó hasta pH=8 con una disolución acuosa de amoníaco. La suspensión se enfrió a 0 °C y el sólido se filtró, se lavó con agua fría y se secó para proporcionar el producto.

Intermedio 21: 4-Yodo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina



5 Una mezcla de 4-cloro-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (673 mg, 4,41 mmol) y 7 mL de ácido yodhídrico del 57% se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. El sólido se filtró, se suspendió en 5 mL de agua y se llevó hasta pH=8 con una disolución acuosa de amoníaco. La suspensión se enfrió a 0 °C y el sólido se filtró, se lavó con agua fría y se secó para proporcionar 970 mg del producto en forma de un polvo blanco. El producto contiene alrededor de un 10% del material de partida.

Intermedio 22: 7-Yodo-3H-imidazo[4,5-b]piridina



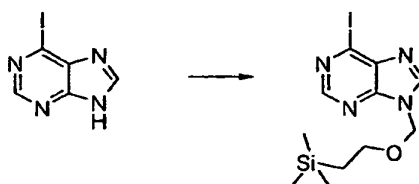
10 Una mezcla de 7-cloro-3H-imidazo[4,5-b]piridina (1,47 g, 9,64 mmol) y 15 mL de ácido yodhídrico del 57% se hizo reaccionar a 80 °C durante 4 horas. Después de filtrar el sólido, se volvió a enviar a la reacción con 10 mL de ácido yodhídrico del 57% nuevo. La reacción proporcionó 1,3 g del producto en forma de un polvo negro, 90% puro.

Procedimiento General para la N-protección de los Yodoheterociclos

15 Se disolvieron 1,65 mmol del yodoheterociclo en 2 mL de DMF y se enfriaron a 0 °C. A esta disolución se le añadieron 1,81 mmol de hidruro sódico al 60% seguido de la adición gota a gota de 1,81 mmol de cloruro de trimetilsililetoximetilo a lo largo de un periodo de 5 minutos. La disolución se agitó a 0 °C durante 0,5 h, seguido de 0,5 h a temperatura ambiente. A esta disolución se le añadieron 10 mL de agua y la mezcla se extrajo dos veces con 10 mL de éter dietílico. Las capas orgánicas se lavaron con 10 mL de agua, después se secaron sobre sulfato magnésico anhidro, se evaporaron a presión reducida y se purificaron con sílice mediante el uso de acetato de etilo en hexanos.

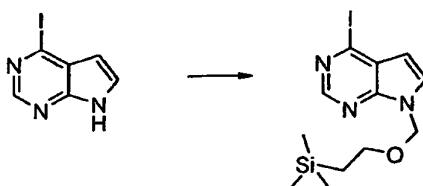
20

Intermedio 23: 6-Yodo-9-(2-trimetilsilanil-etoximetil)-9H-purina



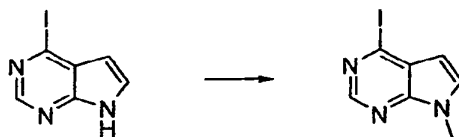
25 Se disolvieron 405 mg (1,65 mmol) de 6-yodo-9H-purina en 2 mL de DMF. Se añadieron 72 mg (1,81 mmol) de hidruro sódico del 60%, seguido de 320 µL (1,81 mmol) de cloruro de trimetilsililetoximetilo. Rendimiento: 343 mg de un producto oleoso.

Intermedio 24: 4-Yodo-7-(2-trimetilsilanil-etoximetil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina



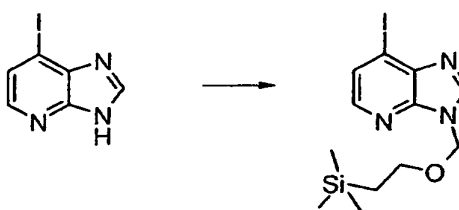
30 Se disolvieron 610 mg (2,49 mmol) de 4-yodo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina en 2,5 mL de DMF. Se añadieron 110 mg (2,74 mmol) de hidruro sódico del 60%, seguido de 480 µL (2,74 mmol) de cloruro de trimetilsililetoximetilo. Rendimiento: 750 mg de un producto oleoso. 90% puro.

Intermedio 25: 4-Yodo-7-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina



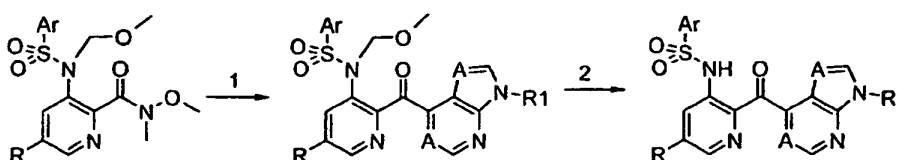
- 5 Se disolvieron 206 mg (0,84 mmol) de 4-yodo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina en 1 mL de DMF. Se añadieron 37 mg (0,92 mmol) de hidruro sódico del 60%, seguido de 58 μ L (0,92 mmol) de yodometano. La reacción se paró mediante la adición de 10 mL de agua, el sólido se filtró, se lavó con 10 mL de agua, después 10 mL de hexanos y se secó. Rendimiento: 142 mg de un polvo marrón, 90% puro.

Intermedio 26: 7-Yodo-3-(2-trimetilsilanil-etoximetil)-3H-imidazo[4,5-b]piridina



- 10 Se disolvieron 850 mg (3,47 mmol) de 7-yodo-3H-imidazo[4,5-b]piridina en 3,5 mL de DMF. Se añadieron 153 mg (3,82 mmol) de hidruro sódico del 60%, seguido de 670 μ L (3,82 mmol) de cloruro de trimetilsililetoximetilo. Rendimiento: 424 mg de un producto oleoso, 90% puro.

Procedimiento General A: Preparación de cetonas a partir de amidas de Weinreb



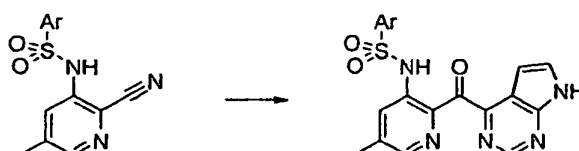
Etapa 1: Adición del reactivo de Grignard

- 15 Se disolvió 1 mmol del yodoheterociclo bajo una atmósfera de nitrógeno en 4 mL de THF y se enfrió a -30°C . Se añadieron 0,50 mL de una disolución 2 M de cloruro de isopropilmagnesio en THF gota a gota. La mezcla se calentó a -10°C y se agitó durante 10 minutos, lo que dio como resultado un intercambio yodo-magnesio completo. La disolución se enfrió después a -20°C y se añadió 1,0 mmol de amida de Weinreb sólida. Después de 5 minutos la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió una disolución acuosa de cloruro amónico y la mezcla se extrajo con DCM. La capa orgánica se evaporó a presión reducida. La cromatografía rápida en sílice mediante el uso de acetato de etilo en hexanos proporcionó los productos.

Etapa 2: Desprotección

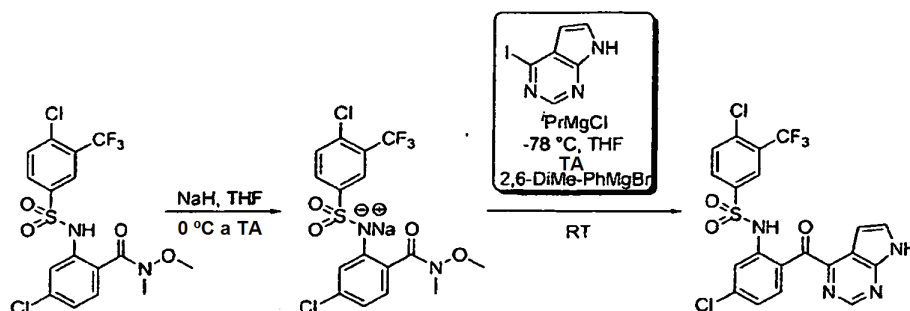
- 25 Se disolvió 1 mmol del intermedio de cetona protegido en una mezcla de 20 mL de metanol y 20 mL de ácido clorhídrico 6 N. La disolución se calentó en un tubo sellado a 95°C durante 8 h, después se enfrió y se evaporó. El residuo se disolvió en amoniaco metanólico y se evaporó sobre gel de sílice a presión reducida. La cromatografía rápida con sílice mediante el uso de acetato de etilo en hexanos proporcionó el producto en forma de un sólido amarillo. En ciertos casos, fue necesaria una etapa de purificación adicional mediante HPLC de fase inversa para obtener productos puros.

