

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 884**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/497 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.09.2009** **E 09813627 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.02.2015** **EP 2323663**

54 Título: **4-Amino-3-(imidazolil)pirazol[3,4-d]pirimidinas**

30 Prioridad:

11.09.2008 US 96191 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.05.2015

73 Titular/es:

CHEMOCENTRYX, INC. (100.0%)
850 Maude Avenue
Mountain View, California 94043, US

72 Inventor/es:

ZHANG, PENGLIE y
ZENG, YIBIN

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 536 884 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

4-Amino-3-(imidazolil)pirazol[3,4-d]pirimidinas**5 Antecedentes de la invención**

[0001]La presente invención proporciona compuestos, composiciones farmacéuticas que contienen uno o más de esos compuestos o sus sales farmacéuticamente aceptables, que son eficaces en la inhibición de la unión de diversas quimiocinas, tales como MIP-1 α , leucotactina, MPIF-1 y RANTES, al receptor CCR1. Como antagonistas o moduladores del receptor CCR1, los compuestos y composiciones tienen utilidad en el tratamiento de afecciones y enfermedades con trastorno inflamatorio e inmunitario.

[0002]La salud humana depende de la capacidad del organismo para detectar y destruir patógenos foráneos que de otro modo podrían tomar recursos valiosos del individuo y/o inducir enfermedad. El sistema inmunitario, que comprende leucocitos (glóbulos blancos (GB): linfocitos T y B, monocitos, macrófagos granulocitos, células NK, mastocitos, células dendríticas, y células inmunitarias derivadas (por ejemplo, osteoclastos)), tejidos linfoides y vasos linfoides, es el sistema de defensa del organismo. Para combatir la infección, los glóbulos blancos circulan por todo el organismo para detectar patógenos. Una vez que se detecta un patógeno, las células inmunitarias innatas y las células T citotóxicas en particular son reclutadas al sitio de infección para destruir el patógeno. Las quimiocinas actúan como balizas moleculares para el reclutamiento y la activación de células inmunitarias, tales como los linfocitos, monocitos y granulocitos, identificando los sitios donde existen patógenos.

[0003]A pesar de la regulación por el sistema inmunológico de los patógenos, se puede desarrollar cierta señalización de quimiocinas inapropiada y se ha atribuido a la activación o al mantenimiento de trastornos inflamatorios, tales como la artritis reumatoide, esclerosis múltiple y otros. Por ejemplo, en la artritis reumatoide, la acumulación de quimiocinas no regulada en articulaciones de los huesos atrae y activa los macrófagos infiltrantes y células T. Las actividades de estas células inducen la proliferación de células sinoviales que conduce, al menos en parte, a la inflamación y a la eventual pérdida de hueso y cartílago (véase, DeVries, M.E., et al., *Semin Immunol* 11(2):95-104 (1999)). Un sello distintivo de algunas enfermedades desmielinizantes tales como esclerosis múltiple es el reclutamiento de monocitos/macrófagos y células T mediado por quimiocinas al sistema nervioso central (véase, Kennedy, et al., *J. Clin. Immunol.* 19(5):273-279 (1999)). El reclutamiento por quimiocinas de GB destructivos a los trasplantes ha sido implicado en su posterior rechazo. Véase, DeVries, M.E., et al., *idem*. Debido a que las quimiocinas juegan un papel clave en la inflamación y el desarrollo de linfocitos, la capacidad de manipular específicamente su actividad tiene un enorme impacto en la mejora y la detención de enfermedades que actualmente no tienen un tratamiento satisfactorio. Además, el rechazo del trasplante se puede minimizar sin los efectos generalizados y complicados de fármacos inmunosupresores costosos.

[0004]El metabolismo óseo depende de la actividad global de los osteoblastos que controlan la formación de hueso y de los osteoclastos que controlan la resorción ósea. La anomalía del metabolismo óseo se considera que está causada por un desequilibrio de la formación de hueso y la resorción ósea. La osteoporosis (y la osteoporosis post-menopáusica), la hipercalcemia, la enfermedad de Paget, la osteodistrofia renal, la artritis reumatoide, la osteoartritis, las metástasis óseas líticas, el mieloma múltiple y similares son conocidas como enfermedades que acompañan la anomalía del metabolismo óseo. La osteoporosis es una enfermedad típica causada por dicha anomalía del metabolismo óseo. Esta enfermedad se genera cuando la resorción ósea por los osteoclastos excede la formación de hueso por los osteoblastos. La enfermedad se caracteriza por una disminución tanto del material calcificado del hueso como de la matriz ósea. Se cree CCR1 para jugar un papel en el reclutamiento de precursores de osteoclastos y su maduración, y la inhibición de este proceso puede mejorar la enfermedad (Vallet et al, *Blood*, 110:3744-3752 (2007)). El secuestro adicional de células de mieloma múltiple en la médula ósea conduce al reclutamiento de osteoclastos a estos sitios, proporcionando un bucle de retroalimentación para la proliferación del mieloma, y estimulando la descalcificación (Menu et al, *Clin Exp Metastases*, 23:291-300 (2006)).

[0005]Las quimiocinas, un grupo de más de 40 péptidos pequeños (7-10 kD), se unen a los receptores expresados principalmente en los GB o células inmunitarias derivadas, y señalizan a través de cascadas de señalización acopladas a proteína G para mediar sus funciones quimioatrayentes y quimioestimuladoras. Los receptores pueden unirse a más de un ligando; por ejemplo, el receptor CCR1 se une a RANTES (regulado en la activación normal de células T expresadas), MIP-1 α (proteína inflamatoria de macrófagos), MPIF-1/CK β 8, y quimiocina leucotactina (entre otras con menores afinidades). Hasta la fecha, se conocen 24 receptores de quimiocinas. El gran número de quimiocinas, receptores de unión de múltiples ligandos, y diferentes perfiles de los receptores en las células inmunitarias permite respuestas inmunitarias estrechamente controladas y específicas. Véase, Rossi, et al., *Ann. Rev. Immunol.* 18(1):217-242 (2000). La actividad de las quimiocinas puede ser controlada a través de la modulación de sus correspondientes receptores, tratando las enfermedades inflamatorias e inmunológicas relacionadas y permitiendo trasplantes de órganos y tejidos.

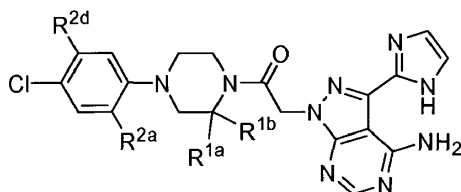
[0006]El receptor CCR1 y sus ligandos quimiocinas, incluyendo, por ejemplo MIP-1 α , MPIF-1/CK β 8, leucotactina y

RANTES, representan dianas terapéuticas significativas (véase Saeki, et al., Current Pharmaceutical Design 9: 1201-1208 (2003)) puesto que han sido implicados en la artritis reumatoide, el rechazo de trasplantes (véase, DeVries, M.E., et al., ídem), y la esclerosis múltiple (véanse, Fischer, et al., J Neuroimmunol. 110(1-2):195-208 (2000); Izikson, et al., J. Exp. Med. 192(7):1075-1080 (2000); y Rottman, et al., Eur. J. Immunol. 30(8):2372-2377 (2000)). De hecho, se han descubierto anticuerpos de bloqueo de la función, ligandos de receptores de quimiocinas modificados y compuestos orgánicos pequeños, de los cuales se ha demostrado satisfactoriamente que algunos previenen o tratan algunas enfermedades mediadas por quimiocinas (revisado por Rossi, et al., ídem.). Notablemente, en un modelo experimental de artritis reumatoide, el desarrollo de la enfermedad disminuye cuando se administra el ligando RANTES modificado que bloquea la señalización, (véase Plater-Zyberk, et al., Immunol Lett. 57(1-3):117-120 (1997)). Si bien las terapias con anticuerpos de bloqueo de la función y péptidos pequeños son prometedoras, adolecen de los riesgos de degradación, las vidas medias extremadamente cortas, una vez administrados, y el coste prohibitivo para su desarrollo y producción, característicos de la mayoría de las proteínas. Son preferibles los compuestos orgánicos pequeños ya que a menudo tienen una vida media más larga *in vivo*, requieren dosis más pequeñas para ser eficaces, a menudo pueden ser administrados por vía oral, y son por consiguiente menos costosos. Algunos antagonistas orgánicos de CCR1 se han descrito previamente (véanse, Hesselgesser, et al., J. Biol. Chem. 273(25):15687-15692 (1998); Ng, et al., J. Med. Chem. 42 (22):4680-4694 (1999); Liang, et al., J. Biol. Chem. 275(25):19000-19008 (2000); y Liang, et al., Eur. J. Pharmacol. 389(1):41-49 (2000)). En vista de la eficacia demostrada para el tratamiento de la enfermedad en modelos animales (véase, Liang, et al., J. Biol. Chem. 275(25):19000-19008 (2000)), ha continuado la búsqueda para identificar compuestos adicionales que se puedan utilizar en el tratamiento de enfermedades mediadas por la señalización de CCR1.

[0007] El documento US 2008/058341 describe compuestos de azaindol que son antagonistas del receptor CCR1.

Breve compendio de la invención

[0008] La presente invención se refiere a compuestos que tienen la Fórmula I:



o sales farmacéuticamente aceptables, hidratos o N-óxidos de los mismos. En la Fórmula I, R^{1a} y R^{1b} se seleccionan cada uno independientemente entre H y CH_3 ; R^{2a} se selecciona entre H y F; y R^{2d} se selecciona entre H, alcoxi C_1-C_4 y haloalcoxi C_1-C_4 . El compuesto no es 2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il)etanona.

[0009] Además de los compuestos proporcionados en la presente memoria, la presente invención proporciona adicionalmente composiciones farmacéuticas que contienen uno o más de estos compuestos, así como métodos para el uso de estos compuestos principalmente para tratar enfermedades asociadas con la actividad de señalización de CCR1, CCR2 y/o CCR3.

Descripción detallada de la invención

I. Abreviaturas y definiciones

[0010] El término "alquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa, a menos que se indique lo contrario, un radical hidrocarbonado de cadena lineal o ramificada, que tiene el número de átomos de carbono designado (es decir C_1-C_8 significa de uno a ocho carbonos). Los ejemplos de los grupos alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, y n-octilo.

[0011] El término "alcoxi", se utiliza en su sentido convencional, y se refieren a aquellos grupos alquilo unidos al resto de la molécula a través de un átomo de oxígeno. Los ejemplos de los grupos alcoxi incluyen metoxi, etoxi, e isopropoxi.

[0012] Los términos "halo" o "halógeno", por sí mismos o como parte de otro sustituyente, significan, a menos que se indique lo contrario, un átomo de flúor, cloro, bromo o átomo de yodo. Además, se pretende que términos tales como "haloalquilo", incluyan monohaloalquilo y polihaloalquilo. Por ejemplo, se pretende que el término "haloalquilo C_1-C_4 " incluya p. ej., trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, y 3-bromopropilo. Del mismo modo, se pretende que el término "haloalcoxi", incluya monohaloalcoxi y polihaloalcoxi, tales como trifluorometoxi (CF_3O-) y 2-fluoroetoxi (FCH_2CH_2O-).

[0013] "Grupo protector" se refiere a un radical, excepto grupos alquilo, que cuando se une a un grupo reactivo en una molécula, enmascara, reduce o previene esa reactividad. Los ejemplos de los grupos protectores se pueden encontrar en T. W. Greene y P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, tercera edición, John Wiley & Sons, Nueva York, 1999, y Harrison y Harrison et al., *Compendium of Synthetic Organic Methods*, Vol. 1-8 (John Wiley and Sons, 1971-1996). Los grupos protectores de hidroxilo representativos incluyen grupos acilo, éteres de bencilo y tritilo, éteres de tetrahidropirano, éteres de trialkilsililo y éteres de alilo. Los grupos protectores de amino representativos incluyen, p. ej., formilo, acetilo, trifluoroacetilo, bencilo, benciloxycarbonilo (CBZ), *tert*-butoxycarbonilo (BOC), trimetilsililo (TMS), 2-trimetilsilil-etanosulfonilo (SES), tritilo y grupos tritilo sustituidos, aliloxycarbonilo, y 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc), nitro-veratriloxycarbonilo (NVOC).

[0014] El "reactivo de acoplamiento de aminoácidos" se refiere a un reactivo, tal como HBTU (O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio), etc., que reaccionará con el grupo ácido carboxílico de un aminoácido para formar un intermedio activado que puede ser utilizado para condensar con una amplia variedad de nucleófilos, por ejemplo, aminas, alcoholes y tioles, para producir otros grupos éster, tioéster o amida.

[0015] Se pretende que el término "sales farmacéuticamente aceptables" incluya sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes concretos encontrados en los compuestos descritos en la presente memoria. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente ácidas, se pueden obtener sales de adición de bases poniendo en contacto la forma neutra de tales compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, ya sea pura o en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de las sales derivadas de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen, p. ej. aluminio, amonio, calcio, cobre, férrico, ferroso, litio, magnesio, mangánico, manganeso, potasio, sodio y zinc. Las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, incluyendo, p. ej. aminas sustituidas, aminas cíclicas y, aminas de origen natural, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina y trometamina. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente alcalinas, las sales de adición de ácido se pueden obtener poniendo en contacto la forma neutra de tales compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, ya sea puro o en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos como p. ej., los ácidos clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, yodhídrico, o fosforoso, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos como p. ej., acético, propiónico, isobutírico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, y metanosulfónico. También se incluyen sales de aminoácidos tales como, por ejemplo arginato, y sales de ácidos orgánicos como, p. ej., ácidos glucurónico o galacturónico (véase, por ejemplo, Berge, S.M., et al., "Pharmaceutical Salts", *Journal of Pharmaceutical Science*, 1977, 66, 1-19). Ciertos compuestos específicos de la presente invención contienen tanto funcionalidades alcalinas como ácidas que permiten que los compuestos sean convertidos en sales de adición de base o de ácido cualesquiera.

[0016] Las formas neutras de los compuestos pueden regenerarse poniendo en contacto la sal con una base o ácido y aislando el compuesto original de la manera convencional. La forma parental del compuesto difiere de las diversas formas de sal en ciertas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a la forma original del compuesto para los fines de la presente invención.

[0017] Además de las formas de sal, la presente invención proporciona compuestos que están en una forma de profármaco. Los profármacos de los compuestos descritos en la presente memoria son aquellos compuestos que experimentan fácilmente cambios químicos en condiciones fisiológicas para proporcionar los compuestos de la presente invención. Adicionalmente, los profármacos pueden ser convertidos a los compuestos de la presente invención por medio de métodos químicos o bioquímicos en un entorno *ex vivo*. Por ejemplo, los profármacos pueden convertirse lentamente en los compuestos de la presente invención cuando se colocan en un reservorio de parche transdérmico con una enzima o reactivo químico adecuados.

