

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 600 477**

51 Int. Cl.:

C07D 401/00 (2006.01)

A61K 31/4745 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.05.2008 PCT/US2008/064374**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.12.2008 WO08147815**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.05.2008 E 08756054 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2016 EP 2155712**

54 Título: **3-(Imidazolil)-pirazolo[3,4-b]piridinas**

30 Prioridad:

22.05.2007 US 932948 P

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

09.02.2017

73 Titular/es:

**CHEMOCENTRYX, INC. (100.0%)
850 MAUDE AVENUE, MOUNTAIN VIEW
CALIFORNIA 94043, US**

72 Inventor/es:

**LI, LIANFA;
PENNEL, ANDREW M. K. y
ZHANG, PENGLIE**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques
o Bemerkungen) en el folleto original publicado
por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 600 477 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

3-(Imidazolil)-pirazolo[3,4-b]piridinas**5 Antecedentes de la invención**

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 para el receptor CCR1, los compuestos y composiciones tienen utilidad en el tratamiento de afecciones y enfermedades por trastornos inflamatorios e inmunitarios.

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 derivadas del sistema inmunitario (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 se reclutan al sitio de infección para destruir el patógeno. Las quimiocinas actúan como balizas moleculares para el reclutamiento y la activación de las células inmunitarias, tales como linfocitos, monocitos y granulocitos, identificando los sitios en los que existen patógenos.

A pesar de la regulación de patógenos por el sistema inmunitario, se puede desarrollar cierta señalización inapropiada por quimiocinas y se ha atribuido a la activación o el mantenimiento de trastornos inflamatorios, tales como artritis reumatoide, esclerosis múltiple y otros. Por ejemplo, en la artritis reumatoide, la acumulación no regulada de quimiocinas en articulaciones óseas atrae y activa los macrófagos infiltrantes y las células T. Las actividades de estas células inducen la proliferación de células sinoviales que conduce, al menos en parte, a la inflamación y eventual pérdida de hueso y cartilago (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 de quimiocinas de glóbulos blancos destructivos a los trasplantes ha sido implicado en su posterior rechazo. Véase, DeVries, M.E., et al., *ibídem*. Debido a que las quimiocinas juegan un papel clave en la inflamación y el desarrollo de los linfocitos, la capacidad de manipular específicamente su actividad tiene un enorme impacto sobre la mejora y la interrupción de enfermedades que actualmente no tienen un tratamiento satisfactorio. Además, el rechazo del trasplante se puede minimizar sin los efectos generalizados y complicados de productos farmacéuticos inmunosupresores costosos.

Las quimiocinas, un grupo de más de 40 péptidos pequeños (7-10 kD), ligan receptores expresados principalmente en los glóbulos blancos o células derivadas de sistema inmunitario, y señalizan a través 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 liga a RANTES (expresada por linfocitos T normales regulada por activación), MIP-1 α (proteína inflamatoria de macrófagos), quimiocinas MPIF-1/CK β 8, y leucotactina (entre otras con afinidades menores). Hasta la fecha, se conocen 24 receptores de quimiocinas. El gran número de quimiocinas, receptores de unión a múltiples ligandos, y diferentes perfiles de 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 receptores correspondientes, tratando enfermedades inflamatorias e inmunológicas relacionadas y permitiendo trasplantes de órganos y tejidos.

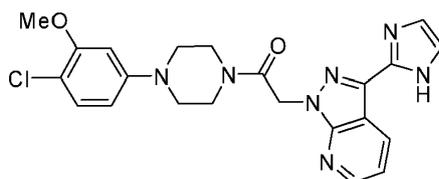
El receptor CCR1 y sus ligandos de quimiocinas, incluyendo, por ejemplo MIP-1 α , MPIF-1/CK β 8, leucotactina y RANTES, representan dianas terapéuticas significativas (véase, Saeki, et al., *Current Pharmaceutical Design* 9: 1201-1208 (2003)) puesto que han sido implicados en la artritis reumatoide, el rechazo de trasplantes (véase, DeVries, M.E., et al., *ibídem*), 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, algunos de los cuales se ha demostrado con éxito que previenen o tratan algunas enfermedades mediadas por quimiocinas (revisado en Rossi, et al., *ibídem*.). Notablemente, en un modelo experimental de artritis reumatoide, el desarrollo de la enfermedad disminuye cuando se administra un 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 que bloquean la función y con péptidos pequeños son prometedoras, adolecen de los peligros de degradación, vidas medias extremadamente cortas una vez administrados, y el coste prohibitivo para su desarrollo y producción, característico de la mayoría de las proteínas. Los compuestos orgánicos pequeños son preferibles ya que a menudo tienen una vida media más larga *in vivo*, requieren menos dosis para ser eficaces, a menudo se pueden administrar por vía oral, y son por consiguiente menos costoso. Algunos antagonistas orgánicos de CCR1 se han descrito previamente (véase, 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.

El documento WO 2008/147822 describe compuestos de azaindol que actúan como potentes antagonistas del receptor CCR1. El documento US 2007/0010524 también describe algunos compuestos de azaindol que pueden actuar como antagonistas del receptor CCR1.

Breve compendio de la invención

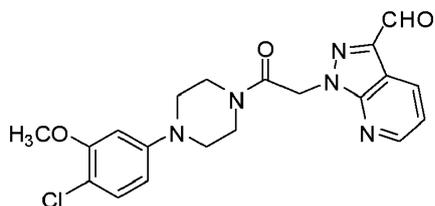
La presente invención se refiere a un compuesto que tiene la fórmula:



o una sal, hidrato farmacéuticamente aceptable o un N-óxido del mismo.

Además del compuesto proporcionado en la presente memoria, la presente invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que contiene el compuesto, así como el uso del compuesto principalmente para tratar enfermedades asociadas con la actividad de señalización de CCR1, CCR2 y/o CCR3. La invención también se refiere a un método de preparación del compuesto de la invención, comprendiendo dicho método:

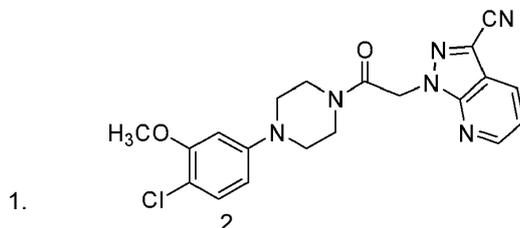
(a) poner en contacto un compuesto que tiene la fórmula:



con un reactivo de formación de imidazol bajo condiciones suficientes para formar el compuesto de la presente invención.

La invención también se refiere a un método de preparación del compuesto de la invención, comprendiendo dicho método:

(a) poner en contacto un compuesto que tiene la fórmula:



con etilendiamina para formar un producto de imidazolina; y

(b) oxidar dicho producto de imidazolina para formar el compuesto de la invención.

Descripción detallada de la invención

I. Abreviaturas y Definiciones

"Grupo protector" se refiere a un radical, excepto grupos alquilo, que cuando está unido a un grupo reactivo en una molécula, enmascara, reduce o impide esa reactividad. Los ejemplos de grupos protectores se pueden

encontrar en T. W. Greene y P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª 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), que se incorporan a la presente memoria como referencia en su totalidad. Los grupos protectores de hidroxilo representativos incluyen grupos acilo, éteres de bencilo y tritilo, éteres de tetrahidropirano, éteres de trialquilsililo y éteres de alilo. Los grupos protectores de amino representativos incluyen, formilo, acetilo, trifluoroacetilo, bencilo, benciloxicarbonilo (CBZ), *tert*-butoxicarbonilo (BOC), trimetilsililo (TMS), 2-trimetilsilil-etanosulfonilo (SES), tritilo y grupos tritilo sustituidos, aliloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc), nitro-veratriloxicarbonilo (NVOC), y similares.

"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 ésteres, tioésteres o grupos amidas.

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

La forma neutra del compuesto se puede regenerar poniendo en contacto la sal con una base o ácido y aislando el compuesto original de la manera convencional. La forma original 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.

Además de formas de sal, la presente invención describe el compuesto en una forma de profármaco. Los profármacos del compuesto experimentan fácilmente cambios químicos en condiciones fisiológicas para proporcionar el compuesto de la presente invención. Además, los profármacos pueden convertirse en el compuesto de la presente invención por métodos químicos o bioquímicos en un ambiente *ex vivo*. Por ejemplo, los profármacos pueden convertirse lentamente en el compuesto de la presente invención cuando se colocan en un reservorio de parche transdérmico con una enzima o reactivo químico adecuados.

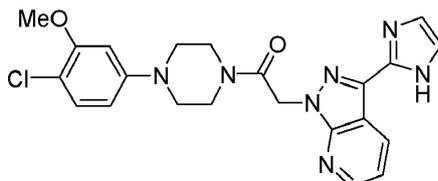
El compuesto de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y se pretende que estén incluidas dentro del alcance de la presente invención. El compuesto de la presente invención puede existir 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.

El compuesto de la presente invención posee dobles enlaces; se pretende que los racematos y diastereómeros estén incluidos dentro del alcance de la presente invención. El compuesto de la presente invención también puede contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen tales compuestos. Por ejemplo, el compuesto puede ser radiomarcado 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

5 La presente invención deriva del descubrimiento de que el compuesto de la invención actúa como un potente antagonista del receptor CCR1. Este compuesto tiene una actividad anti-inflamatoria en vivo y tiene propiedades farmacocinéticas superiores. Por consiguiente, el compuesto proporcionado en la presente memoria es útil en composiciones farmacéuticas, y es para su uso en métodos para el tratamiento de enfermedades mediadas por CCR1, y como controles en ensayos para la identificación de antagonistas de CCR1 competitivos.

10 El compuesto de la invención tiene la siguiente estructura:

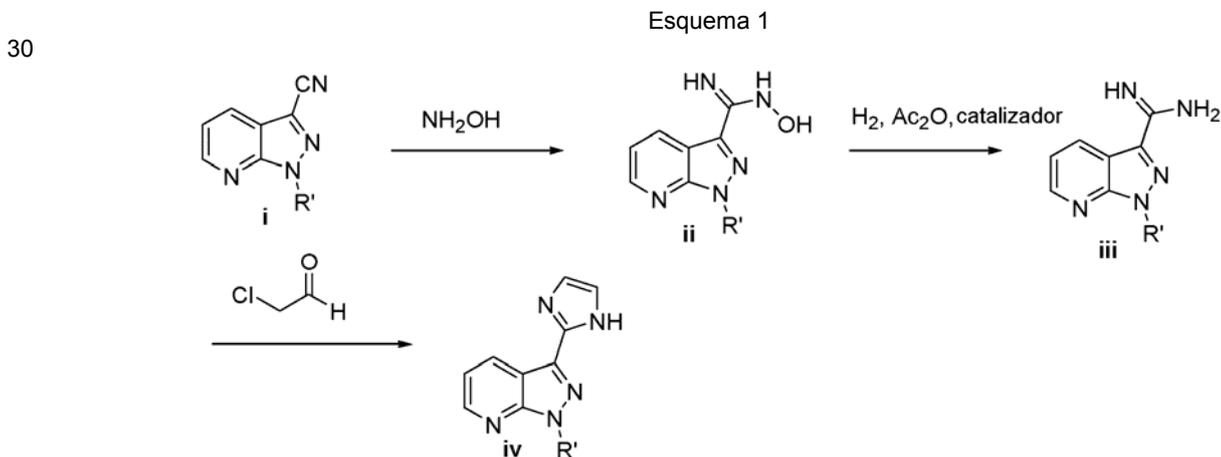


15 El compuesto de la invención es: 1-[4-(4-cloro-3-metoxi-fenil)piperazin-1-il]-2-[3-(1H-imidazol-2-il)pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]-etanol.