- 30 Procedimiento General B: Procedimientos generales para la preparación de cetonas a partir de nitrilos



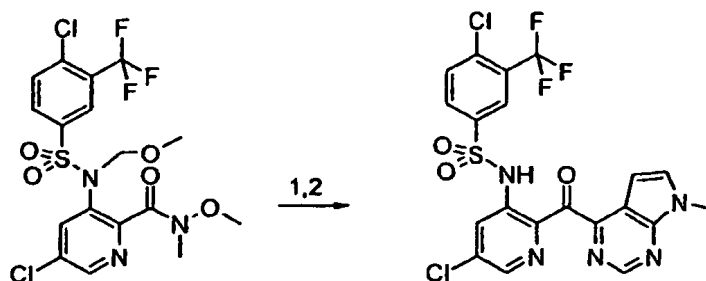
Se disolvió 1 mmol de 4-yodo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina bajo una atmósfera de nitrógeno en 2,8 mL de THF, y se enfrió a -10 °C. Se añadieron 0,50 mL de una disolución 2 M de cloruro de fenilmagnesio en THF gota a gota seguido de 0,50 mL de una disolución 2 M de cloruro de isopropilmagnesio en THF. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h, lo que dio como resultado un intercambio yodo-magnesio completo. Se preparó una disolución diferente de 0,77 mmol del nitrilo correspondiente en 1 mL de THF y se le añadieron 0,96 mmol de hidruro sódico del 60%. Las disoluciones se combinaron y la mezcla se agitó a 45 °C durante 8 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se añadieron 0,52 mL de ácido clorhídrico concentrado y la mezcla se agitó a 50 °C durante 0,5 horas. Los sólidos se filtraron y se lavaron con tres porciones de 10 mL de THF, seguido de 10 mL de éter dietílico y cuatro porciones de ácido clorhídrico 1 N. Los sólidos se resuspendieron en la mezcla de bicarbonato sódico acuoso y acetato de etilo. La capa orgánica se hizo pasar a través de una almohadilla de gel de sílice y se evaporó a presión reducida para proporcionar los productos.

Ejemplo de Referencia 1: 4-Cloro-N-[5-cloro-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-fenil]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida



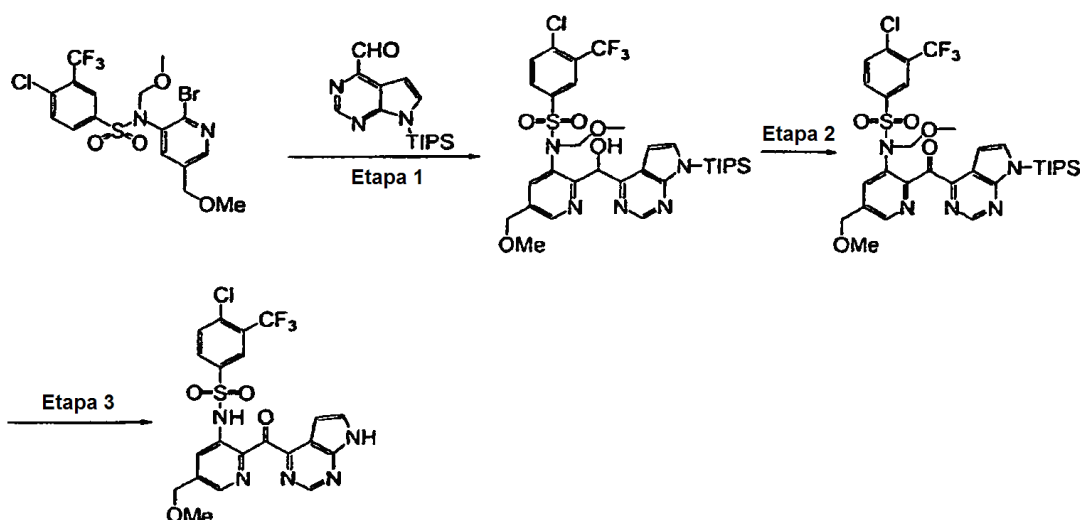
Se añadió *i*PrMgCl (3,84 mL, 7,56 mmol; disolución 1,97 M en THF) a yodo-pirropirimidina (0,882 g, 3,6 mmol) en THF (5 mL) a -78 °C. Después de 15 min, se calentó a temperatura ambiente y se añadió bromuro de 2,6-dimetilfenilmagnesio (2,4 mL, 2,4 mmol; disolución 1,0 M en éter dietílico). A esta mezcla de reacción se le añadió a temperatura ambiente una disolución en THF de sal sódica de 4-cloro-2-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-N-metoxi-N-metil-benzamida [se preparó por separado añadiendo un 60% de NaH (0,144 g, 3,6 mmol) en THF (5 mL)] y se agitó durante la noche. Se añadió una disolución saturada de NH₄Cl (5 mL) y se extrajo con EtOAc (2 x 50 mL). La capa de EtOAc se lavó con salmuera (25 mL), se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. El producto bruto se purificó mediante purificación en columna (gel de sílice, 60% de EtOAc en hexanos) seguido de recristalización a partir de CH₃CN para obtener el compuesto del título (1 g) en forma de un sólido amarillo cristalino con un rendimiento del 67%. MS (ES) M+H esperado 515,0, hallado 514,9. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 10,75 (s, 1H), 9,92 (s ancho, 1H), 8,92 (d, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,92 (dd, 1H), 7,81 (m, 2H), 7,58 (m, 1H), 7,45 (dd, 1H), 7,3 (d, 1H), 6,9 (m, 1H).

Ejemplo 3: 4-Cloro-N-[5-cloro-2-(7-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida



Se preparó a partir de 227 mg (0,45 mmol) de metoxi-metil-amida de ácido 5-cloro-3-[(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonil)-metoximetil-amino]-piridin-2-carboxílico, y se añadieron 129 mg (0,45 mmol) de 4-yodo-7-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina del 90% disuelta en 2 mL de THF con 0,23 mL de una disolución 2 M de cloruro de isopropilmagnesio en THF. Se usó todo el intermedio cetona resultante (80 mg) en la segunda etapa con 2 mL de etanol y 2 mL de ácido clorhídrico 6 N para proporcionar tras la purificación 45 mg del producto final en forma de un sólido amarillo.

Ejemplo de Referencia 4: Preparación de 4-cloro-N-(5-(metoximetil)-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)piridin-3-il)-3-(trifluorometil)bencenosulfonamida

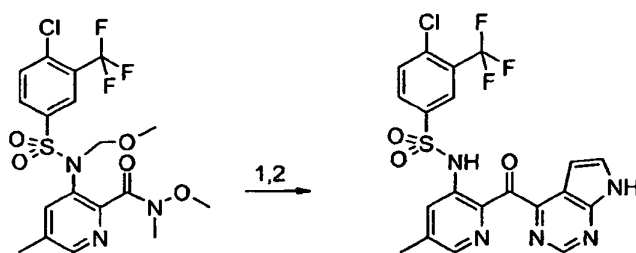


5 Etapa 1: A una disolución de la bromopiridina obtenida a partir del Ejemplo 13 (etapa 2) (74 mg, 0,15 mmol) en THF (1 ml) a 0 °C se le añadió cloruro de isopropilmagnesio (147 μ L, 2,0 M en THF) gota a gota. Después de 45 minutos, se añadió una disolución de 7-(trisisopropilsilil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbaldehído (67 mg, 0,22 mmol) en THF. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La reacción se paró con una disolución saturada de cloruro amónico, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron a vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía rápida con gel de sílice (33% de EtOAc/hexanos). El producto deseado se obtuvo en forma de un sólido amarillo espumoso (45 mg, 42%). MS: (M + H)/z = 728.

15 Etapa 2: El producto obtenido a partir de la etapa 1 anterior (45 mg, 0,062 mmol) se disolvió en 3 mL de diclorometano. A la disolución resultante se le añadió peryodinano de Dess-Martin (42 mg, 1,6 equiv.) y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se paró con un 10% de $Na_2S_2O_3$, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con $NaHCO_3$ saturado, salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron a vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (33% de EtOAc/hexanos). El producto deseado se obtuvo en forma de un sólido amarillo espumoso (35 mg, 78%). MS: (M + H)/z = 726.

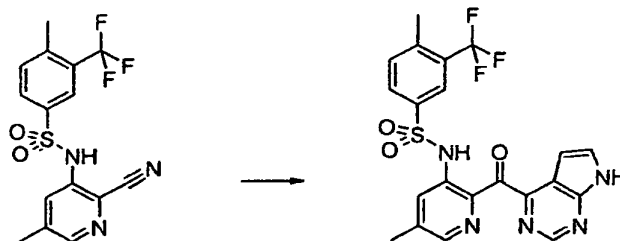
20 Etapa 3: El producto obtenido a partir de la etapa 2 anterior (35 mg, 0,048 mmol) se disolvió en 4 mL de HCl-dioxano (4,0 M) y 1 mL de agua. La mezcla se calentó a 85 °C durante 30 minutos y se paró con $NaHCO_3$ saturado. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron a vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (10% de metanol/DCM). El producto deseado se obtuvo en forma de un sólido amarillo (15 mg, 60%). MS: (M + H)/z = 526.

