

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 401 911**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/4965</b>	(2006.01)	<b>C07D 487/04</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/439</b>	(2006.01)	<b>C07D 401/04</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/4015</b>	(2006.01)	<b>C07D 243/08</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/405</b>	(2006.01)	<b>C07D 403/04</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/497</b>	(2006.01)	<b>C07D 207/34</b>	(2006.01)
<b>C07C 311/37</b>	(2006.01)		
<b>C07D 241/04</b>	(2006.01)		
<b>C07D 453/02</b>	(2006.01)		
<b>C07D 207/40</b>	(2006.01)		
<b>C07D 403/06</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2004 E 08010543 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2013 EP 1997495**

54 Título: **Derivados de 2-fenoxi- y 2-fenilsulfanil-bencenosulfonamida con actividad antagonista de CCR3 para el tratamiento de asma y otras alteraciones inflamatorias o inmunológicas**

30 Prioridad:

**24.03.2003 EP 03006293**

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

**25.04.2013**

73 Titular/es:

**AXIKIN PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)  
10835 ROAD TO THE CURE, SUITE 250  
SAN DIEGO, CA 92121, US**

72 Inventor/es:

**LI, YINGFU;  
BACON, KEVIN;  
SUGIMOTO, HIROMI;  
FUKUSHIMA, KEIKO;  
HASHIMOTO, KENTARO;  
MARUMO, MAKIKO;  
MORIWAKI, TOSHIYA;  
NUNAMI, NORIKO;  
TSUNO, NAOKI;  
URBAHNS, KLAUS y  
YOSHIDA, NAGAHIRO**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 401 911 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

Derivados de 2-fenoxi- y 2-fenilsulfanil-bencenosulfonamida con actividad antagonista de CCR3 para el tratamiento de asma y otras alteraciones inflamatorias o inmunológicas.

5 La presente invención se refiere a un derivado de bencenosulfonamida que es útil como ingrediente activo de preparaciones farmacéuticas. Los derivados de bencenosulfonamida de la presente invención tienen una actividad antagonista de CCR3 (receptor 3 de quimiocinas de tipo CC), y se pueden usar para la profilaxis y el tratamiento de enfermedades asociadas a la actividad de CCR3, en particular para el tratamiento del asma, dermatitis atópica, rinitis alérgica y otras alteraciones inflamatorias/inmunológicas.

10 Las quimiocinas son citocinas quimiotácticas, cuyas funciones principales son la migración de células inflamatorias que expresan receptores de las quimiocinas relevantes en sus superficies hacia los sitios de inflamación, y la activación de las células inflamatorias. Existen dos clases de quimiocinas, C-X-C ( $\alpha$ ) y C-C ( $i$ ), que dependen de si las dos primeras cisteínas están separadas por un único aminoácido (C-X-C) o si son adyacentes (C-C).

15 La eotaxina, un miembro de la familia C-C de quimiocinas, es un polipéptido de 8,4 kDa (74 aminoácidos), y se une únicamente al receptor CCR3 con una afinidad elevada. La eotaxina *in vitro* e *in vivo* provoca la quimiotaxis de las células inflamatorias que expresan CCR3 [Elsner J., Hochstetter R., Kimming D. y Kapp A.: Human eotaxin represents a potent activator of the respiratory burst of human eosinophils. Eur. J. Immunol., 26: 1919-1925, 1996].

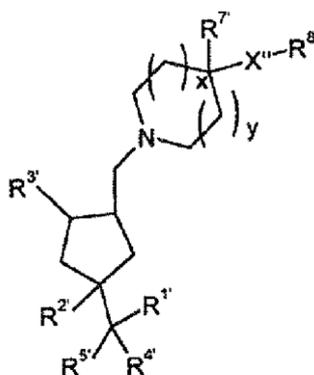
20 El receptor de quimiocinas CCR3 es un receptor de siete dominios transmembrana acoplado a proteína G (GPCR) que se une a ligandos conocidos, además de eotaxina, que incluyen eotaxina-2 (CCL24), RANTES (CCL5), MCP-3 (CCL7) y MCP-4 (CCL13). CCR3 se expresa en células inflamatorias relacionadas con la patología del asma crónica. Tales células inflamatorias incluyen los eosinófilos [Sabroe I., Conroy D.M., Gerard N.P., Li Y., Collins P.D., Post T.W., Jose P.J., Williams T.J., Gerard C.J., Ponath P.D., J. Immunol. 161: 6139-6147, 1998], los basófilos [Ugucioni M., Mackay C.R., Ochensberger B., Loetscher P., Rhis S., LaRosa G.J., Rao P., Ponath P.D., Baggiolini M., Dahinden C.A., J. Clin. Invest. 100: 1137-1143, 1997], células Th2 [Sallusto F., Mackay C.R., Lanzavecchia A., Science. 277: 2005-2007, 1997], macrófagos alveolares [Park I.W., Koziel H., Hatch W., Li X., Du B., Groopman J.E., Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 20:864-71, 1999] y mastocitos [Oliveira S.H. y Lukacs N.W., Inflamm. Res. 50: 168-174, 2001]. También se informó que BEAS-2B, una línea de células epiteliales, estimulada con TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , expresaba CCR3 [Stellato C., Brummet M.E., Plitt J.R., Shahabuddin S., Baroody F.M., Liu M., Ponath P.D., y Beck L.A., J. Immunol., 166: 1457-1461, 2001].

30 En los modelos animales, los ratones con inactivación del gen de eotaxina mostraron una eosinofilia disminuida tras la exposición a antígenos [Rothenberg M.E., MacLean J.A., Pearlman E., Luster A.D. y Leder P., J. Exp. Med., 185: 785-790, 1997]. En los ratones con inactivación doble de IL5-/eotaxina, no existe eosinofilia ni AHR en respuesta a la exposición a antígenos [Foster P.S., Mould A.W., Yang M., Mackenzie J., Mattes J., Hogan S.P., Mahalingam S., Mckenzie A.N.J., Rothenberg M.E., Young I.G., Matthaei K.I. y Webb D.C., Immunol. Rev., 179, 173-181, 2001]. Clínicamente, se observa la expresión de ARNm y proteína de eotaxina y CCR3 en los tejidos pulmonares de asmáticos atópicos, y está asociada a AHR, VFE<sub>1</sub> reducido y eosinofilia pulmonar [Ying S., Robin D.S., Meng Q., Rottman J., Kennedy R., Ringler D.J., Mackay C.R., Daugherty B.L., Springer M.S., Durham S.R., Williams T.J. y Kay A.B.: Enhanced expression of eotaxin and CCR3 mRNA and protein in atopic asthma. Association with airway hyperresponsiveness and predominant colocalization of eotaxin mRNA to bronchial epithelial and endothelial cells. Eur. J. Immunol., 27, 3507-3516, 1997; Lamkhieoued Renzi P.M., AbiYounes S., GarciaZepada E.A., Allakhverdi Z., Ghaffar O., Rothenberg M.D., Luster A.D. y Hamid Q.: Increased expressions of eotaxin in bronchoalveolar lavage and airways of asthmatics contributes to the chemotaxis of eosinophils to the site of inflammation. J. Immunol., 159: 4593-4601, 1997; Jahnz-Royk K., Plusa T. y Mierzejewska J.: Eotaxin in serum of patients with asthma or chronic obstructive pulmonary disease: relationship with eosinophil cationic protein and lung function. Mediators of Inflammation, 9: 175-179, 2000]. Además, en la rinitis alérgica, los linfocitos Th2 que expresan CCR3 se co-localizan con los eosinófilos en los pólipos nasales en estrecha proximidad con las células que expresan eotaxina [Gerber B.O., Zanni M.P., Ugucioni M., Loetscher M., Mackay C.R., Pichler W.J., Yawalkar N., Baggiolini M. y Moser B.: Functional expression of the eotaxin receptor CCR3 in T lymphocytes co-localizing with eosinophils. CURRENT BIOLOGY 7: 836-843, 1997]. Además, las infecciones virales (VRS, virus de la gripe), que son factores de riesgo conocidos en el asma, dan como resultado la expresión incrementada de eotaxina en el tejido pulmonar, que está correlacionada con la eosinofilia del tejido [Matsukura S., Kokubo F., Kubo H., Tomita T., Tokunaga H., Kadokura M., Yamamoto T., Kuroiwa Y., Ohno T., Suzaki H. y Adachi M.: Expression of RANTES by normal airway epithelial cells after influenza virus A infection. Am. J. Respir. Cell and Mol. Biol., 18: 255-264, 1998; Saito T., Deskin R.W., Casola A., Haeberle H., Olszewska B., Ernest P.B., Alam R., Ogra P.L. y Garofalo R.: Selective regulation of chemokine production in human epithelial cells. J. Infec. Dis., 175: 497-504, 1997]. Así, la unión de CCR3 y las quimiocinas relacionadas, que incluyen la eotaxina, se ha considerado un mediador importante de alteraciones y enfermedades inflamatorias y de la inmunorregulación, que incluyen asma, rinitis, y enfermedades alérgicas, así como patologías autoinmunitarias tales como artritis reumatoide, enfermedad de Graves y aterosclerosis. También se considera que la unión de CCR3 y las quimiocinas relacionadas es un factor importante de las infecciones virales, que incluyen el VIH [(Marone G, de Paulis A, Florio G, Petraroli A, Rossi F, Triggiani M.: Int Arch Allergy Immunol, junio de 2001; 125(2)/89-95), (Li Y et al.,: Blood, 1 de junio de 2001; 97(11):3484-90), y (Marone G, Florio G, Petraroli A, Triggiani M, de Paulis A: Trends Immunol, mayo de 2001; 22 (5):229-32)], granuloma pulmonar (Ruth JH, Lukacs NW,

Warmington KS, Polak TJ, Burdick M, Kunkel SL, Strieter RM, Chensue SW: J Immunol, 15 de oct. de 1998; 161 (8):4276-82), y la enfermedad de Alzheimer (Xia MQ, Qin SX, Wu LJ, Mackay CR, y Hyman BT: Am J Pathol, julio de 1998; 153 (1):31-37).

5 Por lo tanto, CCR3 es un objetivo importante, y es probable que el antagonismo de CCR3 sea eficaz en el tratamiento de tales alteraciones y enfermedades inflamatorias y de la inmunorregulación.

Los documentos WO 2000/76514 y WO 2000/76513 describen moduladores de ciclopentilo de receptores de quimiocinas, que incluyen la actividad de CCR3, representados mediante la fórmula general:



en la que

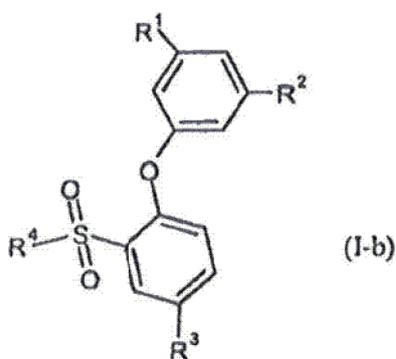
10  $X$ ,  $x$ ,  $y$ ,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$  y  $R^8$  se definen en la solicitud.

Otras solicitudes describen también moduladores de CCR3. Sin embargo, ninguna de las referencias u otras referencias describen derivados de bencenosulfonamida simples que tengan actividad antagonista de CCR3. El documento WO 03/02227 se refiere a ciertos derivados de arilsulfonamida para el uso como antagonistas de CCR3 en el tratamiento de alteraciones inflamatorias e inmunológicas.

15 Se ha deseado el desarrollo de un compuesto que tenga una actividad antagonista de CCR3 eficaz que se pueda usar para la profilaxis y el tratamiento de enfermedades asociadas a la actividad de CCR3.

20 Como resultado de estudios exhaustivos sobre la modificación química de los derivados de bencenosulfonamida, los presentes inventores han descubierto que los compuestos de la estructura relacionada con la presente invención tienen una actividad antagonista de CCR3 inesperadamente excelente. La presente invención se ha llevado a cabo basándose en estos descubrimientos.

La invención proporciona derivados de bencenosulfonamida nuevos mostrados mediante la siguiente fórmula (I-b), su forma tautomérica o estereoisomérica, o las sales de los mismos.



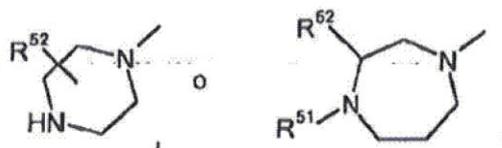
en la que

25  $R^1$  representa fluoro, cloro o bromo;

$R^2$  representa fluoro, cloro o bromo;

$R^3$  representa ciano;

$R^4$  representa



R<sup>51</sup> representa hidrógeno, ciclopentilo, etilo o metilo; y

R<sup>52</sup> representa metoxicarbonilo o alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con metoxicarbonilo, metanosulfonilamino, indolilo, tetrazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,5-triazolilo, 1,3,4-triazolilo, piperidín-1-ilo, 2-oxo-piperidín-1-ilo, 2,5-dioxo-piperidín-1-ilo, 2-oxo-piperidín-3-ilo, 4-oxo-piperidín-1-ilo, 2-oxo-piperidín-6-ilo, 2,5-dioxo-piperidín-1-ilo, 2,6-dioxo-piperidín-1-ilo, o 2,6-dioxo-piperidín-3-ilo;

Esta invención proporciona también un medicamento que comprende el derivado de bencenosulfonamida mostrado en la fórmula (I-b), su forma tautomérica o estereoisomérica, o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, como ingrediente activo.

Además, esta invención proporciona el uso del derivado de bencenosulfonamida mostrado en la fórmula (I-b), su forma tautomérica o estereoisomérica, o una sal fisiológicamente aceptable del mismo en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una alteración o enfermedad relacionada con CCR3.

Los compuestos de la presente invención muestran sorprendentemente una actividad antagonista de CCR3 excelente. Por lo tanto, son adecuados para la producción de un medicamento o una composición médica que puede ser útil para tratar las enfermedades relacionadas con CCR3. Más específicamente, ya que los compuestos de la presente invención actúan como antagonistas de CCR3, son útiles para el tratamiento y la profilaxis de las siguientes enfermedades: asma, rinitis y enfermedades alérgicas, y patologías autoinmunitarias tales como artritis reumatoide, enfermedad de Graves y aterosclerosis. Por lo tanto, CCR3 es un objetivo importante, y es probable que el antagonismo de CCR3 sea eficaz en el tratamiento y la profilaxis de tales alteraciones y enfermedades inflamatorias y de la inmunorregulación.

Los compuestos de la presente invención son útiles también para el tratamiento y la profilaxis de enfermedades tales como las infecciones virales, que incluyen VIH, granuloma pulmonar y la enfermedad de Alzheimer, ya que estas enfermedades también están relacionadas con CCR3.

La presente invención proporciona además los siguientes compuestos:

N-{4-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonil]-piperazin-2-ilmetil}-metanosulfonamida;

N-{4-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonil]-piperazin-2-ilmetil}-acetamida;

N-{1-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonil]-piperazin-2-ilmetil}-metanosulfonamida;

N-{1-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonil]-piperazin-2-ilmetil}-acetamida;

dihidrocloruro de 3-(2-aminometil-piperazin-1-sulfonil)-4-(3,5-dicloro-fenoxi)-benzonitrilo;

éster metílico de ácido 1-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonil]-[1,4]diacepan-2-carboxílico;

4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-[3(S)-(1H-indol-3-ilmetil)-piperazin-1-sulfonil]-benzonitrilo;

4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-[2(S)-(1H-indol-3-ilmetil)-piperazin-1-sulfonil]-benzonitrilo;

4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-[2-(2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilmetil)-piperazin-1-sulfonil]-benzonitrilo;

4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-[3-(2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilmetil)-piperazin-1-sulfonil]-benzonitrilo;

4-(5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonil)-1,4-diacepan-2-carboxilato de metilo;

dihidrocloruro de 3-(3-(aminometil)piperazin-1-ilsulfonil)-4-(3,5-diclorofenoxi)benzonitrilo;

1-(5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonil)-4-(piperidinil-4-il)-1,4-diacepan-2-carboxilato de metilo;

N-((4-(5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonil)-1,4-diacepan-2-il)metil)metanosulfonamida;

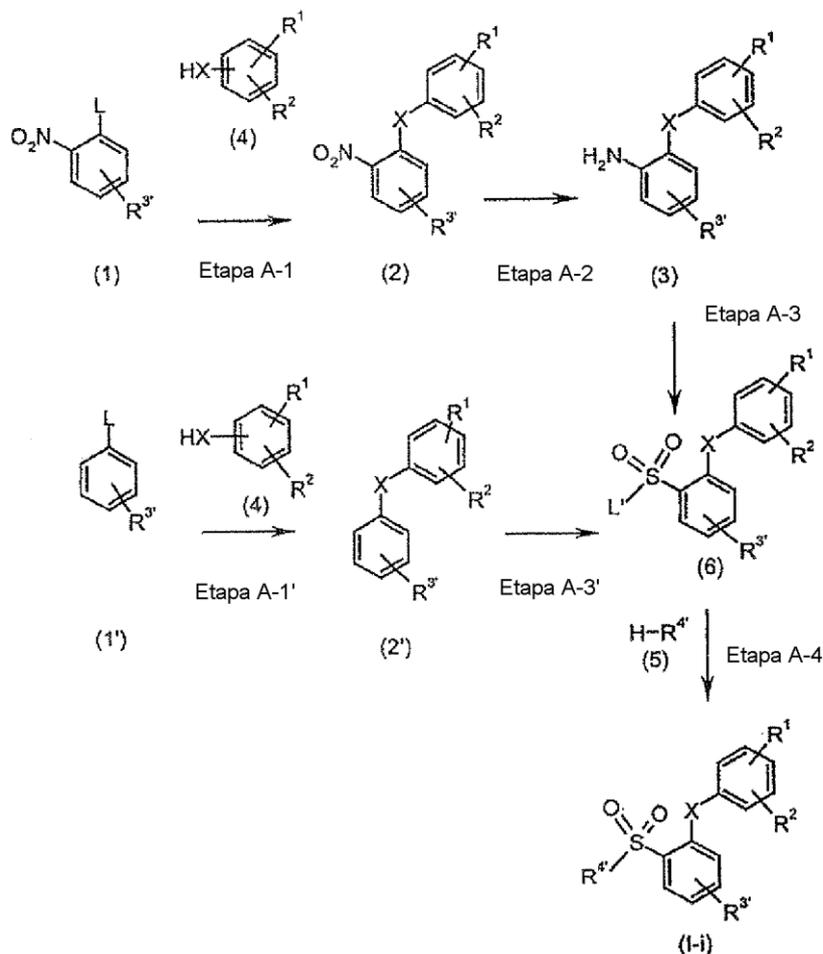
1-(2-(3,5-diclorofenoxi)-5-(1H-tetrazol-1-il)fenilsulfonil)piperazina;

1-(5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonil)-4-etil-1,4-diacepan-2-carboxilato de metilo;

3-(1,4-dibencil-1,4-diacepan-6-ilsulfonil)-4-(3,5-diclorofenoxi)benzonitrilo.

