



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO  
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE  
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

|                    |                 |
|--------------------|-----------------|
| DOMANDA NUMERO     | 102007901553865 |
| Data Deposito      | 06/09/2007      |
| Data Pubblicazione | 06/03/2009      |

| Sezione | Classe | Sottoclasse | Gruppo | Sottogruppo |
|---------|--------|-------------|--------|-------------|
| A       | 61     | K           |        |             |

Titolo

DERIVATI UREICI DELL'ACIDO 1H-PIRAZOL-4-CARBOSSILICO CON ATTIVITA INIBENTE NEI  
CONFRONTI DELLA CHEMIOTASSI DI NEUTROFILI.

**PROSPETTO MODULO A**  
**DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE**

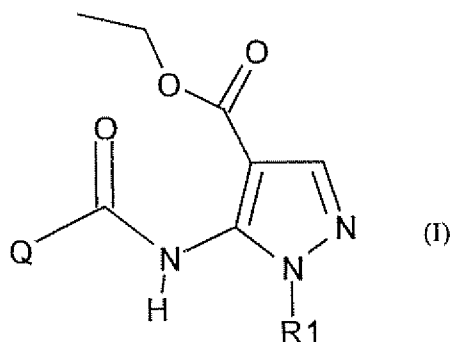
|                                                                                                                                |  |                          |  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--------------------------|--|
| <b>NUMERO DI DOMANDA:</b>                                                                                                      |  | <b>DATA DI DEPOSITO:</b> |  |
| <b>A. RICHIEDENTE/I</b> COGNOME E NOME O DENOMINAZIONE, RESIDENZA O STATO                                                      |  |                          |  |
| UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA<br>Genova                                                                                    |  |                          |  |
| <b>C. TITOLO</b>                                                                                                               |  |                          |  |
| Nuovi derivati ureici dell'acido 1H-pirazol-4-carbossilico con attività inibente nei confronti della chemiotassi di neutrofili |  |                          |  |

| SEZIONE | CLASSE | SOTTOCLASSE | GRUPPO | SOTTOGRUPPO |
|---------|--------|-------------|--------|-------------|
|         |        |             |        |             |

**E. CLASSE PROPOSTA**

**O. RIASSUNTO**

Sono descritti composti di formula (I),



in cui  $R_1 = H$ ,  $C_1-C_8$  alchile eventualmente sostituito,  $-CH_2-CH(R_3)OR_2$ , dove  $R_2 = H$  o  $C_1-C_3$  alchile e  $R_3 = C_1-C_8$  alchile eventualmente sostituito;  $Q = NHR_4$  o un anello eterociclico saturo contenente azoto a 3-7 membri, dove  $R_4 = C_3-C_8$  alchile eventualmente sostituito, arilalchile eventualmente sostituito, arile eventualmente sostituito; e loro enantiomeri, diastereoisomeri e sali farmaceuticamente accettabili; sono descritti inoltre un procedimento per preparare tali composti, l'uso di tali composti come medicamento, in particolare nel trattamento di malattie infiammatorie di origine autoimmune, nonché composizioni farmaceutiche che comprendono tali composti.

**P. DISEGNO PRINCIPALE**

FIRMA DEL/DEI  
RICHIEDENTE/I

Rinaldo FERRECCIO

Domanda di brevetto per invenzione industriale dal titolo:

**“Nuovi derivati ureici dell’acido 1H-pirazol-4-carbossilico con attività inibente nei confronti della chemiotassi di neutrofili”**

a nome: **UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA**

5 con sede in: **Genova**

### **DESCRIZIONE**

#### Campo di applicazione

La presente invenzione riguarda il settore tecnico dell'industria farmaceutica.

10 In particolare l'invenzione si riferisce a nuovi derivati ureici dell'acido 1H-pirazol-4-carbossilico con attività inibente nei confronti della chemiotassi di neutrofili e conseguente utilità nel trattamento e/o nella prevenzione di malattie infiammatorie.

#### Tecnica nota

15 Come è noto, l'infiammazione costituisce la prima risposta del sistema immunitario nei confronti di infezioni o irritazioni e conduce generalmente ad un deterioramento del tessuto connettivo<sup>1</sup>. Inoltre, qualora si protragga l'azione dell'agente infettivo o irritante o si perda il controllo del reclutamento cellulare, si generano malattie infiammatorie  
20 autoimmuni sia acute sia croniche (come ad esempio asma, artrite reumatoide, sclerosi multipla e malattia infiammatoria intestinale).

Le principali cellule infiltrate nel corso dell'infiammazione acuta sono i neutrofili, la cui attivazione comprende diversi eventi: marginazione (rotolamento e adesione sui vasi sanguigni), diapedesi  
25 (trasmigrazione attraverso la barriera endoteliale), chemiotassi

(migrazione verso il sito dell'infiammazione), fagocitosi di particelle estranee e produzione di radicali liberi reattivi<sup>2,3</sup>.

La chemiotassi è un processo multistadio<sup>4</sup> indotto da diversi chemoattrattanti, quali fMLP (N-formil-metionil-leucil-fenilalanina),<sup>5,6</sup>  
5 PAF (fattore di attivazione piastrinica),<sup>7</sup> LTB<sub>4</sub> (leucotriene B<sub>4</sub>),<sup>8</sup> C5a anafilotossina<sup>9</sup> e diverse citochine quali la chemochina CC MIP 1 $\beta$  o la chemochina CXC IL8 (Interleuchina 8 denominata anche CXCL8).<sup>10</sup>

Sia le risposte a IL8 sia quelle a fMLP sono indotte dall'attivazione di recettori specifici accoppiati alla proteina G, espressi  
10 su cellule bersaglio.<sup>11-16</sup>

A valle delle proteine G trimeriche vengono attivati un certo numero di sistemi di segnalazione intracellulare, fra i quali (a) la stimolazione della fosfolipasi C, seguita da attivazione della proteinchinasi C e dall'aumento del calcio citosolico, (b) l'attivazione  
15 dell'enzima PI3K (fosfoinositide 3-chinasi), che dà luogo ad un aumento di PIP<sub>3</sub> (fosfatidilinositolo 3,4,5-trifosfato) e PIP<sub>2</sub> (fosfatidilinositolo 3,4-bifosfato), e (c) attivazione di piccole proteine leganti GTP della famiglia Rho ("Ras homology gene") e della cascata MAPK (proteinchinasi attivata da mitogeno), nonché attivazione di proteinchinasi e proteinfosfatasi.<sup>17</sup>

20 Questo complesso sistema dà luogo al rapido sviluppo di "ruffle" (arruffamenti) sul corpo cellulare e alla formazione di actina F polimerizzata nei "ruffle". In seguito le cellule sviluppano una forma polarizzata con formazione, posteriormente, di una coda contratta e, anteriormente, di ruffle ricchi di actina F.<sup>18-20</sup> I filamenti di actina  
25 polimerizzata appena formati sono concentrati in corrispondenza del

bordo anteriore di una cellula in migrazione, <sup>21,22</sup> e l'aumento di actina filamentosa causa la formazione di pseudopodi.<sup>23-25</sup> Il blocco della polimerizzazione di actina abolisce la chemiotassi.<sup>26,27</sup>

Il meccanismo della polimerizzazione dell'actina F non è stato ancora completamente compreso;<sup>30</sup> esso dipende dall'attivazione della PI3K, in particolare dalla fosforilazione delle isoforme PI3K $\gamma$ <sup>31,32</sup> e PI3K $\delta$ <sup>33</sup> e dalla produzione di PIP3; inoltre l'attivazione della proteinchinasi B (Akt/PKB) costituisce un importante regolatore a valle della chemiotassi PI3K-dipendente.<sup>4,34,35</sup>