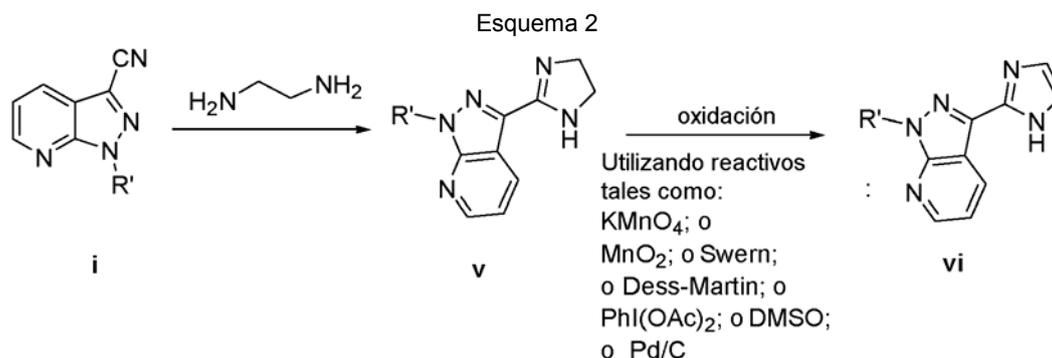
Preparación de los compuestos

20 Los esquemas siguientes proporcionan ciertas rutas de síntesis que se pueden seguir para tener acceso al compuesto de la presente invención. Otras rutas o la modificación de las rutas que se presentan a continuación serían fácilmente evidentes para un experto en la técnica y están dentro del alcance de la presente invención.

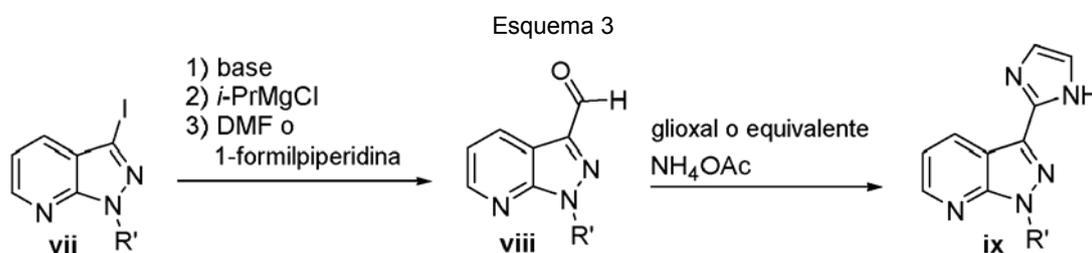
25 El Esquema 1 ilustra la síntesis de pirazolo[3,4-b]piridinas sustituidas con 3-imidazolilo. R' representa un sustituyente no interferente, tal como, por ejemplo, un grupo protector, o un éster carboxi. Como se muestra en el Esquema 1, la reacción de NH₂OH con 3-ciano-pirazolo[3,4-b]piridina proporcionará el compuesto de hidroxilamidina **ii**. La reducción de **ii** utilizando gas hidrógeno y un catalizador (*p.ej.*, Pd/C o Pd(OH)₂) producirá el producto fr amidina **iii**. La ciclación de **iii** por medio de tratamiento con cloroacetaldehído producirá el producto de imidazol **iv**.



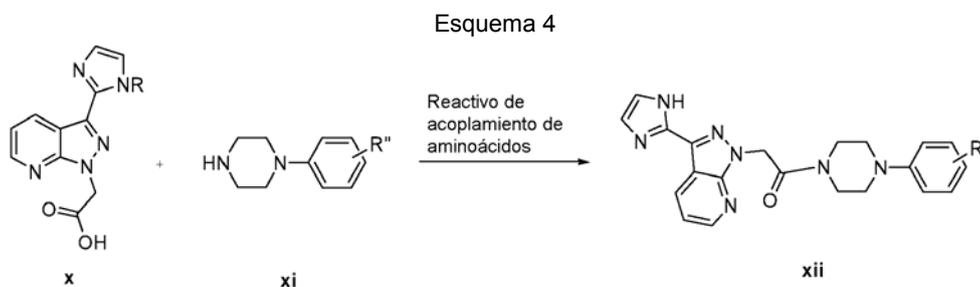
35 El Esquema 2 ilustra la síntesis de pirazolo[3,4-b]piridinas sustituidas con 3-imidazolilo. R' representa un sustituyente no interferente, tal como, por ejemplo, un grupo protector, o un éster carboxi. En el Esquema 2, la reacción de 3-ciano-pirazolo[3,4-b]piridina con etilendiamina produce el producto de imidazolina ciclada **v**, que después de la oxidación producirá el imidazol **vi**.



El Esquema 3 ilustra la síntesis de pirazolo[3,4-b]piridinas sustituidas con 3-imidazolilo. R' representa un sustituyente no interferente, tal como, por ejemplo, un grupo protector, o un éster carboxi, o el resto del compuesto de fórmula I (véase también el Ejemplo 18). Como se muestra en el Esquema 3, usando un procedimiento de transmetalación, la 3-yodo-pirazolo[3,4-b]piridina **vii** se puede convertir en 3-formil-pirazolo[3,4-b]piridina **viii**, que tras el tratamiento con glioxal, se cicla para formar 3-imidazolil-pirazolo[3,4]piridina **ix**.



El procedimiento de acoplamiento de aminoácidos que se puede utilizar para formar compuestos de la invención se ilustra en el Esquema 4. En el Esquema 4, R, R'' representa sustituyentes no interferente. El compuesto de la invención se puede preparar, por ejemplo, por medio de acoplamiento de un derivado ácido carboxílico de una 3-imidazolil-pirazolo[3,4-b]piridina **x** con un derivado de piperazina **xi** utilizando cualquier reactivo de acoplamiento de aminoácidos (*p.ej.*, HBTU, HATU, pyBOP, etc.) para formar una 3-imidazolil-pirazolo[3,4-b]piridina (**xii**).



III. Composiciones farmacéuticas

Además del compuesto proporcionado anteriormente, las composiciones para modular la actividad de CCR1, CCR2 y CCR3 en seres humanos y animales contendrán típicamente un portador o diluyente farmacéuticos.

Se pretende que el término "composición", según se utiliza en la presente memoria abarque un producto que comprende 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.

Las composiciones farmacéuticas para la administración del compuesto de la invención se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia y de suministro de fármacos. Todos los métodos incluyen la etapa de poner el ingrediente activo en asociación con el portador 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 en la formulación deseada. En la composición farmacéutica el compuesto objeto

activo se incluye en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado sobre el procedimiento o condición de las enfermedades.

5 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 autoemulsificaciones como se describe en la Patente de Estados Unidos Núm. 6.451.339, cápsulas duras o blandas, jarabes, elixires, soluciones, parche bucal, gel oral, 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 10 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, 15 tales como celulosa, dióxido de silicio, óxido de aluminio, carbonato de calcio, carbonato de sodio, glucosa, manitol, sorbitol, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y disgregantes, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido algínico; 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 técnicas conocidas para retrasar la disgregación y absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción sostenida durante un período más largo. Por 20 ejemplo, puede emplearse 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 Estados Unidos Núm. 4.256.108; 4.166.452; y 4.265.874 para formar comprimidos terapéuticos osmóticos para su liberación controlada.

25 Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo está mezclado con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como 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 estabilizadas con tensioactivos tales como mono- 30 diglicéridos, ésteres de PEG y similares.

Las suspensiones acuosas contienen los materiales activos mezcladas con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo 35 carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinil-pirrolidona, 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 alquileno con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de 40 ácidos grasos y un hexitol tales como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de polietilensorbitán. 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.

45 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 50 conservar mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

Los polvos dispersables y gránulos adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo mezclado con un agente dispersante o humectante, agente de 55 suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y de suspensión se ilustran mediante los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite- 60 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 de acacia arábiga o goma 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 65 aromatizantes.

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

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 los agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro sódico. Además, se emplean convencionalmente aceites fijados estériles como medio disolvente o de suspensión. 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.

El compuesto de la presente invención también se puede administrar en forma de supositorios para la administración rectal del fármaco. Estas composiciones se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a 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 del suministro ocular por medio de soluciones o pomadas. Aún más, la administración transdérmica de los compuestos sujeto se puede lograr por medio de parches iontoforéticos y similares. Para uso tópico, se emplean cremas, pomadas, jaleas, soluciones o suspensiones, etc., que contienen los compuestos de la presente invención. En la presente memoria, también se entiende que la aplicación tópica incluye el uso de enjuagues bucales y gargarismos.

El compuesto de la invención puede formularse para su depósito en un dispositivo médico, que puede incluir cualquiera de una variedad de injertos convencionales, endoprótesis vasculares, incluyendo injertos de endoprótesis vasculares, catéteres, balones, cestas u otros dispositivos que se puedan desplegar o implantar de forma permanente dentro de un lumen del organismo. Como ejemplo concreto, sería deseable disponer de dispositivos y métodos que puedan proporcionar el compuesto de la invención a la región de un organismo que haya sido tratado mediante técnicas intervencionistas.

En una realización ilustrativa, el agente inhibidor de esta invención se puede depositar dentro de un dispositivo médico, tal como una endoprótesis vascular, y se entrega al sitio de tratamiento para el tratamiento de una parte del organismo.

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

El término "depositado" significa que el agente inhibidor aplica como recubrimiento, adsorbe, coloca, o incorpora de otro modo al dispositivo por medio de métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, el agente inhibidor puede ser embebido en y liberado desde el interior de ("tipo matriz") o rodeado por y suministrado a través de ("tipo reservorio") materiales poliméricos que recubren o abarcan el dispositivo médico. En el último ejemplo, el agente inhibidor puede ser atrapado dentro de los materiales polímeros o acoplado a los materiales poliméricos usando uno o más de los mecanismos para la generación de tales materiales conocidos en la técnica. En otras formulaciones, el agente inhibidor se puede ligar a la superficie del dispositivo médico sin la necesidad de un recubrimiento por medio de enlaces separables y liberar con el tiempo, se puede eliminar mediante procedimientos mecánicos o químicos activos, o estar en una forma inmovilizada de forma permanente que presenta el agente inhibidor en el lugar de implantación.