[0018] Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y se pretende que estén incluidas dentro del alcance de la presente invención. Pueden existir ciertos compuestos de la presente invención en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente invención y se pretende que estén dentro del alcance de la presente invención.

[0019] Ciertos compuestos de la presente invención poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos) o

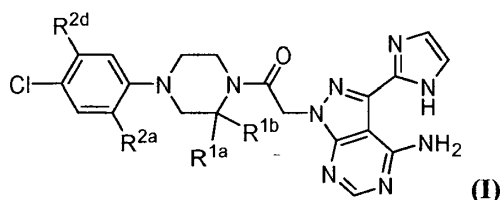
enlaces dobles; se pretende que los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos e isómeros individuales (p. ej., enantiómeros separados) estén incluidos dentro del alcance de la presente invención. Los compuestos de la presente invención también pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen tales compuestos. Por ejemplo, los compuestos pueden estar radiomarcados con isótopos radiactivos, tales como por ejemplo tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I) o carbono-14 (^{14}C). Se pretende que todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención, ya sean radiactivas o no, estén incluidas dentro del alcance de la presente invención.

II. General

[0020] La presente invención deriva del descubrimiento de que los compuestos de Fórmula I actúan como antagonistas potentes del receptor CCR1. Los compuestos tienen actividad anti-inflamatoria vivo y tienen propiedades farmacocinéticas superiores. Por consiguiente, los compuestos proporcionados en la presente memoria son útiles en composiciones farmacéuticas, métodos para el tratamiento de enfermedades mediadas por CCR1, y como controles en análisis para la identificación de antagonistas de CCR1 competitivos.

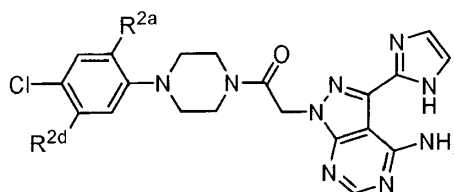
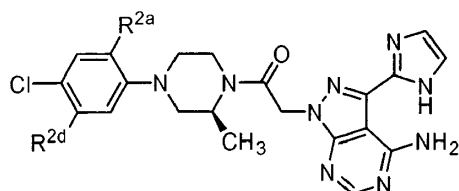
III. Compuestos

[0021] En un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I:



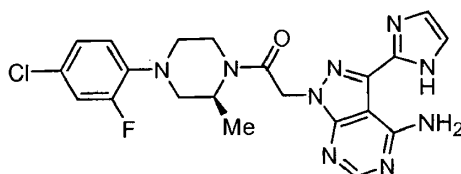
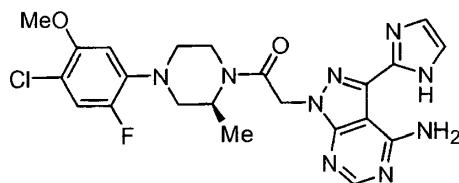
o sales farmacéuticamente aceptables, hidratos o N-óxidos de los mismos. En la Fórmula I, R^{1a} y R^{1b} se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H y CH_3 ; R^{2a} se selecciona del grupo que consiste en H y F; y R^{2d} se selecciona del grupo que consiste en H, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$ y haloalcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$. En una realización, R^{2a} es hidrógeno. En otra realización, R^{1a} y R^{1b} son cada uno H. En otra realización, R^{1b} es metilo y R^{1a} es H. En otra realización, R^{1a} y R^{1b} son cada uno metilo. En otra realización más, R^{2a} es hidrógeno y R^{2d} se selecciona del grupo que consiste en metoxi, etoxi y trifluorometoxi.

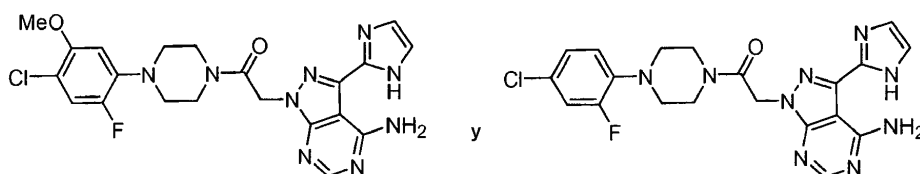
[0022] En una realización preferida, los compuestos de la invención tienen la fórmula Ia o Ib:



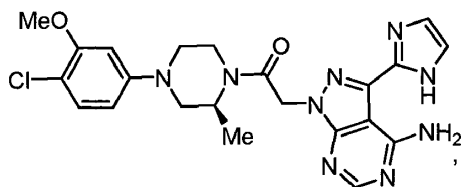
en donde R^{2a} se selecciona del grupo que consiste en H y F; y R^{2d} se selecciona del grupo que consiste en metoxi, etoxi y trifluorometoxi.

[0023] En una realización específica, los compuestos de la invención se seleccionan del grupo que consiste en:

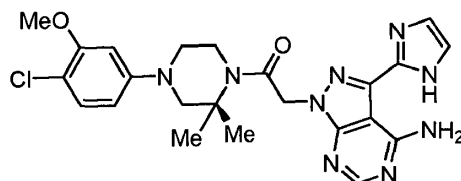
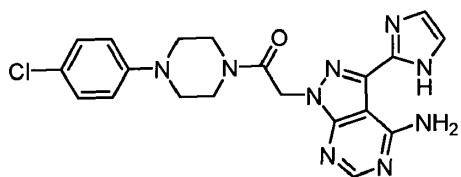
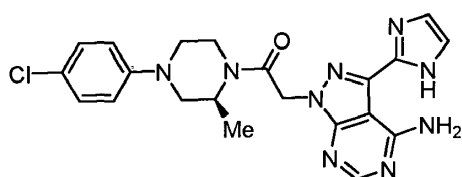
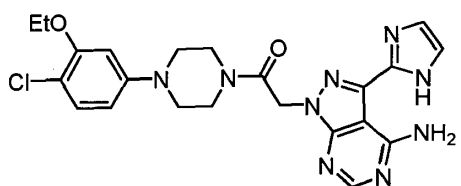




[0024]En otra realización específica, los compuestos de la invención se seleccionan del grupo que consiste en:

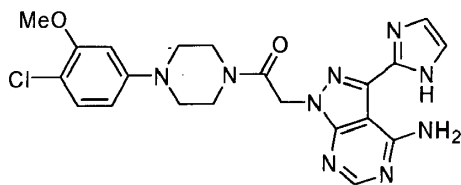


5



10

[0025]En otra realización más, el compuesto de la invención es una sal hidrocloreto de un compuesto de fórmula:



15

[0026]En otra realización adicional, los compuestos de la invención de fórmula I se seleccionan del grupo que consiste en los compuestos indicados en la Tabla 1.

Tabla 1

(S)-2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-1-(4-(4-chloro-2-fluoro-5-metoxifenil)-2-metilpiperazin-1-il)etanona
(S)-2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-1-(4-(4-chloro-2-fluorofenil)-2-metilpiperazin-1-il)etanona
2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-1-(4-(4-chloro-2-fluoro-5-metoxifenil)piperazin-1-il)etanona
2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-1-(4-(4-chloro-2-fluoro-5-metoxifenil)piperazin-1-il)etanona
(S)-2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-1-(4-(4-chloro-3-metoxifenil)-2-metil-piperazin-1-il)etanona
2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-1-(4-(4-chloro-3-etoxifenil)piperazin-1-il)etanona
(S)-2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-1-(4-(4-clorofenil)-2-metilpiperazin-1-il)etanona
2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pyrimidin-1-yl)-1-(4-(4-clorofenil)piperazin-1-il)etanona

2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil)-2,2-dimetilpiperazin-1-il)etanona
(S)-2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-etoxifenil)-2-metilpiperazin-1-il)etanona
2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-(trifluorometoxi)fenil)piperazin-1-il)etanona

Preparación de los compuestos

5 **[0027]**El Esquema 1 de más abajo, así como los esquemas de los ejemplos, proporcionan ciertas rutas sintéticas que se pueden seguir para acceder a ciertos compuestos de la presente invención. Otras rutas o modificaciones de las rutas presentadas a continuación serían fácilmente evidentes para un experto en la técnica y están dentro del alcance de la presente invención.

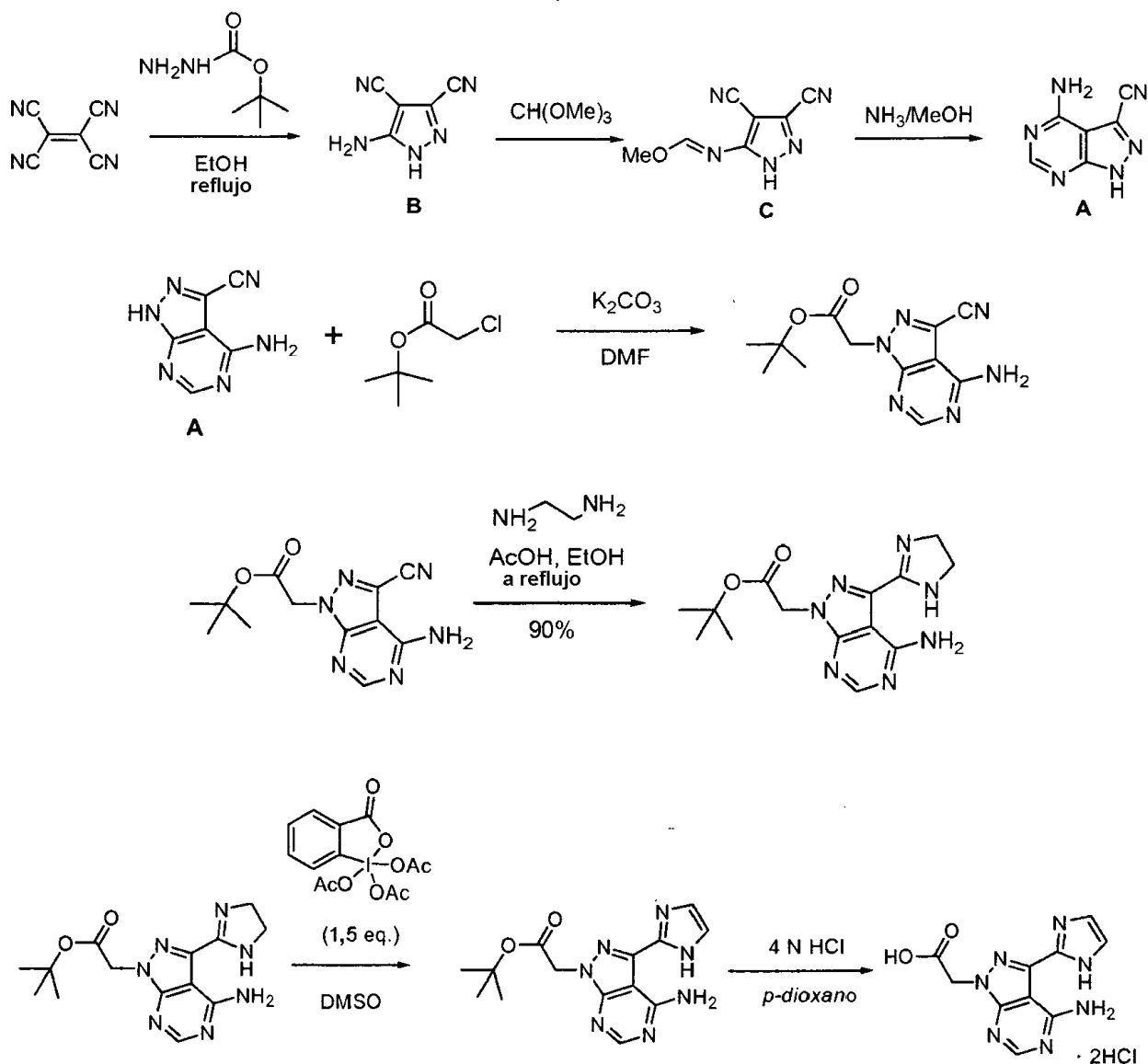
10 **[0028]**El Esquema 1 ilustra la síntesis de 4-amino-3-imidazolil sustituido pirazol[3,4-d]pirimidinas utilizadas en una reacción de acoplamiento con una piperazina sustituida para formar los compuestos de la presente invención. Como se muestra en el Esquema 1, el éster *terc*-butilico de ácido hidrazincarboxílico y 2,3-diciano-but-2-enodinitrilo se pueden combinar para formar el compuesto de pirazol sustituido B (5-amino-1H-pirazol-3,4-dicarbonitrilo). El compuesto B, tras el tratamiento con, por ejemplo, un ortoformiato (p. ej., ortoformiato de trimetilo) proporciona el intermedio C (mostrado como (E)-N-3,4-diciano-1H-pirazol-5-ilformimidato de metilo). El cierre del anillo para formar la pirazol[3,4-d]pirimidina se muestra como compuesto A (4-amino-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-3-carbonitrilo) se puede lograr mediante el tratamiento del intermedio C con amoníaco.

20 **[0029]**La elaboración adicional de la pirazol[3,4-d]pirimidina se realiza mediante tratamiento del Compuesto A con, por ejemplo, cloroacetato de *terc*-butilo en presencia de carbonato de potasio para obtener éster *terc*-butilico de ácido (4-amino-3-ciano-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-acético, que a continuación se puede someter a reflujo con etilendiamina en presencia de etanol y ácido acético para producir 2-(4-amino-3-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il) acetato de *terc*-butilo.

25 **[0030]**Como se muestra el 2-(4-amino-3-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)acetato de *terc*-butilo se puede oxidar con DMP en la presencia del disolvente DMSO para obtener 2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)acetato de *terc*-butilo.

30 **[0031]**Finalmente, el 2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)acetato de *terc*-butilo puede ser tratado con HCl en dioxano para obtener una sal de 4-amino-3-imidazolilo sustituido pirazol[3,4-d]pirimidina de ácido (2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)acético . 2HCl).

Esquema 1



III. Composiciones farmacéuticas

5 **[0032]** Además de los compuestos proporcionados anteriormente, las composiciones para modular la actividad CCR1, CCR2 y CCR3 en seres humanos y animales contendrán típicamente un portador o diluyente farmacéutico.

10 **[0033]** Se pretende que el término "composición", según se utiliza en la presente memoria abarque un producto que comprenda los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas. Por "farmacéuticamente aceptable" se entiende que el vehículo, diluyente o excipiente deben ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor de los mismos.