Recentemente sono stati riportate due distinte vie per la polimerizzazione dell'actina. La trasmissione PI3K-dipendente dipende da PKC- $\zeta$  e Akt; invece la trasmissione PI3K-indipendente dipende da ROCK-chinasi (RhoA/Rho-chinasi), da tirosine chinasi della famiglia Src e da NADPH ed è modulata da AMPc. I diversi recettori chemiotattici utilizzano queste distinte vie.<sup>36 37</sup>

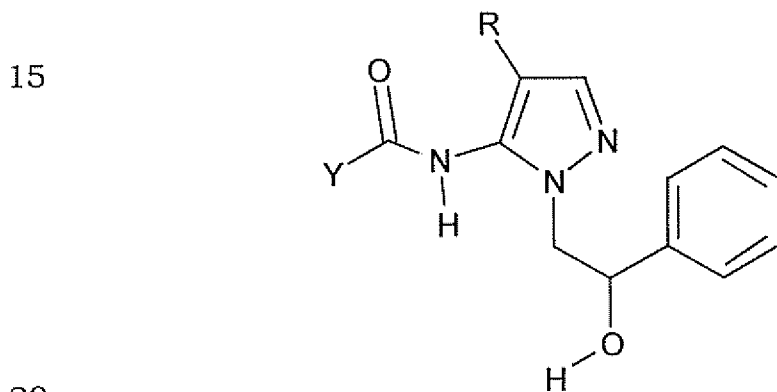
Recentemente l'interesse di molti ricercatori accademici e dell'industria farmaceutica è stato rivolto alla ricerca di nuove molecole che siano in grado di interferire con la sovraregolazione dei neutrofili.

E' stato innanzitutto sintetizzato un potente inibitore non peptidico di IL8, che si lega al recettore CXCR2: SB 225002 [N-(2-idrossi-4-nitrofenil)-N'-(2-bromofenil)urea]<sup>38</sup>. A questo composto hanno fatto seguito molte molecole, che agiscono a livello dei recettori CXCR<sup>39,40</sup>, alcune delle quali hanno mostrato interessanti attività farmacologiche in vivo (ad esempio la N-(3-amminosolfonil)-4-cloro-2-idrossifenil)-N'-(2,3-diclorofenil)urea.

Gli inventori della presente domanda lavorano da parecchi anni alla sintesi di nuovi derivati eterociclici come potenziali agenti antiinfiammatori e il loro interesse si è recentemente focalizzato sull'identificazione di nuove molecole in grado di intervenire  
5 sull'attivazione e sulla migrazione dei neutrofili <sup>41</sup>.

In particolare sono state sintetizzate una serie di N-pirazolil-N'-alchil/benzil/feniluree, che costituiscono una nuova classe di potenti inibitori della chemiotassi di neutrofili indotta da Interleuchina 8 (Bruno O. et al., Journal of Medicinal Chemistry, 2007, 50 (15) 3618-  
10 3626 *Synthesis and biological evaluation of N-Pyrazolyl-N'-alkyl/benzyl/phenylureas: a new class of potent inhibitors of Interleukin 8-induced neutrophil chemotaxis*).

Tali composti presentano la seguente formula generale



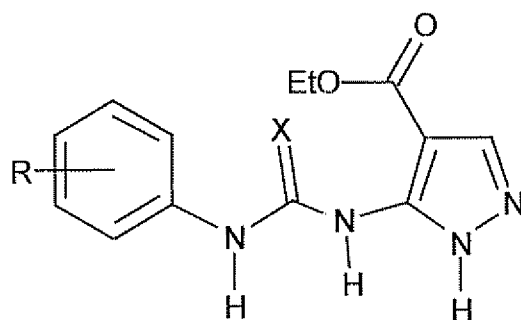
in cui R = COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> o CN o H e Y è ad es. -NH-fenile eventualmente sostituito, -NH-benzile eventualmente sostituito, -NH-isopropile, 1-ciclopropilammino, 1-pirrolidinile.

E' stato dimostrato che i suddetti composti sono in grado di  
25 inibire la chemiotassi indotta da IL8 e per i composti più attivi è stata

determinata una IC<sub>50</sub> dell'ordine di 0,01 µM. I composti in questione sono risultati invece inattivi nei confronti della chemiotassi indotta da fMLP.

La domanda di brevetto EP 0 810 217 descrive derivati  
5 pirazolici per i quali è riportata un'attività come inibitori della crescita delle cellule muscolari lisce. Sono descritti specificamente i composti N-fenil-N'-(4-etossicarbonil)-1-metilpirazol-5-il)urea e N-fenil-N'-(4-etossicarbonil)-1H-pirazol-5-il)urea .

Macon, Z. et al., Acta Poloniae Pharmaceutica (1985), 42(6),  
10 516-20, descrivono composti della seguente formula



15 in cui X = O, S e R = H, 3-Cl, 4-Cl, quali prodotti collaterali isolati nella sintesi di derivati pirazolici con attività di prevenzione nei confronti di edema sperimentale.

20 E' descritto specificamente il seguente composto:

N-(4-clorofenil)-N'-(4-etossicarbonil)-1H-pirazol-5-il)urea.

Dalla domanda di brevetto JP 56156264 sono noti i seguenti composti dotati di attività erbicida:

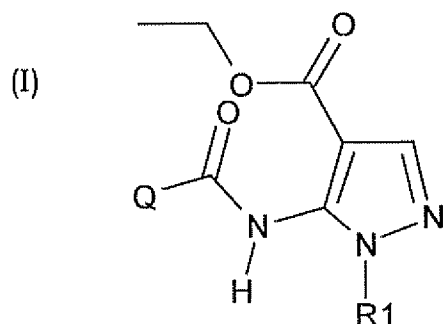
N-(3-clorofenil)-N'-(4-etossicarbonil)-1H-pirazol-5-il)urea.

25 N-(2-clorofenil)-N'-(4-etossicarbonil)-1H-pirazol-5-il)urea.

Sommario dell'invenzione

Il problema alla base della presente invenzione è stato quello di mettere a disposizione nuovi composti dotati di potente attività inibitoria nei confronti della chemiotassi indotta da interleuchina 8, che  
5 possano essere utilizzati nel trattamento di malattie infiammatorie e in particolare di malattie infiammatorie autoimmuni, sia acute sia croniche.

Un simile problema è stato risolto da composti della seguente formula (I),



in cui:

$R_1 = H, C_1-C_8$  alchile eventualmente sostituito,  $-CH_2-CH(R_3)OR_2$ , dove  $R_2 = H$  o  $C_1-C_3$  alchile e  $R_3 = C_1-C_8$  alchile eventualmente sostituito;

20  $Q = NHR_4$ , o un anello eterociclico saturo contenente azoto a 3-7 membri

dove  $R_4 = C_3-C_8$  alchile eventualmente sostituito, arilalchile eventualmente sostituito, arile eventualmente sostituito;

a condizione che, quando  $R_1 = H$  o  $CH_3$ ,  $Q$  sia diverso da  
25 anilino e cloroanilino,

e dai loro enantiomeri, diastereoisomeri e sali farmaceuticamente accettabili.

I suddetti alchile, arile, arilalchile eventualmente sostituiti recano uno o più sostituenti scelti dal gruppo comprendente C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alchile, alogeno, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alcossi, idrossi, SH, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alchiltio, nitro e alogenoalchile.

C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> alchile indica gruppi alchilici monovalenti che hanno da uno a otto atomi di carbonio; a titolo di esempio si citano gruppi come metile, etile, n-propile, isopropile, n-butile, isobutile, terbutile e simili.

10 "Arile" indica gruppi carbociclici aromatici aventi da 6 a 14 atomi di carbonio, ad anello singolo (ad es. fenile) o ad anelli multipli condensati (ad es. naftile). Tra gli arili preferiti sono inclusi fenile, bifenile, naftile, fenantrenile.

"Arilalchile" indica un arile come sopra definito legato ad un 15 gruppo alchilico avente da 1 a 3 atomi di carbonio. Tra gli arilachili preferiti sono inclusi benzile, feniletile, naftilmetile, naftiletile.