Ejemplo 5: 4-Cloro-N-[5-metil-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida



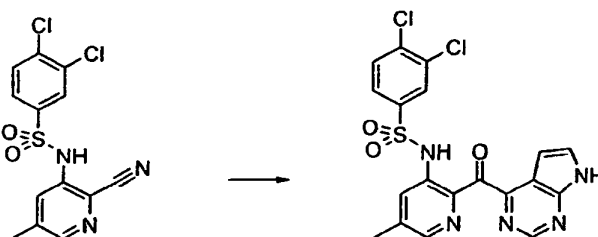
25 Se preparó a partir de 200 mg (0,42 mmol) de metoxi-metil-amida de ácido 3-[(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonil)-metoximetil-amino]-5-metil-piridin-2-carboxílico, y se añadieron 202 mg (0,50 mmol) de un 90% de 4-yodo-7-(2-trimetilsilanil-etoximetil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina disuelta en 2 mL de THF con 0,25 mL de una disolución 2 M de cloruro de isopropilmagnesio en THF. Se usó todo el intermedio cetona resultante en la segunda etapa con una mezcla de 2 mL de metanol y 2 mL de ácido clorhídrico 6 N para proporcionar tras la purificación 29 mg del producto final en forma de un sólido amarillo.

Ejemplo 6: 4-Metil-N-[5-metil-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida



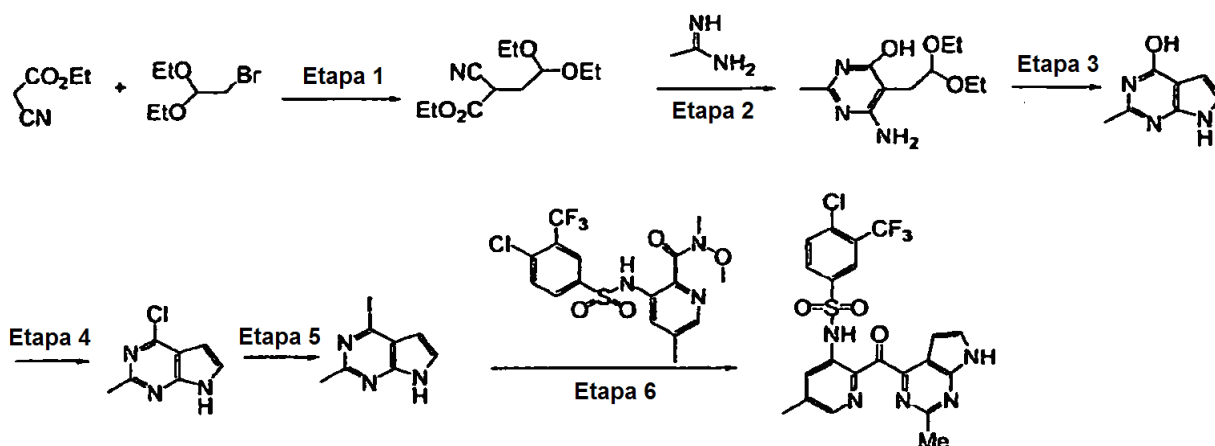
5 Se preparó a partir de 496 mg (1,40 mmol) de *N*-(2-ciano-5-metil-piridin-3-il)-4-metil-3-trifluorometil-bencenosulfonamida y 70 mg (1,75 mmol) de hidruro sódico del 60% en 2 mL de THF. La disolución de Grignard se preparó a partir de 467 mg (1,82 mmol) de un 95% de 4-yodo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina disuelta en 5 mL de THF con 0,98 mL de disolución 2 M de cloruro de fenilmagnesio en THF y se añadieron 0,98 mL de disolución 2 M de cloruro de isopropilmagnesio en THF. La reacción proporcionó 340 mg del producto final en forma de un sólido amarillo.

Ejemplo 7: 3,4-Dicloro-N-[5-metil-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-bencenosulfonamida



10 Se preparó a partir de 563 mg (1,55 mmol) de sal sódica de 3,4-dicloro-*N*-(2-ciano-5-metil-piridin-3-il)-bencenosulfonamida, y se añadieron 506 mg (2,01 mmol) de un 97% de 4-yodo-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina disuelta en 6 mL de THF con 1,16 mL de disolución 1,8 M de cloruro de fenilmagnesio en THF y 1,06 mL de disolución 2 M de cloruro de isopropilmagnesio en THF. La reacción proporcionó 471 mg del producto final en forma de un sólido amarillo.

Ejemplo de Referencia 8: Preparación de 4-cloro-N-(5-metil-2-(2-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)piridin-3-il)-3-(trifluorometil)bencenosulfonamida



20 Etapa 1: A una suspensión de NaH (dispersión del 60% en aceite mineral, 1,62 g, 40,5 mmol) en DMF (35 mL) y benceno (12 mL) se le añadió cianoacetato de etilo (4,7 mL, 44,2 mmol) gota a gota a -10 °C. Después de agitar durante 1 hora a temperatura ambiente, se añadió 2-bromo-1,1-dietoxietano (5,6 mL, 0,82 equiv.) y la mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 2 horas. Después, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se condensó, y se añadió agua. La mezcla se extrajo con éter. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (20% de EtOAc/hexanos). El producto deseado se obtuvo en forma de un aceite incoloro (5 g, 60%). MS: (M + Na)/z = 252.

25

Etapa 2: Se añadió hidrocloreto de acetamida (413 mg, 4,4 mmol) a una disolución de etóxido sódico (594 mg, 2,0 equiv.) en etanol (8 mL). Después de agitar durante media hora a temperatura ambiente, el cloruro sódico resultante se eliminó mediante filtración. El filtrado se añadió a 2-ciano-4,4-dietoxibutanoato de etilo (1,0 g, 4,4 mmol) y la mezcla se sometió a reflujo durante 5 horas. Se eliminó la mayor parte del disolvente, y la suspensión espesa restante se disolvió en agua helada, y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron a vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (100% de metanol). El producto deseado se obtuvo en forma de un sólido rojo (421 mg, 40%). MS: (M + H)/z = 242.

Etapa 3: La pirimidina anterior (2,0 g, 8,30 mmol) se añadió a una disolución de ácido sulfúrico (0,9 mL) en 50 mL de etanol y se sometió a reflujo durante 2 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se concentró a vacío. El material bruto (soluble en agua) se usó directamente para la siguiente etapa. MS: (M + H)/z = 150.

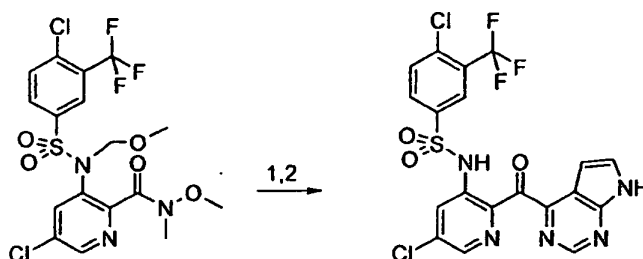
Etapa 4: Una suspensión de 90 mg (0,60 mmol) de la hidroxipirrolpirimidina anterior en 2 mL de oxicluro de fósforo se sometió a reflujo durante 2 horas. Se eliminó el exceso de oxicluro de fósforo, y el residuo se enfrió cuidadosamente con hielo. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron a vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (10% de metanol/DCM). El producto deseado se obtuvo en forma de un sólido incoloro (86 mg, 85%). MS: (M + H)/z = 168.

Etapa 5: La cloropirrolpirimidina anterior (40 mg, 0,24 mmol) se añadió a una disolución acuosa de ácido yodhídrico (57 %p en agua, 1,5 mL) y la mezcla se calentó a 35 °C durante la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió una disolución de hidroxilamina y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron a vacío. El producto deseado se obtuvo en forma de un sólido marrón (50 mg, 80%). MS: (M + H)/z = 260.

Etapa 6: A una disolución de 3-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenilsulfonamido)-N-metoxi-N,5-dimetilpicolinamida (56 mg, 0,13 mmol) en THF (1 ml) a 0 °C se le añadió NaH (dispersión del 60% en aceite mineral, 6 mg, 1,2 equiv.). La reacción se calentó después a temperatura ambiente y se agitó durante 0,5 horas.

En otro matraz se cargó la yodopirrolpirimidina anterior (40 mg, 1,2 equiv.) en 0,5 mL de THF. La disolución se enfrió a -78 °C, y se añadió gota a gota una disolución de cloruro de isopropilmagnesio en THF (2,0 M, 167 μ L). La mezcla de reacción se calentó después a temperatura ambiente y se añadió una disolución de bromuro de 2,6-dimetilfenil magnesio (1,0 M, 167 μ L, 1,3 equiv.) en THF. Después de agitar durante media hora, la mezcla se añadió a la disolución anterior de amida de Weinreb y la reacción se agitó durante otra hora antes de parar la reacción con una disolución saturada de cloruro amónico. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron a vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (33% de EtOAc/hexanos). El producto deseado se obtuvo en forma de un sólido amarillo (31 mg, 40%). MS: (M + H)/z = 510.