15 **[0034]** Las composiciones farmacéuticas para la administración de los compuestos de esta invención pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar por medio de cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia y la administración de fármacos. Todos los métodos incluyen la etapa de poner el ingrediente activo en asociación con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan poniendo en contacto uniforme e íntimamente el ingrediente activo en asociación con un portador líquido o un portador sólido finamente dividido o ambos, y a continuación, si fuera necesario, conformando el producto a la formulación deseada. En la composición farmacéutica el compuesto objeto activo está incluido en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado sobre el proceso o afección de las enfermedades.

20

[0035] Las composiciones farmacéuticas que contienen el ingrediente activo pueden estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, en forma de comprimidos, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones y autoemulsiones como se describe en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6.451.339, cápsulas duras o blandas, jarabes, elixires, disoluciones, parches bucales, geles orales, goma de mascar, comprimidos masticables, polvos efervescentes y comprimidos efervescentes. Las composiciones destinadas a uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, antioxidantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y agradables al paladar. Los comprimidos contienen el ingrediente activo mezclado con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser por ejemplo, diluyentes inertes, tales como celulosa, dióxido de silicio, óxido de aluminio, carbonato de calcio, carbonato de sodio, glucosa, manitol, sorbitol, lactosa, fosfato cálcico o fosfato sódico; agentes de granulación y disgregantes, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido alginico; agentes aglutinantes, por ejemplo PVP, celulosa, PEG, almidón, gelatina o acacia, y agentes lubricantes, por ejemplo estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden estar recubiertos, entéricamente o de otro modo, mediante mecanismos conocidos para retrasar la disgregación y la absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar de ese modo una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. También se pueden recubrir mediante las técnicas descritas en las Patentes de los Estados Unidos Núms. 4.256.108; 4.166.452; y 4.265.874 para formar comprimidos terapéuticos osmóticos para su liberación controlada.

[0036] Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse en forma de cápsulas duras de gelatina en donde el ingrediente activo está mezclado con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o en forma de cápsulas de gelatina blanda en donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo aceite de cacahuete, parafina líquida, o aceite de oliva. Además, las emulsiones se pueden preparar con un ingrediente no miscible con agua, tal como aceites y estabilizados con tensioactivos tales como mono-diglicéridos o, ésteres de PEG.

[0037] Las suspensiones acuosas contienen los materiales activos mezclados con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes suspensores, por ejemplo carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; los agentes dispersantes o humectantes pueden ser un fosfátido de origen natural, por ejemplo lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileño con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxi-etileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxietanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietilensorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de polietileno. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo p-hidroxibenzoato de etilo, o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes, y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

[0038] Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Se pueden añadir agentes edulcorantes tales como los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral de sabor agradable. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

[0039] Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo mezclado con un agente dispersante o humectante, agente suspensor y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes suspensores se ilustran mediante los ya mencionados anteriormente. Excipientes adicionales, por ejemplo edulcorantes, aromatizantes y agentes colorantes, también pueden estar presentes.

[0040] Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite-en-agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo parafina líquida o mezclas de éstos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas de origen natural, por ejemplo goma arábiga o goma de tragacanto, fosfátidos de origen natural, por ejemplo soja, lecitina, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de sorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo monooleato de polioxietilensorbitán. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

[0041] Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes edulcorantes, por ejemplo glicerol, propilenglicol,

sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un demulcente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes. Las soluciones orales pueden prepararse combinados con, por ejemplo, ciclodextrina, PEG y tensioactivos.

[0042] Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular de acuerdo con la técnica conocida utilizando agentes dispersantes o humectantes y agentes suspensores que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser también una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo en forma de una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro sódico. Además, los se emplean convencionalmente aceites fijados estériles como medio disolvente o suspensor. Para este propósito se puede emplear cualquier aceite fijado blando incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos tales como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

[0043] Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse en forma de supositorios para administración rectal del fármaco. Estas composiciones se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal y por lo tanto se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen manteca de cacao y polietilenglicoles. Adicionalmente, los compuestos se pueden administrar a través de liberación ocular por medio de disoluciones o pomadas. Aún más, la administración transdérmica de los compuestos objeto se puede lograr por medio de parches iontoforéticos y similares. Para uso tópico, se emplean cremas, pomadas, jaleas, disoluciones o suspensiones tópicas, etc., que contienen los compuestos de la presente invención. Según se utiliza en la presente memoria, también se entiende que la aplicación tópica incluye el uso de enjuagues bucales y gargarismos.

[0044] Los compuestos de la invención pueden formularse para su depósito en un dispositivo médico, que puede incluir cualquiera de una variedad de injertos convencionales, estents, incluyendo injertos de estents, catéteres, globos, cestas u otro dispositivo que se pueda desplegar o implantar permanentemente dentro de un lumen corporal. Como un ejemplo particular, sería deseable disponer de dispositivos y métodos que puedan proporcionar compuestos de la invención a la región de un cuerpo que ha sido tratada por medio de la técnica intervencionista.

[0045] En una realización ilustrativa, el agente inhibidor de esta invención se puede depositar dentro de un dispositivo médico, tal como un estent, y se libera al sitio de tratamiento para el tratamiento de una porción del organismo.

[0046] Los estents se han utilizado como vehículos de liberación para agentes terapéuticos (es decir, fármacos). Los estents intravasculares son generalmente implantados permanentemente en los vasos coronarios o periféricos. Los diseños de los estents incluyen los de Patentes de los Estados Unidos Núms. 4.733.655 (Palmaz), 4.800.882 (Gianturco), o 4.886.062 (Wiktor). Tales diseños incluyen estents tanto de metal como poliméricos, así como estents autoexpandibles y expandibles con balón. Los estents se pueden utilizar también para liberar un fármaco en el sitio de contacto con la vasculatura, como se describe en la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.102.417 (Palmaz) y en la Solicitud de Patente Internacional Núms. WO 91/12779 (Medtronic, Inc.) y WO 90/13332 (Cedars-Sinai Medical Center), la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.419.760 (Narciso, Jr.) y la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.429.634 (Narciso, Jr.), por ejemplo. Los estents también se han utilizado para suministrar virus a la pared de un lumen para la liberación de genes, como se describe en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos con el Núm. de Serie 5.833.651 (Donovan et al.).

[0047] El término "depositado" significa que el agente inhibidor es aplicado como recubrimiento, adsorbido, colocado, o incorporado de otro modo en el dispositivo por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, el agente inhibidor puede ser embebido y liberado desde dentro ("tipo matriz") o rodeado y liberado a través de ("tipo reservorio") materiales poliméricos que recubren o abarcan el dispositivo médico. En el ejemplo de más adelante, el agente inhibidor puede ser atrapado dentro de los materiales polímeros o acoplado a los materiales poliméricos utilizando una o más de las técnicas para la generación de tales materiales conocidos en la técnica. En otras formulaciones, el agente inhibidor puede estar ligado a la superficie del dispositivo médico sin la necesidad de un recubrimiento por medio de enlaces desprendibles y liberación con el tiempo, se puede eliminar mediante procedimientos mecánicos o químicos activos, o está en una forma inmovilizada de forma permanente que presenta el agente inhibidor en el sitio de la implantación.

[0048] En una realización, el agente inhibidor se puede incorporar a composiciones poliméricas durante la formación de recubrimientos biocompatibles para dispositivos médicos, tales como estents. Los recubrimientos producidos a partir de estos componentes son típicamente homogéneos y son útiles para el recubrimiento de una serie de dispositivos diseñados para la implantación.

[0049] El polímero puede ser un polímero bioestable o bioabsorbible dependiendo de la tasa de liberación deseada o del grado deseado de estabilidad del polímero, pero se prefiere un polímero bioabsorbible para esta realización, ya

que, a diferencia del polímero bioestable, no estará presente mucho tiempo después de la implantación para causar cualquier respuesta local adversa, crónica. Los polímeros bioabsorbibles que podrían ser utilizados incluyen, pero no están limitados a, poli(ácido L-láctico), policaprolactona, poliglicólido (PGA), poli(láctida-co-glicólido) (PLLA/PGA), poli(hidroxibutirato), poli(hidroxibutirato-co-valerato), polidioxanona, poliortoéster, polianhídrido, poli(ácido glicólico), poli(ácido D-láctico), poli(ácido L-láctico), poli(ácido D,L-láctico), poli(D,L-láctida) (PLA), poli(L-láctida) (PLLA), poli(ácidoglicólico-co-carbonato de trimetileno) (PGA/PTMC), óxido de polietileno (PEO), polidioxanona (PDS), polifosfoéster, polifosfoéster uretano, poli(aminoácidos), cianoacrilatos, poli(carbonato de trimetileno), poli(iminocarbonato), copoli(éter-ésteres) (por ejemplo, PEO/PLA), oxalatos de copolímeros de haluro de vinilo, biomoléculas tales como fibrina, fibrinógeno, celulosa, almidón, colágeno y ácido hialurónico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos, copolímeros entrecruzados o en bloque anfipáticos de hidrogeles, y otros polímeros bioabsorbibles adecuados conocidos en la técnica. Asimismo, se podrían utilizar polímeros bioestables con una respuesta tisular crónica relativamente baja, tales como poliuretanos, siliconas, y poliésteres y también se podrían utilizar otros polímeros si pudieran ser disueltos o curados o polimerizados sobre el dispositivo médico tales como poliolefinas, poliisobutileno y copolímeros de etileno-alfoalefina; polímeros y copolímeros acrílicos, polímeros y copolímeros de haluro de vinilo, tales como poli(cloruro de vinilo); polivinilpirrolidona; poli(éteres de vinilo), tales como polivinil metil éter; poli(haluros de vinilideno), tales como poli(fluoruro de vinilideno) y poli(cloruro de vinilideno); poliacrilonitrilo, polivinil cetonas; compuestos aromáticos de polivinilo, tales como poliestireno, poli(ésteres de vinilo), tales como poli(acetato de vinilo); copolímeros de monómeros de vinilo entre sí y olefinas, tales como copolímeros de etileno-metacrilato de metilo, copolímeros de acrilonitrilo-estireno, resinas ABS, y copolímeros de etileno-acetato de vinilo; copolímero de pirano; polihidroxi-propil-metacrilamida-fenol; polihidroxi-etil-aspartamida-fenol; poli(óxido de etileno)-polilisina sustituido con residuos de palmitoilo; poliamidas, tales como Nylon 66 y policaprolactama; resinas alquídicas, policarbonatos; polioximetilenos; poliimidas; poliéteres; resinas epoxídicas, poliuretanos; rayón; rayón-triacetato; celulosa, acetato de celulosa, butirato de celulosa; acetato butirato de celulosa; celofán; nitrato de celulosa; propionato de celulosa; éteres de celulosa; y carboximetilcelulosa.

[0050] Polímeros y matrices de polímeros semipermeables se pueden formar a artículos conformados, tales como válvulas, estents, tubos y prótesis.

[0051] En una realización de la invención, el agente inhibidor de la invención está acoplado a un polímero o matriz de polímero semipermeable que se forma como un dispositivo de estent o injerto de estent.

[0052] Típicamente, los polímeros se aplican a la superficie de un dispositivo implantable mediante recubrimiento por centrifugación, inmersión o pulverización. También se pueden utilizar para este propósito métodos adicionales conocidos en la técnica. Los métodos de pulverización incluyen métodos tradicionales, así como técnicas de microdepósito con un dispensador de tipo inyección de tinta. Además, se puede depositar un polímero sobre un dispositivo implantable utilizando foto-patrones para colocar el polímero solo en porciones específicas del dispositivo. Este recubrimiento del dispositivo proporciona una capa uniforme alrededor del dispositivo que permite mejorar la difusión de diversos analitos a través del recubrimiento del dispositivo.

[0053] En realizaciones preferidas de la invención, el agente inhibidor se formula para la liberación desde el recubrimiento de polímero al entorno en el que se coloca el dispositivo médico. Preferiblemente, el agente inhibidor se libera de una manera controlada durante un período de tiempo prolongado (p. ej., meses) utilizando al menos una de varias técnicas bien conocidas que implican portadores o capas de polímeros para controlar la elución. Algunas de estas técnicas se describieron previamente en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. 20040243225A1.

[0054] Por otra parte, como se describe por ejemplo en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6.770.729, los reactivos y condiciones de reacción de las composiciones poliméricas pueden ser manipulados de manera que la liberación del agente inhibidor desde la capa de polímero pueda ser controlada. Por ejemplo, se puede modular el coeficiente de difusión de los uno o más recubrimientos poliméricos para controlar la liberación del agente inhibidor desde la capa de polímero. En una variación de este tema, se puede controlar el coeficiente de difusión de los uno o más recubrimientos de polímero para modular la capacidad de un analito que está presente en el entorno en el que se coloca el dispositivo médico (por ejemplo, un analito que facilita la descomposición o hidrólisis de alguna porción del polímero) para acceder a uno o más componentes dentro de la composición polimérica (y, por ejemplo, por lo tanto modular la liberación del agente inhibidor desde la capa de polímero). Sin embargo, otra realización de la invención incluye un dispositivo que tiene una pluralidad de recubrimientos de polímero, teniendo cada uno una pluralidad de coeficientes de difusión. En tales realizaciones de la invención, la liberación del agente inhibidor de la capa de polímero puede ser modulada por la pluralidad de recubrimientos de polímero.

[0055] En otra realización más de la invención, la liberación del agente inhibidor de la capa de polímero se controla mediante la modulación de una o más de las propiedades de la composición polimérica, tales como la presencia de uno o más compuestos endógenos o exógenos, o alternatively, el pH de la composición polimérica. Por ejemplo, ciertas composiciones poliméricas pueden ser diseñadas para liberar un agente inhibidor en respuesta a

una disminución en el pH de la composición polimérica. Alternativamente, ciertas composiciones poliméricas se pueden diseñar para liberar el agente inhibidor en respuesta a la presencia de peróxido de hidrógeno.

II. Métodos de tratamiento de enfermedades moduladas por CCR1

[0056] Se describen procedimientos de tratamiento de afecciones o enfermedades mediadas por CCR1, CCR2 y/o CCR3 por medio de la administración a un sujeto que tiene una enfermedad o afección, de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula I anterior. El "sujeto" se define aquí para incluir animales tales como mamíferos, incluyendo, pero no limitados a, primates (por ejemplo, seres humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, y ratones.