Sono preferiti i composti di formula (I) in cui:

$R_1 = C_1-C_5$  alchile,  $-CH_2-CH(R_3)OR_2$ , dove  $R_3 = C_1-C_3$  alchile e  $R_2$  è definito come sopra;

20  $Q = -NH-CH(CH_3)_2, -NH-CH_2-C_6H_5, -NH-C_6H_4X,$  N-benzilpiperazino, ciclopropilammino, pirrolidino, piperidino, morfolino, N-metilpiperazino o  $\alpha$ -naftilammino, dove X = alogeno.

Sono maggiormente preferiti i composti in cui:

25  $Q = -NH-CH(CH_3)_2, -NH-CH_2-C_6H_5, -NH-C_6H_4X,$  N-benzilpiperazino,  $\alpha$ -naftilammino, dove X = alogeno.

Particolarmente preferiti sono i composti di formula (I) in cui:

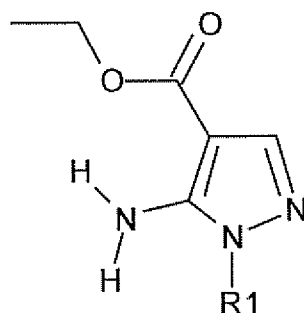
$R_1 = -CH_2-CH(OH)CH_3, -CH_2-CH(OH)C_2H_5, -CH_2-CH(OH)C_3H_7$  e

$Q = -NH-CH(CH_3)_2, -NH-CH_2-C_6H_5, N\text{-benzilpiperazino}, \alpha\text{-naftilammino}, o\text{-fluoroanilino e } m\text{-fluoroanilino}.$

- 5 I composti secondo la presente invenzione maggiormente preferiti sono quelli recanti i sostituenti riportati nella seguente tabella.

| $R_1$              | $Q$                    |
|--------------------|------------------------|
| $CH_2-CHOH-CH_3$   | isopropilammino        |
| $CH_2-CHOH-CH_3$   | benzilammino           |
| $CH_2-CHOH-CH_3$   | N-benzilpiperazino     |
| $CH_2-CHOH-CH_3$   | o-F-anilino            |
| $CH_2-CHOH-CH_3$   | m-F-anilino            |
| $CH_2-CHOH-CH_3$   | $\alpha$ -naftilammino |
| $CH_2-CHOH-C_2H_5$ | isopropilammino        |
| $CH_2-CHOH-C_2H_5$ | benzilammino           |
| $CH_2-CHOH-C_2H_5$ | N-benzilpiperazino     |
| $CH_2-CHOH-C_2H_5$ | o-F-anilino            |
| $CH_2-CHOH-C_3H_7$ | benzilammino           |
| $CH_2-CHOH-C_3H_7$ | isopropilammino        |

- La presente invenzione riguarda anche un procedimento per  
10 la produzione dei suddetti composti di formula (I) a partire da un  
composto intermedio di formula (II)



(II)

in cui R<sub>1</sub> ha gli stessi significati assegnati per i composti di formula (I). Secondo tale procedimento, il composto 5-amminopirazolico di formula (II) viene trasformato in un composto di formula (I) secondo l'invenzione mediante reazione con:

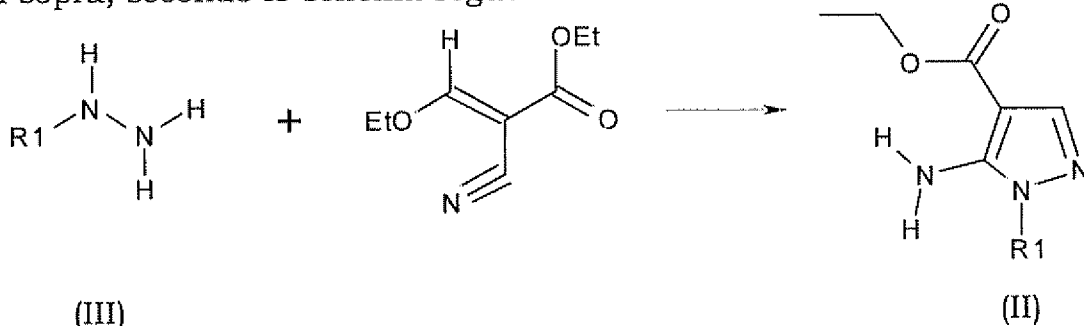
A) COCl<sub>2</sub> e successivamente con un'ammina di formula QH, dove Q ha i significati più sopra indicati, oppure con

B) un isocianato di formula QNCO, dove Q rappresenta un arile eventualmente sostituito.

La reazione con fosgene viene generalmente condotta in tetraidrofurano anidro; la reazione con l'isocianato è generalmente condotta in toluene anidro a refluxo.

Il composto 5-amminopirazolico intermedio (II) viene a sua volta preparato mediante condensazione di etil(etossimetilen)cianacetato con derivati idrazinici di formula R<sub>1</sub>NHNH<sub>2</sub> (III), in cui R<sub>1</sub> ha i significati

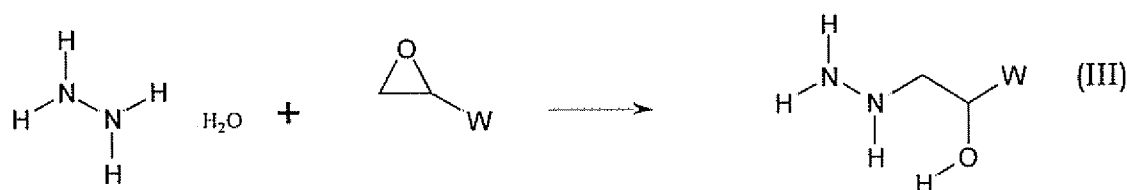
di cui sopra, secondo lo schema seguente



(III)

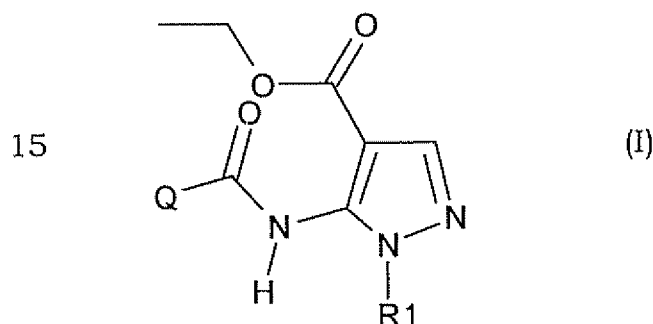
(II)

Le idrazine  $R_1NHNH_2$  sono disponibili in commercio o, nel caso in cui  $R_1$  è  $-CH_2-CH(R_3)OH$  o  $-CH_2-CH(C_6H_5)OH$ , sono preparate tramite reazione tra idrazina idrato e un composto epossidico di formula  
5  $W-(CH-CH_2)O$ , in cui  $W$  è  $= R_3$  o  $C_6H_5$ , secondo lo schema seguente:



10 La reazione viene generalmente condotta ad una temperatura di 50-100°C.

La presente invenzione riguarda inoltre composti di formula (I)



in cui  $R_1 = H$ ,  $C_1-C_8$  alchile eventualmente sostituito,  $-CH_2-$   
20  $CH(R_3)OR_2$ , dove  $R_2 = H$  o  $C_1-C_3$  alchile e  $R_3 = C_1-C_8$  alchile eventualmente sostituito;

$Q = NHR_4$ , N-benzilpiperazino, ciclopropilammino, pirrolidino, piperidino, morfolino, N-metilpiperazino,

dove  $R_4 = C_3-C_8$  alchile eventualmente sostituito, arilalchile  
25 eventualmente sostituito, arile eventualmente sostituito, e loro

enantiomeri, diastereoisomeri e sali farmaceuticamente accettabili per l'uso come medicamento ad attività antiinfiammatoria.