- 5 Alquilo per se y "alc" y "alquil" en alquileo, alqueno, alquino, alcoxi, alceno, alquilamino, alquilaminocarbonilo, alquilaminosulfonilo, alquilsulfonilamino, alcocarbonilo, alcocarbonilamino y alcenoamino, representan un radical alquilo lineal o ramificado que tiene en general de 1 a 6, preferiblemente de 1 a 4, y particularmente preferiblemente de 1 a 3 átomos de carbono, y representan de manera ilustrativa y preferible metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, tert-butilo, n-pentilo y n-hexilo.
- Alcoxi representa de manera ilustrativa y preferible metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, tert-butoxi, n-pentoxi y n-hexoxi.
- 10 Alquilamino representa de manera ilustrativa y preferible un radical alquilamino que tiene uno o dos sustituyentes alquilo (seleccionados independientemente), y representa de manera ilustrativa y preferible metilamino, etilamino, n-propilamino, isopropilamino, tert-butilamino, n-pentilamino, n-hexilamino, N,N-dimetilamino, N,N-dietilamino, N-etil-N-metilamino, N-metil-N-n-propilamino, N-isopropil-N-n-propilamino, N-t-butil-N-metilamino, N-etil-N-n-pentilamino y N-n-hexil-N-metilamino.
- 15 Cicloalquilo per se y en cicloalquilamino y en cicloalquilcarbonilo representa un grupo cicloalquilo que tiene en general de 3 a 8, y preferiblemente de 5 a 7, átomos de carbono, y representa de manera ilustrativa y preferible ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.
- 20 Heterociclilo per se y en heterocíclico representa un radical heterocíclico no aromático mono- o policíclico, preferiblemente mono- o bicíclico, que tiene en general de 4 a 10, y preferiblemente de 5 a 8, átomos en el anillo, y hasta 3, y preferiblemente hasta 2, heteroátomos y/o heterogrupos seleccionados del grupo que consiste en N, O, S, SO y SO<sub>2</sub>. Los radicales heterociclilo pueden estar saturados o parcialmente insaturados. Se da preferencia a los radicales heterociclilo saturados monocíclicos de 5 a 8 miembros que tienen hasta dos heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S.
- 25 El compuesto de fórmula (I-b) de la presente invención se puede preparar, pero sin limitación, combinando diversos métodos convencionales. En algunas realizaciones, uno o más de los sustituyentes, tales como un grupo amino, un grupo carboxilo, y un grupo hidroxilo de los compuestos usados como materiales de partida o como intermedios se protegen de manera ventajosa con un grupo protector conocido para los expertos en la técnica. Se describen ejemplos de los grupos protectores en "Protective Groups in Organic Synthesis (3<sup>rd</sup> Edition)", de Greene y Wuts.
- El compuesto representado por la fórmula general (I-i), (I-ii) y (I-iii) se puede preparar, pero sin limitación, mediante el uso de los Métodos [A], [B] y [C] siguientes, respectivamente.

Método [A]



5 En el Método [A], el compuesto de fórmula (I-i) ( $X$ ,  $R^1$  y  $R^2$  son como se definieron anteriormente,  $R^3$  es igual que  $R^3$  como se definió anteriormente o  $R^3$  protegido, y  $R^4$  es igual que  $R^4$  como se definió anteriormente o  $R^4$  protegido) se puede preparar mediante los siguientes procedimientos en tres o cuatro etapas;

10 En la Etapa A-1, el compuesto de fórmula (2) (en la que  $X$ ,  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son como se definieron anteriormente) se puede obtener mediante la reacción del compuesto de fórmula (1) (en la que  $L$  representa un grupo saliente, por ejemplo, un grupo halógeno (flúor, cloro, bromo, o yodo), sulfonatos (p.ej., mesilato, tosilato o triflato); y similares) con el compuesto de fórmula (4) (en la que  $X$ ,  $R^1$  y  $R^2$  son como se definieron anteriormente) en un disolvente.

15 Los ejemplos del disolvente incluyen, por ejemplo, hidrocarburos halogenados tales como diclorometano, cloroformo y 1,2-dicloroetano; éteres tales como éter dietílico, éter isopropílico, dioxano, tetrahidrofurano (THF) y 1,2-dimetoxietano; nitrilos tales como acetonitrilo; amidas tales como N,N-dimetilformamida (DMF), N,N-dimetilacetamida y N-metilpirrolidona; sulfóxidos tales como sulfóxido de dimetilo, y otros. De manera opcional, se pueden mezclar y usar dos o más disolventes seleccionados de los enumerados anteriormente.

20 La temperatura de reacción es normalmente, pero sin limitación, de alrededor de  $-10^\circ\text{C}$  a  $200^\circ\text{C}$ , y preferiblemente alrededor de  $10^\circ\text{C}$  a  $80^\circ\text{C}$ . La reacción se puede llevar a cabo, normalmente, durante 30 minutos a 48 horas, y preferiblemente 1 hora a 24 horas.

25 La reacción se puede llevar a cabo de manera ventajosa en presencia de una base. Los ejemplos de la base incluyen un hidruro de metal alcalino, tal como hidruro sódico o hidruro potásico; un alcóxido de metal alcalino, tal como metóxido sódico, etóxido sódico y tert-butóxido potásico; un hidróxido de metal alcalino, tal como hidróxido sódico e hidróxido potásico; carbonatos tales como carbonato sódico y carbonato potásico; bicarbonatos de metales alcalinos, tales como bicarbonato sódico y bicarbonato potásico; aminas orgánicas tales como piridina, trietilamina y N,N-diisopropilamina, y otras.

En la Etapa A-2, el compuesto de fórmula (3) (en la que  $X$ ,  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son como se definieron anteriormente) se puede obtener mediante la reducción del compuesto de fórmula (2) (en la que  $X$ ,  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son como se definieron

anteriormente) con cloruro estañoso o hierro en polvo con un ácido (p.ej., ácido clorhídrico) en un disolvente tal como acetato de etilo, agua y otros.

El compuesto de fórmula (3) (en la que X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son como se definieron anteriormente) se puede obtener también mediante la hidrólisis del compuesto de fórmula (2) (en la que X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son como se definieron anteriormente).

5

En la Etapa A-3, el compuesto de fórmula (6) (en la que X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son como se definieron anteriormente y L' representa un grupo saliente, por ejemplo, un grupo halógeno (flúor, cloro, bromo o yodo); y similares) se puede preparar a partir del compuesto de fórmula (3) (en la que X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son como se definieron anteriormente) en dos etapas.

10 Primero, el compuesto de fórmula (3) (en la que X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son como se definieron anteriormente) se trata con un ácido (p.ej., ácido clorhídrico) y nitrito sódico en un disolvente (p.ej., agua, ácido acético) a alrededor de -20°C hasta 0°C.

Después, la mezcla de reacción se añade a una disolución de dióxido de azufre en un ácido tal como ácido acético y similares.

15 Los ejemplos de disolvente incluyen, por ejemplo, hidrocarburos halogenados tales como diclorometano, cloroformo y 1,2-dicloroetano; éteres tales como éter dietílico, éter isopropílico, dioxano y tetrahidrofurano (THF) y 1,2-dimetoxietano; nitrilos tales como acetonitrilo; amidas tales como N,N-dimetilformamida (DMF), N,N-dimetilacetamida y N-metilpirrolidona; agua, y otros. De manera opcional, se pueden mezclar y usar dos o más disolventes seleccionados de los enumerados anteriormente.

20 La temperatura de reacción es normalmente, pero sin limitación, de alrededor de -10°C a 200°C, y preferiblemente alrededor de 0°C a 30°C. La reacción se puede llevar a cabo, normalmente, durante 30 minutos a 48 horas, y preferiblemente 1 hora a 24 horas.

La reacción se puede llevar a cabo en presencia de un catalizador, que incluye, por ejemplo, las sales de cobre tales como cloruro de cobre y otras.

25 En la Etapa A-4, el compuesto de fórmula (I-i) (en la que X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son como se definieron anteriormente) se puede obtener mediante la reacción del compuesto de fórmula (6) (en la que X, L', R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son como se definieron anteriormente) con el compuesto de fórmula (5) (en la que R<sup>4</sup> es como se definió anteriormente) de una manera similar a la descrita en la Etapa A-1 del Método [A] para la preparación del compuesto de (2).

El compuesto (I-i) se puede hacer reaccionar adicionalmente para eliminar el grupo protector de R<sup>3</sup> o R<sup>4</sup>.

30 El compuesto de fórmula (6) se puede preparar también mediante los procedimientos de la etapa A-1' y la etapa A-3' con el compuesto de partida (1') (en el que L y R<sup>3</sup> son como se definieron anteriormente).

En la Etapa A-1', el compuesto de fórmula (2') (en la que X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, y R<sup>3</sup> son como se definieron anteriormente) se puede preparar a partir del compuesto de fórmula (1') (en la que L y R<sup>3</sup> son como se definieron anteriormente), en lugar del compuesto de fórmula (1), de una manera similar a la descrita en la Etapa A-1 para la preparación del compuesto de fórmula (2) mediante el uso de un compuesto de fórmula (4) (en la que X, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se definieron anteriormente).

35

En la Etapa A-3', el compuesto de fórmula (6) (en la que X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y L' son como se definieron anteriormente) se puede preparar con el compuesto de fórmula (2') (en la que X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, y R<sup>3</sup> son como se definieron anteriormente) con un haluro de ácido sulfónico (p.ej., ácido clorosulfónico). La reacción se puede llevar a cabo sin disolvente o en un disolvente que incluye, por ejemplo, hidrocarburos halogenados tales como diclorometano, cloroformo y 1,2-dicloroetano; éteres tales como éter dietílico, éter isopropílico, dioxano y tetrahidrofurano (THF) y 1,2-dimetoxietano; amidas tales como N,N-dimetil-formamida (DMF), N,N-dimetilacetamida y N-metilpirrolidona; sulfóxidos tales como sulfóxido de dimetilo (DMSO); y otros. De manera opcional, se pueden mezclar y usar dos o más disolventes seleccionados de los enumerados anteriormente.

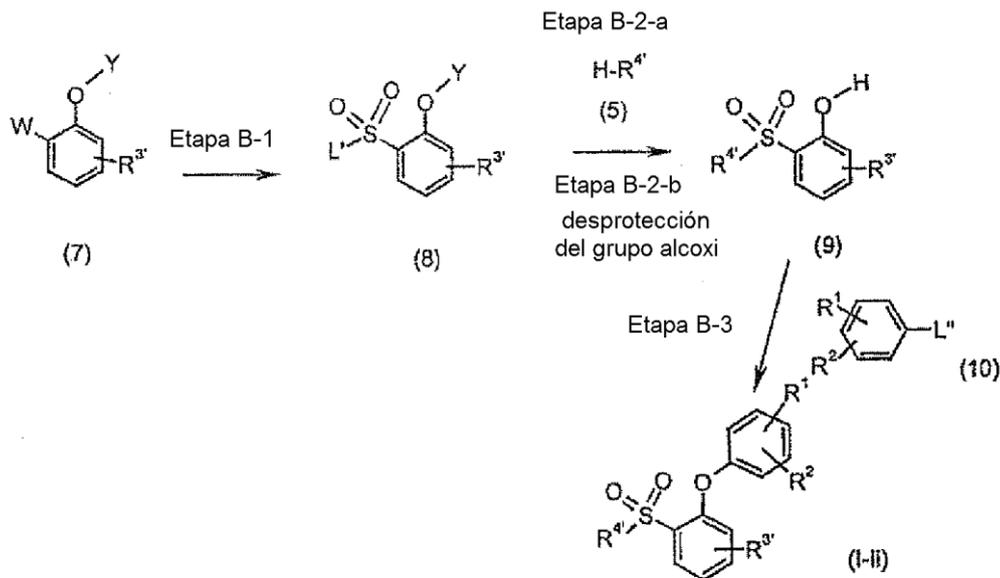
40

45 La temperatura de reacción es normalmente, pero sin limitación, de alrededor de -10°C a 200°C, y preferiblemente alrededor de 0°C a 170°C. La reacción se puede llevar a cabo, normalmente, durante 30 minutos a 48 horas, y preferiblemente 1 hora a 24 horas.

Los compuestos de fórmula (1), (1'), (4) y (5) están disponibles comercialmente o se pueden preparar mediante reacciones convencionales.

50

Método [B]



El compuesto de fórmula (I-ii) ( $R^1$  y  $R^2$  son como se definieron anteriormente,  $R^3$  es igual que  $R^3$  como se definió anteriormente o  $R^3$  protegido, y  $R^4$  es igual que  $R^4$  como se definió anteriormente o  $R^4$  protegido) se puede preparar mediante el siguiente procedimiento en tres etapas;

5 En la Etapa B-1, el compuesto de fórmula (8) (en la que  $L'$  y  $R^3$  son como se definieron anteriormente e  $Y$  representa alquil  $C_{1-6}$ ) se puede obtener mediante la reacción del compuesto de fórmula (7) (en la que  $Y$  y  $R^3$  son como se definieron anteriormente y  $W$  representa hidrógeno, amino, y similares) de una manera similar a la descrita en la Etapa A-3 o A-3' del Método [A] para la preparación del compuesto de fórmula (6).

10 En la Etapa B-2, el compuesto de fórmula (9) (en la que  $R^3$  y  $R^4$  son como se definieron anteriormente) se puede preparar a partir del compuesto de fórmula (8) en dos etapas; (etapa B-2-a) reacción con  $H-R^4$  y (etapa B-2-b) desprotección del grupo alcoxi.

15 En la Etapa B-2-a, la reacción del compuesto de fórmula (8) (en la que  $Y$ ,  $L'$  y  $R^3$  son como se definieron anteriormente) con el compuesto de fórmula (5) (en la que  $R^4$  es como se definió anteriormente) se puede llevar a cabo de una manera similar a la descrita en la etapa A-4 del método A para la preparación del compuesto de fórmula (I-i).

20 En la Etapa B-2-b, la desprotección sucesiva del grupo alcoxi para obtener el compuesto de fórmula (9) (en la que  $R^3$  y  $R^4$  son como se definieron anteriormente) se puede realizar mediante la reacción con un ácido de Lewis tal como, por ejemplo,  $BBR_3$ , en un disolvente que incluye, por ejemplo, hidrocarburos halogenados tales como diclorometano, cloroformo y 1,2-dicloroetano; y otros. De manera opcional, se pueden mezclar y usar dos o más disolventes seleccionados de los enumerados anteriormente.

La temperatura de reacción es normalmente, pero sin limitación, de alrededor de  $-30^\circ C$  a  $200^\circ C$ , y preferiblemente alrededor de  $-10^\circ C$  a  $80^\circ C$ . La reacción se puede llevar a cabo, normalmente, durante 30 minutos a 48 horas, y preferiblemente 1 hora a 24 horas.

25 En la Etapa B-3, el compuesto de fórmula (I-ii) (en la que  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  y  $R^4$  son como se definieron anteriormente) se puede obtener mediante la reacción del compuesto de fórmula (9) (en la que  $R^3$  y  $R^4$  son como se definieron anteriormente) con el compuesto de fórmula (10) (en la que  $R^1$  y  $R^2$  son como se definieron anteriormente, y  $L''$  representa un grupo saliente, tal como ácido borónico, un átomo de halógeno, p.ej. un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo).

30 La reacción se puede llevar a cabo en un disolvente que incluye, por ejemplo, hidrocarburos halogenados tales como diclorometano, cloroformo y 1,2-dicloroetano; éteres tales como éter dietílico, éter isopropílico, dioxano y tetrahydrofurano (THF) y 1,2-dimetoxietano; hidrocarburos aromáticos tales como benceno, tolueno y xileno; nitrilos tales como acetonitrilo; amidas tales como N,N-dimetilformamida (DMF), N,N-dimetilacetamida y N-metilpirrolidona; sulfóxidos tales como sulfóxido de dimetilo, y otros. De manera opcional, se pueden mezclar y usar dos o más disolventes seleccionados de los enumerados anteriormente.