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

El polímero puede ser un polímero bioestable o bioabsorbible dependiendo de la tasa de liberación deseada o el grado de estabilidad del polímero deseado, pero se prefiere un polímero bioabsorbible para esta realización, ya que, a diferencia de un polímero bioestable, éste no estará presente mucho tiempo después de la implantación para causar una respuesta adversa crónica local. Los polímeros bioabsorbibles que podrían ser utilizados incluyen, pero no se limitan a, poli(ácido L-láctico), policaprolactona, poliglicólido (PGA), poli(lactida-co-glicólido) (PLLA/PGA), poli(hidroxi-butilato), poli(hidroxi-butilato-co-valerato), polidioxanona, polioctoéster, polianhídrido, poli(ácido glicólico), poli(ácido D-láctico), poli(ácido L-láctico), poli(ácido D,L-láctico), poli(D,L-lactida) (PLA), poli(L-lactida) (PLLA), poli(ácido glicólico-co-carbonato de trimetileno) (PGA/PTMC), poli(óxido de etileno) (PEO), polidioxanona (PDS), polifosfoéster, polifosfoéster uretano, poli(aminoácidos), cianoacrilatos, poli(carbonato de trimetileno), poli(iminocarbonato), copoli(éter-ésteres) (p.ej., PEO/PLA), poli(oxalatos de alquileo), polifosfacenos y biomoléculas tales como fibrina, fibrinógeno, celulosa, almidón, colágeno y ácido hialurónico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxi-butilato, polioctoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos, copolímeros entrecruzados o de bloques 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, poliésteres y también se podrían utilizar otros polímeros si pudieran ser disueltos y curados o polimerizados sobre el dispositivo médico tales como poliolefinas, poliisobutileno y copolímeros de etileno-alfa-olefina; polímeros y copolímeros acrílicos, polímeros y copolímeros de haluros de vinilo, tales como poli(cloruro de vinilo); polivinilpirrolidona; poli(éteres vinílicos), tales como poli(vinil metil éter); poli(haluros de vinilideno) tales como poli(fluoruro de vinilideno) y poli(cloruro de vinilideno); poliacrilonitrilo, polivinilcetonas; compuestos aromáticos de vinilo, tales como poliestireno, poli(éster vinílicos), 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-metacrilamido-fenol; polihidroxi-etil-aspartamido-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.

Los polímeros y matrices de polímeros semipermeables pueden formarse en artículos conformados, tales como válvulas, endoprótesis vasculares, tubos, prótesis y similares.

En una realización de la invención, el agente inhibidor de la invención se acopla a un polímero o matriz de polímero semipermeable que se forma como un dispositivo de endoprótesis vascular o injerto de endoprótesis vascular.

Típicamente, los polímeros se aplican a la superficie de un dispositivo implantable mediante recubrimiento por centrifugación, inmersión o pulverización. Los métodos adicionales conocidos en la técnica también se pueden utilizar para este propósito. Los métodos de pulverización incluyen métodos tradicionales, así como técnicas de microdepósito con un dispensador de tipo de inyección de tinta. Además, un polímero puede ser depositado sobre un dispositivo implantable usando foto-patrones para colocar el polímero sólo en partes 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.

En realizaciones preferidas de la invención, el agente inhibidor se formula para la liberación de la capa 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 las diversas técnicas bien conocidas que implican portadores o capas poliméricas para controlar la elución. Algunas de estas técnicas se describieron anteriormente en la Solicitud de Patente de Estados Unidos 20040243225A1.

Por otra parte, como se describe por ejemplo en la Patente de Estados Unidos Núm. 6.770.729, los reactivos y las condiciones de reacción de las composiciones poliméricas pueden ser manipulados de manera que pueda ser controlada la liberación del agente inhibidor desde el recubrimiento de polímero. Por ejemplo, el coeficiente de difusión de los uno o más recubrimientos de polímero se puede modular para controlar la liberación del agente inhibidor desde el recubrimiento 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 que se coloca el dispositivo médico (p.ej., 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, modular de este modo la liberación del agente inhibidor del recubrimiento 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 del recubrimiento de polímero puede ser modulada por la pluralidad de recubrimientos de polímero.

En otra realización más de la invención, la liberación del agente inhibidor del recubrimiento de polímero se

5 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 alternativamente, el pH de la composición polimérica. Por ejemplo, ciertas composiciones poliméricas se pueden diseñar para liberar un agente inhibidor en respuesta a una disminución del 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.

IV. Métodos de tratamiento de enfermedades moduladas por CCR1, CCR2 y/o CCR3

10 En otro aspecto más, la presente invención proporciona un compuesto para su uso en métodos de tratamiento de afecciones o enfermedades mediadas por CCR1, CCR2 y/o CCR3 mediante la administración a un sujeto que tiene una enfermedad o afección, de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto. El "sujeto" se define en la presente memoria para incluir animales tales como mamíferos, incluyendo, pero no limitados a, primates (p.ej., seres humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones y similares.

15 CCR1 proporciona una diana para interferir en o promover aspectos específicos de las funciones celulares inmunológicas, o más generalmente, en 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 modular la función de monocitos, macrófagos, linfocitos, granulocitos, células NK, mastocitos, células dendríticas, y ciertas células derivadas del sistema inmunitario (por ejemplo, osteoclastos) con fines terapéuticos. Por lo tanto, la presente invención se refiere a un compuesto que es útil 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)).

25 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., de enzimas, histamina) o la 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 al SNC en la EM) de acuerdo con el presente método.

30 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 infecciones bacterianas.

35 Las enfermedades y afecciones asociadas con la inflamación, los trastornos inmunitarios y la infección 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 de sistema inmunitario (por ejemplo, osteoclastos) van a ser inhibidas o promovidas, con el fin de modular la respuesta inflamatoria o autoinmunitaria.

40 En un grupo de realizaciones, las enfermedades o afecciones, incluyendo enfermedades crónicas, de seres humanos o de otras especies pueden tratarse con moduladores de la función de CCR1, CCR2 o CCR3. Estas enfermedades o afecciones incluyen:

- 45
- 50 (1) enfermedades alérgicas tales como anafilaxis sistémica o respuestas de hipersensibilidad, alergias a medicamentos, alergias a picaduras de insectos y alergias a alimentos, (2) enfermedades inflamatorias del intestino, tales como la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la ileítis y la enteritis, (3) vaginitis, (4) psoriasis y dermatosis inflamatorias tales como la dermatitis, el eczema, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto alérgica, la urticaria y el prurito, (5) vasculitis, (6) espondiloartropatías, (7) esclerodermia, (8) asma y enfermedades respiratorias alérgicas tales como el asma, el asma alérgica, la rinitis alérgica, enfermedades pulmonares por hipersensibilidad y similares, (9) enfermedades autoinmunes, tales como la fibromialgia, la esclerodermia, la espondilitis anquilosante, la AR juvenil, la enfermedad de Still, la AR poliarticular juvenil, la AR pauciarticular juvenil, 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 (de comienzo reciente), la neuritis óptica, la glomerulonefritis, y similares, (10) rechazo de injertos, incluyendo rechazo de aloinjertos y enfermedad de anfitrion contra injerto aguda y crónica, (11) fibrosis (p.ej., fibrosis pulmonar (es decir fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis pulmonar intersticial), fibrosis asociada con la enfermedad renal en estado terminal, fibrosis causada por radiación, fibrosis tubulointersticial, fibrosis subepitelial, escleroderma (esclerosis sistémica progresiva), fibrosis hepática (incluyendo la causada por hepatitis alcohólica o viral), cirrosis primaria y secundaria), (12) inflamación del pulmón aguda y crónica (enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis crónica, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, síndrome de dificultad respiratoria de la infancia, alveolitis por complejo inmune) y (13) otras enfermedades en las que se desea inhibir respuestas inflamatorias o trastornos inmunitarios no deseados,

tales como enfermedades cardiovasculares incluyendo la aterosclerosis, la inflamación vascular resultante de trasplante de tejido o durante la reestenosis (incluyendo, pero no limitada a reestenosis después de angioplastia y/o inserción endoprótesis vascular), otras afecciones inflamatorias agudas y crónicas tales como miositis, enfermedades neurodegenerativas (*p.ej.*, enfermedad de Alzheimer), encefalitis, meningitis, hepatitis, nefritis, sepsis, sarcoidosis, conjuntivitis alérgica, otitis, sinusitis, inflamación sinovial causada por artroscopia, hiperuremia, trauma, lesión por isquemia-reperusión, 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 de curación de heridas (14) alergias a los alimentos mediadas por el sistema inmunitario, tales como la enfermedad celíaca.

En otro grupo de realizaciones, las enfermedades o afecciones se pueden tratar con moduladores de la función de CCR1. Los ejemplos de enfermedades que van 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 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 por trasplante de órganos y las afecciones por trasplante de piel. Se pretende que el término "afecciones por trasplante de órganos" incluya las afecciones por trasplante de médula ósea y afecciones por trasplante de órganos sólidos (*p.ej.*, riñón, hígado, pulmón, corazón, páncreas o sus combinaciones).

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

El compuesto de la presente invención es por lo tanto útil en la prevención y tratamiento de una amplia variedad de trastornos y enfermedades inflamatorias e inmunorreguladoras.

Dependiendo de la enfermedad que se vaya a tratar y del estado del sujeto, el compuesto de la presente invención se puede administrar por las vías de administración 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 tópica y se puede formular, solo o en conjunto, en formulaciones unitarias de dosificación adecuadas que contienen portadores, coadyuvantes y vehículos convencionales no tóxicos farmacéuticamente aceptables apropiados para cada vía de administración.

En el tratamiento o la prevención de afecciones que requieren la modulación del receptor de quimiocinas un nivel de dosificación apropiado será generalmente de aproximadamente 0,001 a 100 mg por kg de peso corporal del paciente por día que se puede administrar 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, 0,05 a 0,5 o 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 vaya a ser tratado. El compuesto se puede administrar en un régimen de 1 a 4 veces por día, preferiblemente una o dos veces por día.

Se entenderá, sin embargo, que el nivel de dosificación específico y la frecuencia de dosificación para cualquier paciente particular puede variarse y dependerá de una variedad de factores incluyendo la actividad del compuesto, la estabilidad metabólica y la duración de acción de ese compuesto, la edad, 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, combinación de fármacos y la gravedad de la afección concreta para el sujeto sometido a terapia.

Las enfermedades y afecciones asociadas con inflamación, trastornos inmunitarios, infecciones y cáncer se pueden tratar o prevenir con el presente compuesto y composiciones.

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

Por ejemplo, en el tratamiento o prevención de la inflamación o la autoinmunidad o, por ejemplo la pérdida de masa 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 la 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 interleuquina, tal como un inhibidor de interleuquina-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, ketorolaco, 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 descongestivo tal como la fenilefrina, fenilpropanolamina, pseudoefedrina, oximetazolina, epinefrina, nafazolina, xilometazolina, propilhexedrina, o levo desoxi efedrina; un antitusivo tal como codeína, hidrocodona, caramifeno, carbetapentano o dextrometorfano; un diurético; y una antihistamina sedante o no sedante.