I suddetti alchile, arile, arilalchile eventualmente sostituiti recano uno o più sostituenti scelti dal gruppo comprendente C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alchile, alogeno, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alcossi, idrossi, SH, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alchiltio, nitro e alogenoalchile.

Sono preferiti i composti di formula (I) in cui:

R<sub>1</sub> = C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alchile, -CH<sub>2</sub>-CH(R<sub>3</sub>)OR<sub>2</sub>, dove R<sub>3</sub> = C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alchile e R<sub>2</sub> è definito come sopra;

10            Q = -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, -NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>X, N-benzilpiperazino, α-naftilammino, dove X = alogeno.

Particolarmente preferiti sono i composti di formula (I) in cui:

R<sub>1</sub> = -CH<sub>2</sub>-CH(OH)CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH(OH)C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH(OH)C<sub>3</sub>H<sub>7</sub> e

15            Q = -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, -NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>X, N-benzilpiperazino, ciclopropilammino, pirrolidino, piperidino, morfolino, N-metilpiperazino o α-naftilammino, dove X = alogeno.

Sono maggiormente preferiti i composti in cui:

Q = -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, N-benzilpiperazino, α-naftilammino, o-fluoroanilino e m-fluoroanilino.

20            L'invenzione riguarda inoltre l'uso di tali composti di formula (I) proposti per l'uso come medicamento nella produzione di un medicamento per il trattamento di patologie infiammatorie di natura autoimmune.

Esempi di patologie infiammatorie nel trattamento delle quali  
25   possono trovare impiego i composti secondo la presente invenzione sono

asma, sclerosi multipla, malattia infiammatoria intestinale, colite  
ulcerosa, dermatiti, in particolare dermatite atopica e dermatite da  
contatto, psoriasi, infiammazione a seguito di trapianto d'organo,  
insufficienza respiratoria acuta (ARDS – “Acute Respiratory Distress  
5 Syndrome”), fibrosi cistica, malattia polmonare ostruttiva cronica  
(COPD), glomerulonefrite.

I composti secondo la presente invenzione trovano indicazione  
anche nella prevenzione e nel trattamento dei danni causati da  
ischemia da riperfusione.

10 La presente invenzione si riferisce inoltre ad una composizione  
farmaceutica comprendente un composto di formula (I) come sopra  
definito o un suo enantiomero o diastereoisomero o sale  
farmaceuticamente accettabile ed un supporto farmaceuticamente  
accettabile.

15 Esempi di sali farmaceuticamente accettabili sono quelli  
formati con acidi organici quali ossalico, tartarico, maleico, succinico e  
citrico e con acidi inorganici quali nitrico, cloridrico, solforico e  
fosforico.

I composti secondo l'invenzione che hanno uno o più atomi di  
20 carbonio asimmetrici possono esistere come enantiomeri puri, come  
diastereoisomeri puri, come miscele racemiche di enantiomeri, racemati  
e miscele di racemati.

I composti e le composizioni secondo l'invenzione possono  
essere somministrati con qualunque sistema di rilascio disponibile ed  
25 efficace, comprese, in maniera non limitativa, le vie orale, buccale,

parenterale, inalatoria, l'applicazione topica, per iniezione, per via transdermica o rettale (ad es. mediante suppositori) in formulazioni di unità di dosaggio contenenti convenzionali supporti farmaceuticamente accettabili e non tossici, adiuvanti e veicolanti. La somministrazione per  
5 via parenterale comprende l'iniezione sottocutanea, endovenosa, intramuscolare, intrasternale o tecniche di infusione.

Le forme di dosaggio solide per la somministrazione per via orale comprendono ad esempio capsule, compresse, polveri, granuli e gel. In tali forme di dosaggio solide il composto attivo può essere  
10 miscelato con almeno un diluente inerte come ad esempio saccarosio, lattosio o amido. Normalmente queste forme di dosaggio comprendono anche sostanze addizionali diverse dai diluenti inerti, come ad esempio agenti lubrificanti tipo il magnesio stearato.

Le preparazioni iniettabili, ad esempio soluzioni o sospensioni  
15 acquose o oleose, sterili iniettabili possono essere formulate secondo la tecnica nota e utilizzando eventualmente appropriati agenti disperdenti, bagnanti e/o sospendenti.

Le preparazioni farmaceutiche secondo la presente invenzione possono essere prodotte mediante l'utilizzo delle tecniche farmaceutiche  
20 convenzionali, come descritte nelle varie farmacopee o in manuali del settore come ad esempio "Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook", Mack Publishing, New York, 18th Ed., 1990.

Il dosaggio medio giornaliero dei composti secondo la presente invenzione dipende da molti fattori, quali ad esempio la gravità della  
25 malattia e le condizioni del paziente (età, peso, sesso): La dose può

variare generalmente da 1 mg a 1500 mg di composto secondo l'invenzione al giorno, eventualmente suddivisi in più somministrazioni.

#### Descrizione dettagliata

La presente invenzione sarà ulteriormente descritta facendo  
5 riferimento ad alcuni esempi di preparazione di composti secondo l'invenzione e di valutazione della loro attività quali inibitori della chemiotassi dei neutrofili.

Fra i composti secondo la presente invenzione si segnalano in particolare quelli riportati nella seguente tabella.

| Composto  | R <sub>1</sub>                                      | Q                  |
|-----------|-----------------------------------------------------|--------------------|
| <b>Ia</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> | α-naftilammino     |
| <b>Ib</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | isopropilammino    |
| <b>Ic</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | benzilammino       |
| <b>Id</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | N-benzilpiperazino |
| <b>Ie</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | o-F-anilino        |
| <b>If</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | m- F-anilino       |
| <b>Ig</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | p- F-anilino       |
| <b>Ih</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | α-naftilammino     |
| <b>Ii</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | isopropilammino    |
| <b>Ij</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | benzilammino       |
| <b>Ik</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | N-benzilpiperazino |
| <b>Il</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | o- F-anilino       |
| <b>Im</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | m- F-anilino       |
| <b>In</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | p- F-anilino       |
| <b>Io</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | α-naftilammino     |
| <b>Ip</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> | isopropilammino    |
| <b>Iq</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> | benzilammino       |
| <b>Ir</b> | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> | N-benzilpiperazino |
| <b>Is</b> | CH <sub>3</sub>                                     | isopropilammino    |
| <b>It</b> | CH <sub>3</sub>                                     | benzilammino       |
| <b>Iu</b> | CH <sub>3</sub>                                     | N-benzilpiperazino |

Qui di seguito si riporta la loro preparazione

ESEMPIO 1

**Sintesi dell'estere etilico dell'acido 1-(2-idrossi-2-fenilettil)-5-[3-(1-naftil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico (Ia)**

5           Ad una sospensione di estere etilico dell'acido 5-ammino-1-(2-idrossi-2-fenilettil)-1H-pirazol-4-carbossilico (1,38 g, 5 mmoli) in toluene anidro (10 ml) è stato addizionato  $\alpha$ -naftilisocianato (1,02 g, 6 mmoli) e la miscela di reazione è stata riscaldata a riflusso per 6 ore. Dopo raffreddamento, il solvente è stato evaporato a pressione ridotta e il  
10   grezzo è stato disciolto in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml), lavato con acqua (2x10 ml) e con HCl 1M, seccato ( $\text{MgSO}_4$ ) e concentrato a pressione ridotta. Il grezzo è cristallizzato per aggiunta di una miscela di dietiletere/etere di petrolio (p.e. 40-60°C) (1:1), dando un solido bianco.