[0057] CCR1 proporciona una diana para interferir con o promover aspectos específicos de las funciones celulares inmunitarias, o más generalmente, con funciones asociadas con la expresión de CCR1 sobre una amplia gama de tipos de células en un mamífero, tal como un ser humano. Los compuestos que inhiben CCR1, son particularmente útiles para la modulación de la función de monocitos, macrófagos, linfocitos, granulocitos, células NK, mastocitos, células dendríticas, y ciertas células derivadas del sistema inmunitario (por ejemplo, osteoclastos) para fines terapéuticos. Por consiguiente, la presente invención se refiere a compuestos que son útiles en la prevención y/o tratamiento de una amplia variedad de trastornos y enfermedades inflamatorios e inmunorreguladores (véase Saeki, et al., Current Pharmaceutical Design 9: 1201-1208 (2003)).

[0058] Por ejemplo, se puede administrar un presente compuesto que inhibe una o más funciones de CCR1 para inhibir (es decir, reducir o prevenir) la inflamación o la infiltración celular asociada a un trastorno inmunitario. Como resultado, se pueden inhibir uno o más procesos inflamatorios, tales como la emigración o la infiltración de leucocitos, la quimiotaxis, la exocitosis (p. ej., enzimas, histamina) o liberación de mediadores inflamatorios. Por ejemplo, se puede inhibir la infiltración de monocitos a un sitio inflamatorio (p. ej., una articulación afectada en la artritis, o en el SNC en la EM).

[0059] Del mismo modo, se administra un presente compuesto que promueve una o más funciones de CCR1 para estimular (inducir o mejorar) una respuesta inflamatoria, tal como la emigración de leucocitos, la quimiotaxis, la exocitosis (p. ej., de enzimas, histamina) o la liberación de mediadores inflamatorios, dando como resultado la estimulación beneficiosa de procesos inflamatorios. Por ejemplo, los monocitos pueden ser reclutados para combatir las infecciones bacterianas.

[0060] Las enfermedades y afecciones asociadas con la inflamación, los trastornos inmunitarios, las enfermedades óseas, el cáncer y las infecciones se pueden tratar utilizando el método de la presente invención. En una realización preferida, la enfermedad o afección es una en la que las acciones de células inmunitarias tales como monocitos, macrófagos, linfocitos, granulocitos, células NK, mastocitos, células dendríticas, o ciertas células derivadas del sistema inmunitario (por ejemplo, osteoclastos) van a ser inhibidas o promovidas, con el fin de modular la respuesta inflamatoria o autoinmunitaria.

[0061] En un grupo de realizaciones, enfermedades o afecciones, incluyendo enfermedades crónicas, de seres humanos u otras especies pueden tratarse con moduladores de la función de CCR1, CCR2 o CCR3. Estas enfermedades o afecciones incluyen: (1) enfermedades alérgicas tales como anafilaxis sistémica o respuestas de hipersensibilidad, alergias a medicamentos, alergias a picaduras de insectos y alergias alimentarias, (2) enfermedades inflamatorias intestinales, como la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la ileítis y la enteritis, (3) vaginitis, (4) psoriasis y dermatosis inflamatorias tales como dermatitis, eczema, dermatitis atópica, dermatitis de contacto alérgica, urticaria y prurito, (5) vasculitis, (6) espondiloartropatías, (7) esclerodermia, (8) asma y enfermedades alérgicas respiratorias como el asma, el asma alérgica, la rinitis alérgica, las enfermedades pulmonares por hipersensibilidad y similares, (9) enfermedades autoinmunitarias, tales como la fibromialgia, la esclerodermia, la espondilitis anquilosante, la AR juvenil, la enfermedad de Still, la AR juvenil poliarticular, la AR juvenil pauciarticular, la polimialgia reumática, la artritis de Takayasu, la artritis reumatoide, la artritis psoriásica, la osteoartritis, la artritis poliarticular, la esclerosis múltiple, el lupus eritematoso generalizado, la diabetes tipo I, la diabetes tipo II, la diabetes de tipo I (aparición reciente), la neuritis óptica, la glomerulonefritis, y similares, (10) rechazo de injerto incluyendo el rechazo del aloinjerto y la enfermedad aguda y crónica de injerto contra anfitrión, (11) fibrosis (p. ej., fibrosis pulmonar (fibrosis pulmonar idiopática es decir, fibrosis pulmonar intersticial), fibrosis asociada con la enfermedad renal en etapa terminal, fibrosis causada por la radiación, fibrosis tubulointersticial, fibrosis subepitelial, escleroderma (esclerosis sistémica progresiva), fibrosis hepática (incluyendo la causada por alcoholismo o hepatitis viral), cirrosis primaria y secundaria), (12) inflamación pulmonar aguda y crónica (enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis crónica, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, síndrome de dificultad respiratoria de la infancia, alveolitis de complejo inmunitario) y (13) otras enfermedades en las que se van a inhibir respuestas inflamatorias o trastornos inmunitarios no deseados, tales como las enfermedades cardiovasculares, incluyendo la aterosclerosis, la inflamación vascular resultante de trasplante de tejido o durante la reestenosis (incluyendo, pero no limitadas a reestenosis después de angioplastia y/o inserción de un estent), otras afecciones inflamatorias agudas y crónicas tales como miositis, enfermedades neurodegenerativas (p. ej., la enfermedad de

Alzheimer), encefalitis, meningitis, hepatitis, nefritis, sepsis, sarcoidosis, conjuntivitis alérgica, otitis, sinusitis, inflamación sinovial causada por artroscopia, hiperuremia, trauma, lesión por isquemia-reperfusión, poliosis nasal, preeclampsia, liquen plano oral, Síndrome de Guillain-Barré, enfermedades granulomatosas, afecciones asociadas con la producción de leptina, síndrome de Behcet y gota y en aplicaciones para cicatrización de heridas (14) alergias alimentarias mediadas por el sistema inmunitario, tales como la enfermedad Celíaca.

[0062]En otro grupo de realizaciones, la enfermedades o afecciones pueden ser tratadas con moduladores de la función de CCR1. Los ejemplos de las enfermedades a ser tratadas con moduladores de la función de CCR1 incluyen cánceres (tanto primario como metastásico) (p. ej., mieloma múltiple; Hata, H., *Leukemia & Lymphoma*, 2005, 46(7); 967-972), enfermedades cardiovasculares, enfermedades osteolíticas incluyendo osteoporosis (y osteoporosis post-menopáusica), hipercalcemia, enfermedad de Paget, osteodistrofia renal, artritis reumatoide, osteoartritis, metástasis óseas líticas, y mieloma múltiple, enfermedades en las que la angiogénesis o la neovascularización juegan un papel (enfermedades neoplásicas, retinopatía y degeneración macular), enfermedades infecciosas (infecciones virales, p. ej., infección por VIH, e infecciones bacterianas) y enfermedades inmunosupresoras tales como las afecciones del trasplante de órganos y las afecciones del trasplante de piel. Se pretende que el término "afecciones del trasplante de órganos" incluya las afecciones del trasplante de médula ósea y las afecciones del trasplante de órganos sólidos (p. ej., riñón, hígado, pulmón, corazón, páncreas o combinaciones de los mismos).

[0063]Las composiciones farmacéuticas de esta invención también pueden inhibir la producción de metaloproteinasas y citoquinas en sitios inflamatorios, ya sea directa o indirectamente (como consecuencia de la disminución de la infiltración celular) proporcionando así beneficios para enfermedades o afecciones relacionadas con estas citoquinas.

[0064]Los compuestos de la presente invención son por consiguiente útiles en la prevención y tratamiento de una amplia variedad de trastornos y enfermedades inflamatorios e inmunorreguladores.

[0065]Dependiendo de la enfermedad que se vaya a tratar y el estado del sujeto, los compuestos de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral (p. ej., intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, ICV, inyección o infusión intracisternal, inyección subcutánea, o implante), mediante aerosol para inhalación, nasal, vaginal, rectal, sublingual, o rutas tópicas de administración y se pueden formular, solos o juntos, en formulaciones de dosificación unitaria que contienen portadores, coadyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables, no tóxicos, convencionales apropiados para cada ruta de administración.

[0066]En el tratamiento o la prevención de afecciones que requieren la modulación del receptor de quimiocinas un nivel de dosificación apropiado generalmente será de aproximadamente 0,001 a 100 mg por kg de peso corporal del paciente por día que puede administrarse en dosis únicas o múltiples. Preferiblemente, el nivel de dosificación será de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 mg/kg por día; más preferiblemente de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10 mg/kg por día. Un nivel de dosificación adecuado puede ser de aproximadamente 0,01 a 25 mg/kg por día, de aproximadamente 0,05 a 10 mg/kg por día, o de aproximadamente 0,1 a 5 mg/kg por día. Dentro de este intervalo la dosificación puede ser de 0,005 a 0,05, de 0,05 a 0,5 o de 0,5 a 5,0 mg/kg por día. Para la administración oral, las composiciones se proporcionan preferiblemente en forma de comprimidos que contienen de 1,0 a 1000 miligramos del ingrediente activo, particularmente 1,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 50,0, 75,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 400,0, 500,0, 600,0, 750,0, 800,0, 900,0, y 1000,0 miligramos del ingrediente activo para el ajuste sintomático de la dosificación al paciente que se vaya a tratar. Los compuestos se pueden administrar en un régimen de 1 a 4 veces por día, preferiblemente una o dos veces por día.

[0067]Se entenderá, sin embargo, que el nivel de dosis específico y la frecuencia de dosificación para cualquier paciente particular puede variarse y dependerá de una variedad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, las características hereditarias, la salud general, sexo y dieta del sujeto, así como el modo y tiempo de administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos y la gravedad de la afección concreta para el sujeto sometido a la terapia.

[0068]Las enfermedades y las afecciones asociadas con la inflamación, los trastornos inmunitarios, las infecciones y el cáncer se pueden tratar o prevenir con los presentes compuestos, composiciones y métodos.

[0069]Los compuestos y composiciones de la presente invención se pueden combinar con otros compuestos y composiciones que tienen utilidades relacionadas para prevenir y tratar la afección o enfermedad de interés, tales como trastornos, afecciones y enfermedades inflamatorios o autoinmunitarios, incluyendo la enfermedad inflamatoria intestinal, la artritis reumatoide, la osteoartritis, la artritis psoriásica, la artritis poliarticular, la esclerosis múltiple, las enfermedades alérgicas, la psoriasis, la dermatitis atópica y el asma, y aquellas patologías indicadas anteriormente.

[0070]Por ejemplo, en el tratamiento o prevención de la inflamación o la autinmunitad o por ejemplo la pérdida ósea

asociada a la artritis, los presentes compuestos y composiciones se pueden utilizar junto con un agente antiinflamatorio o analgésico tal como un agonista opiáceo, un inhibidor de lipoxigenasa, tal como un inhibidor de la 5-lipoxigenasa, un inhibidor de la ciclooxigenasa, tal como un inhibidor de la ciclooxigenasa-2, un inhibidor de interleucina, tal como un inhibidor de interleucina-1, un antagonista de NMDA, un inhibidor de óxido nítrico o un inhibidor de la síntesis de óxido nítrico, un agente anti-inflamatorio no esteroideo, o un agente anti-inflamatorio supresor de citocinas, por ejemplo con un compuesto tal como acetaminofeno, aspirina, codeína, fentanilo, ibuprofeno, indometacina, ceterolaco, morfina, naproxeno, fenacetina, piroxicam, un analgésico esteroideo, sufentanilo, sunlindaco, tenidap, y similares. Del mismo modo, los presentes compuestos y composiciones se pueden administrar con un analgésico enumerado anteriormente; un potenciador tal como cafeína, un antagonista de H₂ (p. ej., ranitidina), simeticona, hidróxido de aluminio o magnesio; un descongestionante tal como la fenilefrina, fenilpropanolamina, pseudoefedrina, oximetazolina, epinefrina, nafazolina, xilometazolina, propilhexedrina o levo desoxi efedrina; un antitusivo, tal como la codeína, hidrocodona, caramifeno, carbetapentano, o dextrometorfano; un diurético; y un antihistamínico sedante o no sedante.