Asimismo, el compuesto y las composiciones de la presente invención se pueden usar combinados con otros fármacos que se utilizan en el tratamiento, prevención, supresión o mejora de las enfermedades o afecciones para las que el compuesto y las composiciones de la presente invención son útiles. Tales otros fármacos pueden administrarse, por una vía y en una cantidad comúnmente utilizadas para ello, contemporáneamente o simultáneamente al compuesto o composición de la presente invención. Cuando se utiliza el compuesto o composición de la presente invención contemporáneamente con uno o más de otros fármacos, se prefiere una composición farmacéutica que contiene dichos otros fármacos además del compuesto o composición de la presente invención. De acuerdo con ello, 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 otros agentes terapéuticos que se pueden combinar con el 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, hidrocortisona, 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 tipo FK-506, y micofenolato, *p.ej.*, micofenolato de mofetilo (CellCept®); (d) antihistamínicos (antagonistas H1 de histamina) tales como bromofeniramina, clorfeniramina, dexcloifeniramina, triprolidina, clemastina, difenhidramina, difenilpiralina, tripelenamina, hidroxizina, metilazina, prometazina, trimeprazina, azatadina, ciproheptadina, antazolina, pirlamina feniramina, astemizol, terfenadina, loratadina, cetirizina, fexofenadina, descarboetoxiloratadina, y similares; (e) anti-asmáticos no esteroideos (*p.ej.*, terbutalina, metaproterenol, fenoterol, isoetarina, albuterol, bitolterol y pirbuterol), teofilina, cromoglicato sódico, atropina, bromuro de ipratropio, antagonistas de leucotrienos (*p.ej.*, zafirlucast, montelukast, pranlukast, iralukast, pobilukast y SKB-106,203), 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, ketoprofeno, miroprofeno, naproxeno, oxaprozina, piroprofeno, pranoprofeno, suprofeno, ácido tiaprofénico y tioxaprofeno), derivados de ácido acético (*p.ej.*, Indometacina, acemetacina, alclofenaco, clidanaco, diclofenaco, fenclofenaco, ácido fenclórico, fentiazaco, furofenaco, ibufenaco, isoxepaco, oxpinaco, sulindaco, tiopinaco, tolmetina, zidometacina y zomepiraco), derivados de 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.*, isoxicam, piroxicam, sudoxicam y tenoxicam), salicilatos (*p.ej.*, ácido acetilsalicílico y sulfasalazina) y pirazonas (*p.ej.*, apazona, bezpiperilona, feprazona, mofebutazona, oxifenbutazona y fenilbutazona); (g) inhibidores de ciclooxigenasa-2 (COX-2) tales como celecoxib (Celebrex®) y rofecoxib (Vioxx®); (h) inhibidores de fosfodiesterasa tipo IV (PDE IV); (i) compuestos de oro tales como auranofina y aurotioglucosa, (j) etanercept (Enbrel®), (k) terapias con anticuerpos tales como Orthoclone (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®) y 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 sus profármacos; hidroxicloerquina; D-penicilamina; antimetabolitos tales como azatioprina, 6-mercaptopurina y metotrexato; Inhibidores de la síntesis de ADN tales como hidroxiaurea y disruptores de microtúbulos tales como colchicina. La relación en peso del compuesto de la presente invención con respecto al segundo ingrediente activo puede variar y dependerá de la dosis eficaz de cada ingrediente. Generalmente, se utilizará una dosis eficaz de cada uno. Así, por ejemplo, cuando el compuesto de la presente invención se combina con un AINE, la razón en peso del compuesto de la presente invención con respecto al AINE variará generalmente de aproximadamente 1000:1 a aproximadamente 1:1000, preferiblemente de aproximadamente 200:1 a aproximadamente 1:200. Las combinaciones de compuesto de la presente invención y otros ingredientes activos estarán también generalmente

dentro del intervalo anteriormente mencionado, pero en cada caso, se debe utilizar una dosis eficaz de cada ingrediente activo.

V. Ejemplos

5

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

Los reactivos y disolventes utilizados a continuación se pueden obtener de fuentes comerciales tales como Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, EE.UU.). Los RMN ^1H se registraron en un espectrómetro de RMN Varian Mercury a 400 MHz. Los picos significativos se proporcionan en relación con TMS y se tabulan en el orden: multiplicidad (s, singlete; d, doblete; t, triplete; q, cuarteto; 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, se informa de un único valor m/e para el ion M + H (o, cuando se indique, M-H) que contiene los isótopos atómicos más comunes. Los patrones de isótopos 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 electropulverización Hewlett-Packard MSD utilizando HPLC HP1100 equipado con una columna Agilent Zorbax SB-C18, 2.1X50 mm, de 5 μ para el suministro de la muestra. Normalmente el analito se disolvió en metanol a 0,1 mg/mL y 1 microlitro se infundió con el disolvente de suministro al 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 suministro. 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 suministro.

15

20

Las siguientes abreviaturas se utilizan en los ejemplos y en toda la descripción de la invención:

25

30

HPLC, cromatografía líquida de alta presión; DMF, dimetilformamida; TFA, ácido trifluoroacético; THF, tetrahidrofurano; EtOAc, acetato de etilo; BOC_2O bicarbonato de di-terc-butilo o BOC anhídrido; HPLC, cromatografía líquida de alta presión; DIPEA, diisopropiletilamina; HBTU, O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio; dppf, 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno; $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0); DIPEA, diisopropiletilamina; DMP, ftalato de dimetilo; Me, metilo; Et, etilo; DCM, diclorometano.

35

El compuesto de la invención se puede sintetizar 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 pueden emplearse métodos alternativos para sintetizar el compuesto objetivo de la presente invención, y que los enfoques descritos en el texto principal de este documento no son exhaustivos, pero sí proporcionan rutas ampliamente aplicables y prácticas para compuestos de interés.

40

Ciertas moléculas descritas en la presente memoria pueden existir en diferentes formas enantioméricas y diastereoméricas y se reivindican todas estas variantes del compuesto de la invención.

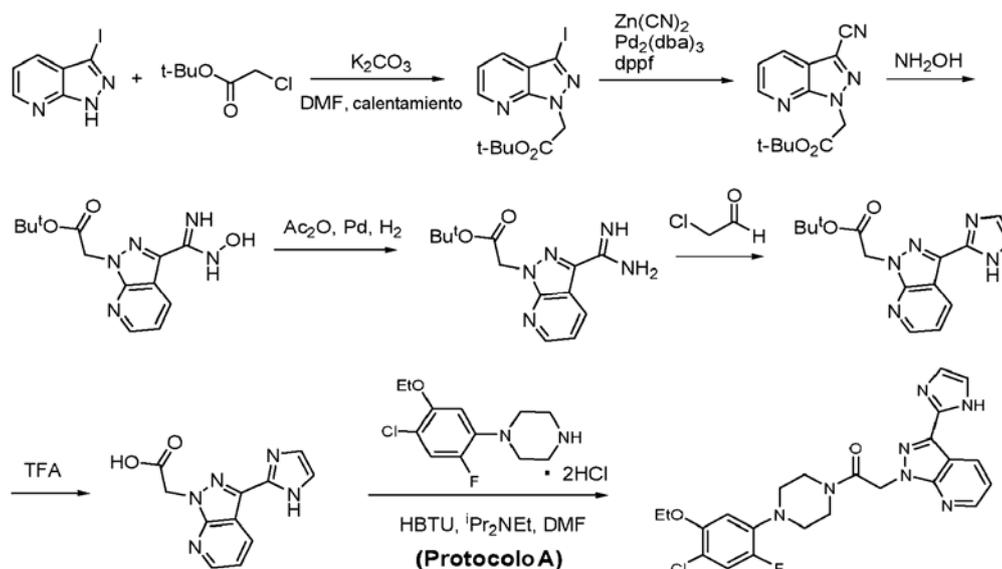
45

La descripción detallada de los procedimientos experimentales utilizados para sintetizar compuestos clave en este texto conducen a moléculas que se describen mediante los datos físicos que las identifican, así como por las representaciones estructurales asociadas con las mismas.

50

Ejemplo de Referencia

Síntesis de 1-[4-(4-cloro-5-etoxi-2-fluorofenil)piperazin-1-il]-2-[3-(1H-imidazol-2-il)pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]etanona.



Etapa 1: Una mezcla de 3-yodo-7-azaindazol (25,50 g) y K_2CO_3 (410,4 g) en DMF (200 mL) se calentó a 85°C y se añadió lentamente cloroacetato de t-butilo (14,3 mL). La mezcla se agitó a esta temperatura durante 1 hora (h), se enfrió a temperatura ambiente, seguido de la adición de agua (300 mL). La filtración de la mezcla de reacción proporcionó éster terc-butílico de ácido (3-yodo-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)acético.

Etapa 2: Un matraz de 250 mL se cargó con éster terc-butílico de ácido (3-yodo-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)acético (15,0 g), $PdCl_2(dppf)$ (3,0 g), $Zn(CN)_2$ (40,96 g), DMF (200 mL) y H_2O (14 mL). El matraz que contenía la suspensión resultante se desgasificó y se rellenó con gas nitrógeno varias veces durante 5 minutos, seguido de la adición de $Pd_2(dba)_3$ (3,85 g) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se calentó bajo N_2 a 90°C durante 16 h, se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con H_2O (800 mL) y se filtró. El sólido recogido se lavó con tolueno (10 mL) para proporcionar éster terc-butílico de ácido (3-ciano-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)acético en forma de un sólido de color amarillo.

Etapa 3: Una mezcla de éster terc-butílico de ácido (3-ciano-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)acético, hidroxilamina (8,28 g) y Et_3N (22,6 mL) en EtOH (120 mL) se calentó durante la noche bajo N_2 a 65°C. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y el sólido recogido se lavó con H_2O (100 mL) y Et_2O (50 mL x 2) para proporcionar éster terc-butílico de ácido [3-(N-hidroxicarbamimidoil)pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]acético.

Etapa 4: El éster terc-butílico de ácido [3-(N-hidroxicarbamimidoil)pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]acético (6,17 g) en un vial de 100 mL se cargó con AcOH (45 mL) y Ac_2O (4,3 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, en este momento la suspensión inicial se convirtió en una solución clara. A esta solución se añadió Pd/C (10%, 900 mg) y se agitó bajo un balón de H_2 a 1 atm, y mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite se lavó con DCM/MeOH. La evaporación del disolvente proporcionó éster terc-butílico de ácido (3-amidino-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)acético que se utilizó sin purificación adicional.

Etapa 5: El éster terc-butílico de ácido (3-amidino-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)acético obtenido anteriormente en un vial de 100 mL se cargó con cloroacetilaldehído (5,72 mL), dioxano (50 mL) y K_2CO_3 (12,42 g). La mezcla resultante se agitó a 80°C durante 4 horas y se añadieron más cloroacetilaldehído (5,72 mL) y K_2CO_3 (12,42 g). La mezcla se agitó durante otra hora adicional a 80°C y se agitó a 120°C durante otra hora adicional, se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con diclorometano (DCM), se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4), se filtró y se evaporó a vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida proporcionó éster terc-butílico de ácido 2-(3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)acético en forma de un aceite de color pardo.