          Resa 52%, p.f. 181-183°C.  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.26 (t,  $J=7.2$ ,  
15   3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.61 (br s, 2H, scompare con  $\text{D}_2\text{O}$ ) 4.06-4.28 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{O} + \text{CH}_2\text{N}$ ), 5.93-6.04 (m, 1H,  $\text{CHOH}$ ), 7.14-7.90 (m, 14H, 12HAr +  $\text{H}_3$  + 1H che scompare con  $\text{D}_2\text{O}$ ). IR (KBr):  $\text{cm}^{-1}$  3447, 3393, 3328 (NH, OH), 1710 ( $\text{COOEt}$ ), 1676 (CONH). Anal. ( $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4$ ) C, H, N. (% calc / trovato) C: 67.54 / 67.40; H: 5.45 / 5.74; N: 12.61 / 12.63.

20           **Procedura generale per esteri etilici di acidi 1-(2-idrossialchil)-5-(3-alchil/cicloalchilureido)-1H-pirazol-4-carbossilici Ib-d e per esteri etilici di acidi 1-metil-5-(3-alchil/cicloalchilureido)-1H-pirazol-4-carbossilici Ip-u**

          Ad una miscela dell'appropriato estere etilico dell'acido 5-  
25   ammino-1-(2-idrossialchil)-1H-pirazol-4-carbossilico (10 mmoli) e

CH<sub>3</sub>COONa anidro (2,0 g, 24 mmoli) in THF anidro (30 ml), raffreddata a 0°C, è stato aggiunto fosgene (20% in toluene, 8 ml) a goccia a goccia; successivamente la miscela di reazione è stata riscaldata a riflusso per 4 h. Dopo allontanamento sotto vuoto del fosgene in eccesso, è stata  
5 aggiunta l'appropriata ammina (25 mmoli), disciolta in THF anidro, a goccia a goccia a 0°C; la miscela è stata tenuta in agitazione a temperatura ambiente per tutta la notte. Dopo allontanamento dei volatili sotto vuoto, il grezzo è stato sospeso in acqua (20 ml), estratto  
10 due volte con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml) e seccato (MgSO<sub>4</sub>). Il solvente è stato evaporato a pressione ridotta a dare oli gialli, che sono stati purificati mediante cromatografia (dietiletere) su colonna di gel di silice (0,06-02 mm). I solidi bianchi ottenuti sono stati ricristallizzati da etanolo assoluto.

#### ESEMPIO 2

15                   **Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-(3-isopropilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico Ib**

Resa 58%, p.f. 93-94 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.19 (d, J=6.6, 6H, 2CH<sub>3</sub> isoprop.), 1.30-1.46 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3.72-3.90 (m, 1H, CHNH), 3.99-4.13 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.29 (q, J=7.2, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.55-4.70 (m, 1H,  
20 scompare con D<sub>2</sub>O), 4.76-4.90 (m, 1H, CHOH), 5.61-5.69 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.62 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3456, 3357, 3322 (NH, OH), 1693 (COOEt), 1665 (CONH).

Anal. (C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 52.34/52.44; H: 7.43/7.26; N: 18.78/18.92.

ESEMPIO 3

**Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-(3-benzilureido)-1*H*-pirazol-4-carbossilico Ic**

Resa 52%, p.f. 72-73 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.20-1.35 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3.96-4.07 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.19 (q, J=7.0, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.30 (d, J=5.8, 2H, CH<sub>2</sub>Ar), 4.74-4.90 (m, 1H, CHOH), 5.10- 5.21 (m, 1H, scompare con D<sub>2</sub>O), 5.41-5.76 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.12-7.35 (m, 5H, Ar), 7.54 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3429, 3327, 3229 (NH, OH), 1703 (COOEt) 1688 (CONH).

Anal. (C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 58.95/59.04; H: 6.40/6.69; N: 16.17/15.95.

ESEMPIO 4

**Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-[3-(4-benzil)piperazinilureido]-1*H*-pirazol-4-carbossilico Id**

Resa 58%, p.f. 129-130 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.29-1.41 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 2.34-2.50 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>N piperaz.), 3.42-3.57 (m, 6H, 2CH<sub>2</sub>N piperaz + CH<sub>2</sub>Ar), 3.92-4.18 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N piraz.), 4.28 (q, J=7.2, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.73-4.88 (m, 1H, CHOH), 5.61-5.69 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.23-7.36 (m, 5H, Ar), 7.60 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3402, 3302, 3225 (NH, OH), 1700-1680 (COOEt + CONH).

Anal. (C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 60.71/60.93; H: 7.04/7.26; N: 16.86/16.96.

ESEMPIO 5

**Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-(3-isopropilureido)-1*H*-pirazol-4-carbossilico Ii**

Resa 51%, p.f. 102-103 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.97 (t, J=7.4, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.19 (d, J=6.6, 6H, 2CH<sub>3</sub> isoprop.), 1.35 (t, J=7.0, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.57-1.89 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH), 3.75-3.93 (m, 1H, CHNH), 4.07-4.14 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.28 (q, J=7.0, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.52-4.74 (m, 2H, CHOH + 1H che scompare con D<sub>2</sub>O), 5.72-5.85 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.60 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3416, 3352, 3307 (NH, OH), 1700-1680 (COOEt + CONH).

Anal. (C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 53.83/53.86; H: 7.74/7.68; N: 17.94/17.93.

10 ESEMPIO 6

**Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-(3-benzilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico Ij**

Resa 68%, p.f. 99-101 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.89 (t, J=7.4, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.26 (t, J=7.2, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.53-1.80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH), 4.00 (d, J=5.4, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.14 (q, J=7.2, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.30 (d, J=6.0, 2H, CH<sub>2</sub>Ar), 4.53-4.66 (m, 1H, CH), 5.20- 5.30 (m, 1H, scompare con D<sub>2</sub>O), 5.49-5.80 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.14-7.33 (m, 5H, Ar), 7.56 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3424, 3298, 3320 (NH, OH), 1698 (COOEt), 1674 (CONH).

20 Anal. (C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 59.99/60.32; H: 6.71/6.67; N: 15.55/15.49.

ESEMPIO 7

**Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-[3-(4-benzil)piperazinilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico Ik**

25 Resa 47%, p.f. 117-118 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.97 (t, J=7.4,

3H, CH<sub>3</sub>), 1.35 (t, J=7.0, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.60-1.92 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH),  
2.33-2.51 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>N piperaz.), 3.43-3.60 (m, 6H, 2CH<sub>2</sub>N piperaz +  
CH<sub>2</sub>Ar), 4.02-4.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N piraz.), 4.27 (q, J=7.0, 2H, CH<sub>2</sub>O),  
4.50-4.63 (m, 1H, CHOH), 5.78-5.92 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.21-  
5 7.41 (m, 5H, Ar), 7.59 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3418, 3331, 3231 (NH,  
OH), 1700-1660 (COOEt + CONH).

Anal. (C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 61.52/61.58;  
H: 7.27/7.29; N: 16.31/16.12.

ESEMPIO 8

10            **Estere        etilico        dell'acido        1-(2-idrossipentil)-5-(3-  
isopropilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico Ip**

Resa 49%, p.f. 70-71 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.91 (t, J=7.2, 3H,  
CH<sub>3</sub>), 1.19 (d, J=6.6, 6H, 2CH<sub>3</sub> isoprop.), 1.35 (t, J=7.2, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O),  
1.40-1.60 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 3.73-3.90 (m, 1H, CHNH), 4.01-4.11 (m, 2H,  
15 CH<sub>2</sub>N), 4.28 (q, J=7.2, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.58-4.74 (m, 2H, CHOH + 1H che  
scompare con D<sub>2</sub>O), 5.69-5.83 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.60 (s, 1H,  
H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3420, 3350, 3312 (NH, OH), 1693-1680 (COOEt +  
CONH).

Anal. (C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 55.20/55.29;  
20 H: 8.03/8.17; N: 17.17/17.18.