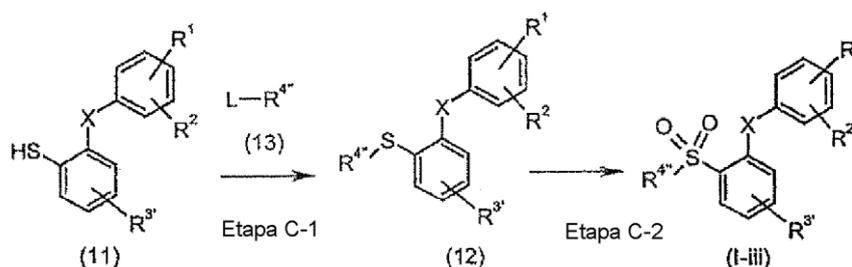
La temperatura de reacción es normalmente, pero sin limitación, de alrededor de  $-10^{\circ}\text{C}$  a  $200^{\circ}\text{C}$ , y preferiblemente alrededor de  $10^{\circ}\text{C}$  a  $100^{\circ}\text{C}$ . La reacción se puede llevar a cabo, normalmente, durante 30 minutos a 48 horas, y preferiblemente 1 hora a 24 horas.

5 La reacción se puede llevar a cabo en presencia de un catalizador que incluye, por ejemplo, sales de cobre tales como acetato de cobre (II), sales de paladio tales como acetato de paladio (II), y otras. La reacción se puede llevar a cabo de manera ventajosa en presencia de una base. Los ejemplos de la base incluyen un alcóxido de metal alcalino tal como metóxido sódico, etóxido sódico y tert-butóxido potásico; un hidróxido de metal alcalino tal como hidróxido sódico e hidróxido potásico; carbonatos tales como carbonato de cesio, carbonato sódico y carbonato potásico; bicarbonatos de metales alcalinos tales como bicarbonato sódico y bicarbonato potásico; aminas orgánicas tales como piridina, trietilamina y N,N-diisopropilamina, y otros.

El compuesto (I-ii) se puede hacer reaccionar adicionalmente para modificar  $\text{R}^3$  o  $\text{R}^4$ , p.ej. para la desprotección.

Los compuestos de fórmula (7) y (10) están disponibles comercialmente o se pueden preparar mediante reacciones convencionales.

Método [C]



15 El Método [C] es especialmente ventajoso cuando el  $\text{R}^4$  de la fórmula (I) representa el anillo E definido anteriormente, en adelante  $\text{R}^{4''}$  de la fórmula (I-iii) representa el anillo E con el sustituyente  $\text{R}^{11}$  como se definió en  $\text{R}^4$  o su forma protegida.

20 El compuesto de fórmula (I-iii) (en la que X,  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^{4''}$  son como se definieron anteriormente) se puede preparar mediante el siguiente procedimiento en dos etapas:

25 En la Etapa C-1, el compuesto de fórmula (12) (en la que X,  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^{4''}$  son como se definieron anteriormente) se puede obtener mediante la reacción del compuesto de fórmula (11) (en la que X,  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$  y  $\text{R}^3$  son como se definieron anteriormente) con el compuesto de fórmula (13) (en la que  $\text{R}^{4''}$  es como se definió anteriormente, y L representa un grupo saliente definido anteriormente) mediante el uso de una base tal como un carbonato de metal alcalino (p.ej., carbonato sódico, carbonato potásico y similares), trietilamina, hidróxido potásico, y otros.

30 La reacción se puede llevar a cabo en un disolvente que incluye, por ejemplo, hidrocarburos halogenados tales como diclorometano, cloroformo y 1,2-dicloroetano; éteres tales como éter dietílico, éter isopropílico, dioxano y tetrahidrofurano (THF) y 1,2-dimetoxietano; hidrocarburos aromáticos tales como benceno, tolueno y xileno; nitrilos tales como acetonitrilo; amidas tales como N,N-dimetil-formamida (DMF), N,N-dimetilacetamida y N-metilpirrolidona; sulfóxidos tales como sulfóxido de dimetilo, y otros. De manera opcional, se pueden mezclar y usar dos o más disolventes seleccionados de los enumerados anteriormente.

La temperatura de reacción es normalmente, pero sin limitación, de alrededor de  $-10^{\circ}\text{C}$  a  $200^{\circ}\text{C}$ , y preferiblemente alrededor de  $10^{\circ}\text{C}$  a  $100^{\circ}\text{C}$ . La reacción se puede llevar a cabo, normalmente, durante 30 minutos a 48 horas, y preferiblemente 1 hora a 24 horas.

35 En la Etapa C-2, el compuesto de fórmula (I-iii) (en la que X,  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^{4''}$  son como se definieron anteriormente) se puede obtener mediante el tratamiento del compuesto de fórmula (12) (en la que X,  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^{4''}$  son como se definieron anteriormente) en condiciones oxidantes adecuadas, tal como con peróxido de hidrógeno, peryodato sódico, ácido m-cloroperbenzoico (m-CPBA), permanganato potásico y otros en presencia o ausencia de un catalizador, tal como tricloruro de rutenio catalítico en un disolvente que incluye, por ejemplo, agua, hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, tetracloruro de carbono, clorobenceno, diclorometano, cloroformo y 1,2-dicloroetano; éteres tales como éter dietílico, éter isopropílico, dioxano y tetrahidrofurano (THF) y 1,2-dimetoxietano; hidrocarburos aromáticos tales como benceno, tolueno y xileno; nitrilos tales como acetonitrilo; amidas tales como N,N-dimetilformamida (DMF), N,N-dimetilacetamida y N-metil-pirrolidona; y otros. De manera opcional, se pueden mezclar y usar dos o más disolventes seleccionados de los enumerados anteriormente.

La temperatura de reacción es normalmente, pero sin limitación, de alrededor de -10°C a 200°C, y preferiblemente alrededor de 10°C a 50°C. La reacción se puede llevar a cabo, normalmente, durante 30 minutos a 48 horas, y preferiblemente 1 hora a 20 horas.

El compuesto (I-iii) se puede hacer reaccionar adicionalmente para eliminar el grupo protector de R<sup>3</sup> o R<sup>4</sup>.

- 5 Los compuestos de fórmulas (11) y (13) están disponibles comercialmente o se pueden preparar mediante reacciones convencionales.

Cuando el compuesto representado mediante la fórmula (I) o una sal del mismo tiene isómeros tautoméricos y/o estereoisómeros (p.ej., isómeros geométricos e isómeros conformacionales), cada uno de sus isómeros por separado y las mezclas están también incluidos en el alcance de la presente invención.

- 10 Cuando el compuesto representado mediante la fórmula (I) o una sal del mismo tiene un carbono asimétrico en la estructura, sus compuestos ópticamente activos y las mezclas racémicas también están incluidos en el alcance de la presente invención.

- 15 Las sales típicas del compuesto representado mediante la fórmula (I) incluyen las sales preparadas mediante la reacción de los compuestos de la presente invención con un ácido orgánico o mineral, o una base orgánica o inorgánica. Tales sales se conocen como sales de adición de ácido y sales de adición de base, respectivamente.

Los ácidos para formar las sales de adición de ácido incluyen ácidos inorgánicos tales como, sin limitación, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico y similares, y ácidos orgánicos, tales como, sin limitación, ácido p-toluensulfónico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido p-bromofenilsulfónico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido acético, y similares.

- 20 Las sales de adición de base incluyen las derivadas de bases inorgánicas, tales como, sin limitación, hidróxido amónico, hidróxidos de metales alcalinos, hidróxidos de metales alcalinotérreos, carbonatos, bicarbonatos, y similares, y bases orgánicas, tales como, sin limitación, etanolamina, trietilamina, tris(hidroximetil)aminometano, y similares. Los ejemplos de bases inorgánicas incluyen hidróxido sódico, hidróxido potásico, carbonato potásico, carbonato sódico, bicarbonato sódico, bicarbonato potásico, hidróxido cálcico, carbonato cálcico, y similares.

- 25 El compuesto de la presente invención o una sal del mismo, dependiendo de sus sustituyentes, se puede modificar para formar ésteres de alquilo inferior u otros ésteres conocidos; y/o hidratos u otros solvatos. Esos ésteres, hidratos y solvatos están incluidos en el alcance de la presente invención.

- 30 El compuesto de la presente invención se puede administrar en formas orales, tales como, sin limitación, comprimidos normales y con revestimiento entérico, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, elixires, tinturas, soluciones, suspensiones, jarabes, aerosoles sólidos y líquidos, y emulsiones. También se pueden administrar en formas parenterales, tales como, sin limitación, formas intravenosas, intraperitoneales, subcutáneas, intramusculares, y similares, bien conocidas para las personas de experiencia habitual en las técnicas farmacéuticas. Los compuestos de la presente invención se pueden administrar de forma intranasal por medio del uso tópico de vehículos intranasales adecuados, o por medio de vías transdérmicas, mediante el uso de sistemas de administración transdérmica bien conocidos para las personas de experiencia habitual en la técnica.

- 35 La pauta posológica con el uso de los compuestos de la presente invención es seleccionada por alguien de experiencia habitual en la técnica, tomando en consideración una diversidad de factores, que incluyen, sin limitación, la edad, el peso, el sexo y el estado médico del receptor, la gravedad de la enfermedad a tratar, la vía de administración, el nivel de función metabólica y excretora del receptor, la forma farmacéutica empleada, el compuesto particular y la sal empleada.

Los compuestos de la presente invención se formulan preferiblemente antes de la administración junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes son sustancias inertes tales como, sin limitación, vehículos, diluyentes, agentes aromatizantes, edulcorantes, lubricantes, solubilizantes, agentes de suspensión, aglutinantes, agentes desintegrantes de comprimidos, y material de encapsulación.

- 45 Aún otra realización de la presente invención es una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, que son compatibles con los otros ingredientes de la formulación y que no son perjudiciales para su receptor. Las formulaciones farmacéuticas de la invención se preparan combinando una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos de la invención junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Al producir las composiciones de la presente invención, el ingrediente activo se puede mezclar con un diluyente, o se puede encerrar dentro de un vehículo, que puede estar en forma de una cápsula, sobre, papel u otro recipiente. El vehículo puede servir como diluyente, que puede ser un material sólido, semisólido o líquido que actúa como un vehículo, o puede estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles, pomadas, que contienen, por ejemplo, hasta un 10% en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos empaquetados estériles.

5 Para la administración oral, el ingrediente activo se puede combinar con un vehículo oral atóxico farmacéuticamente aceptable tal como, sin limitación, lactosa, almidón, sacarosa, glucosa, carbonato sódico, manitol, sorbitol, carbonato cálcico, fosfato cálcico, sulfato cálcico, metilcelulosa, y similares; opcionalmente junto con agentes desintegrantes, tales como, sin limitación, maíz, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma de xantano, ácido algínico, y similares; y de manera opcional agentes aglutinantes, por ejemplo, sin limitación, gelatina, goma arábica, carbohidratos naturales,  $\beta$ -lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, goma de tragacanto, alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras, y similares; y opcionalmente, agentes lubricantes, por ejemplo, sin limitación, estearato magnésico, estearato sódico, ácido esteárico, oleato sódico, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico, talco, y similares.

10 En las formas en polvo, el vehículo puede ser un sólido finamente dividido que está en mezcla con el ingrediente activo finamente dividido. El ingrediente activo se puede mezclar con un vehículo que tiene propiedades aglutinantes en proporciones adecuadas, y compactarlo con la forma y el tamaño deseado para producir comprimidos. Los polvos y los comprimidos contienen preferiblemente de alrededor del 1 a alrededor del 99 por ciento en peso de ingrediente activo, que es la composición nueva de la presente invención. Los vehículos sólidos adecuados son  
15 carboximetilcelulosa magnésica, ceras de bajo punto de fusión, y manteca de cacao.

Las formulaciones líquidas estériles incluyen suspensiones, emulsiones, jarabes y elixires. El ingrediente activo se puede disolver o suspender en un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como agua estéril, un disolvente orgánico estéril, o una mezcla de agua estéril y un disolvente orgánico estéril.

20 El ingrediente activo se puede disolver también en un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo, propilenglicol acuoso. Se pueden producir otras composiciones dispersando el ingrediente activo finamente dividido en una disolución acuosa de almidón o de carboximetilcelulosa sódica, o en un aceite adecuado.

25 La formulación puede estar en una forma farmacéutica unitaria, que es una unidad físicamente discreta que contiene una dosis unitaria, adecuada para la administración en humanos u otros mamíferos. Una forma farmacéutica unitaria puede ser una cápsula o comprimido, o varias cápsulas o comprimidos. Una "dosis unitaria" es una cantidad predeterminada del compuesto activo de la presente invención calculada para producir un efecto terapéutico deseado, en asociación con uno o más excipientes. La cantidad de ingrediente activo en una dosis unitaria se puede variar o ajustar de alrededor de 0,1 a alrededor de 1000 miligramos o más, según el tratamiento particular implicado.

30 Las dosis orales típicas de la presente invención, cuando se usan para los efectos indicados, oscilarán de alrededor de 0,01 mg/kg/día a alrededor de 100 mg/kg/día, preferiblemente de 0,1 mg/kg/día a 30 mg/kg/día, y lo más preferiblemente de alrededor de 0,5 mg/kg/día a alrededor de 10 mg/kg/día. En el caso de administración parenteral, en general se ha demostrado que es ventajoso administrar cantidades de alrededor de 0,001 a 100 mg/kg/día, preferiblemente de 0,01 mg/kg/día a 1 mg/kg/día. Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en una única dosis diaria, o la dosis diaria total se puede administrar en dosis divididas, dos, tres, o más veces por día. Cuando la administración es por medio de formas transdérmicas, por supuesto, la administración es continua.

### 35 Ejemplos

La presente invención se describirá con detalle más adelante en forma de ejemplos, pero no se debería considerar de ninguna manera que definan los límites de la presente invención.

En los siguientes ejemplos, todos los datos cuantitativos, si no se indica de otra manera, se refieren a porcentajes en peso.

40 Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN se registraron mediante el uso del espectrómetro Bruker DRX-300 (300 MHz para  $^1\text{H}$ ) en  $\text{CDCl}_3$ . Los desplazamientos químicos se informan en partes por millón (ppm) con tetrametilsilano (TMS) como patrón interno a cero ppm. Las constantes de acoplamiento (J) se proporcionan en hercios, y las abreviaturas s, d, t, q, m, y br se refieren a singlete, doblete, triplete, cuarteto, multiplete, y ancho, respectivamente. Los datos de espectroscopia de masas se registraron en un FINNIGAN MAT 95. La CCF se llevó a cabo en una placa de gel de sílice prerrevestida (gel de sílice 60 F-254 de Merck). Se usó el gel de sílice (gel C-200 de WAKO (75-150  $\mu\text{m}$ )) para  
45 todas las separaciones cromatográficas en columna. En la tabla 1, Z representa la descomposición.

Todos los productos químicos fueron de grado reactivo y se adquirieron de Sigma-Aldrich, Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Tokyo kasei kogyo Co., Ltd., Nacalai tesque, Inc., Watanabe Chemical Ind. Ltd., Maybridge plc, Lancaster Synthesis Ltd., Merck KgaA, Kanto Chemical Co., Ltd.

50 Los efectos de los presentes compuestos se examinaron mediante los siguientes ensayos y pruebas farmacológicas.

[Determinación de los valores de  $\text{CI}_{50}$  de los compuestos en un ensayo de unión a receptor]

#### (1) Células

Se usaron células K562 transformadas con CCR3 humano. El cADN de CCR3 clonado se construyó con el vector pCDNA3 y se transfectó en una línea de células K562. Las células K562 transformadas con CCR3 humano se

5 mantuvieron en RPMI-1640 (nº de cat. 22400-089, Life Technologies) complementado con un 10% de FCS (nº de cat. A-1115-L, Hyclone), 2-mercaptoetanol 55 µM (nº de cat. 21985-023, Life Technologies), piruvato sódico 1 mM (nº de cat. 11360-070, Life Technologies), 100 unidades/ml de penicilina G y 100 µg/ml de estreptomina (nº de cat. 15140-122, Life Technologies), y 0,4 mg/ml de Geneticina (nº de cat. 10131-035, Life Technologies) (en adelante denominado "medio de cultivo"). Antes del ensayo de unión a receptor, las células se pretrataron con medio de cultivo que contenía butirato sódico 5 mM (nº de cat. 193-01522, Wako) ( $2 \times 10^5$  células/ml) durante 20-24 horas para incrementar la expresión de CCR3.