[0071] Del mismo modo, los compuestos y composiciones de la presente invención se pueden utilizar combinados con otros fármacos que se utilizan en el tratamiento, prevención, supresión o mejora de las enfermedades o afecciones para las que los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles. Tales otros fármacos pueden administrarse, por una ruta y en una cantidad utilizadas comúnmente para ello, contemporáneamente o secuencialmente con un compuesto o composición de la presente invención. Cuando se utiliza un compuesto o composición de la presente invención contemporáneamente con uno o más de otros fármacos, se prefiere una composición farmacéutica que contenga dichos otros fármacos además del compuesto o composición de la presente invención. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen aquellas que también contienen uno o más de otros ingredientes activos o agentes terapéuticos, además de un compuesto o composición de la presente invención. Los ejemplos de los otros agentes terapéuticos que se pueden combinar con un compuesto o composición de la presente invención, ya sea administrados por separado o en las mismas composiciones farmacéuticas, incluyen, pero no se limitan a: (a) antagonistas de VLA-4, (b) corticosteroides, tales como beclometasona, metilprednisolona, betametasona, prednisona, prenisolona, dexametasona, fluticasona, hidroclortisona, budesonida, triamcinolona, salmeterol, salmeterol, salbutamol, formeterol; (c) inmunosupresores tales como ciclosporina (ciclosporina A, Sandimmune®, Neoral®), tacrolimus (FK-506, Prograf®), rapamicina (sirolimus, Rapamune®) y otros inmunosupresores de tipo FK-506, y micofenolato, p. ej., micofenolato de mofetilo (CellCept®); (d) antihistamínicos (antagonistas de histamina H₁), tales como bromofeniramina, clorfeniramina, dexclorfeniramina, triprolidina, clemastina, difenhidramina, difenilpiralina, tripelenamina, hidroxizina, metildazina, prometazina, trimeprazina, azatadina, ciproheptadina, antazolina, pirlamina, feniramina, astemizol, terfenadina, loratadina, cetirizina, fexofenadina, descarboetoxiloratadina, y similares; (e) antiasmáticos no esteroideos (p. ej., terbutalina, metaproterenol, fenoterol, isoetarina, albuterol, bitolterol y pirbuterol), teofilina, cromoglicato sódico, atropina, bromuro de ipratropio, antagonistas de los leucotrienos (p. ej., zafirlukast, montelukast, pranlukast, iralukast, pobilukast y SKB-106203), inhibidores de la biosíntesis de leucotrienos (zileuton, BAY-1005); (f) agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINE) tales como derivados del ácido propiónico (p. ej., alminoprofeno, benoxaprofeno, ácido buclórico, carprofeno, fenbufeno, fenoprofeno, fluprofeno, flurbiprofeno, ibuprofeno, indoprofeno, cetoprofeno, mioprofeno, naproxeno, oxaprozina, piroprofeno, pranoprofeno, suprofeno, ácido tiaprofénico y tioaxaprofeno), derivados del ácido acético (p. ej., indometacina, acemetacina, alclofenaco, clidanaco, diclofenaco, fenclofenaco, ácido fenclózico, fentiazaco, furofenaco, ibufenaco, isoxepaco, oxpinaco, sulindaco, tiopinaco, tolmetina, zidometacina y zomepirac), derivados del ácido fenámico (p. ej., ácido flufenámico, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, ácido niflúmico y ácido tolfenámico), derivados del ácido bifenilcarboxílico (p. ej., diflunisal y flufenisal), oxicamos (p. ej., isoxicamo, piroxicamo, sudoxicamo y tenoxicamo), salicilatos (p. ej., ácido acetilsalicílico y sulfasalazina) y pirazonas (p. ej., apazona, bezpiperilona, feprazona, mofebutazona, oxifenbutazona y fenilbutazona); (g) inhibidores de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) tales como celecoxib (Celebrex®) y rofecoxib (Vioxx®); (h) inhibidores de la fosfodiesterasa tipo IV (PDE IV); (i) compuestos de oro tales como auranofina y aurotioglucosa, (j) etanercept (Enbrel®), (k) terapias con anticuerpos tales como ortoclona (OKT3), daclizumab (Zenapax®), basiliximab (Simulect®) e infliximab (Remicade), (l) otros antagonistas de los receptores de quimiocinas, especialmente CCR5, CXCR2, CXCR3, CCR2, CCR3, CCR4, CCR7, CX₃CR1 y CXCR6; (m) lubricantes o emolientes tales como vaselina y lanolina, (n) agentes queratolíticos (p. ej. tazaroteno), (o) derivados de vitamina D₃, p. ej., calcipotrieno o calcipotriol (Dovonex®), (p) PUVA, (q) antralina (Drithrocreme®), (r) etretinato (Tegison®) e isotretinoína y (s) agentes terapéuticos para la esclerosis múltiple tales como interferón β-1β (Betaseron®), interferón β-1α (Avonex®), azatioprina (Imurek®, Imuran®), acetato de glatiramer (Capoxone®), un glucocorticoide (p. ej., prednisolona) y ciclofosfamida (t) DMARDS tales como metotrexato (u) otros compuestos tales como ácido 5-aminosalicílico y profármacos de los mismos; hidroxiclороquina; D-penicilamina; antimetabolitos tales como azatioprina, 6-mercaptopurina y metotrexato; inhibidores de la síntesis de ADN tales como hidroxiurea y disruptores de microtúbulos tales como colchicina. La razón en peso del compuesto de la presente invención con respecto al segundo ingrediente activo se puede variar y dependerá de la dosis eficaz de cada ingrediente. Generalmente, se utilizará una dosis eficaz de cada uno. Así, por ejemplo, cuando un compuesto de la presente invención se combina con un NSAID, la razón en peso del compuesto de la presente invención con respecto al NSAID variará generalmente de aproximadamente 1000:1 a aproximadamente 1:1000, preferiblemente de aproximadamente 200:1 a aproximadamente 1:200. Las combinaciones de un compuesto de la presente invención y

otros ingredientes activos estarán generalmente también estar dentro del intervalo anteriormente mencionado, pero en cada caso, se debe utilizar una dosis eficaz de cada ingrediente activo.

V. Ejemplos

[0072] Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar la invención reivindicada.

[0073] Reactivos y disolventes utilizados a continuación se pueden obtener de fuentes comerciales tales como Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, USA). RMN H^1 se registraron en un espectrómetro de RMN Varian Mercury a 400 MHz. Los picos significativos se proporcionan con respecto a TMS y se tabulan en el orden: multiplicidad (s, singlete; d, doblete; t, triplete; c, cuartete; m, multiplete) y número de protones. Los resultados de la espectrometría de masas son referidos como la razón de la masa sobre la carga, seguida de la abundancia relativa de cada ion (entre paréntesis). En las tablas, un solo se informa sobre un valor m/e para el ion $M + H$ (o, cuando se señale, MH) que contiene los isótopos atómicos más comunes. Los patrones isotópicos corresponden a la fórmula esperada en todos los casos. El análisis de espectrometría de masas de ionización por electropulverización (ESI) se llevó a cabo en un espectrómetro de masas de electrospray Hewlett-Packard MSD utilizando la HPLC HP1100 equipada con una columna de 5 μ Agilent Zorbax SB-C18, 2,1X50 mm, para la liberación de la muestra. Normalmente el analito se disolvió en metanol a 0,1 mg/mL y se infundió 1 microlitro con el disolvente de liberación en el espectrómetro de masas, que escaneó de 100 a 1500 daltons. Todos los compuestos pudieron ser analizados en el modo ESI positivo, utilizando acetonitrilo/agua con ácido fórmico al 1% como disolvente de liberación. Los compuestos proporcionados a continuación también se pudieron analizar en el modo ESI negativo, utilizando NH_4OAc 2 mM en acetonitrilo/agua como sistema de liberación.

[0074] Las siguientes abreviaturas se usan en los Ejemplos y en toda la descripción de la invención:

DMF, Dimetilformamida; TFA, Ácido Trifluoroacético; THF, Tetrahidrofurano; EtOAc, Acetato de etilo; BOC_2O , Bicarbonato de di-terc-butilo o anhídrido BOC; HPLC, Cromatografía Líquida de Alta Presión; DIPEA, Diisopropiletilamina; HCTU, Hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-5-cloro-1H-benzotriazol-3-óxido (1-); HBTU, Hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio; dppf, 1,1'-Bis(difenilfosfina)ferroceno; Pd_{23} , Tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0); DIPEA, diisopropiletilamina; DMP, ftalato de dimetilo; Me, metilo; Et, etilo; DCM, diclorometano.

[0075] Los compuestos dentro del alcance de esta invención pueden sintetizarse como se describe a continuación, utilizando una variedad de reacciones conocidas por el experto en la técnica. Un experto en la técnica también reconocerá que se pueden emplear métodos alternativos para sintetizar los compuestos diana de esta invención, y que los enfoques descritos en el cuerpo de la presente memoria no son exhaustivos, pero sí ofrecen rutas ampliamente aplicables y prácticas para los compuestos de interés.

[0076] Ciertas moléculas reivindicadas en esta patente pueden existir en diferentes formas enantioméricas y diastereoméricas y se reivindican todas estas variantes de estos compuestos.

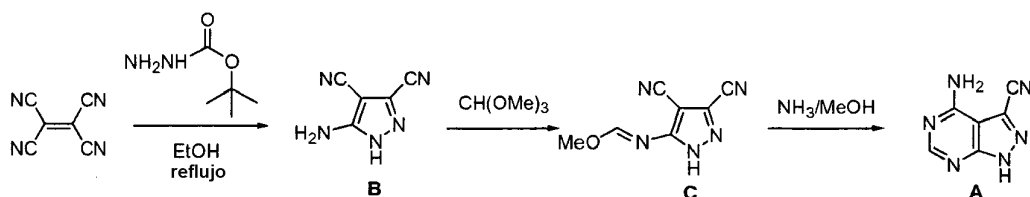
[0077] La descripción detallada de los procedimientos experimentales utilizados para sintetizar compuestos clave en este texto conduce a moléculas que son descritas por los datos físicos que las identifican, así como por las representaciones estructurales asociadas con las mismas.

[0078] Los expertos en la técnica reconocerán también que durante los procedimientos de trabajo convencionales de la química orgánica, los ácidos y las bases se utilizan con frecuencia. Las sales de los compuestos parentales a veces se producen, si poseen la acidez o alcalinidad intrínseca necesaria, durante los procedimientos experimentales descritos en esta patente.

Ejemplo 1

[0079] Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il]etanol

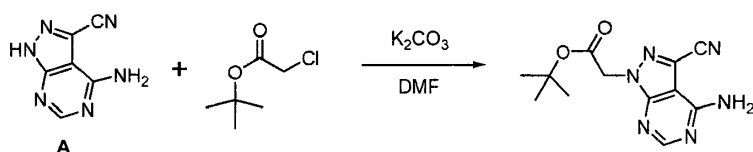
Etapa 1: 4-amino-1H-pirazol[3,4-d]pirimidina-3-carbonitrilo



[0081] A una disolución de éster *terc*-butilico de ácido hidrazincarboxílico (129 g, 0,976 moles) en etanol (700 mL) colocada en un baño de hielo se le añadió 2,3-diciano-but-2-enodinitrilo (125 g, 0,976 moles) en porciones manteniendo la temperatura interna por debajo de 16°C. Una vez completada la adición, la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h, se concentró y se secó a vacío para proporcionar 5-amino-1*H*-pirazol-3,4-dicarbonitrilo. EM (ES) *m/z* 134,1 ($M + H^+$).

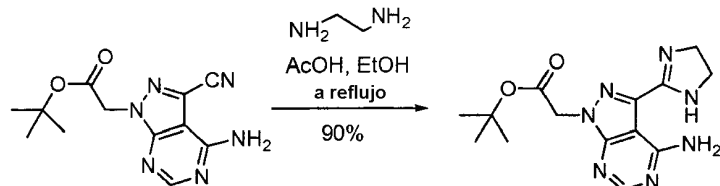
[0082] El 5-Amino-1*H*-pirazol-3,4-dicarbonitrilo obtenido anteriormente se sometió a reflujo en ortoformiato de trimetilo (1 L) durante 8 h. La mezcla se concentró y se secó a vacío para proporcionar éster metílico del ácido *N*-(4,5-diciano-2*H*-pirazol-3-il)-formimídico, que se disolvió en metanol (400 mL), se enfrió a 0°C, y se trató con NH_3 7 N en metanol (1 L). La mezcla resultante se dejó calentando a temperatura ambiente durante la noche y se filtró. El sólido se lavó con una mezcla 2:1 de MeOH- H_2O (100 mL), acetona (100 mL) y éter (100 mL), después se secó a vacío para proporcionar 4-amino-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-3-carbonitrilo (79 g, rendimiento 50%). EM (ES) *m/z* 161,0 ($M + H^+$).

Etapla 2: 2-(4-Amino-3-ciano-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il)acetato de *terc*-butilo



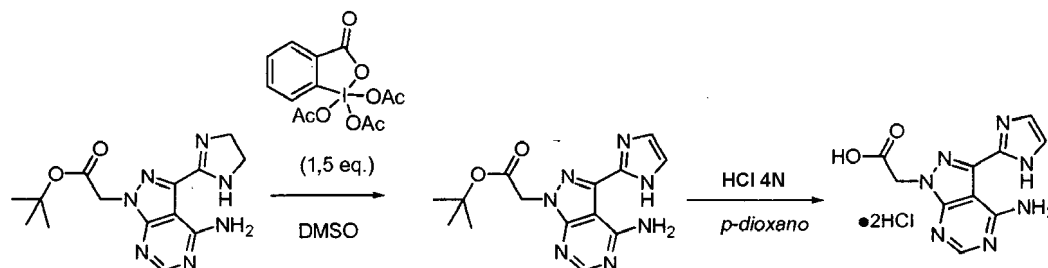
[0084] A una mezcla de 4-amino-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-3-carbonitrilo (76,6 g, 0,476 moles) y carbonato de potasio (197 g, 1,427 mmoles) en DMF (680 mL) a 0°C se le añadió cloroacetato de *terc*-butilo (68,1 ml, 0,476 moles) gota a gota manteniendo la temperatura interna por debajo de 20°C. La mezcla resultante se agitó durante 22 h, se filtró y se lavó con EtOAc (100 ml x 2). El sólido obtenido se suspendió en agua con hielo (1,5 L), se filtró, se lavó con agua con hielo (500 mL) y éter (100 ml x 2), después se secó a vacío para proporcionar 2-(4-amino-3-ciano-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il)acetato de *terc*-butilo (81,6 g, rendimiento del 62,3%). EM (ES) *m/z* 275,0 ($M + H^+$).

Etapla 3: 2-(4-Amino-3-(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il)acetato de *terc*-butilo



[0086] A una mezcla de éster *terc*-butilico de ácido (4-amino-3-ciano-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il)-acético (80 g, 0,291 moles) y EtOH (800 mL) en un baño de agua con hielo se le añadió ácido acético (67 mL) y después etilendiamina (195 mL). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 90 min, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El sólido se suspendió en agua (1 L), se filtró y se secó a vacío para proporcionar 2-(4-amino-3-(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il)acetato de *terc*-butilo (84,6 g, rendimiento 90%). EM (ES) *m/z* 318,1 ($M + H^+$).

Etapla 4: Dihidrocloruro de ácido (2-(4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il)acético

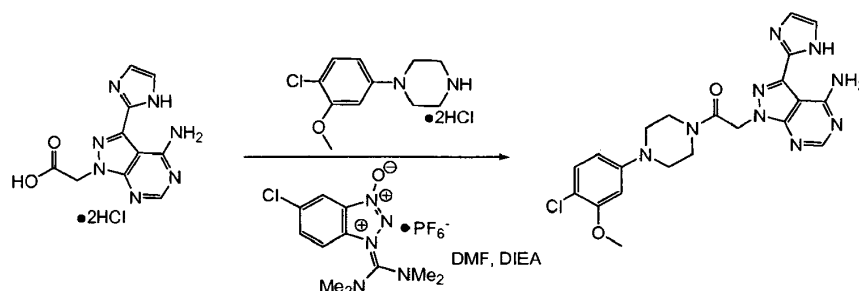


[0088] A una mezcla de 2-(4-amino-3-(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il)acetato de *terc*-butilo (84 g, 0,265 moles) y DMSO (900 mL) en un baño de agua con hielo se le añadió peryodinano de Dess-Martin (169,6 g, 0,4 moles) en porciones, manteniendo la temperatura interna por debajo de 25°C. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y después se vertió en agua con hielo (2 L) que contenía 84 g de $Na_2S_2O_3$. La mezcla se ajustó a pH 12-14 con NaOH 3 N y se filtró para proporcionar un sólido, que se lavó con agua, se

resuspendió en agua con hielo (2 L), se filtró, se lavó con agua (500 mL), EtOAc (100 ml x 2) y Et₂O (100 ml x 2) y se secó a vacío para proporcionar éster terc-butílico de ácido (2-(4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il)acético (66,2 g, rendimiento 80%). EM (ES) *m/z* 316,1 (*M* + *H*⁺).