ESEMPIO 9

**Estere        etilico        dell'acido        1-(2-idrossipentil)-5-(3-  
benzilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico Iq**

Resa 50%, p.f. 111-112 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.82 (t, J=7.2,  
25 3H, CH<sub>3</sub>), 1.26 (t, J=7.2, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.31-1.69 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 3.99

(d, J=5.4, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.18 (q, J=7.2, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.30 (d, J=5.8, 2H, CH<sub>2</sub>Ar), 4.58-4.75 (m, 1H, CHOH), 5.18-5.29 (m, 1H, scompare con D<sub>2</sub>O), 5.46-5.80 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.13-7.34 (m, 5H, Ar ), 7.51 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3446, 3370, 3331 (NH, OH), 1724  
5 (COOEt), 1694 (CONH).

Anal. (C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 60.95/60.87;  
H: 7.00/6.93; N: 14.96/15.09.

#### ESEMPIO 10

#### 10 **Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipentil)-5-[3-(4-benzil)piperazinilureido]-1H-pirazol-4-carbossilico Ir**

Resa 68%, p.f. 128-129 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.91 (t, J=7.2, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.35 (t, J=7.2, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.40-1.81 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 2.37-2.51 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>N piperaz.), 3.44-3.59 (m, 6H, 2CH<sub>2</sub>N piperaz + CH<sub>2</sub>Ar), 4.01-4.16 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N piraz.), 4.28 (q, J=7.2, 2H, CH<sub>2</sub>O),  
15 4.55-4.70 (m, 1H, CHOH), 5.80-5.89 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.27-7.41 (m, 5H, Ar), 7.60 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3402, 3307, 3227 (NH, OH), 1700-1680 (COOEt + CONH).

Anal. (C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 62.28/62.04;  
H: 7.50/7.34; N: 15.79/15.70.

#### 20 **Procedura generale per esteri etilici di acidi 1-(2-idrossialchil)-5-[3-(1-naftil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilici Ih, Io**

Ad una sospensione dell'opportuno estere etilico di acido 5-ammino-1-(2-idrossialchil)-1H-pirazol-4-carbossilico (2,2 mmoli) in toluene anidro (10 ml) è stato addizionato α-naftilisocianato (0,51 g, 3  
25 mmoli) e la miscela di reazione è stata riscaldata a riflusso per 6 ore.

Dopo raffreddamento, i solidi bianchi ottenuti sono stati filtrati e ricristallizzati da etanolo assoluto.

ESEMPIO 11

5       **Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-[3-(1-naftil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico Ih**

Resa 92%, p.f. 124-126 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.26 (t, J=7.0, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 1.35 (d, J=6.4, 3H, CH<sub>3</sub>CH), 3.90-4.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.18 (q, J=7.0, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.86-5.08 (m, 1H, CHOH), 5.20-5.60 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 6.96-7.92 (m, 9H, 7HAr + H<sub>3</sub> + 1H che scompare con D<sub>2</sub>O). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3414, 3322, 3224 (NH, OH), 1709 (COOEt), 1682 (CONH).

Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 62.82/62.69; H: 5.80/5.96; N: 14.65/14.36.

ESEMPIO 12

15       **Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-[3-(1-naftil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico Io**

Resa 60%, p.f. 121-123 °C. <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 0.88 (t, J=7.4, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.16 (t, J=7.2, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.40-1.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH), 3.98-4.18 (m, 4H, CH<sub>2</sub>O + CH<sub>2</sub>N), 4.90-5.05 (m, 1H, CHOH), 6.10-6.23 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.28-7.93 (m, 8H, 7HAr + H<sub>3</sub>), 9.34 (br s, 1H, scompare con D<sub>2</sub>O). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3450, 3394, 3323 (NH, OH), 1711 (COOEt), 1673 (CONH).

Anal. (C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 63.62/63.46; H: 6.10/5.98; N: 14.13/13.79.

25       **Procedura generale per esteri etilici di acidi 1-(2-**

**idrossialchil)-5-[3-(2/3/4-fluorofenil)ureido]-1*H*-pirazol-4-  
carbossilici Ie-g, Il-m**

Una miscela dell'opportuno estere etilico di acido 5-ammino-1-(2-idrossialchil)-1*H*-pirazol-4-carbossilico (2,2 mmoli) e dell'adatto  
5 fluoro-fenilisocianato (0,41 g, 3 mmoli) in toluene anidro (30 ml) è stata  
scaldata a riflusso per 6 ore. Dopo raffreddamento, la soluzione è stata  
lavata con HCl 3M (2x20 ml), con acqua (20 ml), seccata (MgSO<sub>4</sub>) ed  
evaporata a pressione ridotta. Il grezzo cristallizzava mediante aggiunta  
di una soluzione di dietiletere /etere di petrolio (p.e. 50-60°C) 1/1. I  
10 solidi bianchi ottenuti sono stati ricristallizzati da etanolo assoluto.

ESEMPIO 13

**Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-[3-(2-  
fluorofenil)ureido]-1*H*-pirazol-4-carbossilico Ie**

Resa 34%, p.f. 131-132 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.27 (t, J = 7.0,  
15 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 1.35 (d, J=6.6, 3H, CH<sub>3</sub>CH), 3.92-4.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N),  
4.20 (q, J=7.0, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.93-5.03 (m, 1H, CHOH), 5.36-5.55 (m, 2H,  
scompare con D<sub>2</sub>O), 6.79-8.02 (m, 6H, 4HAr + H<sub>3</sub> +1H che scompare  
con D<sub>2</sub>O). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3425, 3335, 3235 (NH, OH), 1711 (COOEt),  
1689 (CONH).

20 Anal. (C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>F) C, H, N. (% calc. / trovato) C:  
54.85/54.66; H: 5.47/5.63; N: 15.99/15.93.

ESEMPIO 14

**Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-[3-(3-  
fluorofenil)ureido]-1*H*-pirazol-4-carbossilico If**

25 Resa 48%, p.f. 146-147 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.20-1.36 (m,

6H, 2CH<sub>3</sub>), 3.90-4.07 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.20 (q, J=7.2, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.84-5.03 (m, 1H, CHOH), 5.35-5.52 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 6.65-7.30 (m, 5H, 4HAr + 1H che scompare con D<sub>2</sub>O), 7.55 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3427, 3336, 3266 (NH, OH), 1712 (COOEt), 1689 (CONH).

5                      Anal. (C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>F) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 54.85/54.69; H: 5.47/5.50; N: 15.99/15.72.

ESEMPIO 15

**Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-[3-(4-fluorofenil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico Ig**

10                      Resa 50%, p.f. 175-177 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.14-1.36 (m, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3.89-4.08 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.19 (q, J=7.2, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.82-5.00 (m, 1H, CHOH), 5.36-5.54 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 6.84-7.32 (m, 5H, 4HAr+1H che scompare con D<sub>2</sub>O), 7.54 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3413, 3321, 3215 (NH, OH), 1709 (COOEt), 1682 (CONH).

15                      Anal. (C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>F) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 54.85/54.96; H: 5.47/5.37; N: 15.99/15.77.

ESEMPIO 16

**Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-[3-(2-fluorofenil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico II**

20                      Resa 42%, mp 99-100 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.95 (t, J=7.6, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.27 (t, J=7.0, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.56-1.86 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH), 4.07 (d, J=5.8, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.20 (q, J=7.0, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.63-4.80 (m, 1H, CHOH), 5.45-5.69 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 6.82-8.06 (m, 6H, 4HAr + H<sub>3</sub> + 1H che scompare con D<sub>2</sub>O). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3460, 3350, 3211 (NH, 25 OH), 1706 (COOEt), 1681 (CONH).

Anal. (C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>F) C, H, N. (% calc. / trovato) C:  
56.04/55.99; H: 5.81/5.87; N: 15.38/15.48.