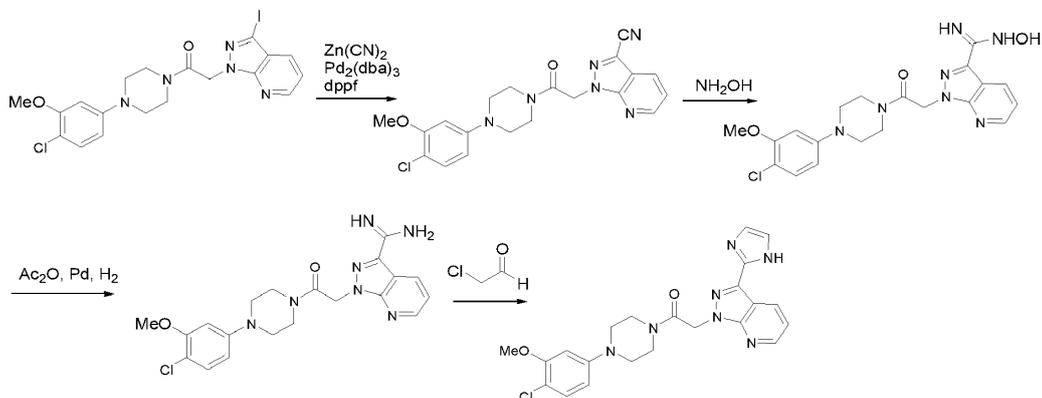
Etapa 6: El éster terc-butílico de ácido 2-(3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)acético (977 mg) se disolvió en ácido trifluoroacético (TFA) (10 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hr. La mezcla se evaporó a vacío para proporcionar ácido 2-(3-(1H-imidazol-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)acético en forma de un aceite de color pardo, que se utilizó sin purificación adicional.

Etapa 7: (Protocolo A- procedimiento de acoplamiento de HBTU) Una solución de ácido [3-(1H-imidazol-2-il)pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]acético (0,30 M, 0,40 mL, 0,12 mmoles) se transfirió a un vial. Se añadieron al vial 1-(4-cloro-5-etoxi-2-fluorofenil)piperazina (48 mg, 0,14 mmoles), hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HBTU) (55 mg, 0,14 mmoles) e $i-Pr_2NEt$ (0,30 mL) y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente. Después de 30 minutos, el análisis LC/MS indicó la formación del producto deseado y el consumo completo del material de partida de ácido carboxílico. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con agua (1x) y salmuera (1x), se secó sobre Na_2SO_4 y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (MeOH de 1% a 8% en CH_2Cl_2) para proporcionar 1-[4-(4-cloro-5-etoxi-2-fluorofenil)piperazin-1-il]-2-[3-(1H-imidazol-2-il)pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]etanona en forma de un sólido de color canela: RMN H^1 ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8,79 (dd, 0,6 H, $J = 8,4, 1,6$ Hz), 8,66 (dd, 0,4 H, $J = 8,0, 1,6$ Hz), 8,57-8,55 (m, 1H), 7,29-

7,26 (m, 1H), 7,22-7,16 (m, 1H), 7,09-7,05 (m, 2H), 6,50-6,45 (m, 2H), 5,45 (s, 0,6H), 5,43 (s, 1,4H), 4,07-4,01 (m, 2H), 3,81-3,69 (m, 4H), 3,17-3,13 (m, 1,6H), 3,08-3,02 (m, 2,4H), 1,50-1,42 (m, 3H); LC/MS *m/z* (M + H)⁺ 484,4.

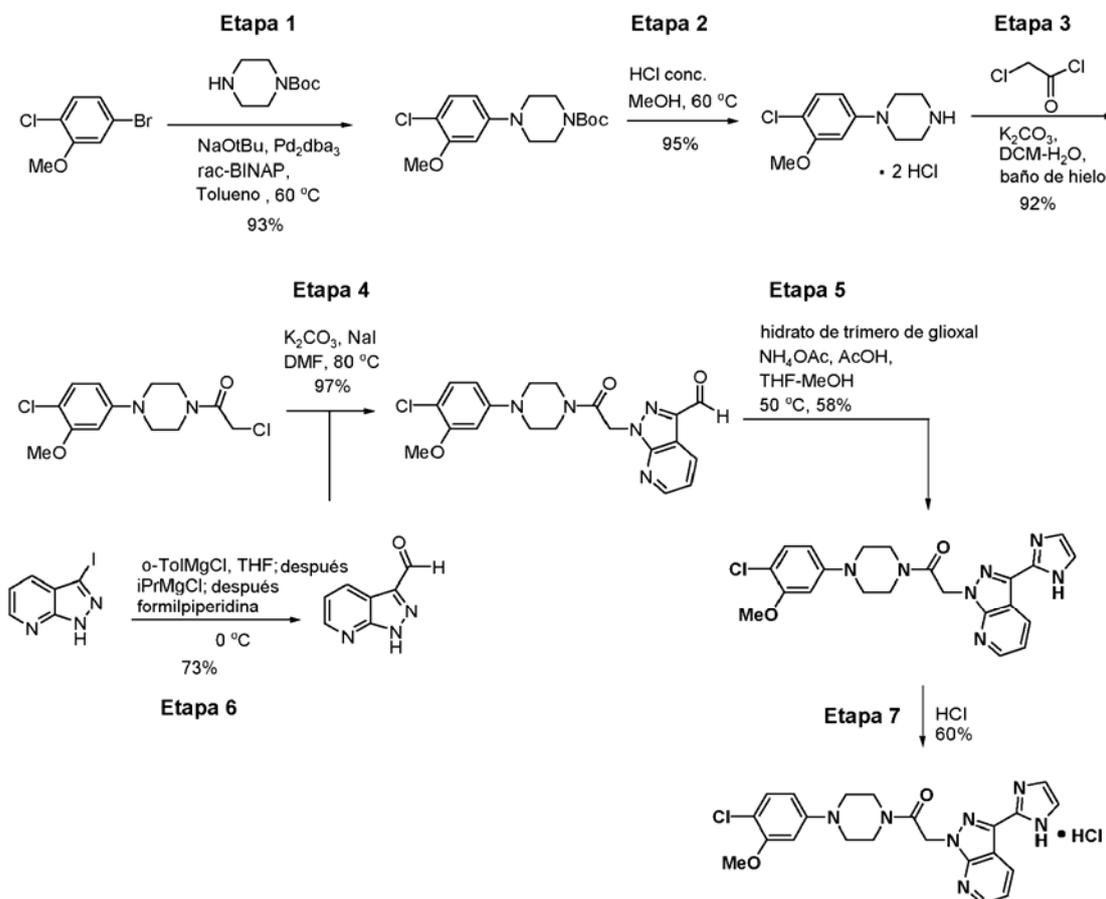
5 Ejemplo 1

Síntesis de 1-[4-(4-cloro-3-metoxi-fenil)piperazin-1-il]piridin 2-[3-(1H-imidazol-2-il)pirazolo[3,4-b]-1-il]-etanona.

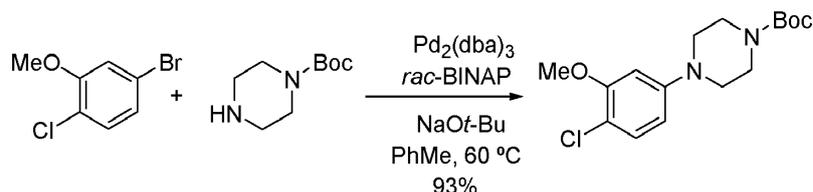


10 El compuesto del título se preparó a partir de 1-[4-(4-cloro-3-metoxi-fenil)piperazin-1-il]-2-[3-yodo-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]etanona (véase la Solicitud de Patente de Estados Unidos Núm. de Serie 11/474.132, Publicada como documento US 20070010524) de acuerdo con el procedimiento similar a los descritos de la etapa 2 la etapa 5 en la síntesis de la Ejemplo de Referencia: RMN H¹ (CDCl₃, 400 MHz) δ 10,22 (ancho, 1H), 8,82 (dd, 1H), 8,56 (dd, 1H), 7,20-7,30 (m, 3H), 7,11 (s, 1H), 6,47 (d, 1H), 6,42 (dd, 1H), 5,44 (s, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,80 (m, 4H), 3,19 (m, 4H); MS (ES) M + H esperado 452,2.

Ejemplo 2

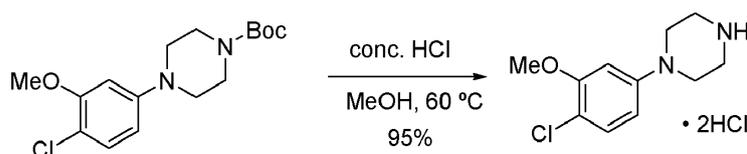


Etapa 1: 4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo



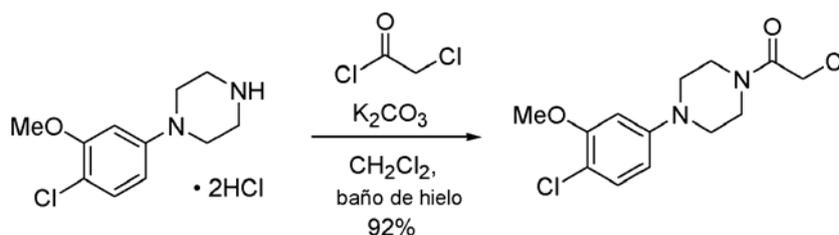
5 A un matraz Morton de 3 bocas, de 5 L equipado con un agitador mecánico, adaptador de gas, camisa de calentamiento y un termómetro se le añadieron *rac*-BINAP (4,24 g, 0,005 equiv) y $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (3,20 g, 0,0025 equiv). El matraz se evacuó, y se volvió a llenar con nitrógeno. Se añadió tolueno (100 mL) mediante una cánula. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min para proporcionar una solución de color púrpura. Después, se
10 añadió tolueno (2,0 L). Se añadió 2-cloro-5-bromoanisol (300,3 g, 1,356 moles, 1 equiv) en una porción. Se añadió Boc-piperazina (252,4 g, 1 equiv) en una porción. Se añadió *tert*-butóxido de sodio (183,0 g, 1,4 equiv) en una porción. El matraz se evacuó y se volvió a llenar con nitrógeno. La mezcla se calentó a continuación a una temperatura interna de 60°C. Se obtuvo una suspensión heterogénea de color naranja claro. Después de 1 h, la
15 mezcla se convirtió en una solución homogénea de color pardo. Después de 15 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió EtOAc (2.0 L) a la mezcla en agitación. El sólido se filtró. El producto filtrado se lavó con EtOAc (100 mL). El producto filtrado combinado se lavó con solución ac. al 10% de K_2CO_3 (1 x 1 L), agua (1 x 1 L), y se secó sobre MgSO_4 . El disolvente se eliminó a vacío para proporcionar el producto en forma de un sólido de color naranja (410,3 g, rendimiento 93%).

20 Etapa 2: dihidrocloruro de 1-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazina



25 Un vaso de precipitados de 4 L equipado con un agitador mecánico se cargó con 4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-carboxilato de terc-butílico (500 g, 1,53 moles, 1 equiv) y MeOH (1,50 L). Mientras se agitaba a temperatura ambiente se añadió HCl conc. al 37% (500 mL, 4 equiv) durante 5 min. La temperatura interna se elevó a 40°C, y la solución se volvió espesa con precipitado. Después de 15 min, la mezcla se calentó a una temperatura interna de 60°C sobre una placa caliente. (La formación de espuma comenzó a aproximadamente 50°C cuando la mezcla se calentó). Después de 2 horas a 60°C, la solución se enfrió a temperatura ambiente, y
30 posteriormente a 5°C en un refrigerador. El producto se recogió mediante filtración en dos lotes. Cada lote del producto filtrado de color rojo-pardo se lavó con EtOAc (2 x 500 mL) para proporcionar un sólido de color amarillo claro. Los dos lotes se combinaron para proporcionar el producto (391,3 g). El producto filtrado se concentró hasta un volumen de 300 mL a vacío y se trató con MeOH (500 mL) caliente (50°C). La mezcla se enfrió a 5°C en un refrigerador durante 24 h. El precipitado resultante se recogió mediante filtración y se lavó con EtOAc (2 x 200 mL)
35 para proporcionar 44,3 g adicionales de producto (total de 435,6 g, rendimiento de 95%).