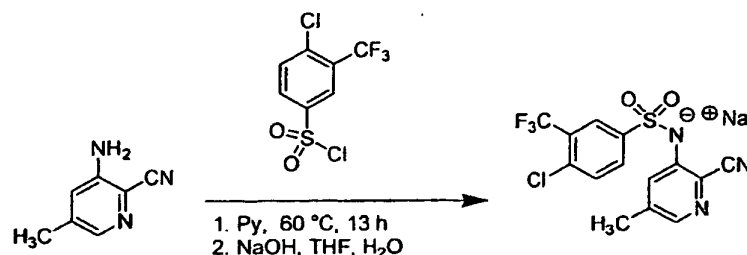
Ejemplo 10: 4-Cloro-N-[5-cloro-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometilbencenosulfonamida



Se preparó a partir de 259 mg (0,52 mmol) de metoxi-metil-amida de ácido 5-cloro-3-[(4-cloro-3-trifluorometilbencenosulfonil)-metoximetil-amino]-piridin-2-carboxílico, y se añadieron 213 mg (0,52 mmol) de un 90% de 4-yodo-7-(2-trimetilsilanil-etoximetil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina disuelta en 2 mL de THF con 0,26 mL de disolución 2 M de cloruro de isopropilmagnesio en THF. Se usó todo el intermedio cetona resultante en la segunda etapa con una mezcla de 2 mL de metanol y 2 mL de ácido clorhídrico 6 N para proporcionar tras la purificación 40 mg del producto final en forma de un sólido amarillo.

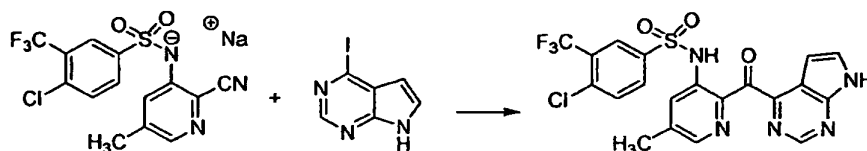
Ejemplo 13: Sal sódica de 4-cloro-N-[5-metil-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida

(a) Síntesis de sal sódica de 3-(4-cloro-3-trifluorometil-bencenosulfonilamino)-5-metil-piridin-2-carbonitrilo:



5 A una disolución de 3-amino-2-ciano-5-metilpiridina (83 g, 0,619 mol) en piridina (625 mL) se le añadió cloruro de 4-cloro-3-trifluorometilbencenosulfonilo (207 g, 0,742 mol) en una porción y la mezcla de reacción resultante se agitó a 60 °C durante la noche (13 horas). La piridina se eliminó a vacío, se añadió THF (350 mL) y se eliminó a vacío. Al sólido marrón oscuro obtenido se le añadió THF (650 mL), H₂O (550 mL), seguido de NaOH (75 g, 1,88 mol) lentamente a 0 °C (en cinco porciones) a lo largo de 20 minutos. La disolución resultante se agitó a 0 °C durante otros 30 minutos. Después de eliminar el THF a vacío (~ 650 mL), se añadió H₂O (50 mL) y la suspensión se calentó para disolver todos los sólidos. Después de enfriar en un baño de hielo durante 2 horas, el sólido resultante se recogió mediante filtración, se lavó con agua helada (100 mL X 3) y se secó en una estufa de vacío a 110 °C durante 24 horas para proporcionar el compuesto del título (190 g, 77%) en forma de agujas blancas: p.f. 287,0 - 288,5 C. ¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO) δ 8,05 (1H, s), 7,96 (d, 1H), 7,76 (dd, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,40 (s, 1H), 2,12 (s, 3H). MS (ES) M+H esperado 375,9, hallado 375,9. El licor madre se concentró (~ 2/3 del volumen) a vacío para proporcionar otros 30 g del compuesto del título después de lavar y secar, rendimiento total del 89%.

(b) 4-Cloro-N-[5-metil-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida



20 Se disolvió/suspendió 4-yodopirrolo[2,3-d]pirimidina (2b, 50,3 g, pureza del 95,5%, 196 mmol) en 0,64 L de THF anhidro en un matraz de fondo redondo de 2 L de tres bocas bajo una atmósfera de nitrógeno, equipado con un agitador mecánico y un termómetro. La disolución se enfrió a -15 °C en un baño de hielo seco-acetona y se añadieron lentamente 206 mL de una disolución en THF de cloruro de o-tolilmagnesio 1,0 M (1,05 equiv.), de forma que la temperatura interna no superase -10 °C. Durante la adición, todos los sólidos se disolvieron. El baño de refrigeración se retiró, y se añadieron 104 mL de una disolución 1,95 M de cloruro de isopropilmagnesio (1,03 equiv.) en THF a lo largo de un periodo de 3 minutos. Durante la adición, precipitó un sólido marrón; la agitación debería ser enérgica para evitar la formación de agregados. La disolución resultante se calentó rápidamente a temperatura ambiente mediante el uso de un baño de agua caliente. A esta suspensión, se le añadieron 59,9 g de la sal sódica del nitrilo (19, 0,77 equiv.) en 120 mL de THF seca, y la mezcla resultante se agitó a 45 °C durante 16 horas. La mezcla se enfrió en un baño de hielo y se añadieron 101 mL de HCl acuoso del 36% gota a gota, de manera que la temperatura interna no superase 30 °C, a la vez que se agitaba enérgicamente. Precipitó un sólido amarillo, y toda la suspensión espesa se agitó mecánicamente durante 30 minutos a 50 °C (el sólido amarillo pasó a ser naranja), se enfrió a temperatura ambiente y después se filtró. El sólido se lavó con 700 mL de THF, seguido de 700 mL de éter dietílico, seguido de dos porciones de 1 L de HCl acuoso 1 M. El sólido naranja húmedo resultante se resuspendió en una mezcla de 0,9 L de acetato de etilo, 0,5 L de agua y 50 g de bicarbonato sódico, y se agitó hasta que se disolvió por completo. La disolución se filtró a través de una almohadilla de CELITE®, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con 50 mL de acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se filtraron a través de una almohadilla de 200 g de gel de sílice, seguido de lavado del sílice con otros 0,8 L de acetato de etilo. La disolución se concentró a vacío para proporcionar 56,5 g del producto en forma de un sólido amarillo (contiene un 2% en peso de acetato de etilo, rendimiento del 74 %).

40 (c) Sal sódica de 4-cloro-N-[5-metil-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida

45 Se suspendió 4-cloro-N-[5-metil-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida (6,85 g, 13,8 mmol) en 103 mL de alcohol *iso*-propílico y se llevó a reflujo bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión se trató con 1,30 mL de hidróxido sódico acuoso 10,6 N (1 equiv.) gota a gota con agitación, tras lo cual se disolvieron los sólidos. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y se realizó una

siembra, y después se enfrió adicionalmente en un baño de hielo. El sólido se filtra y se lava con 35 mL de alcohol *iso*-propílico, seguido del secado durante la noche a vacío a 80 °C. Rendimiento: 6,12 g (86%). El contenido de IPA es de 800 ppm (determinado mediante ¹H RMN).

Ejemplo 14 - XPRD del compuesto del Ejemplo 13.

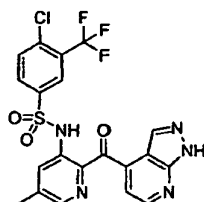
- 5 El material del Ejemplo 13 se sometió a análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD). El análisis se llevó a cabo mediante el uso de un difractómetro de rayos X en polvo Shimadzu XRD-6000 mediante el uso de radiación CuK_α. El instrumento está equipado con un tubo de rayos X de foco fino largo. La tensión del tubo y la intensidad se ajustaron a 40 kV y 40 mA, respectivamente. Las ranuras de divergencia y dispersión se ajustaron a 1° y la ranura receptora se ajustó a 0,15 mm. La radiación difractada se detectó mediante un detector de centelleo de NaI. Se usó un barrido continuo θ -2 θ a 3°/min (0,4 seg/paso de 0,02°) desde un valor 2 θ de 2,5 a 40°. Se analizó un patrón de silicio para comprobar la alineación del instrumento. Los datos se recogieron y se analizaron mediante el uso de XRD-6100/7000 v. 5.0. El barrido de XPRD se representa en la Figura 1. Los valores 2-theta se informan en la Tabla 3. La forma cristalina del compuesto del Ejemplo 13 se denomina Forma A.

- 15 Lista de picos (2 θ) y las intensidades (CPS) observadas en el análisis XRPD del compuesto cristalino del ejemplo 13. La intensidad de los picos puede variar dependiendo del tamaño y de la morfología de las partículas.

Tabla 3.