(2) Ensayo de unión a receptor

10 Las células pretratadas con butirato, suspendidas en tampón de unión (HEPES 25 mM de pH 7,6, CaCl<sub>2</sub> 1 mM, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, 0,5% de BSA, 0,1% de NaN<sub>3</sub>) a una densidad de células de  $2 \times 10^6$  células/ml, se añadieron a 60 µl/pocillo en una placa de polipropileno de fondo redondo de 96 pocillos (nº de cat. 3365, Costar). Los compuestos, diluidos con el tampón de unión (concentración 4 veces superior a la concentración final), se añadieron a 30 µl/pocillo en la placa de polipropileno. La eotaxina humana marcada con [<sup>125</sup>I] (nº de cat. IM290, Amersham Pharmacia Biotech), diluida con el tampón de unión a la concentración de 0,4 nM (concentración final: 0,1 nM), se  
15 añadió a 30 µl/pocillo en la placa de polipropileno. El total de 120 µl/pocillo de mezcla de reacción de unión (60 µl/pocillo de suspensión celular, 30 µl/pocillo de disolución de compuesto, y 30 µl/pocillo de eotaxina marcada con [<sup>125</sup>I]) se incubó en la placa de polipropileno durante 1 hora a temperatura ambiente. Tras la incubación, se transfirieron 100 µl/pocillo de la mezcla de reacción a una placa de filtración (nº de cat. MAFB-NOB, Millipore), y se lavó dos veces con el tampón de lavado (HEPES 25 mM de pH 7,6, CaCl<sub>2</sub> 1 mM, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, 0,5% de BSA, 0,1%  
20 de NaN<sub>3</sub>, NaCl 0,5 M). La placa de filtración de 96 pocillos se pretrató con 100 µl/pocillo de un 0,5% de polietilénimina (nº de cat. P-3143, Sigma) durante 2-4 horas a temperatura ambiente, y se lavó con el tampón de lavado dos veces antes de su uso. La unión inespecífica se determinó mediante una incubación paralela en presencia de 500 nM de eotaxina sin marcar (nº de cat. 23209, Genzyme Techne). Las radiactividades que permanecieron en el filtro se midieron mediante un contador de centelleo líquido (TopCount™, Packard) tras la  
25 adición de 45 µl/pocillo de líquido de centelleo (Microscint20, nº de cat. 6013621, Packard). Se calculó el porcentaje de inhibición a cada concentración de compuesto, y se determinaron los valores de CI50 a partir de la curva de inhibición.

[Determinación de los valores de CI50 de los compuestos en un ensayo de movilización de calcio]

(1) Células

30 Se usaron células K562 transformadas con CCR3 humano. Las células K562 transformadas con CCR3 humano se mantuvieron en RPMI-1640 complementado con un 10% de FCS, 2-mercaptoetanol 55 µM (nº de cat. 21985-023, Life Technologies), piruvato sódico 1 mM, 100 unidades/ml de penicilina G y 100 µg/ml de estreptomina, y 0,4 mg/ml de Geneticina. Antes del ensayo de movilización de calcio, las células se pretrataron con medio de cultivo que contenía butirato sódico 5 mM ( $2 \times 10^5$  células/ml) durante 20-24 horas para incrementar la expresión de CCR3.

35 (2) Ensayo de movilización de calcio

Las células pretratadas con butirato se cargaron con Fluo-3AM (nº de cat. F-1242, Molecular Probes) en tampón de carga (disolución de Hanks, nº de cat. 05906, Nissui, HEPES 20 mM de pH 7,6, 0,1% de BSA, Probenecid 1 mM, nº de cat. P-8761, Sigma, Fluo-3AM 1 µM, 0,01% de Pluronic F-127, nº de cat. P-6866, Molecular Probes) a una densidad de células de  $1 \times 10^7$  células/ml. Después, las células se lavaron con tampón de ensayo de calcio (disolución de Hanks, nº de cat. 05906, Nissui, HEPES 20 mM de pH 7,6, 0,1% de BSA, Probenecid 1 mM, nº de cat. P-8761, Sigma). La suspensión de células ( $3,3 \times 10^6$  células/ml) se añadió a 60 µl/pocillo en una placa negra de fondo claro de 96 pocillos (nº de cat. 3904, Costar). Los compuestos, diluidos (concentración de 5 veces la concentración final) con el tampón de ensayo de calcio, se añadieron a 20 µl/pocillo en la placa 10 minutos antes del ensayo. Se añadió eotaxina recombinante humana, diluida con el tampón de ensayo de calcio a la concentración de  
40 50 nM (concentración final: 10 nM), en una placa de polipropileno (nº de cat. 3365, Costar). La movilización del calcio citoplasmático se midió con un FDSS-6000 o FDSS-3000 (Hamamatsu Photonics) a lo largo de 60 seg tras la estimulación con eotaxina 10 nM. Se calculó el porcentaje de inhibición a cada concentración de compuesto, y se determinaron los valores de CI50 a partir de la curva de inhibición.

[Determinación de los valores de CI50 de los compuestos en un ensayo de quimiotaxis]

50 (1) Células

Se usaron células L1.2 transformadas con CCR3 humano. El transformante estable de L1.2 que expresaba CCR3 humano se estableció mediante electroporación, mediante referencia a los métodos descritos en J. Exp. Med. 183:2437-2448, 1996. Las células L1.2 transformadas con CCR3 humano se mantuvieron en RPMI-1640 complementado con un 10% de FCS, 100 unidades/ml de penicilina G y 100 µg/ml de estreptomina, y 0,4 mg/ml de Geneticina. Un día antes del ensayo de quimiotaxis, las células se pretrataron con medio de cultivo que contenía butirato sódico 5 mM ( $5 \times 10^5$  células/ml) durante 20-24 horas para incrementar la expresión de CCR3.

(2) Ensayo de quimiotaxis

Las células pretratadas con butirato se suspendieron en tampón de quimiotaxis (disolución de Hanks, n° de cat. 05906, Nissui, HEPES 20 mM de pH 7,6, 0,1% de albúmina de suero humano, n° de cat. A-1887, Sigma) a una densidad de células de  $1,1 \times 10^7$  células/ml. Se preincubó una mezcla de 90  $\mu$ l de la suspensión celular y 10  $\mu$ l de disolución de compuesto diluido con el tampón de quimiotaxis (concentración de 10 veces la concentración final) durante 10 minutos a 37°C. La mezcla de células y compuestos se añadió a la cámara superior de una cámara de quimiotaxis de 24 pocillos (Transwell™, n° de cat. 3421, Costar, tamaño de poro: 5  $\mu$ m). Se añadieron 0,5 ml de disolución de eotaxina recombinante humana 10 nM (n° de cat. 23209, Genzyme Techne), diluida con tampón de quimiotaxis, a la cámara inferior de la placa de quimiotaxis. Después, se llevó a cabo la quimiotaxis en un incubador con CO<sub>2</sub> a 37°C durante 4 horas. Después de 4 horas de incubación, se contaron las células que migraron mediante el uso de un FACScan (Becton Dickinson). Se calculó el porcentaje de inhibición a cada concentración de compuesto, y se determinaron los valores de CI50 a partir de la curva de inhibición.

[Análisis de la selectividad]

El análisis de la selectividad se realizó en el ensayo de movilización de calcio y en el ensayo de unión a receptor mediante el uso de transformantes estables de CCR1, CCR2, CCR4, CCR5, CCR7, CCR8, CXCR1 y PAR-1 (receptor activado por peptidasas). Los métodos para el análisis son los mismos que los de CCR3. La única diferencia es que se usaron transformantes estables diferentes para estos análisis de la selectividad.

[Determinación de los valores de CI50 de los compuestos en el ensayo de quimiotaxis con el uso de eosinófilos humanos]

Se purificaron eosinófilos humanos a partir de sangre periférica. Se colocaron cuidadosamente veinticinco ml de sangre heparinizada sobre 15 ml de Mono-Poly Resolving Medium (n° 16-980-49DN, ICN Biomedicals Co. Ltd, Japón) en un tubo de 50 ml (n° 2335-050, Iwaki, Japón), y después se centrifugaron a 400G durante 20 min a temperatura ambiente. Tras la centrifugación, los eritrocitos se eliminaron mediante lisis hipotónica. El sedimento de leucocitos polimorfonucleares se incubó con microesferas anti-CD16 humano (n° 130-045-701, Milteynyi Biotec GmbH, Alemania) durante 30 min a 4°C. Después de lavar las células, se eliminaron los neutrófilos marcados magnéticamente aplicando la suspensión de células a columnas BS (n° 130-041-304, Milteynyi Biotec GmbH, Alemania) conectadas a VarioMACS (n° 130-090-282, Milteynyi Biotec GmbH, Alemania).

Se llevó a cabo el ensayo de quimiotaxis con el uso de los eosinófilos obtenidos mediante el mismo protocolo que usaba los transformantes estables de CCR3, las células L1.2.

[Modelo de asma crónica en primates: Protocolo]

**Materiales y Métodos:** Los animales usados en este estudio fueron monos *Cynomolgus* (*Macaca fascicularis*) macho adultos, capturados en el medio silvestre, que pesaban de 4,0 a 9,0 kg (Charles River BRF, Inc.). Todos los animales estudiados mostraron una sensibilidad respiratoria natural al extracto inhalado de *Ascaris suum*. Los animales se albergaron de manera individual en salas con un ambiente controlado en jaulas de malla abierta, y se les proporcionó alimento dos veces al día y agua a voluntad. Cada animal se sometió a ayuno durante aproximadamente 12 horas antes del día del estudio. Para cada estudio, los animales se anestesiaron con hidrocloreuro de ketamina (7 mg/kg, i.m.; Ketaset, Fort Dodge, IA) y xilacina (1,2 mg/kg, i.m.; Bayer Corp., Elkart, IN), se entubaron con un tubo endotraqueal con manguito (5,0 mm de DI; Mallinckrodt Critical Care, Glen Falls, NY) y se sentaron en una silla de soporte especialmente diseñada. Se usó ketamina (5 mg/kg, i.m.) para complementar la anestesia según fuera necesario.

**Protocolo del Estudio:** Se determinó la reactividad de las vías respiratorias (AR) a metacolina inhalada seguido de lavado broncoalveolar (LBA) para determinar la composición celular de las vías respiratorias (ACC) 3 días antes (día 0) y 3 días después (día 10) de tres inhalaciones en días alternos (días 3, 5, 7) de extracto de *Ascaris suum*. Los animales se dejaron reposar 6 a 8 semanas entre estudios para permitir que la reactividad de las vías respiratorias y la inflamación volvieran a los niveles iniciales (pre-antígeno). Los estudios de tratamiento se agruparon con estudios de control con vehículo para asegurar que no hubiera cambios de sensibilidad hacia el antígeno a lo largo del tiempo.

Los compuestos de ensayo disueltos en Etanol:PEG400:Agua (10:50:40 v/v) se administraron con anestesia ligera.

**Sistema de Administración en Aerosol y Exposiciones por Inhalación:** Las exposiciones por inhalación de aerosol se administraron mediante respiración con presión positiva intermitente con un respirador 7A de Bird Mark y un micronebulizador (modelo 8158). Cada exposición consistió en 30 respiraciones (presión inspiratoria máxima=20 cmH<sub>2</sub>O). El extracto de *Ascaris suum* (Greer Laboratories, Lenoir, NC) se diluyó con PBS hasta una concentración umbral final determinada previamente para cada animal y se administró en forma de un aerosol (tamaño de partícula <2  $\mu$ m). Se disolvió metacolina (Sigma Chemical Co, St. Louis, Missouri) en PBS a una concentración de 100 mg/ml y posteriormente se prepararon diluciones en serie de 30, 10, 3, 1, 0,3 y 0,1 mg/ml para la nebulización.

**Medida de la Resistencia del Sistema Respiratorio (Rrs):** El animal se conectó a un ventilador Harvard (Harvard Apparatus, S. Natick, MA) a través del tubo endotraqueal y se ventiló a una velocidad de entre 30-35 respiraciones por minuto. Se midió el caudal de aire mediante un neumotacógrafo Fleisch (Hans Rudolph), y la presión torácica se

5 midió mediante un transductor de presión Validyne (como la diferencia entre la presión en el extremo distal del tubo endotraqueal y la presión ambiental). El neumotacógrafo y el transductor Validyne se conectaron a un preamplificador y después a un analizador respiratorio MI<sup>2</sup> (Malvern, PA). Mediante el uso de las señales primarias de caudal y presión, el analizador calculó la resistencia y la distensibilidad de las vías respiratorias (así como otros parámetros respiratorios diversos).

10 *Determinaciones de las Respuestas a Dosis de Metacolina:* Para determinar la reactividad de las vías respiratorias a la metacolina inhalada, se realizaron curvas de respuesta a dosis acumulativa mediante la administración de concentraciones crecientes de metacolina hasta que se obtuvieron incrementos de Rrs de entre un 100 y un 200%. Se llevó a cabo una exposición a un control con vehículo antes de la primera dosis de metacolina. Los cambios de Rrs se midieron continuamente a lo largo de un período de 10 minutos tras la exposición al aerosol. Las exposiciones al aerosol se separaron de 5 a 10 minutos, o hasta que la Rrs volvió a los valores iniciales.

15 *Determinación de los Valores de PC<sub>100</sub>:* La resistencia obtenida con PBS se asignó a un valor de cero. Se introdujo en el ordenador el incremento en porcentaje de resistencia por encima de cero a cada dosis de metacolina, y el programa usó un algoritmo para determinar la concentración de metacolina exacta que provocó un incremento de la resistencia del 100% por encima del valor inicial (PC<sub>100</sub>). Las diferencias de los valores de PC<sub>100</sub> (día 10-día 0) se calcularon como logaritmos (base 10) para normalizar los datos y tener en cuenta la gran variación de valores absolutos de PC<sub>100</sub> entre animales.

20 *Lavado Broncoalveolar:* Tras las determinaciones de las respuestas a dosis de metacolina, cada mono se colocó en decúbito supino y se guió un broncoscopio de fibra óptica (Olympus Optical, modelo 3C-10, Lake Success, NY) a través de la carina y se encajó en un bronquio de quinta a séptima generación. Se infundió un total de 15 ml de solución salina tamponada con bicarbonato (pH 7,4) y se aspiró cuidadosamente a través de un canal del broncoscopio. Las muestras recogidas se centrifugaron inmediatamente a 2000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Los sedimentos resultantes se resuspendieron en solución salina equilibrada de Hank exenta de Ca<sup>++</sup> y Mg<sup>++</sup>. Para evitar los efectos posibles del procedimiento de LBA sobre la composición celular de los pulmones, se llevó a cabo el LBA en los pulmones derecho e izquierdo de manera alternada. Se obtuvo el número total de leucocitos por mililitro de líquido de LBA mediante el uso de un contador Coulter (Coulter Corp., Miami, FL). La composición de células del LBA se determinó mediante el recuento de un mínimo de 200 células de una preparación en portaobjetos de citocentrífuga con tinción de Wright.

30 *Muestras de Sangre:* Las muestras de sangre se recogieron antes y 30 minutos, 1 h y 2 h después de la primera dosis de los compuestos de ensayo (en la mañana del día 2), inmediatamente antes de cada dosis subsiguiente, y 30 minutos, 1 h y 2 h después de la dosis final (en la tarde del día 9). La sangre se recogió de la vena femoral en EDTA, se centrifugó a 1500 rpm durante 15 minutos a 4°C y el plasma se almacenó a -70°C hasta que se analizaron los compuestos de ensayo.

35 *Análisis Estadístico:* Todos los datos se estudiaron estadísticamente con el uso de la prueba t de Student, en la que un valor de p < 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

Los resultados de los ensayos de unión a receptor (RBA) y del ensayo de movilización de Ca<sup>2+</sup> (Ca<sup>2+</sup>) se muestran en los Ejemplos y en las tablas de los Ejemplos más adelante. Los datos corresponden a los compuestos producidos mediante síntesis en fase sólida, y así corresponden a unos niveles de pureza de alrededor del 40 al 90%. Por razones prácticas, los compuestos se agrupan en tres clases de actividad, como sigue:

$$40 \quad \text{Cl}_{50} = \text{A } 100 \text{ nM} < \text{B } 500 \text{ nM} < \text{C}$$

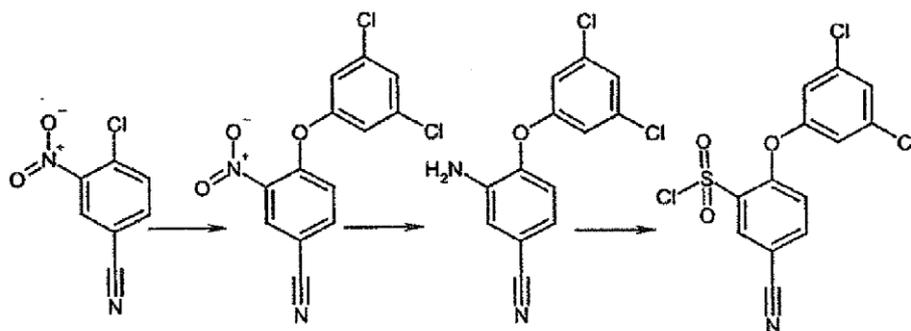
Los compuestos de la presente invención muestran también una selectividad de más de 100 veces respecto de CCR1, CCR5, CCR7, CCR8 y CXCR1 en los ensayos de unión a receptor.

Los compuestos de la presente invención muestran un efecto inhibitor dependiente de la dosis sobre la quimiotaxis inducida por eotaxina de eosinófilos humanos, y una actividad intensa en los ensayos in vivo.