Etapa 3: 2-cloro-1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il)etanona

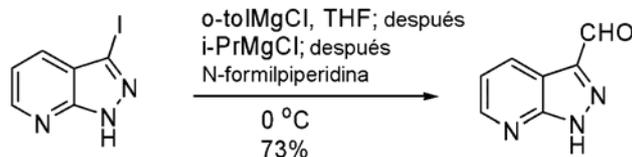


40 A un matraz de 3L equipado con un agitador mecánico se le añadieron 1-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazina (220 g, 0,73 moles, 1 equiv), CH_2Cl_2 (1000 mL), y agua (1000 mL). La mezcla bifásica se enfrió a 5°C con un baño de hielo-agua. Se añadió K_2CO_3 (506 g, 5 equiv) a la disolución agitada vigorosamente en porciones para reducir al mínimo la formación de espuma. Se añadió gota a gota una solución de cloruro de cloroacetilo (124,4 g, 1,5 equiv)
45 en CH_2Cl_2 (100 mL) desde un embudo de adición, mientras se mantenía una temperatura interna por debajo de 8°C. Después de 1 h, se retiró el baño refrigerante, y la reacción se calentó a temperatura ambiente. Después de 1 h adicional, se repartieron las capas. La fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 300 mL), y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $\text{Na}_2\text{SO}_4/\text{K}_2\text{CO}_3$ 3:1 (la adición de K_2CO_3 ayuda a la fase de solución a volverse clara).

Después de la filtración, el producto filtrado se concentró a vacío, y el residuo se secó durante 16 h a vacío para proporcionar el producto en forma de un sólido de color blanquecino (410 g, rendimiento de 92%).

Etapa 6: 7-azaindazol-3-carboxaldehído

5



Un matraz de 3 bocas de 5 litros equipado con un termómetro digital, un embudo de adición de 1 L y agitador mecánico (todo el material de vidrio se secó en un horno y se enfrió al aire durante 30 min antes de su uso) se cargó con 3-yodo-7-azaindazol (196,0 g, 0,80 mol) y 1 L de THF anhidro (en botella SureSeal de Aldrich y utilizado tal cual). Los sólidos se disolvieron completamente en THF a temperatura ambiente para formar una solución de color pardo oscuro. El matraz se enfrió a -5°C con un baño de hielo/ NaCl y agitación moderada y se añadió gota a gota cloruro de o-tolilmagnesio (solución 1 M en THF, 880 mL, 1,1 equiv) para mantener la temperatura interna entre -5°C a -3°C (después de añadir -820 mL de una solución de cloruro de o-tolilmagnesio, la temperatura ya no aumentó). El procedimiento de adición completó llevó 2 horas y 25 minutos. Al final de la adición, la mezcla era una solución homogénea de color pardo oscuro.

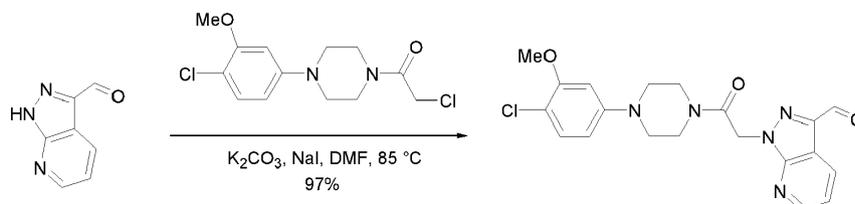
Después de 1 h adicional, se añadió gota a gota una solución de cloruro de isopropilmagnesio (2 M en THF, 480 mL, 1,2 equiv) para mantener la temperatura interna $<4^{\circ}\text{C}$. Después de 25 min y de añadir aproximadamente 200 mL de una solución de cloruro de isopropilmagnesio, comenzó a formarse un precipitado de color pardo. Después de añadir un total de 380 mL de solución de cloruro de isopropilmagnesio, la mezcla se volvió homogénea de nuevo. El procedimiento de adición completo se realizó en 45 min. Después de 1 hr y 25 min adicionales, se recogió una pequeña cantidad de muestra y se sofocó con D_2O . El análisis mediante LCMS de esta muestra indicó el completo intercambio de Yodo-Mg.

A continuación se añadió gota a gota 1-formilpiperidina (120 mL, 1,3 equiv) para mantener la temperatura interna entre $<2^{\circ}\text{C}$. Después de añadir aproximadamente 30 mL de 1-formilpiperidina, la temperatura interna no subió más y se añadió el resto de la 1-formilpiperidina de manera relativamente rápida. El procedimiento de adición completo llevó 20 minutos. Al final de la adición, la mezcla era todavía una solución homogénea oscura y se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó moderadamente durante 18 h.

La mezcla se volvió a enfriar a 0°C con un baño de hielo/ NaCl y se inactivó mediante la adición lenta de una mezcla de solución saturada de NH_4Cl (750 mL)/solución concentrada de HCl (250 mL) para mantener la temperatura interna a $<35^{\circ}\text{C}$. Después de completar la adición, se dejó que la agitación continuara durante 1 hr y apareció un precipitado de color amarillo. La mezcla se filtró y el sólido se lavó con THF (100 mL). El producto filtrado recogido se transfirió a un embudo de separación y se ajustó el pH de la capa acuosa entre 5 y 6 con la adición de NaHCO_3 (alrededor de 5 g). La capa de THF se separó y se lavó con solución sat. de NaCl (2 x 100 mL). Las capas acuosas combinadas (incluyendo el lavado de NaCl y la capa acuosa sofocada) se extrajeron con EtOAc (3 x 250 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se evaporaron a vacío (temperatura del baño $<30^{\circ}\text{C}$) para proporcionar un sólido de color parduzco. Este sólido se trituroó con Et_2O (600 mL) y se filtró. El sólido recogido se lavó con Et_2O (2 x 100 mL) para proporcionar 7-azaindazol-3-carboxaldehído en forma de un sólido amarillento (86,6 g, 73%).

Etapa 4: 1-[4-(4-cloro-5-etoxi-2-fluorofenil)piperazin-1-il]-2-[3-formil-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]etanona

45

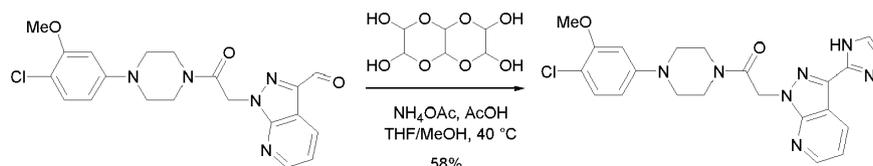


Una mezcla de 7-azaindazol-3-carboxaldehído (86,6 g, 0,59 moles, 1 equiv), NaI (8,8 g, 0,1 equiv) y K_2CO_3 (162,5 g, 2 equiv) en DMF (0,5 L) en un matraz de 5 L se calentó a 85°C (el procedimiento de calentamiento llevó alrededor de 1,5 h). Se añadió 2-cloro-1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il)etanona (175 g, 1 equiv) en pequeñas porciones a la mezcla de reacción. El procedimiento de adición completó llevó aproximadamente 30 minutos. La mezcla se agitó a continuación a 85°C durante 30 min y la LCMS confirmó que la reacción era completa. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se transfirió a un matraz de 4 L con 2 L de hielo. El matraz de reacción se enjuagó con una pequeña cantidad de acetona (30 mL) y se transfirió también a la mezcla de DMF/hielo

50

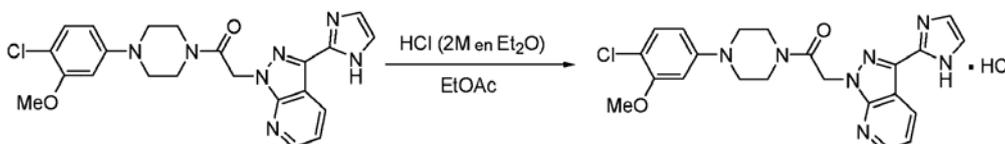
en el matraz de 4 L. Una gran cantidad de sólidos de color pardo precipitó. Después de que el hielo se derritió por completo, se filtró la mezcla. El sólido recogido se lavó con agua (1 L), se mezcló y a continuación se lavó con agua (1 L) para deshacerse de algo de DMF residual. El sólido recogido contenía una gran cantidad de agua, por lo que se disolvió en CH₂Cl₂ (4 L) y la mezcla se transfirió a un embudo de separación de 5 L. La capa de CH₂Cl₂ del fondo se separó y la capa acuosa de la parte superior se lavó con CH₂Cl₂ (2 × 100 mL). Las capas de CH₂Cl₂ combinadas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se evaporaron a vacío para proporcionar 1-[4-(4-cloro-5-etoxi-2-fluorofenil)piperazin-1-il]-2-[3-formil-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]etanona en forma de un color pardo sólido (236,4 g, 97%) que se utilizó sin purificación.

10 Etapa 5: 1-[4-(4-Cloro-5-etoxi-2-fluorofenil)piperazin-1-il]-2-[3-(1H-imidazol-2-il)pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]etanona