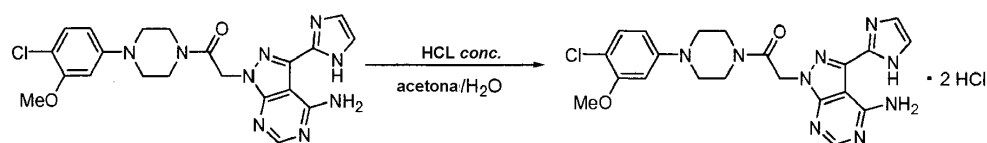
[0089] El éster terc-butílico de ácido (2-(4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il)acético (61 g, 193 mmoles) se trató con HCl 4 N en dioxano (700 mL) a reflujo durante 2 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, el sólido se recogió por filtración, se lavó con EtOAc (80 ml x 2) y Et₂O (100 mL) y se secó a vacío para proporcionar ácido (2-(4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il)acético en forma de una sal dihidrocloruro (66 g, cuantitativo). EM (ES) *m/z* 260,1 (*M* + *H*⁺).

Etapas 5: 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il]etanona



[0091] El dihidrocloruro de ácido [4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]acético (79 g, 0,238 moles) y dihidrocloruro de 1-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazina (71,3 g, 0,238 mol) se suspendieron en DMF anhidro (793 mL) y se enfriaron en un baño de hielo. Se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (290 ml, 1,67 moles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que todos los sólidos se disolvieron para formar una disolución de color pardo. Se añadió en porciones HCTU (113,23 g, 0,273 moles) a lo largo de 10 min mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 20°C. Después de 3 h, la mezcla de reacción se vertió lentamente en un matraz de agua con hielo agitada vigorosamente (6 L) para proporcionar una suspensión, que se agitó durante 1 h, se filtró, y se lavó con una disolución saturada de NaHCO₃ (500 ml x 2) y agua (500 ml x 2). El sólido se purificó mediante trituración en MeCN a reflujo (2 x 500 mL) para proporcionar 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il]etanona (90,5 g, rendimiento 81%, > 98% pura mediante LC-MS). RMN ¹H (400 MHz, d₆-DMSO) δ 13,0 (s, 1H), 10,14 (d, 1H, *J* = 3,7 Hz), 8,16 (s, 1H), 7,95 (d, 1H, *J* = 3,7 Hz), 7,25 (dd, 1H, *J* = 1,03 y 1,36 Hz), 7,20 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz), 7,16 (s, 1H), 6,70 (d, 1H, *J* = 2,4 Hz), 6,52 (dd, 1H, *J* = 2,4 y 8,8 Hz), 5,37 (s, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,74 (t, 2H, *J* = 4,8 Hz), 3,58 (t, 2H, *J* = 4,8 Hz), 3,28 (t, 2H, *J* = 4,8 Hz), 3,17 (t, 2H, *J* = 4,8 Hz). RMN ¹³C (100,6 MHz, d₆-DMSO) δ 165,3, 159,0, 157,3, 155,7, 155,5, 151,6, 141,2, 136,6, 130,3, 128,7, 119,0, 111,9, 109,0, 101,9, 98,0, 56,7, 49,4, 48,9, 48,8, 44,7, 42,1; IR (KBr) 3219, 2937, 1682, 1638, 1594, 1567 cm⁻¹; EM (ES) *m/z* 468,1 (*M* + *H*⁺). Anal. Calculado para C₂₁H₂₂N₉O₂Cl 0,85 H₂O: C, 52,20; H, 4,94; N, 26,09; Cl, 7,34. Encontrado: C, 51,92; H, 4,68; N, 26,44; Cl, 7,18.

Etapas 6: Sal dihidrocloruro de 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il]etanona

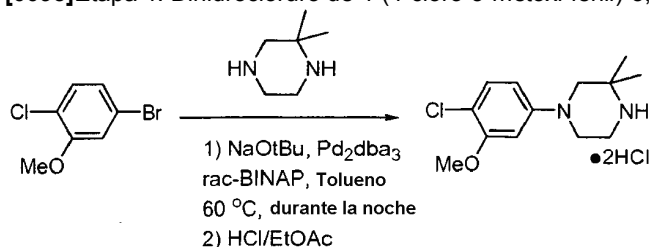


[0093] A una mezcla de 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il]etanona (50 g, 0,1068 moles), H₂O (250 mL), y acetona (750 mL) a 60°C se le añadió HCl concentrado (22,3 ml, 0,267 mol, 2,50 equiv) gota a gota para proporcionar una disolución de color pardo. Después de 90 minutos, formó una suspensión espesa de color canela. La suspensión se diluyó a una concentración final de 0,03 M mediante la adición gota a gota de acetona (2,1 L) mientras se mantenía la temperatura interna entre 58°C y 62°C. La mezcla resultante se agitó a 60°C durante otros 90 min, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El sólido se lavó con acetona (60 ml x 2) y se secó a vacío para proporcionar sal dihidrocloruro de 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il]etanona (49,2 g, rendimiento 80%, >99% pura mediante LC-MS) en forma de prismas finos de color canela. RMN ¹H (400 MHz, d₆-DMSO) δ 13,45 (s, 1H), 11,92 (s, 1H), 9,43 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,33 (s, 2H), 7,22 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz), 6,72 (d, 1H, *J* = 2,4 Hz), 6,55 (dd, 1H, *J* = 2,4 y 8,8 Hz), 5,54 (s, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,76 (t, 2H, *J* = 4,8 Hz), 3,61 (t, 2H, *J* = 4,8 Hz), 3,31 (t, 2H, *J* = 4,8 Hz), 3,20 (t, 2H, *J* = 4,8 Hz). EM (ES) *m/z* 468,1 (*M* + *H*⁺). Anal. Calculado para C₂₁H₂₂N₉O₂Cl·1,75HCl·1,75H₂O: C, 44,07; H, 4,84; N, 22,02; Cl, 18,58. Encontrado: C, 43,89; H, 4,48; N, 22,0; Cl, 18,26. KF (H₂O) Calculado para C₂₁H₂₂N₉O₂Cl·2HCl·1,75H₂O: 5,51%. Encontrado: 5,14%.

Ejemplo 2

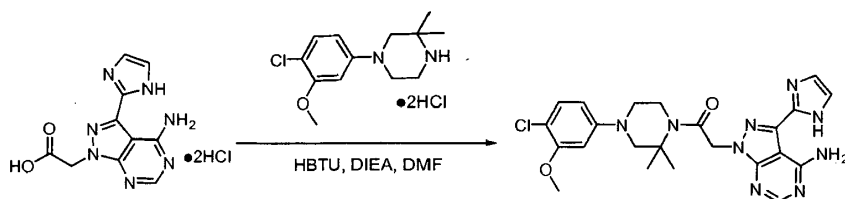
[0094] Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)-2,2-dimetilpiperazin-1-il]etanona

[0095] Etapa 1: Dihidrocloreto de 4-(4-cloro-3-metoxi-fenil)-3,3-dimetilpiperazina



[0096] Una mezcla de 5-bromo-2-cloroanisol (3,70 g, 16,7 mmoles, 1 equiv), 2,2-dimetilpiperazina (2,2 g, 1,2 equiv) y *rac*BINAP (1,04 g, 0,1 equiv) en tolueno (35 mL) se desgasificó con nitrógeno comprimido durante 5 min. A la mezcla se le añadieron NaOtBu (2,3 g, 1,4 equiv) y Pd₂(dba)₃ (54 mg, 0,005 equiv). La mezcla resultante se calentó a 60°C durante la noche y se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió EtOAc (~ 200 mL) y la mezcla se filtró a través de celite. El producto filtrado se lavó con K₂CO₃ (acuoso saturado (200 mL), NaHCO₃ acuoso saturado (200 mL), y salmuera (200 mL) secuencialmente y después se secó sobre sulfato de magnesio. El residuo resultante después de la evaporación se disolvió en EtOAc (100 mL) y se trató con HCl 2 N en Et₂O (100 mL) a temperatura ambiente durante 2 h. Un sólido se recogió mediante filtración y se secó a vacío para proporcionar dihidrocloreto de 4-(4-cloro-3-metoxi-fenil)-3,3-dimetilpiperazina (4,0 g). EM (ES) *m/z* 255,1 (M + H⁺).

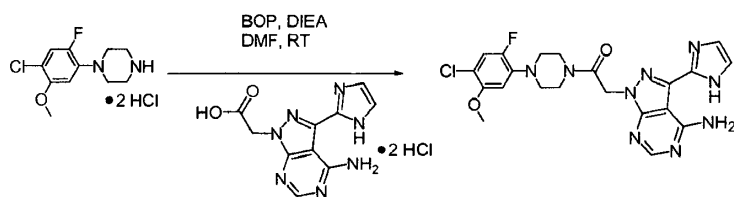
Etapa 2: 2-[4-Amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)-2,2-dimetilpiperazin-1-il]etanona



[0098] El dihidrocloreto de ácido [4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]acético (100 mg, 0,2 mmoles) y dihidrocloreto de 1-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)-3,3-dimetilpiperazin-1-il]etanona (100 mg, 0,3 mmoles) se suspendieron en DMF anhidra (2,5 mL). Se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,32 mL, 1 mmol) a 0°C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que todos los sólidos se disolvieron para proporcionar una disolución de color pardo. Se añadió HBTU (114 mg, 0,3 mmoles). Después de 2 h, la mezcla de reacción se vertió lentamente en un matraz de agua con hielo agitada vigorosamente (100 mL). La suspensión resultante se extrajo con diclorometano (100 mL) y se lavó con una disolución saturada de NaHCO₃ (100 mL), salmuera (100 mL) y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida para proporcionar 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)-2,2-dimetilpiperazin-1-il]etanona en forma de un sólido de color canela claro (45 mg) después de la evaporación y el secado a vacío. RMN H1 (400 MHz, d₆-DMSO) δ 10,14 (d, 1H, *J* = 3,6 Hz), 8,16 (s, 1H), 7,95 (d, 1H, *d*, *J* = 3,6 Hz), 7,24 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 7,14 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz), 6,40 (d, 1H, *J* = 2,4 Hz), 6,31 (dd, 1H, *J* = 2,4 y 8,8 Hz), 5,29 (s, 2H), 3,90 (t, 2H, *J* = 5,4 Hz), 3,84 (s, 3H), 3,46 (t, 2H, *J* = 5,4 Hz), 3,30 (s, 2H), 1,38 (s, 6H). EM (ES) *m/z* 496,1 (M + H⁺).

Ejemplo 3

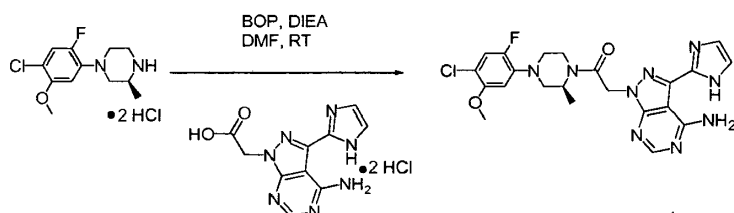
[0099] Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-2-fluoro-5-metoxifenil)-piperazin-1-il]etanona



[0100] Una mezcla de sal de dihidrocloruro de 1-(4-cloro-2-fluoro-5-metoxifenil)piperazina (65,2 mg, 0,206 mmoles, 1 equiv), ácido [4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]acético (50 mg, 1 equiv), reactivo BOP (109 mg, 1,7 equiv) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,165 mL, 5 equiv) en DMF (0,5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La purificación mediante HPLC de fase inversa (acetonitrilo- H_2O con TFA al 0,1% como eluyente) proporcionó 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-2-fluoro-5-metoxifenil)-piperazin-1-il]etanona. EM (ES) m/z 486,5 ($M + H^+$).

Ejemplo 4

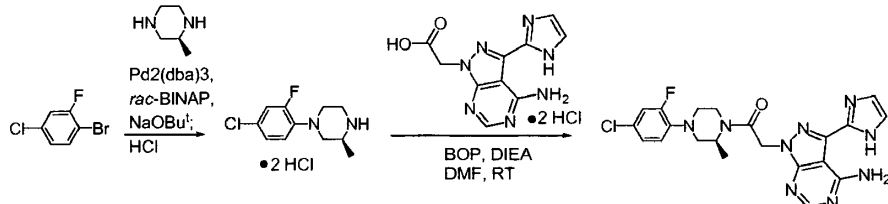
[0101] Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-2-fluoro-5-metoxifenil)-2-metilpiperazin-1-il]etanona



[0102] El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 3 utilizando dihidrocloruro de ácido 1-(4-cloro-2-fluoro-5-metoxifenil)-3-metilpiperazina. RMN H^1 (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 14,20 (ancho, 2H), 10,28 (ancho, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,93 (br s, 1H), 7,33 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz), 7,17 (s, 1H), 6,71 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 5,44 (m, 1H), 5,21 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz), 4,54 (m, 0,5H), 4,39 (m, 0,5H), 4,19 (m, 0,5H), 3,97 (m, 0,5H), 3,84 (s, 3H), 3,56 (m, 0,5 Hz), 3,40 (m, 2H), 3,08 (m, 0,5H), 2,96 (m, 0,5H), 2,85 (m, 1H), 2,72 (m, 0,5H), 1,42 (d, 1H, $J = 6,0$ Hz), 1,24 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz). EM (ES) m/z 500,5 ($M + H^+$).

Ejemplo 5

[0103] Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metilpiperazin-1-il]etanona



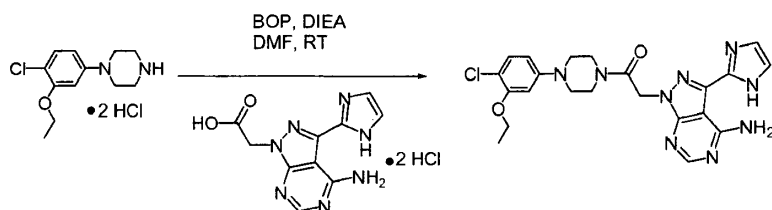
Etapas 1: 1-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-3-metilpiperazina

[0104] Se suspendieron en tolueno (60 mL) 1-bromo-4-cloro-2-fluorobenceno (5 g, 23,9 mmoles, 1 equiv), 2-metilpiperazina (2,8 g, 1,15 equiv), tris-bencilidinoacetona-dipaladio (0) (0,43 g, 0,05 equiv), *rac*BINAP (0,89 g, 0,15 equiv), *tert*-butoxido de sodio (3,2 g, 1,4 equiv), y la mezcla se calentó a 65°C durante la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió acetato de etilo (100 mL). El producto precipitado de color negro se eliminó mediante filtración. El producto filtrado se lavó con una disolución de carbonato de potasio 3N dos veces. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se neutralizó con HCl 2 N-éter. El sólido se recogió mediante filtración, se lavó con éter y se secó a vacío para proporcionar 1-(4-cloro-2-fluorofenil)-3-metilpiperazina en forma de una sal dihidrocloruro.