ESEMPIO 17

**5      Estere      etilico      dell'acido      1-(2-idrossibutil)-5-[3-(3-fluorofenil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico Im**

Resa 49%, p.f. 128-129 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.91 (t, J=7.6, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.26 (t, J=7.2, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.52-1.84 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH), 4.03 (d, J=5.6, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.19 (q, J=7.2, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.63-4.77 (m, 1H, CHOH), 5.46-5.63 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 6.64-7.38 (m, 5H, 4HAr + 1H che scompare con D<sub>2</sub>O), 7.54 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3458, 3347, 3247 (NH, OH), 1707 (COOEt), 1680 (CONH).

Anal. (C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>F) C, H, N. (% calc. / trovato) C:  
56.04/56.04; H: 5.81/5.67; N: 15.38/15.50.

ESEMPIO 18

**15      Estere      etilico      dell'acido      1-(2-idrossibutil)-5-[3-(4-fluorofenil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico In**

Resa 50%, p.f. 130-131 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.93 (t, J=7.6, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.27 (t, J=7.2, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.53-1.86 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH), 4.06 (d, J=5.8, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.19 (q, J=7.2, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.59-4.76 (m, 1H, CHOH), 5.41-5.77 (m, 2H, scompare con D<sub>2</sub>O), 6.80-7.41 (m, 5H, 4HAr + 1H che scompare con D<sub>2</sub>O), 7.54 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3467, 3362, 3252 (NH, OH), 1710 (COOEt), 1682 (CONH).

Anal. (C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>F) C, H, N. (% calc. / trovato) C:  
56.04/55.91; H: 5.81/6.08; N: 15.38/15.28.

**25      Sintesi di etil 5-ammino-1-metil-1H-pirazol-4-carbossilato**

## **IIa**

Il composto IIa è stato sintetizzato seguendo il metodo riportato in Kopp, M.; Lancelot, J.C.; Dallenague, P.; Rault, S. Synthesis of Novel Pyrazolopyrrolopyrazines, Potential analogs of Sildenafil J. Het. Chem. 2001, 38, 1045-1050.

### **Procedura generale per esteri etilici di acidi 5-ammino-1-(2-idrossialchil)-1H-pirazol-4-carbossilici IIb,c,d**

Ad una soluzione dell'opportuno derivato idrazinico  $R_1-NHNH_2$  (20 mmoli) in toluene anidro (per il composto IIb) o in etanolo assoluto (per i composti IIc e IId) è stato addizionato etil(etossimetilen)cianacetato (3,38 g, 20 mmoli) e la miscela è stata riscaldata a 70-80°C per 8 ore. Dopo raffreddamento, la fase organica è stata lavata con  $H_2O$  (20 ml), seccata ( $MgSO_4$ ) e concentrata a pressione ridotta. Il grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash utilizzando una miscela di  $CH_2Cl_2/CH_3OH$  (8:2) come eluente. Gli oli grezzi sono cristallizzati per aggiunta di dietiletere e i solidi ottenuti sono stati ricristallizzati da etanolo assoluto.

### **Estere etilico dell'acido 5-ammino-1-(2-idrossipropil)-1H-pirazol-4-carbossilico IIb**

Resa 61%, p.f. 66-68 °C.  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.26 (d,  $J=6.4$ , 3H,  $CH_3CH$ ), 1.35 (t,  $J=7.0$ , 3H,  $CH_3CH_2$ ), 3.13 (br s, 1H, OH, scompare con  $D_2O$ ), 3.78-4.42 (m, 5H,  $CH_2O + CH_2N + CH$ ), 5.44 (br s, 2H,  $NH_2$ , scompare con  $D_2O$ ), 7.61 (s, 1H,  $H_3$ ). IR (KBr):  $cm^{-1}$  3426, 3390, 3313 ( $NH_2 + OH$ ), 1697 (CO).

Anal. ( $C_9H_{15}N_3O_3$ ) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 50.69/50.79;

H: 7.09/7.06; N: 19.71/19.88.

**Estere etilico dell'acido 5-ammino-1-(2-idrossibutil)-1H-pirazol-4-carbossilico IIc**

Resa 61%, p.f. 90-91 °C. <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 0.88 (t, J=7.4, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.23 (t, J=7.0, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.24-1.43 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH), 3.62-3.77 (m, 1H, CH), 3.85 (d, J=5.6, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.16 (q, J=7.4, 2H, CH<sub>2</sub>O), 4.98 (d, J = 5.2, 1H, OH, scompare con D<sub>2</sub>O), 6.09 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.45 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3433, 3343 (NH<sub>2</sub>), 3209 (OH), 1689 (CO).

Anal. (C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 52.85/52.42; H: 7.54/7.60; N: 18.49/18.66.

**Estere etilico dell'acido 5-ammino-1-(2-idrossipentil)-1H-pirazol-4-carbossilico IId**

Resa 72%, p.f. 84-86 °C. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.95 (t, J=7.0, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.37 (t, J=7.0, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.38-1.57 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 3.19 (br s, 1H, OH, scompare con D<sub>2</sub>O), 3.75-3.91 (m, 1H, CH), 3.86-4.08 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.25 (q, J=7.0, 2H, CH<sub>2</sub>O), 5.46 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>, scompare con D<sub>2</sub>O), 7.59 (s, 1H, H<sub>3</sub>). IR (KBr): cm<sup>-1</sup> 3405, 3291, 3215 (NH<sub>2</sub> + OH), 1690 (CO).

Anal. (C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N. (% calc. / trovato) C: 54.76/54.74; H: 7.94/7.92; N: 17.41/17.44.

**Sintesi di estere etilico dell'acido 5-ammino-1-(2-idrossi-2-fenilettil)-1H-pirazol-4-carbossilico IIe**

Il composto IIe è stato sintetizzato seguendo il metodo riportato in Schenone, S.; Bruno, O.; Fossa, P.; Ranise, A.; Menozzi, G.;

Mosti, L.; Bondavalli, F.; Martini, C.; Trincavelli, L. Synthesis and biological data of 4-Amino-1-(2-chloro-2-phenylethyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylic acid ethyl esters, a new series of A1-Adenosine receptor (A1AR) ligands. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001, 11, 2529-2531.

5                   **Sintesi di 1-idrazino-propan-2-olo IIIb e di 1-idrazinobutan-2-olo IIIc**

I composti IIIb e IIIc sono stati sintetizzati seguendo il metodo riportato in Gever, G. Hydrazinoalkanols JACS 1954, 76, 1283-1285.

**Sintesi di 1-idrazinopentan-2-olo IIIId**

10                   A idrazina idrato (30 ml, 0,6 mmoli) scaldata a 60-70°C è stato aggiunto a goccia a goccia 1,2-epossipentano (14,64 g, 0,17 mmoli) e la miscela è stata riscaldata a 90-95°C per 1 ora. Successivamente l'eccesso di idrazina idrato è stato allontanato a pressione ridotta e il grezzo è stato distillato in bolla per dare un olio viscoso che diventa un  
15   solido ceroso.

Resa 82%, p.e. 120°C/0,6 mmHg.

**Sintesi di 2-idrazino-2-feniletanolo IIIe**

Il composto IIIe è stato sintetizzato seguendo il metodo descritto in Benoit, G., Hydroxyalkyl hydrazines, Bull. Soc. Chi. Fr.  
20   1939, 6, 708-715.

**Metodi biologici**

L'attività inibitoria dei composti secondo la presente invenzione nei confronti della chemiotassi indotta da fMLP o da CXCL8 è stata valutata in base a metodi descritti in letteratura (Giordano, C. et  
25   al., Bioorg. Med. Chem. 2006, 14, 2642 e documenti citati in tale

articolo).

Qui di seguito si riporta un riassunto di tali metodi.