45 Procedimiento para el compuesto de partida

[Compuesto de partida A]

Cloruro de 5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonilo



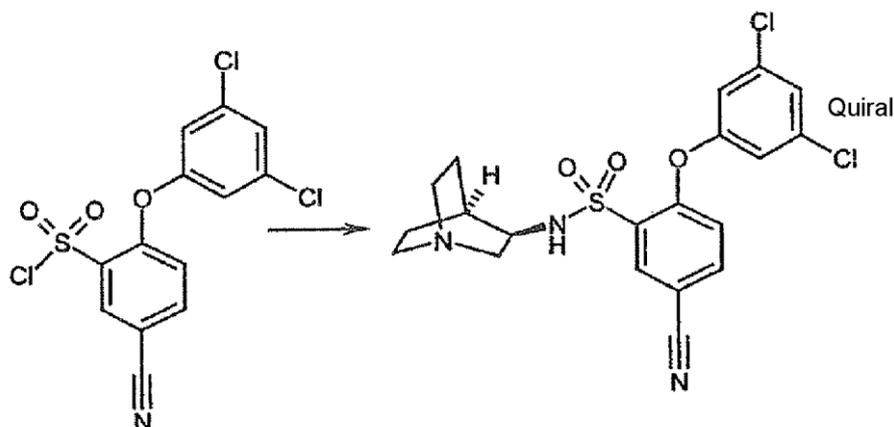
(1) A una mezcla de 4-cloro-3-nitro-benzonitrilo (24,0 g, 131 mmol) y 3,5-dicloro-fenol (32,0 g, 197 mmol) en THF seco (150 ml) se le añadió NaH (6,84 g, 171 mmol) por partes y la mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora. Después de enfriar a temperatura ambiente, se evaporó el disolvente y se añadieron 100 ml de agua helada y 20 ml de NaOH ac. 4 N al residuo. El precipitado se recogió mediante filtración, se lavó con NaOH ac. 0,5 N y agua, y se secó al vacío para proporcionar el 5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)nitrobenzono (40,0 g, 98,4%) en forma de un sólido amarillento.

(2) La mezcla de 5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)nitrobenzono (4,08 g, 13,20 mmol) y cloruro de estaño (II) dihidrato (17,87 g, 79,20 mmol) en EtOAc (200 ml) se calentó a reflujo durante 2 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en NaHCO<sub>3</sub> ac. sat. La mezcla se extrajo con EtOAc. El extracto se lavó con salmuera, y se secó con MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se evaporó al vacío para proporcionar 5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)anilina (3,53 g, 95,8%).

(3) Se disolvió 5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)anilina (3,53 g, 12,65 mmol) en una mezcla de HCl ac. conc. (6,33 ml) y HOAc (2,53 ml). La disolución se enfrió a 0°C y se le añadió nitrito sódico (0,96 g, 13,9 mmol) en agua (1,27 ml) gota a gota con agitación. Después de 30 minutos, la mezcla de reacción se añadió gota a gota a una mezcla suspendida de CuCl (0,63 g, 6,32 mmol) en una disolución saturada de SO<sub>2</sub> en HOAc (25,3 ml) a 5°C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a 10°C, y se vertió en agua. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. El extracto se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac. sat., salmuera, y se secó con MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se evaporó al vacío para proporcionar cloruro de 5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonilo en forma de un polvo marrón (4,45 g, 97%): HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>13</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 362, hallado: 362.

#### Ejemplo de Referencia 1-1

*N*-(*R*-(+)-(1-aza-biciclo[2.2.2]oct-3-il)-5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonamida



A una suspensión de (*R*-(+)-3-aminoquinuclidina 2HCl (2,87 g, 14,4 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (25 ml) se le añadió Et<sub>3</sub>N (5,88 ml, 42,0 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, seguido de la adición de una disolución de cloruro de 5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonilo (90%, 4,83 g, 12 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (10 ml) gota a gota. Después de agitar durante 5 horas a temperatura ambiente, se añadió CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (160 ml) y la mezcla se lavó con agua, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ac. sat., salmuera, y se secó con MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se evaporó, y el producto se recristalizó a partir de una mezcla de EtOAc y hexano para proporcionar *N*-(*R*-(+)-(1-aza-biciclo[2.2.2]oct-3-il)-5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonamida (4,30 g, 79,2%) en forma de un sólido blanco.

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,46-1,59 (2H, m), 1,68-1,72 (1H, m), 1,86-1,88 (2H, m), 2,69-2,99 (6H, m), 3,20-3,28 (1H, m), 3,46-3,51 (1H, m), 7,00 (1H, d,  $J = 8,67$  Hz), 7,04 (2H, s), 7,32 (1H, t,  $J = 1,7$  Hz), 7,79 (1H, dd,  $J = 8,64, 2,07$  Hz), 8,31 (1H, d,  $J = 2,07$  Hz); HPLC-MS (ESI): Calc. para  $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  452, hallado: 452.

Peso molecular: 452,36

5 Punto de fusión: 215-220°C (descomp.)

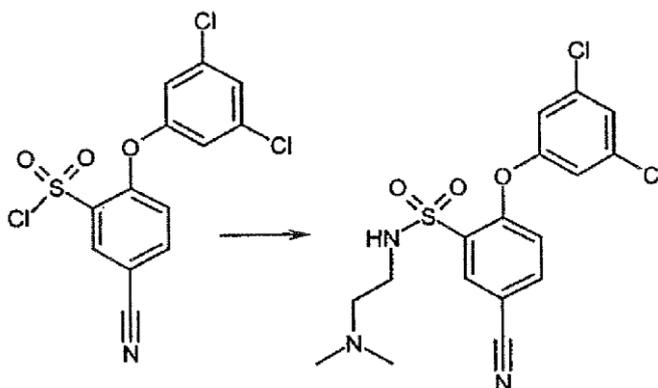
Grado de actividad de CCR3: A

Grado de actividad de  $\text{Cl}_{50}$ : A

Ejemplo de Referencia 1-2

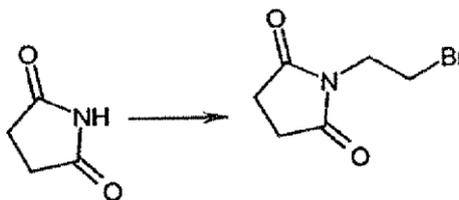
5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-*N*-(2-dimetilamino-etil)-*N*-[2-(2,5-dioxo-pirrolidin-1-il)-etil]-bencenosulfonamida

10 (1) 5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-*N*-(2-dimetilamino-etil)-bencenosulfonamida



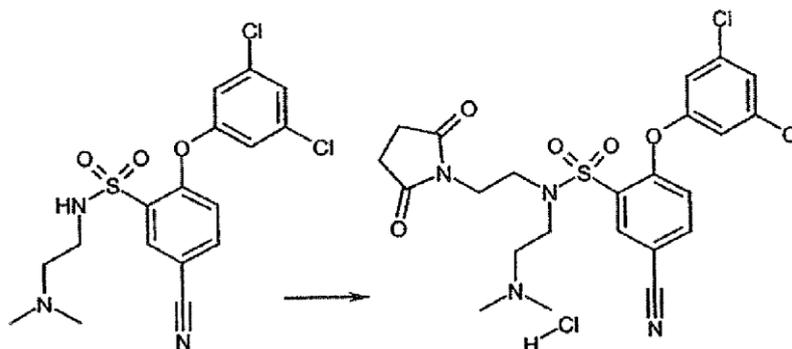
15 A una disolución de *N,N*-dimetil-etano-1,2-diamina (74,0 mg, 0,84 mmol) y  $\text{Et}_3\text{N}$  en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (3 ml) se le añadió una disolución de cloruro de 5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonilo (90%, 282 mg, 0,7 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (6 ml) gota a gota. La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (60 ml) y la mezcla se lavó con agua, salmuera, y se secó con  $\text{MgSO}_4$ . El disolvente se evaporó, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH} = 10:1$ ) para proporcionar 5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-*N*-(2-dimetilamino-etil)-bencenosulfonamida en forma de un sólido blanco (220 mg, 75,9%): HPLC-MS (ESI): Calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  414, hallado: 414.

(2) 1-(2-bromo-etil)-pirrolidin-2,5-diona



20 A una mezcla de dihidrofuran-2,5-diona (396 mg, 4,00 mmol) y 1,2-dibromo-etano (1,50 g, 8,00 mmol) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  (20 ml) se le añadió  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (829 mg, 6,00 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a reflujo durante la noche y se evaporó el disolvente. La mezcla se diluyó con EtOAc (150 ml), se lavó con agua,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ac. sat., salmuera, y se secó con  $\text{MgSO}_4$ . El disolvente se evaporó para proporcionar 1-(2-bromo-etil)-pirrolidin-2,5-diona, que se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional (580 mg, 70,4%).

(3) 5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-*N*-(2-dimetilamino-etil)-*N*-[2-(2,5-dioxo-pirrolidin-1-il)-etil]-bencenosulfonamida



5 A una disolución de 5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-*N*-(2-dimetilamino-etil)-bencenosulfonamida (41,4 mg, 0,1 mmol) en DMF seco (2 ml) se le añadió 1-(2-bromo-etil)-pirrolidin-2,5-diona (30,9 mg, 0,15 mmol) y NaH (60%, 6,00 mg, 0,15 mmol). La mezcla se agitó durante 8 horas a 90°C. Después de enfriar a temperatura ambiente, se evaporó el disolvente. La mezcla se diluyó con EtOAc (60 ml), se lavó con salmuera, y se secó con MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó mediante CCF preparativa (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH = 20/1) para proporcionar 5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-*N*-(2-dimetilamino-etil)-*N*-[2-(2,5-dioxo-pirrolidin-1-il)-etil]-bencenosulfonamida (44 mg, 81,6%), y la base libre se convirtió en la sal de HCl mediante HCl 4 N en dioxano.

10 <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 2,76 (4H, s), 2,85 (6H, s), 3,56 (4H, br, s), 3,74-3,80 (2H, m), 3,94 (2H, br, s), 7,01 (1H, d, J = 8,64 Hz), 7,09 (2H, s), 7,33 (1H, s), 7,81 (1H, d, J = 8,64 Hz), 8,21 (1H, s); HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>.HCl [M+H]<sup>+</sup> 539, hallado: 539.

Peso molecular: 575,90

Punto de fusión:

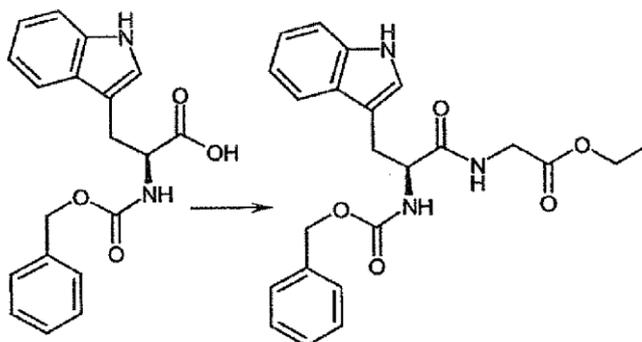
Grado de actividad de CCR3: A

15 Grado de actividad de Cl<sub>50</sub>: A

Ejemplo 1-3

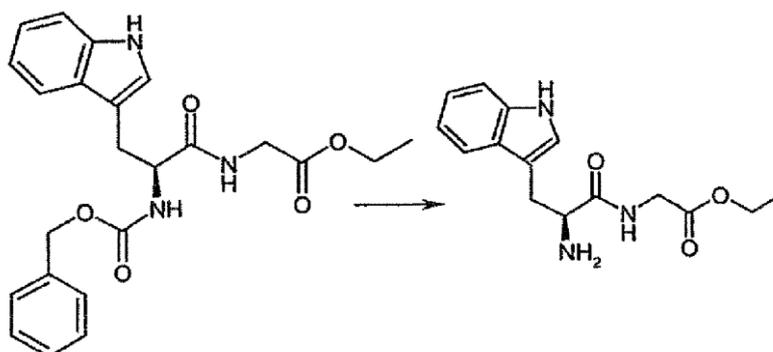
4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-[(3*S*)-(1*H*-indol-3-ilmetil)-piperazin-1-sulfonil]-benzonitrilo

(1) Ester etílico de ácido [(2*S*)-benciloxycarbonilamino-3-(1*H*-indol-3-il)-propionilamino]-acético



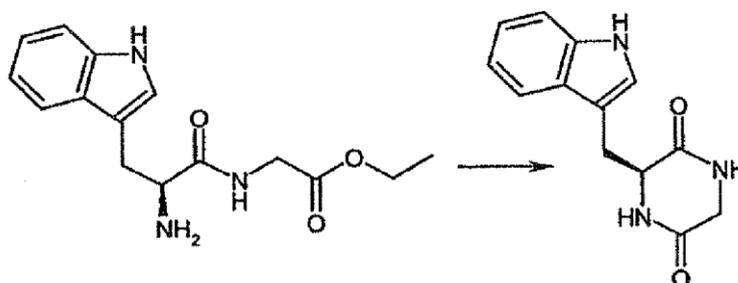
20 A una mezcla de ácido (2*S*)-benciloxycarbonilamino-3-(1*H*-indol-3-il)-propiónico (4,16 g, 12,3 mmol), hidrocloreto de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (2,83 g, 14,8 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (1,99 g, 14,8 mmol) y Et<sub>3</sub>N (5,14 ml, 36,9 mmol) en THF seco (20 ml) se le añadió hidrocloreto de éster etílico de ácido amino-acético (1,72 g, 12,3 mmol) por partes. La mezcla de reacción se agitó durante 3 días a temperatura ambiente. El disolvente orgánico se evaporó al vacío, y el residuo se diluyó con EtOAc. La capa orgánica se lavó con HCl 0,5 N, NaHCO<sub>3</sub> ac.  
25 saturado, salmuera, y se secó con MgSO<sub>4</sub>. La capa orgánica se concentró para proporcionar éster etílico de ácido [(2*S*)-benciloxycarbonilamino-3-(1*H*-indol-3-il)-propionilamino]-acético (5,10 g, 97,9%) en forma de un aceite amarillo pegajoso: HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> 424, hallado: 424.

(2) Ester etílico de ácido [(2*S*)-amino-3-(1*H*-indol-3-il)-propionilamino]-acético



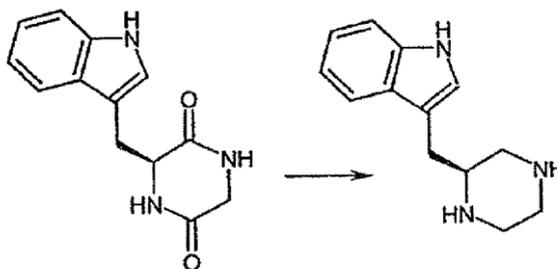
- 5 A una suspensión de un 10% de Pd/C (0,50 g) en MeOH seco (70 ml) se le añadió una disolución de éster etílico de ácido [(2S)-benciloxycarbonilamino-3-(1H-indol-3-il)-propionilamino]-acético (5,10 g, 17,6 mmol) en MeOH seco (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a 1 atm de H<sub>2</sub> en un hidrogenador durante 1 día a temperatura ambiente. Después de eliminar todas las partículas con un filtro de celita, el filtrado se concentró al vacío para proporcionar éster etílico de ácido [(2S)-amino-3-(1H-indol-3-il)-propionilamino]-acético (3,26 g, 91,6%) en forma de un aceite: HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 290, hallado: 290.

(3) (3S)-(1H-indol-3-ilmetil)-piperazin-2,5-diona



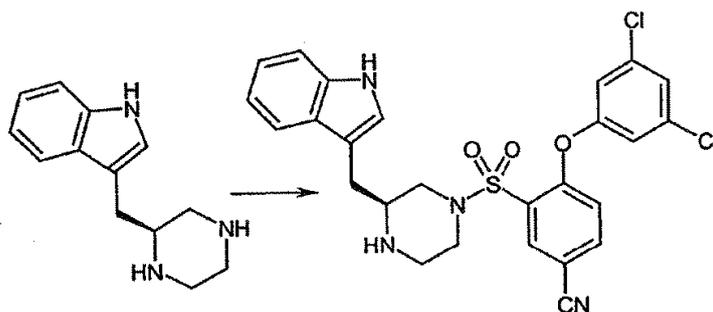
- 10 La disolución de éster etílico de ácido [(2S)-amino-3-(1H-indol-3-il)-propionilamino]-acético (3,25 g, 11,2 mmol) y Et<sub>3</sub>N en MeOH seco se calentó a reflujo durante la noche. El precipitado blanco resultante se recogió y se secó para proporcionar (3S)-(1H-indol-3-ilmetil)-piperazin-2,5-diona (1,80 g, 65,9%): HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 244, hallado: 244.

(4) 3-(piperazin-(2S)-ilmetil)-1H-indol



- 15 A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (0,19 g, 5,08 mmol) en THF seco (10 ml) se le añadió una disolución de (3S)-(1H-indol-3-ilmetil)-piperazin-2,5-diona (0,30 g, 1,23 mmol) en THF (10 ml) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a 75°C durante la noche, y se enfrió a temperatura ambiente. Se añadieron sucesivamente 0,19 ml de agua, 0,19 ml de NaOH ac. 4 N, y 0,58 ml de agua a la mezcla a 0°C. El precipitado blanco resultante se eliminó mediante filtración con un filtro de celita, y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar 3-(piperazin-(2S)-ilmetil)-1H-indol (0,26 g, cuant.) en forma de un aceite amarillo: HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 216, hallado: 216.

(5) 4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-[(3S)-(1H-indol-3-ilmetil)-piperazin-1-sulfonil]-benzonitrilo



5 A una disolución de 3-(piperazin-(2S)-ilmetil)-1H-indol (33,0 mg, 0,15 mmol) y diisopropil-etil amina (0,08 ml, 0,46 mmol) en THF seco (2 ml) se le añadió cloruro de 5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonilo (50,0 mg, 0,14 mmol) por partes. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó al vacío. El residuo se purificó mediante CCF preparativa (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 10/1) dos veces para proporcionar 4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-[(3S)-(1H-indol-3-ilmetil)-piperazin-1-sulfonil]-benzonitrilo (6,20 mg, 7,5%) en forma de un sólido blanco.