Ángulo 2 θ °	Intensidad (CPS)
6,9	635
7,7	1555
10,6	340
11,3	250
11,8	125
12,5	165
13,7	255
15,1	300
15,3	305
16,1	490
16,9	290
17,3	485
18,2	195
18,5	190
19,5	250
20,0	1485
21,6	510
21,8	340
22,6	680
24,3	635
24,7	615
25,1	630
25,6	255
26,3	255
27,5	490
28,5	605
28,8	345
29,3	240
31,4	315
32,4	465

Ejemplo Comparativo 1: 4-cloro-N-(5-metil-2-(1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-carbonil)piridin-3-il)-3-(trifluorometil) bencenosulfonamida



Este compuesto se puede preparar como se describió en la publicación de EE.UU. N° 2007-0037794A1.

Los compuestos de los Ejemplos de Referencia y Ejemplos 1-12 tienen cada uno una CI_{50} menor de 1000 nM en el ensayo de quimiotaxia de CCR2 siguiente. El compuesto 5 tiene una CI_{50} media de aproximadamente 5 nM en este ensayo.

5 Ejemplo de ensayo in vitro

Reactivos

Las células THP-1 se obtuvieron de la American Type Culture Collection (Manassas, VA) y se cultivaron en medio de cultivo de tejidos RPMI complementado con un 10% de suero bovino fetal (FCS) en un incubador humidificado con un 5% de CO_2 a 37 °C. Las proteínas quimiocinas humanas recombinantes MCP-1 se obtuvieron de R&D Systems (Minneapolis, MN). La proteína MCP-1 marcada con ^{125}I se obtuvo de Amersham (Piscataway, NJ). Las microcámaras de quimiotaxia ChemoTX® se adquirieron de Neuro Probe (Gaithersburg, MD). Los equipos de proliferación celular CyQUANT® se adquirieron de Molecular Probes (Eugene, Oregon). El colorante indicador de calcio Fluo-4 AM se adquirió de Molecular Devices (Mountain View, CA).

Ensayo de migración convencional

El ensayo de migración convencional se usó para determinar la eficacia de los antagonistas potenciales de receptores en el bloqueo de la migración mediada por medio de las quimiocinas (tales como CCR2). Este ensayo se llevó a cabo de manera rutinaria mediante el uso del sistema de microcámara ChemoTX® con una membrana de policarbonato con un tamaño de poro de 5 μm . Para comenzar tal ensayo, se recogieron células que expresaban quimiocinas (tales como células THP-1 para el ensayo de CCR2) mediante centrifugación de una suspensión de células a 1000 RPM en una centrifuga GS-6R de Beckman. El sedimento celular se resuspendió en tampón de quimiotaxia (HBSS con un 0,1% de BSA) a 10×10^6 células/ml para el ensayo de CCR2. Se prepararon los compuestos de ensayo a las concentraciones deseadas a partir de disoluciones de reserva 10 mM mediante diluciones en serie en tampón de quimiotaxia. Se mezcló un volumen igual de células y compuestos y se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos. Después, se transfirieron 20 μL de la mezcla a la membrana porosa de una microcámara de migración, y se colocaron 29 μL de ligando de quimiocina (proteína quimiocina MCP-1 0,1 nM para el ensayo de CCR2) en la cámara inferior. Tras una incubación a 37 °C (90 minutos para CCR2), durante la cual las células migraron contra el gradiente de quimiocina, el ensayo se terminó retirando las gotas de células de la parte superior del filtro. Para cuantificar las células que migraron a través de la membrana, se añadieron 5 μL de disolución CyQUANT® 7X a cada pocillo de la cámara inferior, y se midió la señal de fluorescencia en un lector de placas de fluorescencia Spectrafluor Plus (TECAN, Durham, NC). El grado de inhibición se determinó comparando las señales de migración entre las células tratadas con el compuesto y las células sin tratar. Los cálculos de CI_{50} se llevaron a cabo posteriormente mediante análisis de regresión de mínimos cuadrados no lineal mediante el uso de Graphpad Prism (Graphpad Software, San Diego, CA).

Farmacocinética

Se determinó la farmacocinética (PK) y la biodisponibilidad oral del compuesto del Ejemplo 5 en perros Beagle.

Tras una administración en inyección rápida i.v. de 1 mg/kg de compuesto 5 (base libre) en un 31,6% de N,N-dimetilacetamida / 36,8% de agua/ 31,6% de propileno glicol a perros Beagle macho (n=2), las muestras de sangre se recogieron en los siguientes momentos: Predosis, 2, 5, 15, 30 minutos, 1, 2, 4, 8, 12, y 24 horas tras la dosis. Después de una administración oral de 5 mg/kg del compuesto del Ejemplo 5 en un 1% de metocel a perros Beagle macho (n=2), se recogieron muestras de sangre en los siguientes momentos: Predosis, 5, 15, 30 minutos, y 1, 2, 4, 8, 12, y 24 horas tras la dosis.

El compuesto intacto del Ejemplo 5 se extrajo de las muestras de plasma mediante el uso de un 3% de ácido fórmico/acetónitrilo y se midió mediante el uso de un método de LC-MS/MS. Los parámetros PK se determinaron mediante análisis no compartimental. Los animales se observaron en busca de signos de enfermedad y mortalidad. El compuesto del Ejemplo 5 se toleró bien, y los perros Beagle no tuvieron signos evidentes de enfermedad o mortalidad.

Tras la administración i.v. del compuesto del Ejemplo 5, las concentraciones de plasma del compuesto intacto 5 declinaron de manera mono-exponencial con una semivida de eliminación terminal media $t_{1/2}$ de 4,7 horas. El compuesto del Ejemplo 5 se eliminó del plasma muy lentamente a 0,2 mL/min/kg (<1% del flujo sanguíneo hepático del perro) y mostró un volumen de distribución muy bajo (V_{ss}) de 0,1 L/kg. Se estimó que el tiempo de permanencia medio (MRT_{iv}) fue de 7,2 horas. Tras la administración oral, el compuesto del Ejemplo 5 se absorbió muy rápidamente, con una concentración plasmática máxima media (C_{max}) de 44,4 $\mu g/mL$ (alrededor de 59,5 μM) alcanzada después de 1,5 horas (T_{max}). El compuesto se absorbió bien, con una biodisponibilidad oral de alrededor del 100%.

El compuesto del Ejemplo 5 exhibió un perfil PK i.v. y oral excelente. Tras la dosificación i.v., mostró una eliminación muy baja en el perro Beagle (menor del 1% del flujo sanguíneo hepático) y un tiempo de permanencia medio largo

(alrededor de 7 horas). El compuesto 5 también se absorbió bien y rápidamente de manera oral, con una biodisponibilidad de alrededor del 100%.

Ensayos de inhibición de CYP2C9 y CYP3A4

5 Los compuestos de ensayo se incubaron con microsomas de hígado humano mezclados a 37 °C en presencia de NADPH y de concentraciones adecuadas de sustratos específicos para CYP2C9 y 3A4. Las concentraciones finales de ensayo de los microsomas de hígado humano y de los sustratos, las concentraciones de la disolución de reserva de sustrato inicial en DMSO, y los tiempos usados para las incubaciones de las diversas isozimas se resumen en la Tabla 4. Las concentraciones finales de ensayo de los controles de inhibidor positivo en cada ensayo de isozima se enumeran en la Tabla 5.

10

Tabla 4. Concentraciones de Incubación

CYP450	Conc. de Proteína [mg/mL]	Sustrato	Conc. de Sustrato [µM]	Tiempo de incubación [min]
2C9	0,05	Diclofenac	10	10
3A4	0,05	Midazolam	3	10
	0,05	Testosterona	100	30

Tabla 5. Condiciones para los Controles

CYP450	Sustrato	Control	Concentración del Control en la Incubación Final [µM]						
2C9	Diclofenac	Sulfafenazol	50	17	5,6	1,9	0,62	0,2	0,069
3A4	Midazolam	Cetoconazol	1	0,33	0,11	0,037	0,012	0,0041	0,0014
	Testosterona	Cetoconazol	1	0,33	0,11	0,037	0,012	0,0041	0,0014

Incubación

15 Se añadieron 120 µL de una mezcla de microsomas de hígado humano (HLM) en tampón de fosfato potásico 50 mM / MgCl₂ 5 mM a todos los pocillos de la fila A en una placa de 96 pocillos. La concentración de proteína microsomal fue el doble de la concentración de proteína deseada para el ensayo de isozima particular registrado en la Tabla 4. Además, se dispensaron 80 µL de esta preparación de microsomas de hígado humano a la que se le añadió un 1% de DMSO en todos los pocillos de las filas B a H.