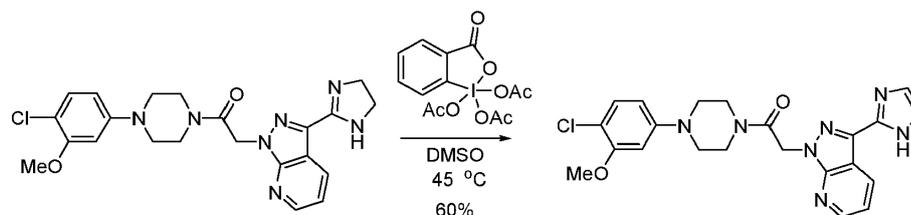
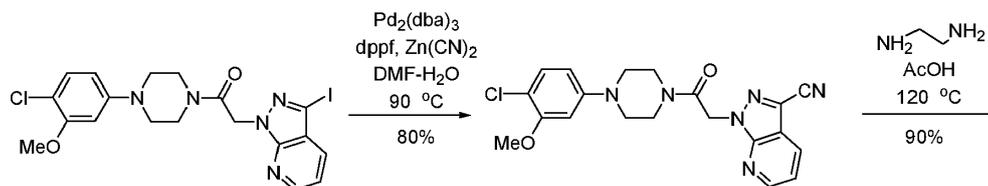
15 La 1-[4-(4-cloro-5-etoxi-2-fluorofenil)piperazin-1-il]-2-[3-formil-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]etanona (300 g, 723 mmoles, 1 equiv), dihidrato de trómero de glioxal (60,6 g, 0,4 equiv), y acetato de amonio (222,9 g, 4 equiv) se suspendieron en una mezcla de THF (720 mL) y MeOH (720 mL) en un matraz de fondo redondo de 5 L equipado con una barra de agitación magnética y entrada de nitrógeno. Se añadió ácido acético (84 mL, 2 equiv) y la mezcla se calentó en un baño de aceite a 45°C (sólidos disueltos por calentamiento). Después de 12 horas, el análisis mediante LC/MS indicó el consumo completo del material de partida de aldehído y la formación de producto deseado (LC/MS *m/z* (M + H)⁺ 452,1). El MeOH/THF se retiró por evaporación rotativa. El residuo se disolvió en MeOH al 10% en CH₂Cl₂ (aprox. 1,5 L) y la mezcla se sacudió vigorosamente con carbonato de potasio acuoso (aprox. 210 g de carbonato de potasio en aprox. 1,5 L de agua, pH de la fase acuosa = 8-9). Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con MeOH al 10% en CH₂Cl₂ (2 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se concentraron para proporcionar un sólido aceitoso de color pardo. El producto en bruto se suspendió en MeOH al 10% en EtOAc (aprox. 1 L). Se añadieron Na₂SO₄ anhidro (aprox. 60 g) y gel de sílice (aprox. 100 g) y la suspensión se calentó suavemente con una pistola de calor para disolver el producto bruto. La suspensión se transfirió a un embudo de filtro de vidrio fritado 2 L que contenía gel de sílice (aprox. 100 g, pre-equilibrada con MeOH al 10% en EtOAc), y el producto se eluyó a través del tapón de gel de sílice con MeOH al 10% en EtOAc (aprox. 6 L) y Et₃N al 1%, MeOH al 10% en EtOAc (aprox. 10 L). (Nota: la disolución incompleta del producto y/o precipitación de producto en presencia de gel de sílice complicó la filtración). Los disolventes se retiraron por evaporación rotativa. El residuo se trituró con MeCN (1 x 300 mL) y se secó (evaporación rotativa seguido de alto vacío) para proporcionar 1-[4-(4-cloro-5-etoxi-2-fluorofenil)piperazin-1-il]-2-[3-(1H-imidazol-2-il)pirazolo[3,4-b]piridin-1-il]etanona en forma de un sólido de color blanco (190 g, 58%, LC/MS pureza > 98%).

35 Etapa 7: sal de hidrocloreto de 2-(3-1H-imidazol-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il)etanona

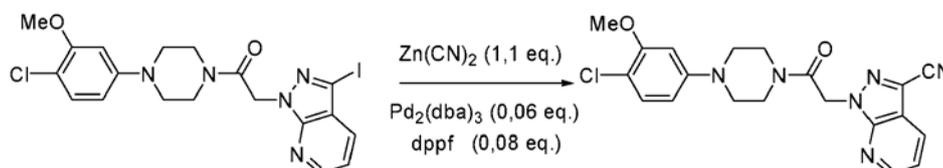


40 Un matraz de 2 L con un agitador magnético se cargó con la sustancia de partida (5,1 g, 11,28 mmoles) y EtOAc (900 mL). La suspensión resultante se calentó para formar una solución clara y se enfrió a temperatura ambiente bajo agitación moderada. Se añadió gota a gota HCl en Et₂O (2 M, 6,2 mL, 12,42 mmoles) a la solución resultante a temperatura ambiente durante 5 min. Después de la adición, la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h adicional. El sólido se recogió por filtración y se lavó con Et₂O (150 mL x 2) y se secó a vacío para proporcionar 5,4 g de un polvo de color blanco. Un matraz de 250 mL con un agitador magnético, se cargó con el polvo obtenido anteriormente (5,4 g), acetona (100 mL) y agua desionizada (16 mL). La suspensión resultante se calentó para formar una solución transparente y se agitó a enfriar. Cuando la solución se volvió turbia (aparecieron semillas de cristal), se añadió lentamente acetona (540 mL) a la suspensión durante 20 min. La suspensión resultante se calentó a 50°C y se agitó durante 2 h. La filtración en caliente, lavando con acetona caliente (50 mL x 2) y secado a vacío proporcionó 3,3 g (60%) del producto en forma de un sólido de color blanco: p.f. 164-165°C. Los cristales aparecen en forma de prismas bajo un microscopio de polarización.

Ejemplo 3

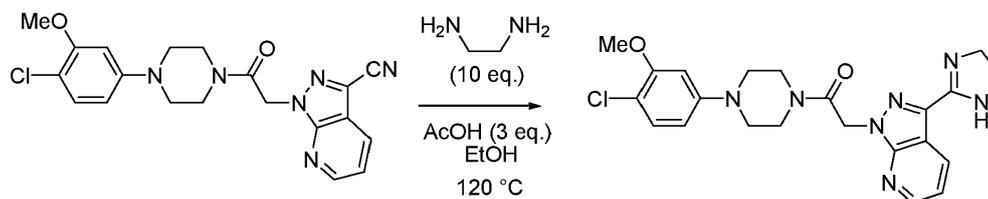


5 Etapa 1: Síntesis de 1-(2-[4-(4-cloro-3-metoxi-fenil)piperazin-1-il]-2-oxo-etil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-carbonitrilo



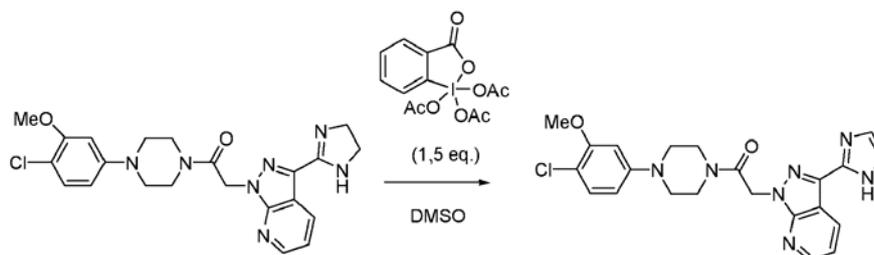
Un matraz de 2000 mL se cargó con 1-[4-(4-cloro-3-metoxi-fenil)piperazin-1-il]-2-(3-yodo-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)-etanona (véase la Solicitud de Patente de Estados Unidos Núm. de Serie 11/474.132, publicada como documento US 20070010524, 40 g, 78,1 mmoles), dppf (3,86 g, 6,96 mmoles), Zn(CN)₂ (9,6 g, 81,6 mmoles), DMF (360 mL) y H₂O (20 mL). La suspensión resultante se desgasificó utilizando N₂ durante 5 min, seguido de la adición de Pd₂(dba)₃ (4,24 g, 4,64 mmoles). La mezcla de reacción se calentó bajo N₂ a 90°C durante 2 h (control mediante TLC y LC-MS). Después de enfriar a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (1500 mL), se filtró para eliminar el precipitado y se lavó con H₂O (1000 X2 mL), EDTA.4Na saturado (800 mL X 2), salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. Después de la evaporación del disolvente, se añadió éter (150 mL) y se agitó durante 2 h. El sólido resultante se filtró para proporcionar el producto deseado 30 g (93%) en forma de un polvo de color amarillo claro. La recristalización en CH₃CN a reflujo (160 mL) proporcionó 26 g (80%) de cristales de color amarillo claro: pf 183-185°C; R_t = 2,38 min; MS (ES) M + H esperado 411,1, encontrado 411,1.

20 Etapa 2: Síntesis de 1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il)-2-(3-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)etanona



Un matraz de 250 mL se cargó con 1-(2-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-carbonitrilo (15,3 g, 37,2 mmoles), EtOH (40 mL, ~ 1 M). En un baño de hielo y agitando, se añadió AcOH (6,75 mL, 112 mmoles), seguido de etilendiamina (25 mL, 372 mmoles). La mezcla resultante se calentó a 120°C (baño) en N₂ (mezcla observada comenzando el reflujo) durante 1,5 h. La TLC y LC-MS indicaron la desaparición de la sustancia de partida y la formación de imidazolina. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con DCM (700 mL) y se lavó con H₂O (350 mL). La capa de H₂O se extrajo de nuevo con DCM (150 mL), y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (350 mL) y se secó sobre MgSO₄. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida, el residuo se suspendió en EtOAc caliente (80 mL). Después de enfriar a temperatura ambiente, el sólido se recogió mediante filtración y se lavó con EtOAc (30 mL) para proporcionar el compuesto del título en forma de polvos de color blanco (16 g, 95%) que se utilizó directamente para la siguiente etapa: punto de fusión 133-135°C; R_t = 1,369 min. MS (ES) M + H esperado 454,2, encontrado 454,4.

Etapa 3: 2-(3-1H-imidazol-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-1-il)-1-(4-(4-cloro-3-metoxifenil)piperazin-1-il) etanona



La anterior imidazolinona (12,3 g, 27,1 mmoles) en un matraz de 500 mL se cargó con DMSO *anhidro* (108 mL, ~ 0,25 M). Se añadió DMP (17,2 g, 40,6 mmoles) en porciones con agitación. La mezcla resultante se agitó a 45°C bajo N₂ durante 2 h (control mediante TLC y LC-MS). Después de enfriar a temperatura ambiente, se sofocó la reacción con Na₂S₂O₃ sat. (100 mL) (baño de hielo), seguido de NaOH 3 N (100 mL) (pH 12-13) y H₂O (300 mL) y se extrajo con DCM (600 mL + 300 mL). La capa orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ sat. (300 mL), salmuera (300 mL) y se secó (MgSO₄ 120 g). Después de la evaporación del disolvente orgánico, se disolvió el residuo sólido de color amarillo (~ 11 g) en CH₃CN caliente (20 mL). Después de enfriar a temperatura ambiente, el sólido resultante se recogió mediante filtración para proporcionar 6,7 g (55%) del compuesto del título en forma de cristales de color pardo claro: pf 149-152°C; R_t = 1,309 min. MS (ES) M + H esperado 452,2, encontrado 452,4. Las aguas madre se concentraron y proporcionaron otros 0,6 g (rendimiento aislado total 60%).

Ejemplo 4

El siguiente ejemplo ilustra las inesperadas propiedades farmacocinéticas superiores del compuesto de la invención en comparación con un compuesto similar descrito anteriormente (Publicación de los Estados Unidos Núm. 2007/0010524A1).

Con fines comparativos, los perfiles farmacocinéticos del compuesto de la invención (compuesto B) y dos compuestos descritos en la Publicación de estados Unidos Núm. 2007/0010524A1 (es decir, Compuestos A y C) se presentan en la Tabla 2A. Como se muestra en la misma, el compuesto B tiene propiedades farmacocinéticas superiores. Más concretamente, el Compuesto B de la invención es más ventajoso ya que exhibe un aumento sustancial en la absorción oral (como se mide mediante % de biodisponibilidad oral); valores de C_{max}, y AUC en comparación con compuestos A y C estructuralmente similares.

Protocolo PK en rata:

En el estudio farmacocinético, se administraron dosis de cada compuesto a cuatro ratas macho Sprague-Dawley no sometidas a tratamiento previo. Dos animales recibieron una dosis única de un compuesto (formulado en 31,6% de propilenglicol/31,6% de *N,N*-dimetilacetamida/36,8% de EtOH) por vía intravenosa (i.v.) a 1 mg/kg, dos animales recibieron una dosis oral (p.o.) del compuesto (formulado en HPMC al 1% en agua) a 50 mg/kg. Las muestras de sangre se recogieron en puntos de tiempo predeterminados (hasta 24 horas) después de cada dosificación y las concentraciones plasmáticas correspondientes del compuesto se analizaron utilizando un método LC-MS/MS. Se construyeron las curvas de concentración-tiempo en plasma y los parámetros farmacocinéticos correspondientes se obtuvieron mediante análisis no compartimental. Los valores de C_{max} (concentración plasmática máxima) y AUC (área bajo la curva) mostrados en la tabla se calcularon basándose en las curvas de concentración-tiempo en plasma después de la dosis oral. Los valores de F (biodisponibilidad oral) fueron las razones entre el área bajo la curva después de la dosis oral (normalizada a 1 mg/kg) y el área bajo la curva después de la dosis iv.