10 <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2,56-3,07 (7H, m), 3,71-3,75 (1H, d, J = 10,9 Hz), 3,83-3,86 (1H, d, J = 11,1 Hz), 6,98 (2H, d, J = 1,7 Hz), 7,04-7,05 (1H, d, J = 2,3 Hz), 7,10-7,15 (1H, t, J = 7,0 Hz), 7,20-7,25 (1H, t, J = 7,0 Hz), 7,28-7,29 (1H, t, J = 1,9 Hz), 7,37-7,40 (1H, d, J = 7,9 Hz), 7,55-7,58 (1H, d, J = 7,5 Hz), 7,75-7,78 (1H, dd, J = 2,1, 8,7 Hz), 8,09 (1H, br), 8,28-8,29 (1H, d, J = 2,1 Hz); HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 541, hallado: 541.

Peso molecular: 541,46

Punto de fusión: 128-129°C

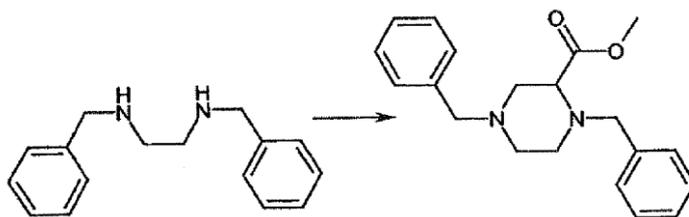
Grado de actividad de CCR3: A

15 Grado de actividad de Cl<sub>50</sub>: A

Ejemplo 1-4

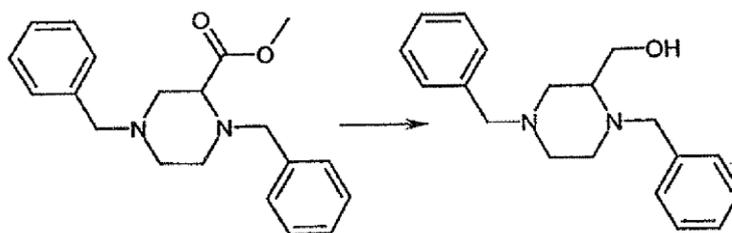
Hidrocloruro de 4-(3,5-diclorofenoxi)-3-[[2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1-piperazinil]sulfonil]benzonitrilo

(1) Ester metílico de ácido 1,4-dibencil-piperazin-2-carboxílico



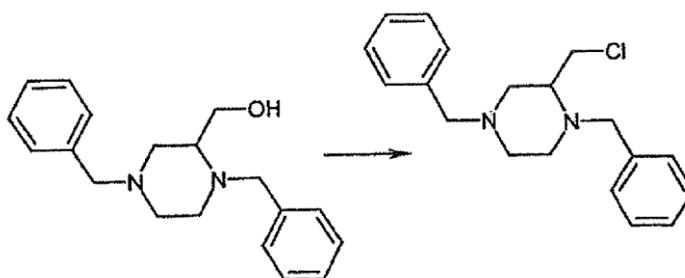
20 A la disolución precalentada (50°C) de éster metílico de ácido 2,3-dibromo-propiónico en tolueno (40 ml) y Et<sub>3</sub>N (5,80 ml, 41,6 mmol), se le añadió N,N'-dibencil-etano-1,2-diamina (4,90 ml, 20,8 mmol) gota a gota. La suspensión espesa blanca resultante se calentó a reflujo hasta proporcionar una disolución clara, y la disolución se agitó a reflujo durante la noche. Después de enfriarla a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se extrajo con HCl 2 N (aprox. 500 ml) y el extracto se neutralizó con NaOH 4 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc tres veces. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con MgSO<sub>4</sub>, y se concentró para proporcionar éster metílico de ácido 1,4-dibencil-piperazin-2-carboxílico (5,73 g, 84,8%) en forma de un aceite incoloro: HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 325, hallado: 325.

(2) (1,4-dibencil-piperazin-2-il)-metanol



5 A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (1,54 g, 40,6 mmol) se le añadió éster metílico de ácido 1,4-dibencilpiperazin-2-carboxílico (3,00 g, 9,25 mmol) por partes a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 3 horas. Después de enfriarla a 0°C, se añadieron sucesivamente 1,5 ml de agua, 1,5 ml de NaOH ac. 4 N, y 4,5 ml de agua. La mezcla se agitó durante 1 hora, y el precipitado blanco se eliminó mediante filtración a través de un filtro de celita. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar (1,4-dibencilpiperazin-2-il)-metanol (2,74 g, cuant.) en forma de un aceite amarillo: HPLC-MS (ESI): Calc. para  $C_{19}H_{24}N_2O$   $[M+H]^+$  297, hallado: 297.

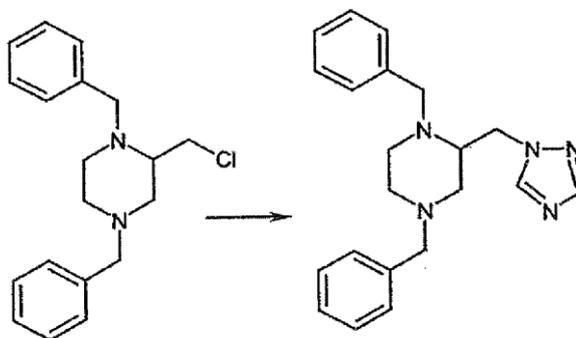
(3) 1,4-dibencil-2-clorometil-piperazina



10 A una disolución de cloruro de tionilo (1,63 ml, 22,4 mmol) en  $CCl_4$  (30 ml) se le añadió una disolución de (1,4-dibencilpiperazin-2-il)-metanol (2,74 g, 9,25 mmol) en  $CCl_4$  gota a gota en 10 minutos. La suspensión producida se agitó durante 2 horas a 77°C. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadieron 20 ml de agua helada y la capa acuosa se separó del disolvente orgánico. El pH de la capa acuosa se ajustó a 12 con NaOH ac. 4 N, y se extrajo con  $CHCl_3$  tres veces. Las capas orgánicas combinadas se secaron con  $MgSO_4$ , y se concentraron para proporcionar un aceite pardusco que se purificó mediante cromatografía en columna con gel de sílice ( $CH_2Cl_2/MeOH=30/1$ ) para proporcionar 1,4-dibencil-2-clorometil-piperazina en forma bruta (3,08 g, 95%, aprox. una pureza del 90% en el análisis de HPLC). El compuesto se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional: HPLC-MS (ESI): Calc. para  $C_{19}H_{23}ClN_2$   $[M+H]^+$  315, hallado: 315.

15

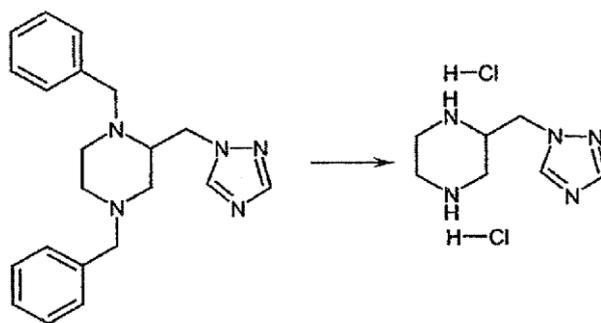
(4) 1,4-dibencil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)piperazina



20

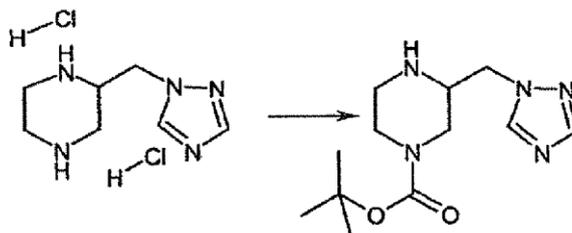
25 A una disolución de 1,2,4-triazol (48,3 mg, 0,70 mmol) en DMF (2 ml) se le añadió NaH (18,3 mg, 0,76 mmol). Después de 10 minutos de agitación, se añadió 1,4-dibencil-2-(clorometil)piperazina (200 mg, 0,64 mmol) y KI (156 mg, 0,70 mmol) a la mezcla. La mezcla se agitó a 60°C durante la noche. La mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se secó con  $MgSO_4$ , se filtró y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna con gel de sílice-NH ( $Hex/AcOEt = 1/4$ ) para proporcionar 1,4-dibencil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)piperazina (220,0 mg, 99,7%): HPLC-MS (ESI): Calc. para  $C_{21}H_{25}N_5$   $[M+H]^+$  348, hallado: 348.

(5) Dihidrocloruro de 2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)piperazina



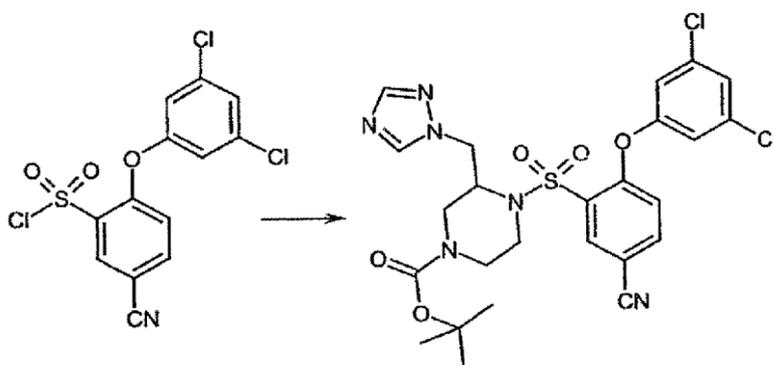
5 A una disolución de 1,4-dibencil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)piperazina (206 mg, 0,59 mmol) en MeOH (3,0 ml) se le añadieron unas cuantas gotas de HCl 4 N en 1,4-dioxano y un 20% de Pd(OH)<sub>2</sub> húmedo (100 mg). La mezcla se agitó durante la noche en atmósfera de H<sub>2</sub> con un globo. El catalizador se eliminó mediante filtración a través de un filtro de celita, y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar dihidrocloruro de 2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)piperazina (122,9 mg, 86,3%): HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> 168, hallado: 168.

(6) 3-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1-piperazincarboxilato de *tert*-butilo



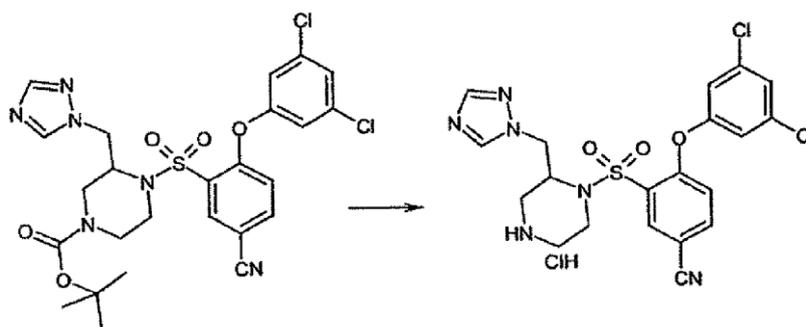
10 A una suspensión de dihidrocloruro de 2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)piperazina (104 mg, 0,39 mmol) y Et<sub>3</sub>N (157,7 mg, 1,56 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 ml) se le añadió [[[*tert*-butoxi-carbonil]oxi]amino](ciano)metil]benceno (106,5 mg, 0,43 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó al vacío, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna con gel de sílice (MeOH/CHCl<sub>3</sub> = 1/50 - 1/10) para proporcionar 3-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1-piperazincarboxilato de *tert*-butilo (50,9 mg, 48,9%): HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 268, hallado: 268.

15 (7) 4-[[5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenil]sulfonyl]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1-piperazincarboxilato de *tert*-butilo



20 A una disolución de 3-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1-piperazincarboxilato de *tert*-butilo (29,5 mg, 0,11 mmol) y diisopropil-etil amina (28,5 mg, 0,22 mmol) en THF (2 ml) se le añadió cloruro de 5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)bencenosulfonylo (40,0 mg, 0,11 mmol). La mezcla se agitó a 50°C durante la noche. El disolvente se eliminó y el residuo se diluyó con CHCl<sub>3</sub>, se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac. sat. y salmuera. La capa orgánica se secó con MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se evaporó al vacío, y el residuo resultante se purificó mediante CCF prep. (MeOH/CHCl<sub>3</sub> = 1/10) para proporcionar 4-[[5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenil]sulfonyl]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1-piperazincarboxilato de *tert*-butilo (42,5 mg, 64,9%): HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 593, hallado: 593.

(8) hidrocloreuro de 4-(3,5-diclorofenoxi)-3-[[2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1-piperazinil]-sulfonyl]benzonitrilo



5 A una disolución de 4-[[5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenil]sulfonil]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1-piperazincarboxilato de *tert*-butilo (37 mg, 0,06 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 ml) se le añadió HCl 4 N en 1,4-dioxano (1 ml). La mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó al vacío, el residuo se trituró con Et<sub>2</sub>O y el sólido blanco se recogió mediante filtración para proporcionar hidrocloreuro de 4-(3,5-diclorofenoxi)-3-[[2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1-piperazinil]sulfonil]benzonitrilo (28,5 mg, 86,3%).

10 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 2,30-3,37 (1H, m), 3,71 (1H, t, J = 12,9 Hz), 4,01 (2H, d, J = 14,2 Hz), 4,56 (1H, dd, J = 14,2, 5,4 Hz), 4,60-4,63 (1H, m), 4,82 (1H, dd, J = 13,9, 9,5 Hz), 7,21 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,40 (2H, d, J = 1,6 Hz), 7,59 (1H, t, J = 3,5, 1,6 Hz), 7,68 (1H, s), 8,05 (1H, d, J = 2,2 Hz), 8,07 (1H, s), 8,59 (1H, s), 9,51 (1H, br, s), 9,58 (1H, br, s); HPLC-MS (ESI): Calc. para C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 494, hallado: 494.

Peso molecular: 529,84

Punto de fusión: 177°C (descomp.);

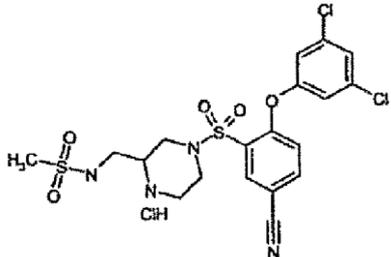
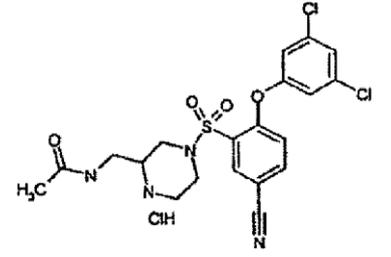
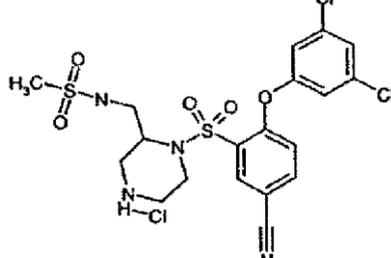
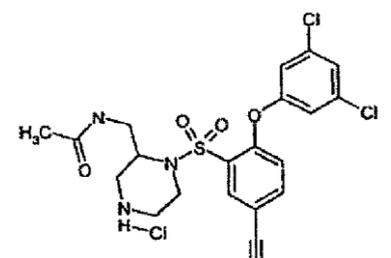
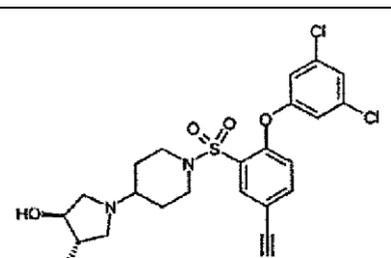
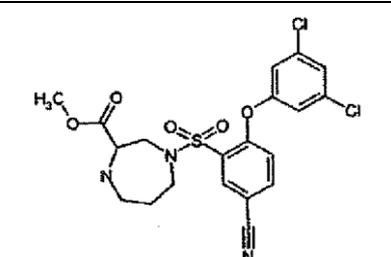
Grado de actividad de CCR3: A

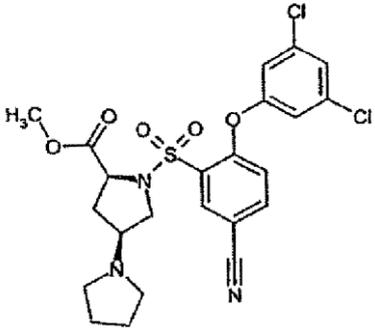
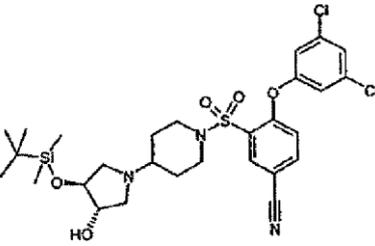
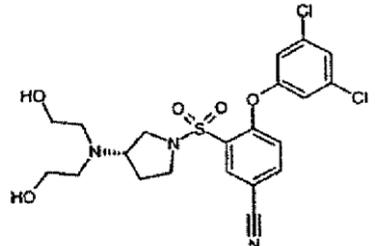
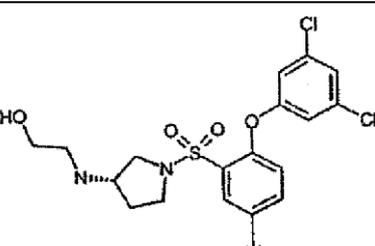
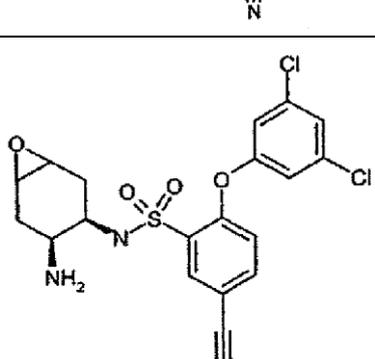
Grado de actividad de CI<sub>50</sub>: A

15 Los compuestos de los Ejemplos 1-5 a 47 como se muestran en la Tabla 1 se sintetizaron mediante un procedimiento similar al descrito en los Ejemplos 1-1 a 1-4 anteriores, o mediante reacciones convencionales.