20 Se añadieron 1,2 µL de cada compuesto de ensayo individual en DMSO (10 mM) a los primeros 10 pocillos de la fila A (5 compuestos de ensayo diferentes cada uno por duplicado). Además, se añadieron 1,2 µL de la disolución de reserva con DMSO del inhibidor de control para la isozima en estudio a los dos pocillos finales de la fila A para proporcionar una concentración del doble de la concentración final más elevada. (Véase la Tabla 5 para las concentraciones finales de inhibidor de control)

25 Se llevaron a cabo diluciones en serie a un tercio tomando 40 µL de cada disolución de los pocillos de la fila A (pocillos 1-12, tanto compuestos como controles) y diluyéndolos en los pocillos de la fila B. Después de mezclar bien, se dispensaron 40 µL de cada disolución de los pocillos de la fila B con una pipeta multicanal (12 canales) a los pocillos de la fila C, y los controles y los compuestos de ensayo por tanto se diluyeron adicionalmente. Este procedimiento se repitió para las filas D a G. Después de mezclar, se extrajeron 40 µL y se desecharon de los pocillos de la fila G.

30 Este procedimiento dio como resultado que 80 uL de la disolución estuvieran presentes en todos los pocillos de todas las filas A a H, y las concentraciones de proteína fueron el doble de las concentraciones finales deseadas en todos los pocillos de las filas, y la concentración del compuesto de ensayo y del control fue dos veces las concentraciones finales deseadas en las filas A a G. A la fila H no se le añadió compuesto de ensayo o control positivo.

35 La placa se cubrió y se preincubó durante 10 minutos en un incubador a 37 °C. La reacción se inició mediante la adición de 80 µL de una disolución del sustrato para la isozima investigada en una disolución tampón de fosfato potásico 50 mM/MgCl₂ 5 mM con presencia de NADPH 4 mM, a una concentración de sustrato del doble de las concentraciones de sustrato finales deseadas mediante el uso de una pipeta multicanal. La disolución de sustrato se añadió a todos los pocillos de las filas A a H excluyendo los pocillos 95 y 96 (blancos microsomales). Las disoluciones de sustrato se prepararon a partir de diversas disoluciones de reserva de sustrato con DMSO preparadas a las concentraciones indicadas también en la Tabla 4.

40 Este procedimiento proporcionó las concentraciones finales de proteína y de sustrato enumeradas en la Tabla 4, las concentraciones finales de control enumeradas en la Tabla 5, y las concentraciones de compuesto de ensayo de 50 µM, 16,7 µM, 5,6 µM, 1,9 µM, 618 nM, 206 nM y 69 nM para cada compuesto de ensayo individual.

45

- La placa se cubrió y se incubó a 37 °C durante el tiempo indicado en la Tabla 4 para la isoforma investigada. La reacción se paró dispensando 120 µL de patrón interno (200 ng/mL de CCX915-6A) en acetonitrilo a todos los pocillos. Se añadieron 80 µL de la disolución de sustrato específico / NADPH descrita anteriormente en los pocillos 95 y 96 después de parar la reacción para proporcionar el blanco. La placa se agitó en vórtex durante 10 min y se centrifugó en una centrífuga a 4.450 rpm y 4 °C durante 10 min. Con una pipeta multicanal, se transfirieron 80 µL del sobrenadante a los pocillos de una placa de muestras que contenían 80 µL de un 0,1% de ácido fórmico/agua y se mezclaron bien para el análisis mediante LC-MS/MS como se describió en las secciones E y F.

MÉTODO ANALÍTICO

- Las muestras se analizaron mediante el método de LC-MS/MS. Se monitorizó cada metabolito (Tabla 6) derivado del sustrato particular para cada isoforma de CYP450 diferente.

CONDICIONES DE HPLC PARA LOS SUSTRATOS

Instrumento: Shimadzu, equipado con un sistema de cromatografía líquida LC-10AD VP.

Inhibición de CYP2C9 y CYP3A4 (Midazolam)

Columna: Waters, Sunfire C18, 3 µ, 2,1x50 mm

- 15 Fases Móviles: A: 0,1 % de Ácido Fórmico en Agua
B: 0,1% de Ácido Fórmico en Acetonitrilo

Programa de Gradiente: para CYP2C9 y CYP3A4 (Midazolam)

Tiempo [min]	Disolvente A	Disolvente B
0,0 - 0,2	95	5
0,3 - 1,0	5	95
1,0 - 3,0	95	5

Caudal: 300 µL /min

- 20 Vol. Inyec.: 10 µL

Tiempo de Funcionamiento: 3 min para CYP2C9, 3A4 (Midazolam). El tiempo de retención para el analito es 1,03 min para 2C9 (4'-Hidroxi-diclofenac) y 0,87 min para 3A4 (1'-hidroxil midazolam)

Inhibición de CYP3A4 (Testosterona)

Columna: Waters, Sunfire C18, 3 µ, 2,1x50 mm

- 25 Fases Móviles: A: 0,1 % de Ácido Fórmico en Agua
B: 0,1% de Ácido Fórmico en Acetonitrilo

Programa de Gradiente: para CYP3A4 (Testosterona)

Tiempo [min]	Disolvente A	Disolvente B
0,0 -1,5	95	5
1,5 - 3,0	5	95
3,0 - 4,0	95	5

Caudal: 300 µL /min

- 30 Vol. Inyec.: 20 µL

Tiempo de Funcionamiento: 4,0 min para CYP3A4 (Testosterona). El tiempo de retención para el analito (6-β-hidroxi testosterona) es 1,35 min para 3A4 (Testosterona).

CONDICIONES DEL ESPECTRÓMETRO DE MASAS

Instrumento: Espectrómetro de masas API 3000 y 4000 Q-TRAP de Applied Biosystems (Foster City, CA)

- 35 Interfaz: Electronebulización ("Turbo Ion Spray"), ionización positiva

Modo: Monitorización de Reacción Múltiple (MRM)

Tabla 6. Transiciones de masas para los metabolitos y tiempos de retención de HPLC

Isoforma de CYP450	Sustrato	Metabolito	Transición	Tiempo RT [min] del sustrato
2C9	Diclofenac	4'-Hidroxi-diclofenac	312,10/230,97	2,2
3A4	Midazolam	1'-hidroxil midazolam	341,98/323,92	2,23
	Testosterona	6-β-hidroxi testosterona	305,13/269,28	2,1

*analizado en un espectrómetro de masas API 4000 QTRAP

CÁLCULO DE CI_{50}

5 Las áreas de los picos de los metabolitos se obtuvieron mediante integración automática de los cromatogramas mediante el uso del programa informático Analyst® 1.4.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA).

$$Inhibición = 100 - ((AUC_{ensayo} - AUC_{blanco}) / (AUC_{control} - AUC_{blanco}) \times 100) \quad \text{Ec. 1}$$

10 AUC_{ensayo} , $AUC_{control}$ y AUC_{blanco} son el área del pico calculado para el metabolito del control en presencia de artículo de ensayo o inhibidor positivo, el área del pico calculado del metabolito del control sin artículo de ensayo, y el área del pico calculado observado en el blanco de microsomas, respectivamente. El porcentaje de inhibición se representó respecto de la concentración de artículo de ensayo mediante el uso de Excel (Microsoft). Los valores de CI_{50} se calcularon mediante el uso de un ajuste de 4 parámetros en XLFit™ (IDBS Lid, Guildford, R.U.). Los valores de CI_{50} de los compuestos seleccionados se expresan más adelante.

ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE COMPUESTOS SELECCIONADOS EN RATAS SPRAGUE-DAWLEY

15 Se llevó a cabo un estudio farmacocinético intravenoso/oral con los compuestos seleccionados en ratas Sprague-Dawley macho que pesaban entre 0,24 y 0,36 kg. Se recogieron muestras de sangre en momentos predeterminados, y se analizó en las muestras de plasma correspondientes de los animales las concentraciones de compuesto de ensayo mediante el uso de un método LC-MS/MS. Los parámetros farmacocinéticos se obtuvieron de la curva de concentración plasmática respecto del tiempo.

20 Para el análisis LC-MS/MS, se preparó una disolución de reserva de 1 mg/mL de compuesto de ensayo en acetonitrilo, y las disoluciones de reserva de trabajo preparadas en un 50% de metanol/agua se usaron para preparar patrones analíticos y muestras de QC.

Se obtuvo plasma de ratas Sprague-Dawley macho con bajo contenido en plaquetas con EDTA sódico como anticoagulante de Bioreclamation, Inc. (East Meadow, NY) y se usó para la preparación de los patrones analíticos así como para las diluciones en serie de las muestras seleccionadas.

25 ANIMALES

Se usaron ocho animales que pesaban entre 0,24 y 0,36 kg para este estudio. Se usaron dos animales para la dosificación i.v., mientras los últimos seis fueron para la dosificación oral.

DOSIFICACIÓN Y EXTRACCIONES DE SANGRE

30 Para la dosificación i.v., se preparó una formulación de disolución de compuesto de ensayo en propileno glicol/*N,N*-dimetil acetamida/EtOH (31,6/31,6/36,8) a 1 mg/mL, y cada animal recibió 1 mL/kg. Para la dosificación oral, los compuestos de ensayo se suspendieron en un 1% de HPMC a 0,5 mg/mL y cada animal recibió 10 mL/kg.