Tabla 2A*

	<p>Het is</p> <ul style="list-style-type: none"> A B C
--	--

	Compuesto A	Compuesto B	Compuesto C
Cmax [ng/mL/h]	2,780	24,233	1,382
AUC [ng/mL/h]	11,864	73,982	5,594
% de biodisponibilidad oral	10%	70%	3%
* Los compuestos se dosificaron por vía oral a 50 mg/kg en ratas SD.			

Ejemplo 5

5 Este ejemplo ilustra la evaluación de la actividad biológica asociada con el compuesto de la invención.

Materiales y métodos

A. células

10

1. Células que expresan CCR1

a) Células THP-1

15

Las células THP-1 se obtuvieron de la 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 bajo 5% de CO₂/95% de aire, 100% de humedad a 37°C y se subcultivaron dos veces por semana a 1:5 (la 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 a CCR1 y en análisis funcionales.

20

2. Análisis de quimiotaxis

25

Los análisis de quimiotaxis se realizaron con policarbonato de 5 µm de poro, filtros recubiertos de polivinilpirrolidona en cámaras de quimiotaxis de 96 pocillos (Neuroprobe; Gaithersburg, MD) utilizando tampón de quimiotaxis (solución salina equilibrada de Hank (HBSS) y FBS al 1%). Se utilizan ligandos de quimiocinas CCR1 (es decir, MIP-1a, CCL15/Leucotactina R & D Systems; Minneapolis, MN) 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 utilizan como controles de especificidad. La cámara inferior se cargó con 29 µl de quimiocinas (es decir, CCL15 0,1 nM/leucotactina) y cantidades variables de compuesto; la cámara superior contenía 100.000 células THP-1 o monocitos en 20 µl. Las cámaras se incubaron 1-2 horas a 37°C, y el número de células en la cámara inferior se cuantificó mediante recuentos directos de células en cinco campos de alta potencia por pocillo o mediante el análisis CyQuant (Molecular Probes), un método con colorante fluorescente que mide el contenido de ácido nucleico y observación microscópica.

30

35

B. Identificación de inhibidores de CCR1

40

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 el compuesto inhibía no sólo la unión y la señalización específicas de CCR1 (al menos según se determina mediante análisis de movilización de calcio), sino también la migración mediada por CCR1, se empleó un ensayo de quimiotaxis. Las células THP-1 de leucemia mielomonocítica, que parecen monocitos, así como monocitos recién aislados, se utilizaron 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, mientras se cargaban MIP-1α (u otro ligando de quimiocinas CCR1 potente) y concentraciones crecientes de un compuesto de interés en la cámara inferior. 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, la mayoría de las células permanecerá en la cámara superior. Para determinar la afinidad del compuesto por CCR1 así como para confirmar su capacidad para inhibir la migración celular mediada por CCR1, la actividad inhibitoria se tituló a lo largo de un intervalo de concentraciones de 1 x 10⁻¹⁰ a 1 x 10⁻⁴ M del compuesto en este análisis de quimiotaxis. En este análisis, se varió la cantidad de compuesto; mientras que el número de células y las concentraciones de quimiocinas agonistas se mantuvieron constantes. Después de que las cámaras de quimiotaxis se incubaran 1-2 horas a 37°C, las células que responden en la cámara inferior se cuantificaron mediante marcaje con el análisis CyQuant (Molecular Probes), un método con 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 CI₅₀. Los valores de IC₅₀ son aquellas concentraciones de compuesto requeridas para inhibir el número de células que responden a un agonista de CCR1 en 50%.

55

1. Eficacia *in vivo*a) *Modelo de conejo de inflamación de las articulaciones destructiva*

5 Se llevó a cabo un estudio con LPS en conejo esencialmente como describen Podolin, et al. J. Immunol. 169(11):6435-6444 (2002). Conejos hembra New Zealand (aproximadamente 2 kilogramos) fueron tratados por vía intraarticular en ambas rodillas con LPS (10 ng). El compuesto, por ejemplo 1.016 (formulado en metocel al 1%) o vehículo (metocel al 1%) se dosificó 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 realizaron recuentos de células. Los efectos beneficiosos del tratamiento se determinaron mediante la reducción en el número de células inflamatorias reclutadas al fluido sinovial inflamado de las articulaciones de la rodilla. El tratamiento con el compuesto dio como resultado una reducción significativa en las células inflamatorias reclutadas.

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

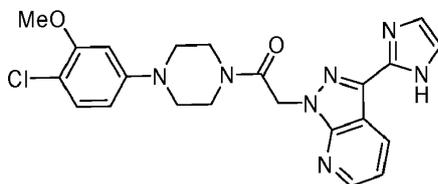
Se lleva a cabo un estudio de desarrollo de artritis inducida por colágeno de tipo II de 17 días para evaluar los efectos del compuesto sobre la artritis inducida por inflamación en el tobillo clínica. La artritis inducida por colágeno en rata es un modelo experimental de poliartritis que se ha utilizado 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., Arthritis Rheum. 42:498-506 (1999)). Las características de este modelo son el inicio fiable y la fuerte progresión de la inflamación poliarticular, fácilmente medible, la marcada destrucción del cartílago en asociación con la formación de pannus y resorción ósea de leve a moderada y la proliferación ósea perióstica.

25 Se anestesian con isoflurano ratas Lewis hembra (aproximadamente 0,2 kilogramos) y se les inyectan coadyuvante incompleto de Freund que contiene 2 mg/mL de colágeno bovino tipo II en la base de la cola y en dos sitios en el dorso los días 0 y 6 de este estudio de 17 días. El compuesto se dosifica diariamente de una manera subcutánea del día 0 hasta el día 17 a una dosis eficaz. Se toman mediciones con calibre del diámetro de la articulación del tobillo, y la reducción de hinchazón de las articulaciones se toma como una medida de la eficacia.

30 La actividad del compuesto de la invención en el análisis de quimiotaxis descrito anteriormente es $CI_{50} \leq 100$ nM.

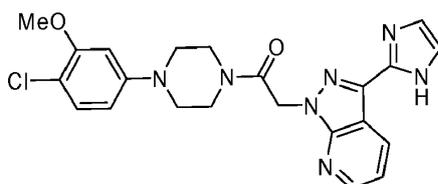
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:



5

2. Un compuesto que tiene la fórmula:



10

o una sal, hidrato o N-óxido del mismo farmacéuticamente aceptable.

3. Un compuesto de la Reivindicación 2, en forma de hidrato.

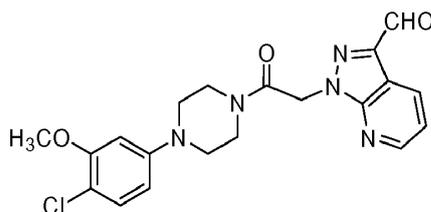
4. Un compuesto de la Reivindicación 2, en forma de sal farmacéuticamente aceptable ..

5. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la Reivindicación 1 y un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable.

6. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la Reivindicación 2 y un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable.

7. Un método de preparación del compuesto de la Reivindicación 1, comprendiendo dicho método:

(a) poner en contacto un compuesto que tiene la fórmula:



30

con un reactivo de formación de imidazol bajo condiciones suficientes para formar dicho compuesto de la Reivindicación 1.

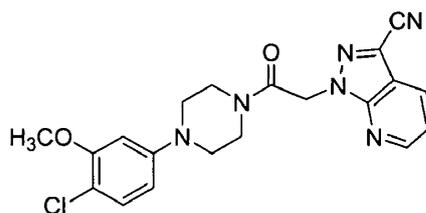
8. Un método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde dicho reactivo formador de imidazol se selecciona del grupo que consiste de glioxal o un equivalente de glioxal.

9. Un método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde dicho reactivo formador de imidazol es glioxal y dicho contacto es en presencia de acetato de amonio.

10. Un método para preparar un compuesto que tiene la fórmula de la Reivindicación 1, comprendiendo dicho método:

40

(a) poner en contacto un compuesto que tiene la fórmula:



con etilendiamina para formar un producto de imidazolina; y

(b) oxidar dicho producto de imidazolina para formar dicho compuesto que tiene la fórmula de la Reivindicación 1.

5

11. Un método de acuerdo con la Reivindicación 10, en donde dicha oxidación se lleva a cabo con un reactivo seleccionado del grupo que consiste de KMnO_4 , MnO_2 , $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, reactivos de Swern y peryodinano de Dess-Martin.

10 12. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 2, para su uso en un método de tratamiento de enfermedades o afecciones mediadas por CCR1.

13. Un compuesto para uso de acuerdo con la Reivindicación 12, en donde dicha enfermedad o afección mediadas por CCR1 es una afección inflamatoria o es un trastorno inmunorregulador.

15

14. Un compuesto para uso de acuerdo con la Reivindicación 12, en donde dichas enfermedad o afección mediadas por CCR1 se seleccionan del grupo que consiste en artritis reumatoide, esclerosis múltiple, rechazo de trasplantes, restenosis, dermatitis, eczema, urticaria, vasculitis, enfermedad inflamatoria intestinal, alergia a los alimentos, asma, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, psoriasis, lupus eritematoso sistémico, osteoartritis, accidente cerebrovascular, restenosis y encefalomiélitis.

20

15. Un compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 12 a 14, en donde

(a) la ruta de administración de dicho compuesto es oral, parenteral, rectal, transdérmica, sublingual, nasal o tópica; o

25

(b) dicho compuesto se administra combinado con un agente anti-inflamatorio, un agente analgésico, un agente antiproliferativo, un inhibidor metabólico, un inhibidor de la migración de leucocitos o un inmunomodulador.

16. El uso de un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 2 para la preparación de un medicamento para su uso en un método de tratamiento de enfermedades o afecciones mediadas por CCR1, opcionalmente en donde:

30

(a) dicha enfermedad o afección mediadas por CCR1 es una afección inflamatoria o es un trastorno inmunorregulador; o

35

(b) dicha enfermedad o afección mediadas por CCR1 se seleccionan del grupo que consiste en artritis reumatoide, esclerosis múltiple, rechazo de trasplantes, restenosis, dermatitis, eczema, urticaria, vasculitis, enfermedad inflamatoria intestinal, alergia a los alimentos, asma, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, psoriasis, lupus eritematoso generalizado, osteoartritis, accidente cerebrovascular, restenosis y encefalomiélitis; o

40

(c) la ruta de la administración de dicho compuesto es oral, parenteral, rectal, transdérmica, sublingual, nasal o tópica; o

(d) dicho compuesto se administra combinado con un agente anti-inflamatorio, un agente analgésico, un agente antiproliferativo, un inhibidor metabólico, un inhibidor de la migración de leucocitos o un inmunomodulador.