Tabla 1 (\* indica los Ejemplos de Referencia)

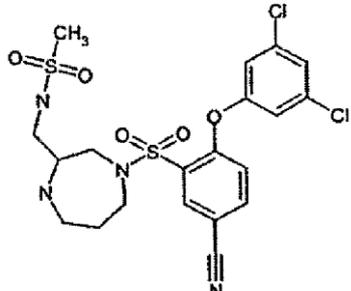
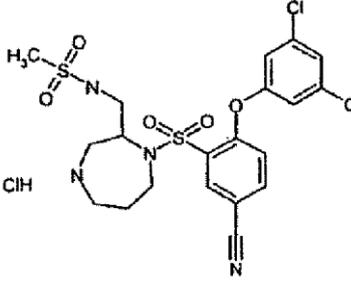
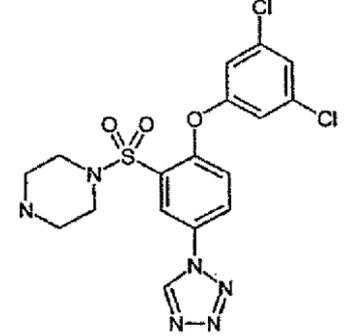
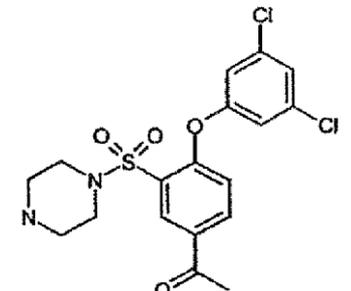
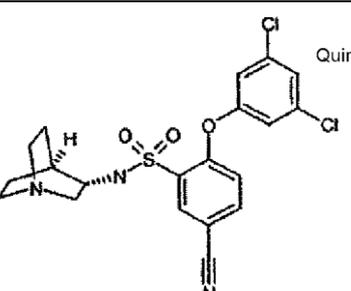
Ej. nº	Estructura	Peso mol.	Masa	PF (°C)	CCR3	CI50
1-5*		411,31	411	171-172	C	C
1-6*		528,46	528		A	A

Ej. nº	Estructura	Peso mol.	Masa	PF (°C)	CCR3	CI50
1-7		555,89	519	296 Z	A	A
1-8		519,84	483	> 160 Z	A	A
1-9		555,89	519	270 Z	A	A
1-10		519,84	483	> 160 Z	A	A
1-11*		512,421	512	137-139	B	A
1-12		484,36	484		B	B

Ej. nº	Estructura	Peso mol.	Masa	PF (°C)	CCR3	Cl50
1-13*		524,43	524		B	A
1-14*		626,68	626			B
1-15*		500,4	500	153-154		B
1-16*		456,35	456	155-156	A	A
1-17*		454,33	454	165-182 Z		C

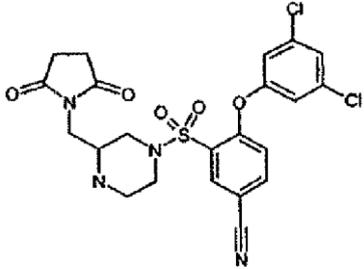
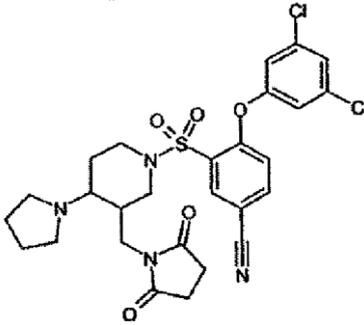
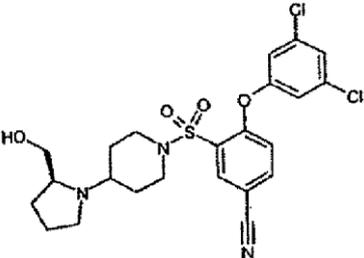
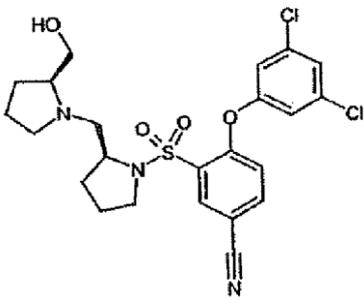
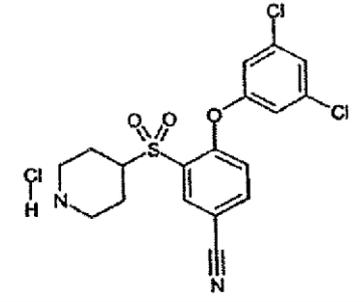
Ej. n°	Estructura	Peso mol.	Masa	PF (°C)	CCR3	CI50
1-18*	<p>The structure shows a central benzene ring with a cyano group (-C≡N) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group at the other para position. This central ring is connected via a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>-NH-) to a 2,2'-bis(2-hydroxy-1,3-dioxolane)pyrrolidine derivative.</p>	498,39	498			B
1-19*	<p>The structure shows a central benzene ring with a cyano group (-C≡N) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group at the other para position. This central ring is connected via a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>-NH-) to a 2-amino-3-hydroxy-1,4-dioxane derivative.</p>	472,35	472			C
1-20*	<p>The structure shows a central benzene ring with a cyano group (-C≡N) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group at the other para position. This central ring is connected via a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>-NH-) to a 2-(aminomethyl)-3,3-dichloropiperidine derivative.</p>	514,26	441	240-241		C
1-21*	<p>The structure shows a central benzene ring with a cyano group (-C≡N) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group at the other para position. This central ring is connected via a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>-NH-) to a 2-(aminomethyl)-3,3-dichloropiperidine derivative.</p>	514,26	441	280-281	A	A
1-22	<p>The structure shows a central benzene ring with a cyano group (-C≡N) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group at the other para position. This central ring is connected via a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>-NH-) to a 7-methoxy-1,4-diazepane derivative.</p>	520,82	525 (484 más CH <sub>3</sub> CN)	150 Z	A	A

Ej. nº	Estructura	Peso mol.	Masa	PF (°C)	CCR3	Cl50
1-23*	<p>Chemical structure of compound 1-23*: A central benzene ring with a nitrile group (-CN) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group (-O-C6H3Cl2) at the other para position. This benzene ring is connected via a sulfonamide group (-SO2-NH-) to a 1,3-bis(dimethylamino)propane chain.</p>	485,44	485			B
1-24*	<p>Chemical structure of compound 1-24*: A central benzene ring with a nitrile group (-CN) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group (-O-C6H3Cl2) at the other para position. This benzene ring is connected via a sulfonamide group (-SO2-NH-) to a 7-membered cyclic urea derivative.</p>	454,34	454	172-173		B
1-25*	<p>Chemical structure of compound 1-25*: A central benzene ring with a nitrile group (-CN) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group (-O-C6H3Cl2) at the other para position. This benzene ring is connected via a sulfonamide group (-SO2-NH-) to a complex bicyclic system consisting of two 7-membered rings, one of which is a piperidine derivative with a methoxy group (-OCH3).</p>	567,5	567	>95 Z		B
1-26	<p>Chemical structure of compound 1-26*: A central benzene ring with a nitrile group (-CN) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group (-O-C6H3Cl2) at the other para position. This benzene ring is connected via a sulfonamide group (-SO2-NH-) to a piperazine ring, which is further substituted with an indole ring system.</p>	541,46	541	116-117	A	A
1-27*	<p>Chemical structure of compound 1-27*: A central benzene ring with a nitrile group (-CN) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group (-O-C6H3Cl2) at the other para position. This benzene ring is connected via a sulfonamide group (-SO2-NH-) to a piperazine ring, which is further substituted with a 5-membered cyclic urea derivative.</p>	523,4	523		A	A

Ej. nº	Estructura	Peso mol.	Masa	PF (°C)	CCR3	Cl50
1-28		533,46	533	127 Z	A	A
1-29		569,92	533	183-184	A	A
1-30*		455,33	455	> 185 Z		C
1-31*		429,33	429	169-170	A	A
1-32*		452,36	452		A	A

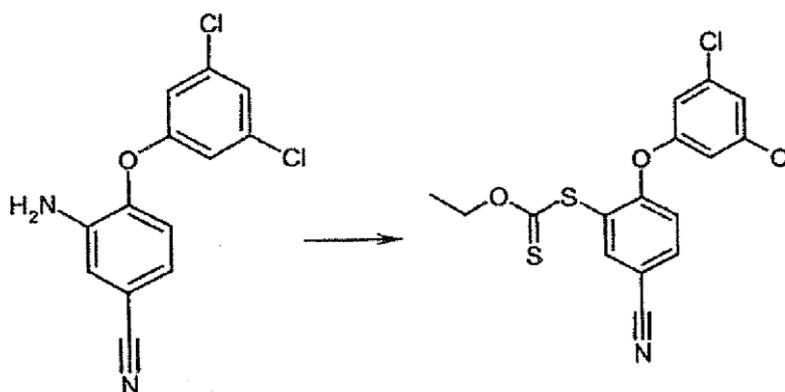
Ej. nº	Estructura	Peso mol.	Masa	PF (°C)	CCR3	CI50
1-33*	<p>Chemical structure of compound 1-33*: A piperidine ring is substituted at the 1-position with a pyrrolidine ring and at the 4-position with a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>). The nitrogen of the sulfonamide group is further substituted with a 2,4-dichlorophenoxy group and a 4-cyanophenoxy group.</p>	524,43	524	224-225	A	B
1-34*	<p>Chemical structure of compound 1-34*: A piperidine ring is substituted at the 1-position with a pyrrolidine ring and at the 4-position with a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>). The nitrogen of the sulfonamide group is further substituted with a 2,4-dichlorophenoxy group and a 4-cyanophenoxy group. The pyrrolidine ring is substituted at the 2-position with a hydroxyl group (-OH) and a methyl group (-CH<sub>3</sub>).</p>	538,5	538	103	A	A
1-35*	<p>Chemical structure of compound 1-35*: A piperidine ring is substituted at the 1-position with a pyrrolidine ring and at the 4-position with a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>). The nitrogen of the sulfonamide group is further substituted with a 2,4-dichlorophenoxy group and a 4-cyanophenoxy group. The pyrrolidine ring is substituted at the 2-position with a hydroxyl group (-OH).</p>	510,44	509		B	A
1-36	<p>Chemical structure of compound 1-36: A piperidine ring is substituted at the 1-position with a 1,2,4-triazole ring and at the 4-position with a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>). The nitrogen of the sulfonamide group is further substituted with a 2,4-dichlorophenoxy group and a 4-cyanophenoxy group. The structure is shown as a hydrochloride salt (ClH).</p>	530,82	494	178 Z	A	A
1-37	<p>Chemical structure of compound 1-37: A piperidine ring is substituted at the 1-position with a 1,2,4-triazole ring and at the 4-position with a sulfonamide group (-SO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>). The nitrogen of the sulfonamide group is further substituted with a 2,4-dichlorophenoxy group and a 4-cyanophenoxy group. The structure is shown as a hydrochloride salt (ClH).</p>	529,84	493	184-185 Z	A	A

Ej. nº	Estructura	Peso mol.	Masa	PF (°C)	CCR3	Cl50
1-38*	<p>Chemical structure of compound 1-38*: A bicyclic piperidine derivative with a methyl group on the nitrogen, connected via a propyl chain to a nitrogen atom. This nitrogen is also bonded to a sulfonyl group (-SO<sub>2</sub>-) which is further attached to a benzene ring. The benzene ring has a cyano group (-CN) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group (-O-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(Cl)<sub>2</sub>) at the other para position.</p>	577,49	577			C
1-39	<p>Chemical structure of compound 1-39: A piperazine ring with a methyl group on one nitrogen and a methylacetate group (-COOCH<sub>3</sub>) on the other. The piperazine ring is connected via a propyl chain to a nitrogen atom, which is also bonded to a sulfonyl group (-SO<sub>2</sub>-) attached to a benzene ring. The benzene ring has a cyano group (-CN) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group (-O-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(Cl)<sub>2</sub>) at the other para position.</p>	512,42	512		B	A
1-40*	<p>Chemical structure of compound 1-40*: A piperazine ring with a methyl group on one nitrogen and a methylhydroxy group (-CH<sub>2</sub>OH) on the other. The piperazine ring is connected via a propyl chain to a nitrogen atom, which is also bonded to a sulfonyl group (-SO<sub>2</sub>-) attached to a benzene ring. The benzene ring has a cyano group (-CN) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group (-O-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(Cl)<sub>2</sub>) at the other para position.</p>	458,32	458	190		C
1-41*	<p>Chemical structure of compound 1-41*: A piperazine ring with two benzyl groups (-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) on the nitrogens. The piperazine ring is connected via a propyl chain to a nitrogen atom, which is also bonded to a sulfonyl group (-SO<sub>2</sub>-) attached to a benzene ring. The benzene ring has a cyano group (-CN) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group (-O-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(Cl)<sub>2</sub>) at the other para position.</p>	621,59	621			C
1-42*	<p>Chemical structure of compound 1-42*: A piperazine ring with a cyclopentyl group on one nitrogen and a propyl chain on the other. The propyl chain is connected to a nitrogen atom, which is also bonded to a sulfonyl group (-SO<sub>2</sub>-) attached to a benzene ring. The benzene ring has a cyano group (-CN) at the para position and a 3,4-dichlorophenoxy group (-O-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(Cl)<sub>2</sub>) at the other para position.</p>	508,47	508		B	A

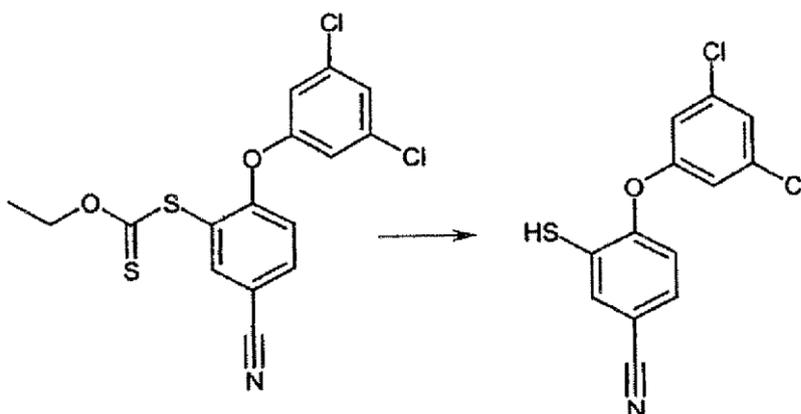
Ej. n°	Estructura	Peso mol.	Masa	PF (°C)	CCR3	Cl50
1-43*		523,4	523	123-125	A	A
1-44*		591,52	591	121	A	A
1-45*		510,44	510	124	A	A
1-46*		510,44	510	157	A	A
1-47*		447,77	411	220-226 Z	C	C
Z: Descompuesto						

Ejemplo de Referencia 2-1

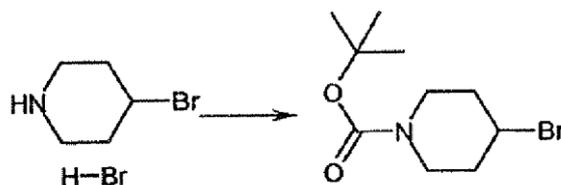
4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-(piperidin-4-sulfonil)-benzonitrilo



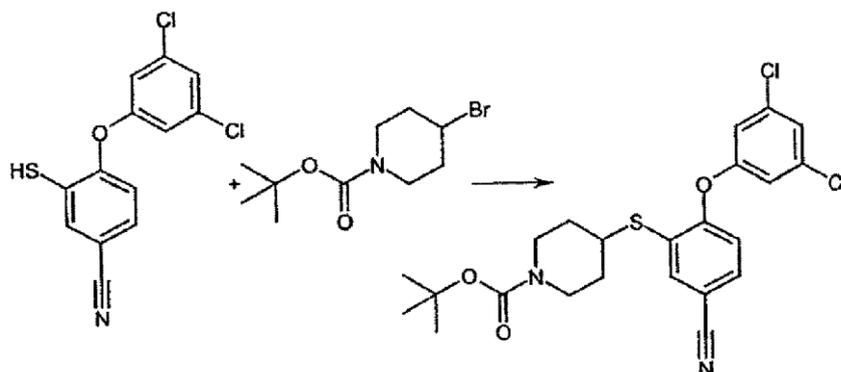
- (1) A una disolución de 3-amino-4-(3,5-dicloro-fenoxi)-benzonitrilo (4,19 g, 15 mmol) en HCl ac. [HCl conc. (10 ml) + agua (25 ml)] se le añadió una disolución de NaNO<sub>2</sub> (1,14 g, 16,5 mmol) en agua (6 ml) gota a gota con agitación por debajo de 4°C. Tras la adición, el pH de la disolución se llevó a 4 mediante la adición de acetato sódico. Después de agitar a 0°C durante 20 minutos, la mezcla se añadió a una disolución caliente (80° C) de O-etilditiocarbonato potásico (4,81 g, 30 mmol) en agua (45 ml) con agitación. La mezcla se agitó a 80°C durante 0,5 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la disolución se extrajo con EtOAc, y se secó con MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se evaporó para proporcionar éster O-etílico de éster S-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-fenílico] de ácido ditiocarbónico, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional [5,50 g, 66,8% (pureza del 70%)].