35 Los animales se sometieron a ayuno durante la noche y se examinaron antes de la dosificación y al final del estudio. Para la dosificación intravenosa, se extrajo sangre (0,2 mL) antes de la dosis y a 2, 5, 10, 15, y 30 minutos, 1, 2, 4, 6, y 8 horas tras la dosis. Para la dosificación oral, se extrajo sangre (0,2 mL) antes de la dosis y a 5, 15, y 30 minutos, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, y 24 horas tras la dosis. La sangre se obtuvo de animales a los que se había insertado una cánula, y después se colocó en tubos de polipropileno refrigerados que contenían EDTA sódico como anticoagulante y se mantuvieron en hielo hasta la centrifugación. Se recogió el plasma por medio de centrifugación (centrífuga Eppendorf 5417R) a 12000 rpm y 4 °C durante 6 minutos y se almacenó a -20°C hasta su análisis.

MÉTODO ANALÍTICO

40 Se extrajeron muestras de plasma (50 µL) con 150 µL de acetonitrilo que contenía el patrón interno en un agitador lineal durante 10 min. Las muestras se centrifugaron a 4450 RPM durante 10 min a 4 °C (centrífuga Allegra X-15R, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA). Se transfirieron 80 µL del sobrenadante resultante a pocillos de placas nuevas que contenían 80 µL de un 0,1% de ácido fórmico en agua y se mezclaron bien.

Las muestras extraídas preparadas mediante el uso del procedimiento anterior se separaron mediante cromatografía

líquida de alto rendimiento con el uso de un sistema Shimadzu (Kioto, Japón) equipado con dos bombas LC-10 AD y una columna C-18 (Waters Sunfire, 2 x 30 mm, 3,5 µm; inyección de 10 µl) mediante el uso de una fase móvil que consistía en (A) 0,1% de ácido fórmico en agua y (B) 0,1% de ácido fórmico en acetonitrilo, a un caudal de 0,35 mL/min. El gradiente fue 0 - 1,5 min 5% de B, 1,5 - 2,5 min 5 - 95% de B, 2,5 - 2,7 min 95% a 5% de B, y 2,7 - 4,0 min 5% de B. El eluido de HPLC se envió a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo Sciex API 3000 de Applied Biosystems (Foster City, CA), que funcionaba en el modo MS/MS de ionización positiva Turbo Ion Spray para el análisis. La adquisición de datos y la integración se llevaron a cabo con el programa informático Sciex Analyst de Applied Biosystems (versión 1.4.1). La curva de calibración se obtuvo por medio de una regresión cuadrática (i.v.) o lineal (p.o.), y el intervalo de calibración fue de 4 - 5000 ng/mL y 2 - 5000 ng/mL para los estudios i.v. y p.o., respectivamente.

PREPARACIÓN DE PATRONES DE CALIBRACIÓN DE LC-MS/MS

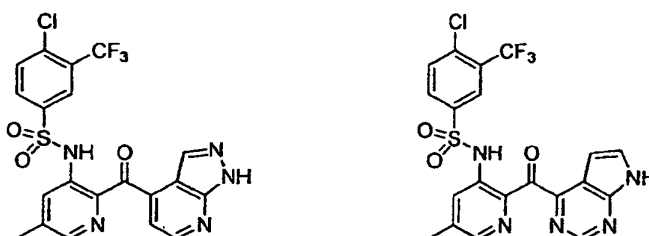
Para determinar la concentración del compuesto de ensayo en muestras de plasma de rata, se prepararon patrones que contenían 5000, 1000, 500, 100, 50, 20, 10, 4, 2 y 1 ng/mL del compuesto con plasma de rata obtenido de Bioreclamation Inc. (Lote #RATBREC.47491M). Los patrones de plasma se prepararon en paralelo con las muestras de plasma de una manera idéntica. Se añadieron tres niveles de las disoluciones patrón de reserva (1000, 100 y 10 ng/mL) por separado al plasma de ratas Sprague-Dawley macho y se usaron como muestras de QC.

ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

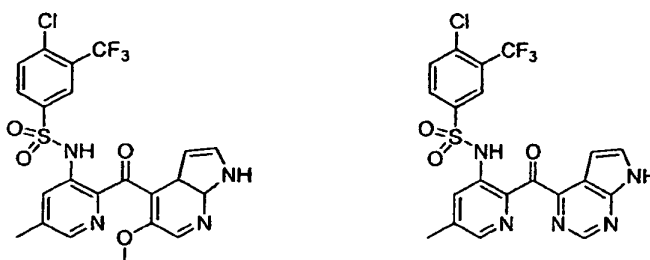
Se obtuvieron un total de once puntos de tiempo para cada vía de dosificación durante el periodo de recogida de sangre. Los parámetros farmacocinéticos descriptivos se determinaron a partir de la curva de concentración plasmática-tiempo mediante un análisis no compartimental estándar (Wagner, 1993) de cada animal y vía de dosis.

- Semivida ($T_{1/2}$): Semivida terminal.
- C_{max} : Concentración plasmática máxima
- $AUC_{0-\infty}$: Área bajo la curva concentración plasmática-tiempo desde el momento de la dosificación extrapolado hasta el infinito.
- CL: Eliminación corporal total.
- $MRT_{0-\infty}$: Tiempo de permanencia medio desde el momento de la dosificación extrapolado hasta el infinito
- V_{dss} : Volumen de distribución en el estado estacionario.
- F: Biodisponibilidad.

El análisis farmacocinético se llevó a cabo mediante el uso de XLFit® v. 4.1 (ID Business Solutions Inc., Alameda, CA).

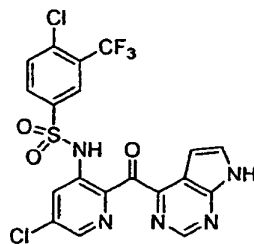
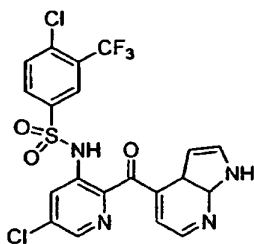


MRT PK de Rata	35 min	135 min
Cl ₅₀ de inhibición de CYP 3A4	3 µM	20 µM



ES 2 383 568 T3

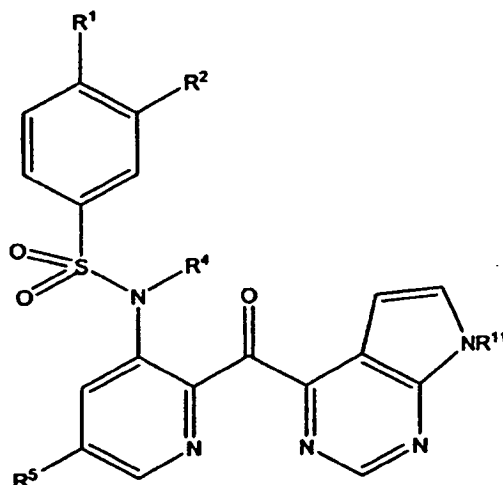
MRT PK de Rata	22 min	135 min
T _{1/2} PK de rata	19 min	161 min
Cl ₅₀ de inhibición de CYP 3A4	3 μM	20 μM



MRT PK de Rata	21 min	68 min
T _{1/2} PK de rata	42 min	127 min
Cl ₅₀ de inhibición de CYP 2C9	3 μM	15 μM

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (II) o una sal del mismo:



en la que:

5 R¹ y R² son cada uno independientemente hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₈, -CN, o haloalquilo C₁₋₈, con tal de que al menos uno de R¹ o R² sea distinto de hidrógeno;

R⁴ es hidrógeno;

R⁵ es halógeno o alquilo C₁₋₈;

10 R¹¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈, arilo C₆₋₁₀ sustituido o sin sustituir, heteroarilo de 5 a 10 miembros sustituido o sin sustituir y heterociclo de 3 a 10 miembros sustituido o sin sustituir.

2. El compuesto o la sal de la reivindicación 1, en el que R¹ es Cl.

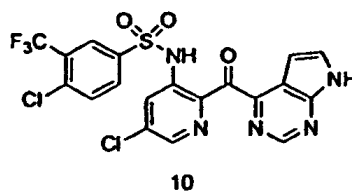
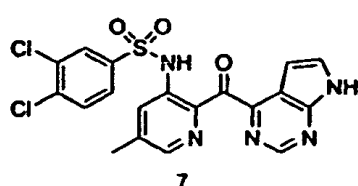
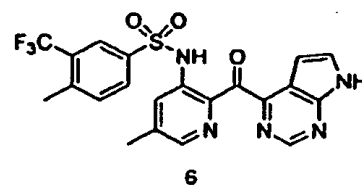
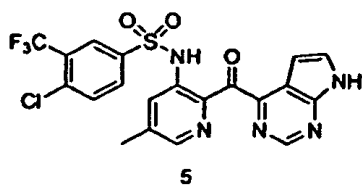
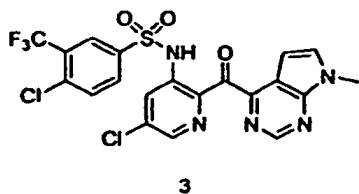
3. El compuesto o la sal de la reivindicación 2, en el que R² es -CF₃.