[0105] Etapa 2: El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 3 utilizando 1-(4-cloro-2-fluorofenil)-3-metilpiperazina. RMN H^1 (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,38 (ancho, 1H), 10,26 (ancho, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,24 (m, 2H), 7,17 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 7,04 (d, 2H, $J = 2$ Hz), 6,80 (t, 1H, $J = 8,8$ Hz), 5,93 (br s, 1H), 5,24 (m, 2H), 4,81 (s, 0,5H), 4,47 (d, 0,5H, $J = 12$ Hz), 4,20 (s, 0,5H), 3,68 (m, 1H), 3,31 (m, 2H), 2,88 (t, 1H, $J = 16$ Hz), 2,76 (dd, 1H, $J = 12, 3,6$ Hz), 1,50 (d, 1,5H, $J = 5,2$ Hz), 1,39 (d, 1,5H, $J = 6,4$ Hz). EM (ES) m/z 470,5 ($M + H^+$).

Ejemplo 6

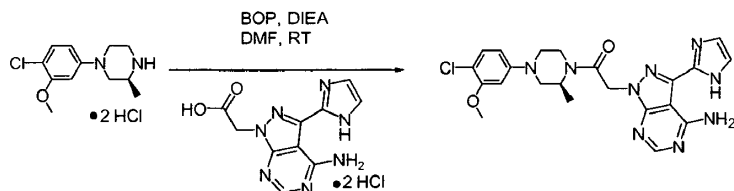
[0106] Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1*H*-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-*d*]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-etoxifenil)-piperazin-1-il]etanona



[0107]El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 3 utilizando dihidrocloruro de 1-(4-cloro-3-etoxifenil)piperazina. RMN H1 (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 14,20 (ancho, 1H), 10,13 (ancho, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,98 (d, 1H, $J = 4$ Hz), 7,25 (s, 1H), 7,19 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,15 (s, 1H), 6,68 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 6,51 (dd, 1H, $J = 8,8, 2,8$ Hz), 5,36 (s, 2H), 4,09 (q, 2H, $J = 6,4$ Hz), 3,73 (ancho, 2H), 3,57 (ancho, 2H), 3,26 (ancho, 2H), 1,34 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz). EM (ES) m/z 482,5 ($M + H^+$).

Ejemplo 7

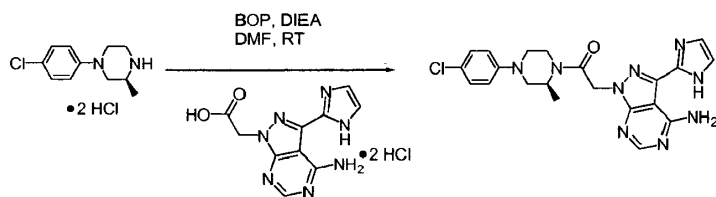
[0108]Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)-2-metil-piperazin-1-il]etanona



[0109]El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 3 utilizando dihidrocloruro de 1-(4-cloro-3-metoxifenil)-3-metilpiperazina. RMN H1 (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 14,4 (ancho, 1H), 10,13 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,25 (t, 1H, $J = 1,2$ Hz), 7,19 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,15 (s, 1H), 6,64 (s, 1H), 6,50 (m, 1H), 5,51-5,21 (m, 2H), 4,49 (s, 0,5H), 4,38 (s, 0,5H), 4,15 (m, 0,5H), 3,98 (m, 0,5H), 3,83 (s, 3H), 3,70 (m, 1H), 3,55 (m, 1H), 3,29 (s, 1H), 3,08-2,85 (m, 2H), 1,37 (d, 1,5H, $J = 6,0$ Hz), 1,18 (d, 1,5H, $J = 6,4$ Hz). EM (ES) m/z 482,2 ($M + H^+$).

Ejemplo 8

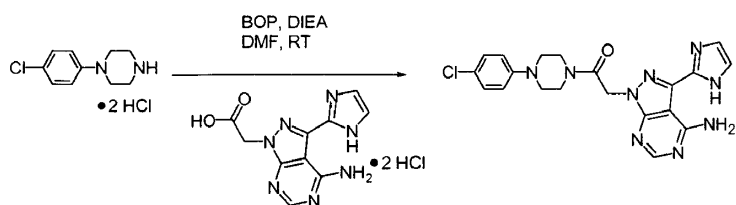
[0110]Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-clorofenil)-2-metil-piperazin-1-il]etanona



[0111]El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 3 utilizando dihidrocloruro de 1-(4-clorofenil)-3-metilpiperazina. RMN H1 (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 11,96 (ancho, 1H), 9,62 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,22 (t, 2H, $J = 2,4$ Hz), 6,96 (t, 2H, $J = 8$ Hz), 5,50 (m, 2H), 4,45 (m, 0,5H), 4,15 (m, 0,5H), 3,90 (m, 0,5H), 3,55 (m, 2H), 2,8 a 3,14 (m, 2H), 2,60 (m, 0,5 Hz), 1,89 (s, 1H), 1,39 (d, 1,5H, $J = 6,0$ Hz), 1,18 (d, 1,5H, $J = 6,8$ Hz). EM (ES) m/z 452,1 ($M + H^+$).

Ejemplo 9

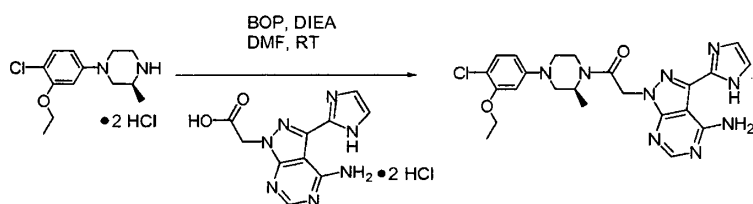
[0112]Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-clorofenil)piperazin-1-il]etanona



[0113]El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 3 utilizando dihidrocloruro de 1-(4-clorofenil)piperazina. EM (ES) m/z 438,1 ($M + H^+$).

Ejemplo 10

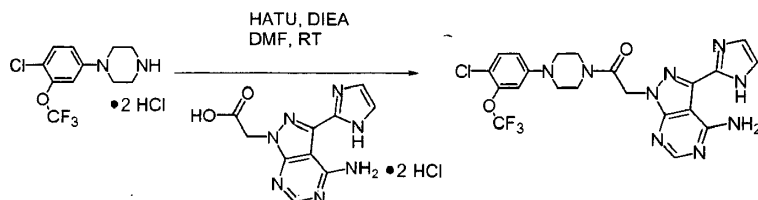
[0114]Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-etoxifenil)-2-metilpiperazin-1-il]etanona



[0115]El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 3 utilizando dihidrocloruro de 1-(4-cloro-3-etoxifenil)-3-metilpiperazina. RMN H1 (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 14,4 (ancho, 1H), 10,15 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,18 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 7,15 (s, 1H), 6,62 (s, 1H), 6,50 (m, 1H), 5,51-5,25 (m, 2H), 4,48 (s, 0,5H), 4,38 (s, 0,5H), 4,09 (m, 2,5 H), 3,93 (m, 0,5H), 3,68-3,51 (m, 2H), 3,07-2,75 (m, 2,5H), 2,61 (m, 0,5H), 1,33 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz), 1,17 (d, 3H, $J = 7,2$ Hz). EM (ES) m/z 496,5 ($M + H^+$).

Ejemplo 11

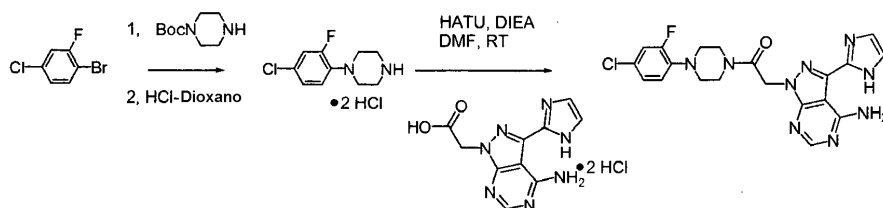
[0116]Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-trifluorometoxifenil)piperazin-1-il]etanona



[0117]Una mezcla de sal dihidrocloruro de 1-(4-cloro-3-trifluorometoxifenil)piperazina (70 mg, 0,198 mmoles, 1 equiv), ácido [4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il]acético (96 mg, 1 equiv), HATU (98 mg, 1,3 equiv) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,276 ml, 8 equiv) en DMF (0,5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de sodio, y se purificó mediante TLC para proporcionar 2-[4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-3-trifluorometoxifenil)piperazin-1-il]etanona. RMN H1 (400 MHz, CD_3OD) δ 8,18 (s, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,18 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 6,95 (s, 2H), 5,40 (s, 2H), 3,85 (m, 4H), 3,25 (m, 4H). Los tres protones restantes (del grupo amino y el anillo de imidazol) no se observaron debido a la utilización de CD_3OD como disolvente. EM (ES) m/z 522,1 ($M + H^+$).

Ejemplo 12

[0118]Este ejemplo ilustra la preparación de 2-[4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il]-1-[4-(4-cloro-2-fluorofenil)piperazin-1-il]etanona



Etapas 1: 1-(4-cloro-2-fluorofenil)piperazina

[0119] Se suspendieron en tolueno (60 mL) 1-bromo-4-cloro-2-fluorobenceno (5 g, 23,9 mmoles, 1 equiv), éster *tert*-butílico de ácido piperazin-1-carboxílico (5,3 g, 1,15 equiv), tris-bencilidinoacetona-dipaladio (0) (0,43 g, 0,05 equiv), *rac*BINAP (0,89 g, 0,15 equiv), *tert*-butóxido de sodio (3,2 g, 1,4 equiv), y la mezcla se calentó a 65°C durante la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió acetato de etilo (100 mL). El producto precipitado de color negro se eliminó mediante filtración. El producto filtrado se lavó con una disolución de carbonato de potasio 3N dos veces. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se concentró y se trató con HCl 4 N en dioxano. El sólido se recogió mediante filtración, se lavó con éter, y se secó a alto vacío para proporcionar 1-(4-cloro-2-fluorofenil)piperazina en forma de una sal dihidrocloruro.

[0120] Etapa 2: El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 11 utilizando dihidrocloruro de 1-(4-cloro-2-fluorofenil)piperazina. RMN H1 (400 MHz, CD₃OD) δ 8,16 (s, 1H), 7,19 (s, 1H), 7,1-7,17 (m, 3H), 7,05 (m, 1H), 5,40 (s, 2H), 3,85 (m, 2H), 3,75 (m, 2H), 3,18 (m, 2H), 3,07 (m, 2H). Los tres protones restantes (del grupo amino y el anillo de imidazol) no se observaron debido a la utilización de CD₃OD como disolvente. EM (ES) *m/z* 456,1 (M + H⁺).

Ejemplo 13

[0121] Este ejemplo ilustra la evaluación de la actividad biológica asociada con los compuestos de interés de la invención.

Materiales y métodos

A. Células

1. Células que expresan CCR1

a) Células THP-1

[0122] Se obtuvieron células THP-1 de ATCC (TIB-202) y se cultivaron en forma de una suspensión en medio RPMI-1640 con un suplemento de L-glutamina 2 mM, 1,5 g/L de bicarbonato de sodio, 4,5 g/l de glucosa, HEPES 10 mM, piruvato de sodio 1 mM, 2-mercaptoetanol al 0,05% y FBS al 10%. Las células se cultivaron en aire con 5% de CO₂/95% de aire, 100% de humedad a 37°C y se subcultivaron dos veces por semana a 1:5 (las células se cultivaron a un intervalo de densidad de 2 x 10⁵ a 2 x 10⁶ células/ml) y se recogieron a 1 x 10⁶ células/mL. Las células THP-1 expresan CCR1 y se pueden utilizar en la unión de CCR1 y ensayos funcionales.

2. Análisis de quimiotaxis

Identificación de inhibidores de CCR1

[0123] Una de las funciones principales de las quimiocinas es su capacidad para mediar la migración de células que expresan el receptor de quimiocinas, tales como los glóbulos blancos. Para confirmar que un compuesto de interés no sólo inhibe la unión y la señalización específica de CCR1 (al menos según se determina mediante análisis de movilización de calcio), sino también la migración mediada por CCR1, se empleó un análisis de quimiotaxis. Se utilizaron células de leucemia mielomonocítica THP-1, que se asemejan a monocitos, así como monocitos recién aislados, como dianas para la quimioatracción mediante ligandos de quimiocinas CCR1 (esto es, MIP-1α, CCL15/leucotactina). Las células se colocaron en el compartimento superior de una cámara de migración de micropocillos, policarbonato de poro de 5 micras, filtros recubiertos de polivinilpirrolidona en cámaras de quimiotaxis de 96 pocillos (Neuroprobe; Gaithersburg, MD) utilizando tampón de quimiotaxis (disolución salina equilibrada de Hank (HBSS) y FBS al 1%). Los ligandos de quimiocinas CCR1 (es decir, MIP-1α, CCL15/leucotactina; R & D Systems, Minneapolis, MN) se utilizan para evaluar la inhibición mediada por compuesto de la migración mediada por CCR1. Otras quimiocinas (es decir, SDF-1α; R & D Systems, Minneapolis, MN) se utilizaron como controles de especificidad. La cámara inferior se cargó con 29 µl de quimiocinas (es decir, CCL15/leucotactina 0,1 nM) y cantidades variables de compuesto; la cámara superior contenía 100.000 células THP-1 o monocitos en 20 µl. En ausencia de inhibidor, las células migrarán a la cámara inferior en respuesta al agonista de quimiocinas; si un

compuesto inhibe la función de CCR1, en ese caso la mayoría de las células permanecerá en la cámara superior. Para determinar la afinidad de un compuesto de interés por CCR1 así como para confirmar su capacidad para inhibir la migración celular mediada por CCR1, se tituló la actividad inhibitoria a lo largo de un intervalo de 1×10^{-10} a 1×10^{-4} M de concentraciones de compuestos en este análisis de quimiotaxis. En este análisis, se varió la cantidad de compuesto; mientras que el número de células y las concentraciones agonistas quimiocinas se mantuvieron constantes. Después de incubar las cámaras de quimiotaxis durante 1-2 horas a 37°C, las células que respondían en la cámara inferior se cuantificaron mediante marcaje con el ensayo CyQuant (Molecular Probes), un método colorante fluorescente que mide el contenido de ácido nucleico, y mediante la medición con un Spectrafluor Plus (Tecan). El programa de ordenador Prism de GraphPad, Inc. (San Diego, Ca) se utilizó para calcular los valores de CI_{50} . Los valores de CI_{50} son aquellas concentraciones de compuesto requeridas para inhibir el número de células que responden a un agonista de CCR1 en 50%.