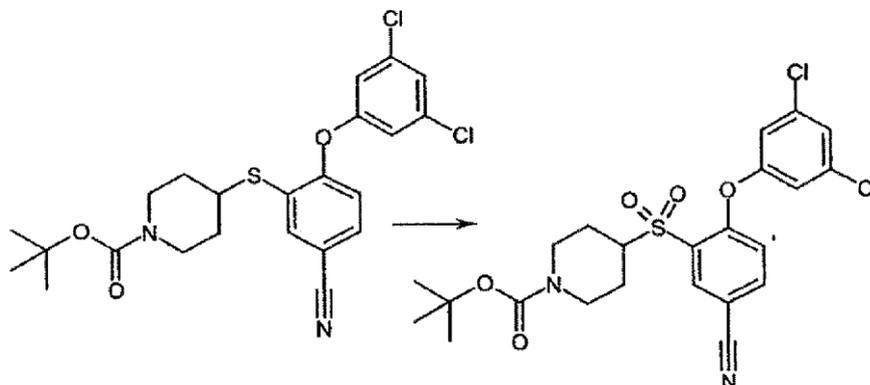
- (2) Una mezcla de éster O-etílico de éster S-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-fenílico] de ácido ditiocarbónico [5,50 g, 10,2 mmol (pureza del 70%)], KOH (3,37 g, 60,1 mmol) en etanol (20 ml) se sometió a reflujo durante 1 hora. Después de enfriar a temperatura ambiente, se evaporó el disolvente. Se añadieron 30 ml de agua helada al residuo. El pH de la mezcla se ajustó a 4 mediante la adición de ácido acético. La mezcla se extrajo con EtOAc. El extracto se lavó con agua, salmuera, y se secó con MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se evaporó para proporcionar 4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-mercapto-benzonitrilo, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional [3,20 g, 75,5% (pureza del 70%)].



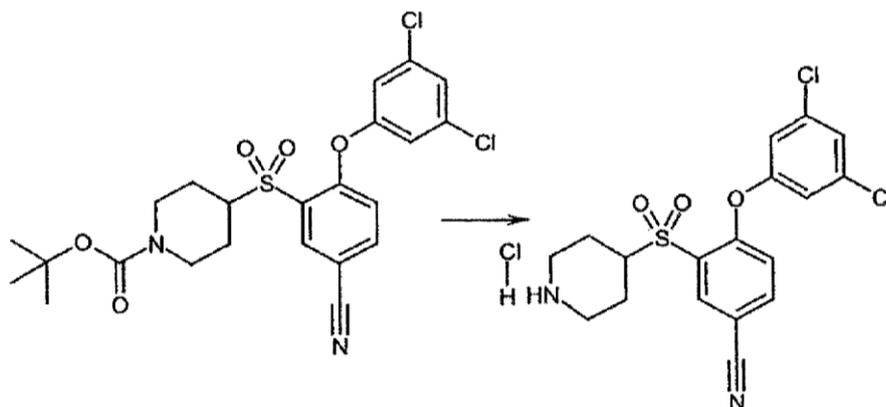
- (3) A la suspensión de hidrobromuro de 4-bromo-piperidina (2,94 g, 12 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 ml) se le añadió NEt<sub>3</sub> (3,04 g, 4,2 ml, 30 mmol) con agitación. Se añadió dicarbonato de di-*tert*-butilo (3,14 g, 14,4 mmol) 10 min más tarde. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, y se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (60 ml). La mezcla se lavó con HCl ac. 0,2 N, 5% de NaHCO<sub>3</sub> ac., salmuera, y se secó con MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se evaporó para proporcionar éster *tert*-butílico de ácido 4-bromo-piperidin-1-carboxílico en forma de un líquido incoloro que se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional [2,60 g, 69,5% (pureza del 70%)].



- 5 (4) La mezcla de 4-(3,5-dicloro-fenoxy)-3-mercapto-benzonitrilo [338 mg, 0,8 mmol, (pureza del 70%)], éster *tert*-butílico de ácido 4-bromo-piperidin-1-carboxílico [362 mg, 0,96 mmol, (pureza del 70%)], y  $K_2CO_3$  (552 mg, 4 mmol) en DMF seco (8 ml) se agitó a 95°C durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo se diluyó con EtOAc (100 ml). La mezcla se lavó con salmuera, y la capa orgánica se secó con  $MgSO_4$ . El disolvente se evaporó para proporcionar éster *tert*-butílico de ácido 4-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxy)-fenilsulfanil]-piperidin-1-carboxílico que se usó para la siguiente reacción sin purificación [360 mg, 56,3% (pureza del 60%)].



- 10 (5) A una disolución de éster *tert*-butílico de ácido 4-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxy)-fenilsulfanil]-piperidin-1-carboxílico [320 mg, 0,4 mmol (pureza del 60%)] en una mezcla de  $CCl_4$  (6 ml) y  $CH_3CN$  (6 ml) se le añadió una disolución de  $NaIO_4$  (599 mg, 2,80 mmol) y  $RuCl_3$  (41,5 mg, 0,2 mmol) en agua (12 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, y se evaporó el disolvente. El residuo se diluyó con EtOAc (100 ml). La mezcla se lavó con agua, salmuera, y se secó con  $MgSO_4$ . El disolvente se evaporó y el producto bruto se purificó mediante CCF preparativa (EtOAc/Hexano = 1:1) para proporcionar éster *tert*-butílico de ácido 4-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxy)-benceno-sulfonyl]-piperidin-1-carboxílico (50,0 mg, 24,4%): HPLC-MS (ESI): Calc. para  $C_{23}H_{24}Cl_2N_2O_5S$   $[M+H]^+$  511, hallado: 511.
- 15



- 20 (6) A una disolución de éster *tert*-butílico de ácido 4-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxy)-bencenosulfonyl]-piperidin-1-carboxílico (30 mg, 0,06 mmol) en  $CH_2Cl_2$  (1 ml) se le añadió HCl 4 N (en dioxano, 0,6 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. El precipitado blanco producido se recogió mediante filtración y se secó al vacío para proporcionar hidrocloreuro de 4-(3,5-dicloro-fenoxy)-3-(piperidin-4-sulfonyl)-benzonitrilo (23 mg, 87,6%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ ): 1,72-1,77 (2H, ddm,  $J = 13,4$  Hz,  $J = 3,78$  Hz), 2,03-2,09 (2H, ddm,  $J = 13,4$  Hz,  $J = 3,78$  Hz), 3,09 (2H, br, S), 3,18 (2H, br, S), 4,94 (1H, q,  $J = 3,78$  Hz), 7,54 (1H, d,  $J = 9,03$  Hz), 7,96 (2H, s), 8,07 (1H, s), 8,76 (1H, s), 8,46 (1H, s), 8,83 (1H, br, S), 9,14 (1H, br, S); HPLC-MS (ESI): Calc. para  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  411, hallado: 411.

5 Peso molecular: 447,77

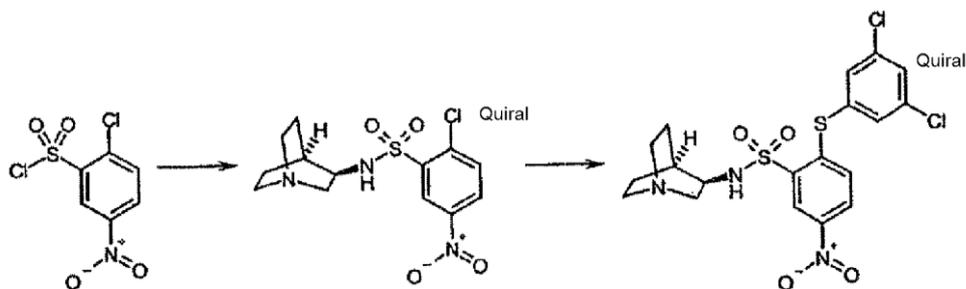
Punto de fusión: 220-226°C (descomp.)

Grado de actividad de CCR3: C

Grado de actividad de  $\text{Cl}_{50}$ : C

Ejemplo de Referencia 3-1

10 *N*-(1-aza-biciclo[2.2.2]oct-3-il)-2-(3,5-dicloro-fenilsulfanil)-5-nitro-bencenosulfonamida



(1) A una suspensión de dihidrocloruro de 1-aza-biciclo[2.2.2]oct-3-ilamina (44,9 mg, 0,205 mmol) en THF se le añadió NaH (60%, 41,0 mg, 1,03 mmol) por partes, y la mezcla se agitó durante 30 minutos. La mezcla agitada se añadió después a una disolución de cloruro de 2-cloro-5-nitro-bencenosulfonylo (52,5 mg, 0,205 mmol) en THF gota a gota a 0°C. La mezcla resultante se agitó a 0°C durante 2 horas.

(2) Después de retirar el baño de hielo, se añadió NaH (60%, 9,80 mg, 0,246 mmol) a la mezcla, seguido de la adición de 3,5-dicloro-bencenotiol (44,0 mg, 0,246 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, y se concentró al vacío. El residuo se diluyó con EtOAc y se lavó con agua, NaOH 1 N, y salmuera. La capa orgánica se secó con  $\text{MgSO}_4$ , y se concentró al vacío para proporcionar un producto bruto. El compuesto bruto se purificó adicionalmente mediante CCF preparativa para proporcionar *N*-(1-aza-biciclo[2.2.2]oct-3-il)-2-(3,5-dicloro-fenil-sulfanil)-5-nitro-bencenosulfonamida (41,3 mg, 41,3%) en forma de un polvo blanco.

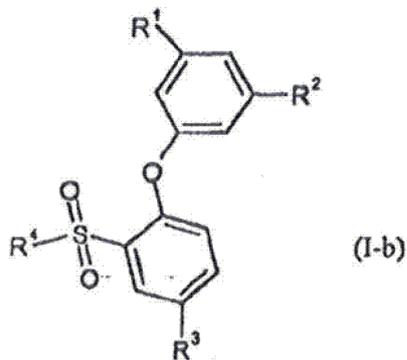
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,48-1,59 (1H, m), 1,61-1,73 (1H, m), 1,75-1,83 (2H, m), 2,54-2,61 (1H, m), 2,64-2,82 (2H, m), 2,85-2,90 (2H, t,  $J = 7,5$  Hz), 3,19-3,27 (1H, dd,  $J = 9,4, 14,1$  Hz), 3,42-3,46 (1H, m), 7,13-7,16 (1H, d,  $J = 8,9$  Hz), 7,39-7,40 (2H, d,  $J = 1,9$  Hz), 7,52-7,53 (1H, t,  $J = 1,9$  Hz), 8,18-8,22 (1H, dd,  $J = 2,6, 8,9$  Hz), 8,87-8,88 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz); HPLC-MS (ESI): Calc. para  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  488, hallado: 488.

Peso molecular: 488,41

Punto de fusión: 256°C

## REIVINDICACIONES

1. Un derivado de bencenosulfonamida de fórmula (I-b), su forma tautomérica o estereoisomérica, o una sal del mismo:



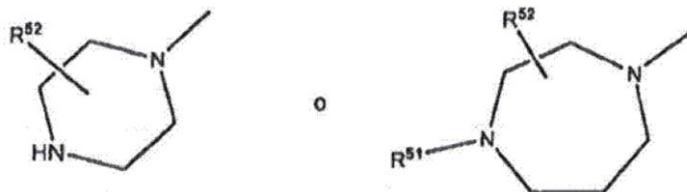
5 en la que:

R<sup>1</sup> representa fluoro, cloro o bromo;

R<sup>2</sup> representa fluoro, cloro o bromo;

R<sup>3</sup> representa ciano;

R<sup>4</sup> representa



10

en las que:

R<sup>51</sup> representa hidrógeno, ciclopentilo, etilo o metilo; y

15 R<sup>52</sup> representa metoxycarbonilo o alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con metoxycarbonilo, metanosulfonilamino, indolilo, tetrazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,5-triazolilo, 1,3,4-triazolilo, pirrolidin-1-ilo, 2-oxo-pirrolidin-1-ilo, 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilo, 2-oxo-piperidin-1-ilo, 2-oxo-piperidin-3-ilo, 4-oxo-piperidin-1-ilo, 2-oxo-piperidin-6-ilo, 2,5-dioxo-piperidin-1-ilo, 2,6-dioxo-piperidin-1-ilo, o 2,6-dioxo-piperidin-3-ilo.

2. Un derivado de bencenosulfonamida, su forma tautomérica o estereoisomérica, o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, en el que dicho derivado de bencenosulfonamida de fórmula (I-b) se selecciona del grupo que consiste en:

20 N-{4-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonil]-piperazin-2-ilmetil}-metanosulfonamida;

N-{4-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonil]-piperazin-2-ilmetil}-acetamida;

N-{1-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonil]-piperazin-2-ilmetil}-metanosulfonamida;

N-{1-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonil]-piperazin-2-ilmetil}-acetamida;

dihidrocloruro de 3-(2-aminometil-piperazin-1-sulfonil)-4-(3,5-dicloro-fenoxi)-benzonitrilo;

25 éster metílico de ácido 1-[5-ciano-2-(3,5-dicloro-fenoxi)-bencenosulfonil]-[1,4]diazepan-2-carboxílico;

4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-[3(S)-(1H-indol-3-ilmetil)-piperazin-1-sulfonil]-benzonitrilo;

4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-[2(S)-(1H-indol-3-ilmetil)-piperazin-1-sulfonil]-benzonitrilo;

4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-[2-(2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilmetil)-piperazin-1-sulfonil]-benzonitrilo;

4-(3,5-dicloro-fenoxi)-3-[3-(2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilmetil)-piperazin-1-sulfonil]-benzonitrilo;

- 4-(5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonil)-1,4-diazepan-2-carboxilato de metilo;  
 dihidrocloruro de 3-(3-(aminometil)piperazin-1-ilsulfonil)-4-(3,5-diclorofenoxi)benzotrilo;  
 1-(5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonil)-4-(piperidinil-4-il)-1,4-diazepan-2-carboxilato de metilo;  
 N-((4-(5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonil)-1,4-diazepan-2-il)metil)metanosulfonamida;
- 5 1-(2-(3,5-diclorofenoxi)-5-(1H-tetrazol-1-il)fenilsulfonil)piperazina;  
 1-(5-ciano-2-(3,5-diclorofenoxi)fenilsulfonil)-4-etil-1,4-diazepan-2-carboxilato de metilo; y  
 3-(1,4-dibencil-1,4-diazepan-6-ilsulfonil)-4-(3,5-diclorofenoxi)benzotrilo.
3. Un medicamento que comprende el derivado de bencenosulfonamida de fórmula (I-b), su forma tautomérica o estereoisomérica, o una sal fisiológicamente aceptable del mismo según la reivindicación 1 ó 2 como ingrediente activo.
- 10 4. El medicamento según la reivindicación 3, que comprende además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
5. El medicamento según la reivindicación 3, en el que dicho derivado de bencenosulfonamida de fórmula (I-b), su forma tautomérica o estereoisomérica, o una sal fisiológicamente aceptable del mismo es un antagonista de CCR3.
- 15 6. El medicamento según la reivindicación 3 para el uso en el tratamiento y/o la profilaxis de una alteración o enfermedad inflamatoria.
7. El medicamento según la reivindicación 6, en el que dicha alteración o enfermedad inflamatoria se selecciona del grupo que consiste en asma, rinitis, enfermedades alérgicas y patologías autoinmunitarias.
- 20 8. El medicamento según la reivindicación 3 para el uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en VIH, granuloma pulmonar y enfermedad de Alzheimer.
9. El uso de un derivado de bencenosulfonamida, su forma tautomérica o estereoisomérica, o una sal fisiológicamente aceptable del mismo según la reivindicación 1 ó 2 en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una alteración o enfermedad relacionada con CCR3.
- 25 10. El uso de la reivindicación 9, en el que dicha alteración o enfermedad es una alteración o enfermedad inflamatoria o de la inmunorregulación.
11. El uso de la reivindicación 9, en el que dicha alteración o enfermedad se selecciona del grupo que consiste en asma, rinitis, enfermedades alérgicas, y patologías autoinmunitarias.
12. El uso de la reivindicación 9, en el que dicha alteración o enfermedad se selecciona del grupo que consiste en VIH, granuloma pulmonar y enfermedad de Alzheimer.
- 30 13. El uso de la reivindicación 9, en el que dicho derivado de bencenosulfonamida, su forma tautomérica o estereoisomérica, o una sal fisiológicamente aceptable del mismo se formula con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 35 14. El medicamento de la reivindicación 4, en el que el excipiente es una sustancia inerte tal como un vehículo, un diluyente, un agente aromatizante, un edulcorante, un lubricante, un solubilizante, un agente de suspensión, un aglutinante, un agente desintegrante de comprimidos o un agente de encapsulación.
15. El uso de la reivindicación 13, en el que el excipiente es una sustancia inerte tal como un vehículo, un diluyente, un agente aromatizante, un edulcorante, un lubricante, un solubilizante, un agente de suspensión, un aglutinante, un agente desintegrante de comprimidos o un agente de encapsulación.