4. El compuesto o la sal de la reivindicación 3, en el que R⁵ es Cl o metilo.

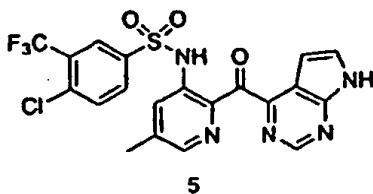
15 5. El compuesto o la sal de la reivindicación 4, en el que R⁵ es metilo.

6. El compuesto o la sal de la reivindicación 1, en el que R¹ es Cl, R² es CF₃, y R⁵ es Cl.

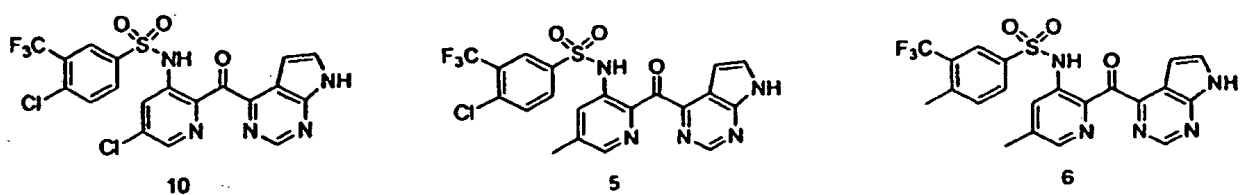
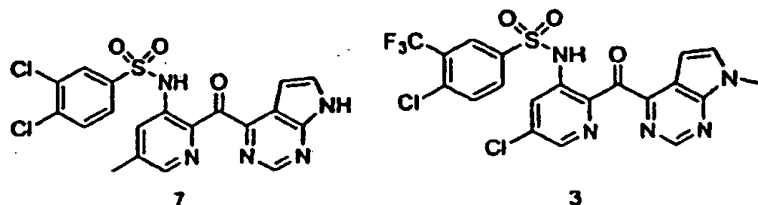
7. El compuesto de la reivindicación 1, que se selecciona del grupo que consiste en:



20 8. El compuesto de la reivindicación 7, en el que el compuesto es

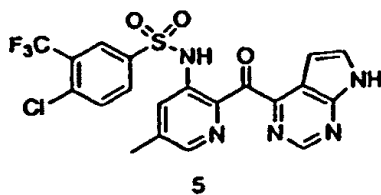


9. El compuesto de la reivindicación 1, que se selecciona del grupo que consiste en:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. El compuesto de la reivindicación 9, en el que el compuesto es



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 11. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es la sal sódica de 4-Cloro-N-[5-metil-2-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-carbonil)-piridin-3-il]-3-trifluorometil-bencenosulfonamida.

12. Una composición que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto o sal de cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

15 13. Un método para la modulación de la función de CCR2 en una célula *in vitro*, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad moduladora de CCR2 del compuesto o sal o composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-12.

14. Un compuesto, sal o composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para el uso en el tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 en el que dicha afección o enfermedad mediada por CCR2 se selecciona del grupo que consiste en aterosclerosis, reestenosis, fibrosis renal, diabetes tipo 2, y cáncer.

20 15. Un compuesto, sal o composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para el uso en el tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 en el que dicha afección o enfermedad mediada por CCR2 se selecciona del grupo que consiste en enfermedad inflamatoria intestinal, esclerosis múltiple, diabetes no insulino dependiente, fibrosis pulmonar, rechazo de trasplante, enfermedad de injerto contra el hospedador, psoriasis, dermatitis atópica, y asma.

25 16. Un compuesto, sal o composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para el uso en el tratamiento de una afección o enfermedad mediada por CCR2 en el que dicha afección o enfermedad mediada por CCR2 se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, obesidad, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis pulmonar idiopática, síndrome de neumonía idiopática, y enfermedades alérgicas.

17. El compuesto de la reivindicación 10 ó 11 en forma cristalina.

18. El compuesto de la reivindicación 17, en el que dicha forma cristalina tiene una difracción de rayos X en polvo que comprende los siguientes valores de $2\text{-theta} \pm 0,2$ medidos mediante el uso de radiación $\text{CuK}\alpha$: 6,9, 7,7, 20,0, 24,3, 24,7, y 25,1.

5 19. El compuesto de la reivindicación 18, en el que dicha forma cristalina tiene una difracción de rayos X en polvo que comprende los siguientes valores de $2\text{-theta} \pm 0,2$ medidos mediante el uso de radiación $\text{CuK}\alpha$: 6,9, 7,7, 10,6, 11,3, 11,8, 12,5, 13,7, 15,1, 15,3, 16,1, 16,9, 17,3, 18,2, 18,5, 19,5, 20,0, 21,6, 21,8, 22,6, 24,3, 24,7, 25,1, 25,6, 26,3, 27,5, 28,5, 28,8, 29,3, 31,4, y 32,4.

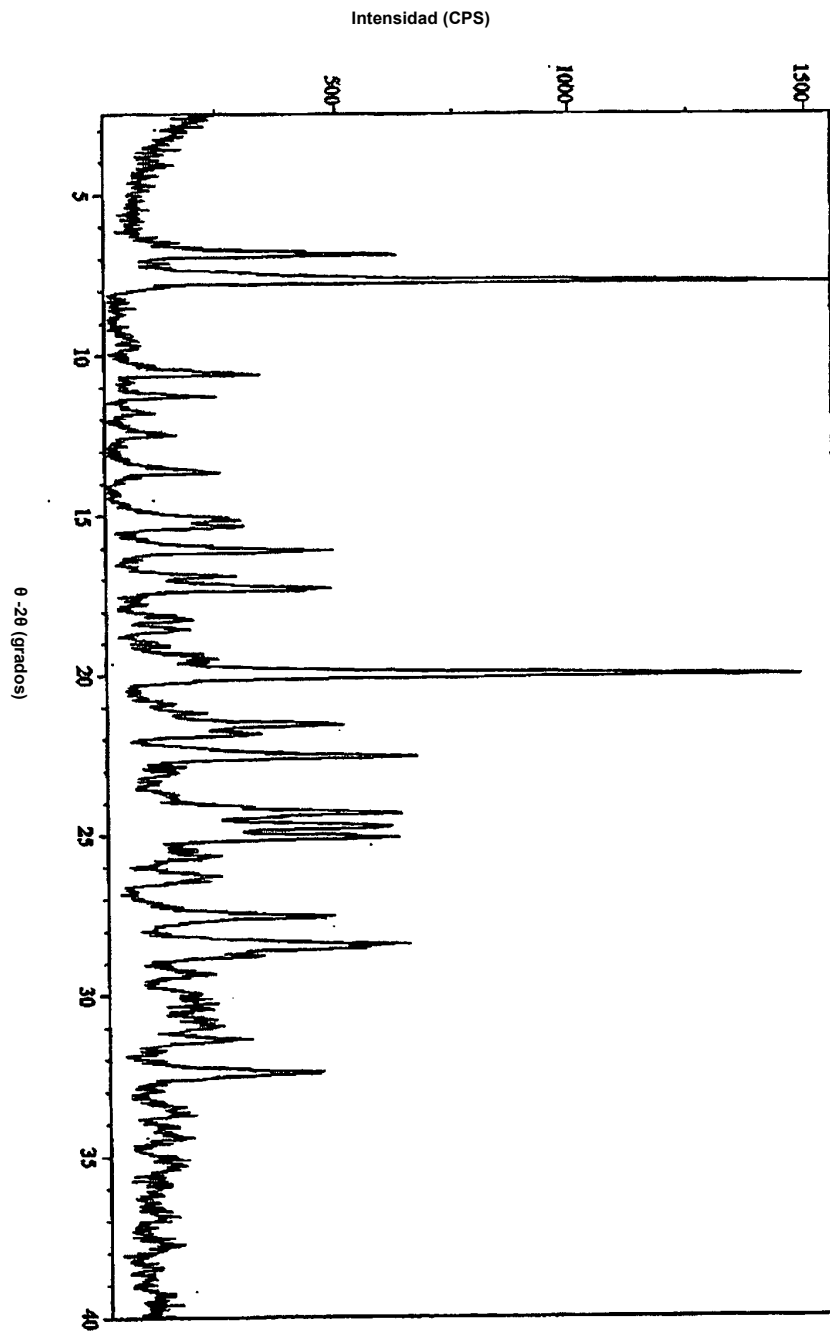


Fig. 1