3. Eficacia in vivo

a) Modelo de conejo de inflamación articular destructiva

[0124]Un estudio de LPS de conejo puede llevarse a cabo esencialmente como describen Podolin, et al. ídem, Conejos New Zealand hembra (aproximadamente 2 kilogramos) se tratan intraarticularmente en ambas rodillas con LPS (10 ng). El compuesto de interés (por ejemplo, formulado en metocel al 1%) o vehículo (metocel al 1%) se dosifican por vía oral a un volumen de dosis de 5 ml/kg en dos veces (2 horas antes de la inyección intra-articular de LPS y 4 horas después de la inyección intra-articular de LPS). Dieciséis horas después de la inyección de LPS, las rodillas se lavaron y se realizan los recuentos de células. Los efectos beneficiosos del tratamiento se determinan por medio de la reducción del número de células inflamatorias reclutadas al fluido sinovial inflamado de las articulaciones de la rodilla. El tratamiento con el compuesto de interés da como resultado una reducción significativa de las células inflamatorias reclutadas.

b) Evaluación de un compuesto de interés en un modelo de rata de artritis inducida por colágeno,

[0125]Se puede llevar a cabo un estudio de artritis de tipo II por colágeno de desarrollo en 17 días para evaluar los efectos de un compuesto de interés sobre la hinchazón del tobillo clínica inducida por artritis. La artritis inducida por colágeno en rata es un modelo experimental de poliartritis que se ha utilizado ampliamente para los ensayos preclínicos de numerosos agentes anti-artríticos (véanse Trentham, et al., J. Exp. Med. 146(3):857-868 (1977), Bendele, et al., Toxicologic Pathol. 27:134-142 (1999), Bendele, et al., Arthritic Rheum. 42:498-506 (1999)). Las características de este modelo son la aparición fiable y la progresión de inflamación poliarticular robusta, fácil de medir, la marcada destrucción del cartílago en asociación con la formación de pannus y resorción ósea de leve a moderada y la proliferación ósea perióstica.

[0126]Se anestesian ratas Lewis hembra (aproximadamente 0,2 kilogramos) con isoflurano y se inyectan con coadyuvante incompleto de Freund que contiene 2 mg/ml de colágeno de tipo II bovino en la base de la cola y dos sitios en el dorso los días 0 y 6 de este estudio de 17 días. Un compuesto de interés se dosifica diariamente de una manera subcutánea desde el día 0 hasta el día 17 a una dosis eficaz. Se toman mediciones con un calibre del diámetro de la articulación del tobillo, y la reducción de la inflamación articular se toma en forma de una medida de la eficacia.

c) Modelo de rata de osteoporosis inducida por ovariectomía

[0127]Un modelo de rata de osteoporosis inducida por ovariectomía puede llevarse a cabo esencialmente como Dunstan et al, (1999) J. Bone y Min Res. 14: 953. Ratas Sprague-Dawley hembra jóvenes (180-200 g) son operadas simuladamente o ovariectomizadas (OVX). En el plazo de 7 días de la operación, se iniciaron las dosis orales diarias de antagonista de CCR1 o vehículo solo (aceite de sésamo). Después de dos semanas de dosificación, las ratas se sacrificaron y se analizaron los niveles en suero de osteoclastos y osteoblastos biomarcadores (telopéptido C y osteocalcina MID, respectivamente). Adicionalmente, el fémur y la tibia se retiran para el examen histopatológico con H & E y/o tinción TRAP.

d) Modelo Radl 5TGM1 modificado de enfermedad ósea de mieloma

[0128]La enfermedad ósea de mieloma puede ser estudiado como se describe con más detalle por Oyajobi et al, Mol Cancer Ther, 2007, 6:1701-1708. Los estudios en animales se llevaron a cabo utilizando ratones C57BL/KaLwRijHsd hembra de 6 a 9 semanas de edad (Harlan). Las lesiones de mieloma son inducidas en ratones inoculando por vía i.v. 10^6 células H1.1 + 5TGM1-EGFP viables o células 5TGM1 parentales a través de venas de la cola. El compuesto de interés (p. ej., formulado en aceite de sésamo al 100%) o vehículo (aceite de sésamo al 100%) se dosifican por vía oral a un volumen de dosis 2,5 ml/kg dos veces al día durante 4 semanas. Los pesos corporales de los animales se determinan al inicio del estudio y después semanalmente. Al final de 4 semanas, se toman imágenes de los ratones completos e, inmediatamente después del sacrificio, los esqueletos y los órganos

viscerales (bazos, hígados, riñones, gónadas, cerebros, pulmones y corazón) se diseccionan y se toman imágenes de los focos tumorales fluorescentes para evaluar la carga tumoral .

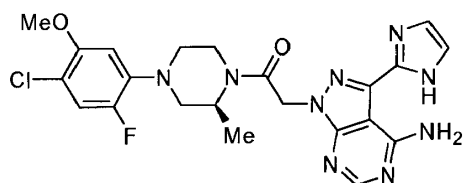
5 **[0129]**En la Tabla 2 (a continuación), se proporcionan las estructuras y la actividad para los compuestos representativos descritos en la presente memoria. La actividad se proporciona de la siguiente manera para el análisis de quimiotaxis como se ha descrito anteriormente: +, $10 \text{ nM} < \text{Cl}_{50} \leq 150 \text{ nM}$; ++, $1 \text{ nM} < \text{Cl}_{50} \leq 10 \text{ nM}$; y +++, $\text{Cl}_{50} \leq 1 \text{ nM}$.

Tabla 2

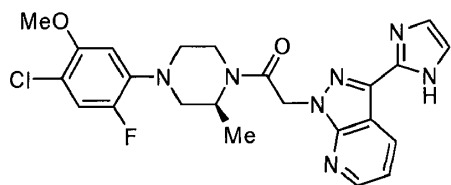
Estructura	Estructura
1.001/ +++	1.002/ ++
1.003/ +++	1.004/ +++
1.005/ ++	1.006/ +++
1.007/ +++	1.008/ ++
1.009/ +	1.010/ +++

Estructura	Estructura
1.011/ +	1.012/ ++

- 5 **[0130]** En comparaciones directas, los compuestos 1.001, 1.003, 1.004, 1.006, 1.007, 1.010 y 1.011 de la presente invención proporcionaron una actividad que era al menos un orden de magnitud mejor que la actividad demostrada por los compuestos relacionados sometidos a ensayo (imidazol sustituido pirido[4,3-b]pirazoles en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos con el Núm. de Serie 12/124.894. Por ejemplo, en el análisis de quimiotaxis,

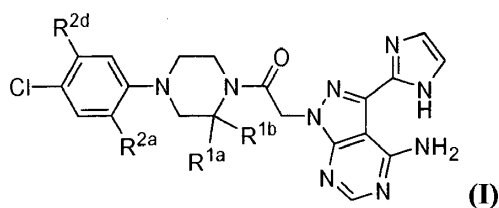


- 10 proporcionó una CI_{50} que fue un orden de magnitud menor que



REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I:



o sales farmacéuticamente aceptables, hidratos o N-óxidos de los mismos, en donde

R^{1a} y R^{1b} se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H y CH_3 ;

R^{2a} se selecciona del grupo que consiste en H y F; y

R^{2d} se selecciona del grupo que consiste en H, alcoxi C_1-C_4 y haloalcoxi C_1-C_4 cuyo compuesto no es 2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il)etanona

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R^{2a} es H.

3. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R^{2d} se selecciona del grupo que consiste en metoxi, etoxi y trifluorometoxi.

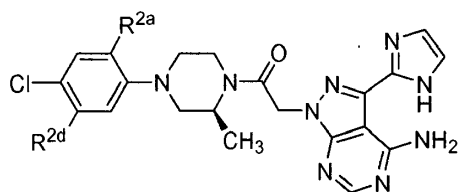
4. El compuesto de la reivindicación 1, en donde:

(i) R^{1a} y R^{1b} son cada uno H; o

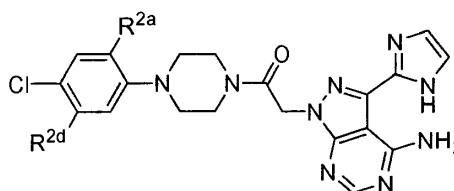
(ii) R^{1b} es metilo y R^{1a} es H; o

(iii) R^{1a} y R^{1b} son cada uno CH_3 .

5. El compuesto de la reivindicación 1, en donde dicho compuesto tiene la fórmula Ia o Ib.



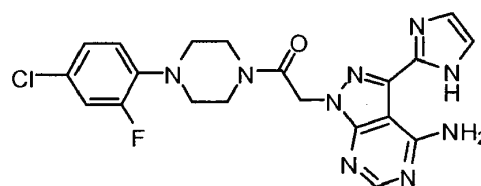
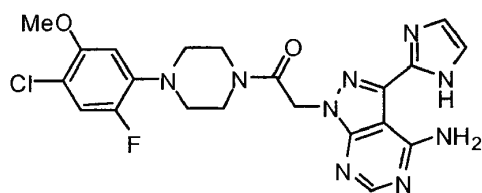
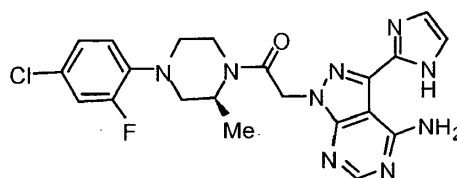
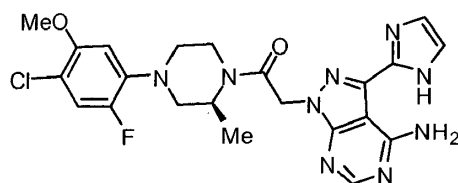
Ia



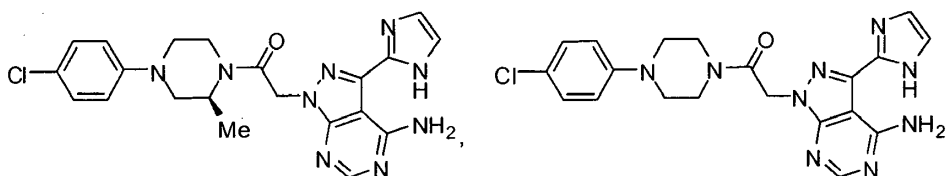
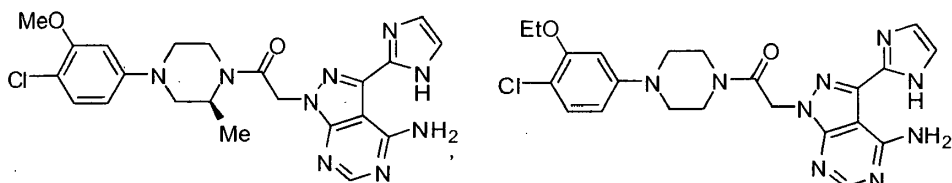
Ib

en donde R^{2a} se selecciona del grupo que consiste en H y F; y R^{2d} se selecciona del grupo que consiste en metoxi, etoxi y trifluorometoxi.

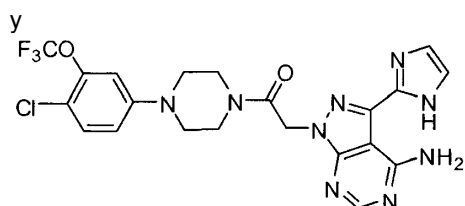
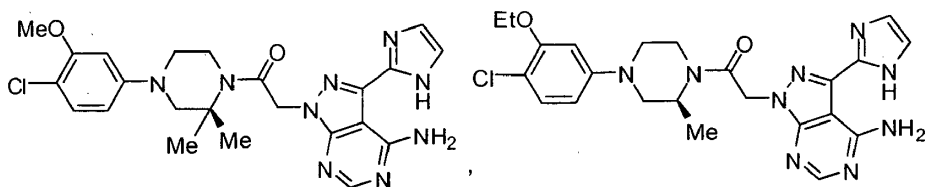
6. El compuesto de la reivindicación 1, en donde dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en:



; y

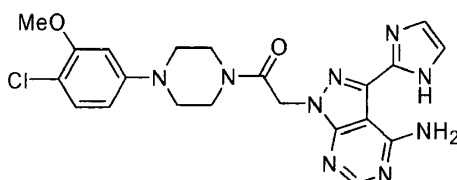


5



10

7. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es una sal hidrocloreto de un compuesto de fórmula



15

8. Un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

- (S)-2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-2-fluoro-5-metoxifenil))-2-metilpiperazin-1-il)etanona;
- (S)-2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-2-fluorofenil))-2-metilpiperazin-1-il)etanona;
- 2-((4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-2-fluoro-5-metoxifenil))piperazin-1-il)etanona;
- 2-((4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-2-fluoro-5-metoxifenil))piperazin-1-il)etanona;
- 2-((4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil))piperazin-1-il)etanona;
- (S)-2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil))-2-metilpiperazin-1-il)etanona;
- 2-((4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil))piperazin-1-il)etanona;
- (S)-2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-yl)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-clorofenil))-2-metilpiperazin-1-il)etanona;

- 2-((4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-clorofenil)piperazin-1-il)etanona;
2-((4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil)-2,2-
dimetilpiperazin-1-il)etanona;
5 (S)-2-(4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-etoxifenil)-2-metilpiperazin-
1-il)etanona; y
2-((4-amino-3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-
(trifluorometoxi)fenil)piperazin-1-il)etanona.
9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, y
10 un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable.
10. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante cirugía o terapia.
- 15 11. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para uso en el tratamiento de enfermedades o afecciones mediadas por CCR1.
12. Un compuesto para uso como se reivindica en la reivindicación 11, en donde dicha enfermedad o afección
20 mediada por CCR1 es una afección inflamatoria o un trastorno inmunorregulador.
13. Un compuesto para uso como se reivindica en la reivindicación 11, en donde dicha enfermedad o afección
mediada por CCR1 se selecciona del grupo que consiste en enfermedad osteoartrítica, mieloma múltiple, artritis
reumatoide, esclerosis múltiple, rechazo de trasplantes, restenosis, dermatitis, eczema, urticaria, vasculitis,
25 enfermedad inflamatoria intestinal, alergia alimentaria, asma, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson,
psoriasis, lupus eritematoso, osteoartritis, accidente cerebrovascular, restenosis y encefalomiелitis.
14. Un compuesto para uso como se reivindica en la reivindicación 11, que se formula para administración oral,
parenteral, rectal, transdérmica, sublingual, nasal o tópica.
- 30 15. Un compuesto para uso como se reivindica en la reivindicación 11, para uso combinado con un agente anti-
inflamatorio, agente analgésico, un agente anti-proliferativo, un inhibidor metabólico, un inhibidor de la migración de
leucocitos o un inmunomodulador.