#### Preparazione dei neutrofili

Sono state ottenute cellule da sangue di soggetti sani e sono  
5 stati purificati neutrofili di sangue periferico umano utilizzando le  
tecniche standard di sedimentazione in destrano (Pharmacia, Uppsala,  
Svezia), centrifugazione su Ficoll-Paque (Pharmacia), e lisi ipotonica dei  
globuli rossi contaminanti. Le cellule sono state lavate due volte e  
risospese in fosfato di Krebs-Ringer (KRPg), pH 7,4, ad una  
10 concentrazione finale di  $50 \times 10^6$  cellule/ml e conservate a temperatura  
ambiente fino al momento dell'uso. I neutrofili erano vitali al 98-100%  
in base alla determinazione mediante il test di esclusione con Trypan  
blue.

#### Preparazione degli agenti di chemioattrazione e dei composti

15 testati

L'f-MLP-OMe e i composti da testare ( $10^{-2}$ M) sono stati disciolti  
in dimetilsolfossido (DMSO) mentre la CXCL8 ( $10^{-5}$  M) è stata disciolta  
in acqua. Prima dell'uso tutte le soluzioni sono state diluite in KRPg per  
ottenere la concentrazione finale richiesta dal protocollo sperimentale.  
20 Alle concentrazioni utilizzate il DMSO non ha interferito con alcuno dei  
saggi biologici eseguiti.

#### Locomozione random

E' stato eseguito un test di locomozione random con una  
camera per microchemiotassi a 48 pozzetti (Bio Probe, Milano) ed è  
25 stata valutata la migrazione nel filtro mediante il metodo del fronte di

avanzamento (Gennari, C. et al, Eur. J. Org. Chem. (1998), p. 945) stimando la distanza in micrometri per la quale ha migrato il bordo anteriore della cellula. L'effettivo movimento casuale di controllo è di  $35 \pm 3 \mu\text{m}$  SE da sei esperimenti separati eseguiti in duplicato.

5                    Chemiotassi

Il movimento direzionale o chemiotassi è stato misurato con la stessa camera utilizzata per la locomozione random, aggiungendo fMLP-OMe  $10^{-9}$  M o CXCL8  $10^{-8}$  M nel compartimento inferiore.

10                    Ciascun composto da testare è stato aggiunto nel compartimento superiore della camera di chemiotassi, diluito a concentrazioni variabili da  $10^{-15}$  a  $10^{-5}$  M con KRPG contenente 1 mg/ml di sieroalbumina bovina (BSA; Orha Behringwerke, Germania).

15                    I neutrofili sono stati preincubati con i composti da testare dieci minuti prima del test funzionale. I dati sono stati espressi in termini di indice chemiotattico (I.C.), che è il rapporto (migrazione verso l'agente di attrazione del test – migrazione verso il tampone)/migrazione verso il tampone.

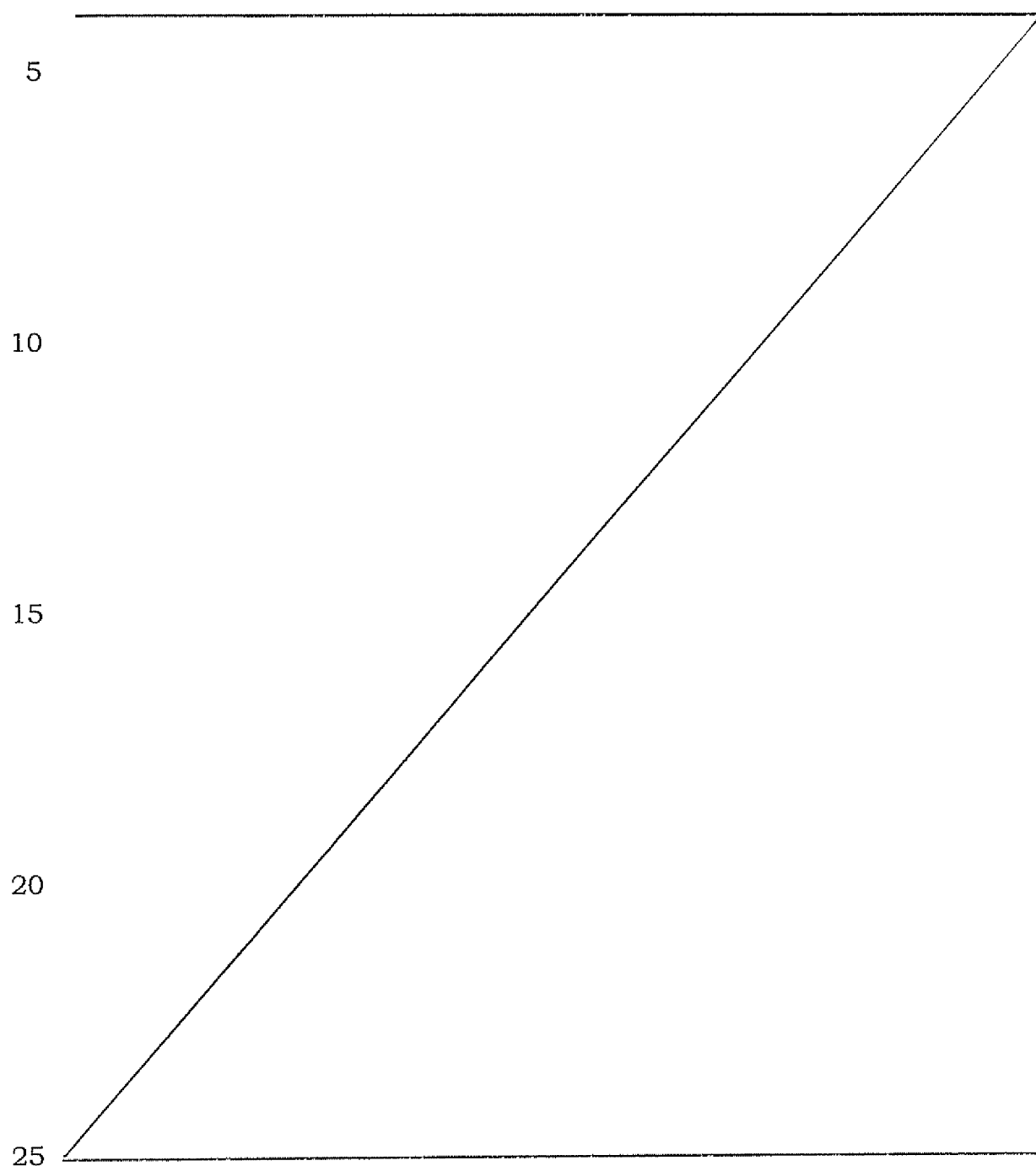
L'I.C. di fMLP-OMe è 1,2 a  $10^{-9}$  mentre l'I.C. di CXCL8 è 1,02 a  $10^{-8}$  M.

20                    L'antagonismo è stato misurato come I.C. in assenza (100%) e in presenza del composto da testare a diverse concentrazioni. Sono stati calcolati i valori di  $\text{CI}_{50}$  dalla curva sigmoide dose-risposta mediante un'analisi di regressione non-lineare (Graph Pad Prism, San Diego, USA).

25                    I valori sono medie di sei esperimenti separati eseguite due

volte. Gli errori standard sono nell'intervallo 0,02-0,09 I.C..

I test eseguiti su composti secondo la presente invenzione hanno fornito i seguenti risultati.



| Comp | R1                                                  | Q                  | Inibizione della migrazione di neutrofili indotta da fMLP<br>CI <sub>50</sub> (nM) | Ini<br>bizione della migrazione di neutrofili indotta da IL8<br>CI <sub>50</sub> (pM) |
|------|-----------------------------------------------------|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Ia   | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> | α-naftilammino     | 7,8 ± 0,52                                                                         | 7,60 ± 1,0                                                                            |
| Ib   | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | isopropilammino    | 90 ± 9,3                                                                           | 0,82 ± 0,07                                                                           |
| Ic   | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | benzilammino       | 15 ± 1,1                                                                           | 0,54 ± 0,06                                                                           |
| Id   | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | N-benzilpiperazino | > 10 μM (63%)                                                                      | 0,99 ± 0,08                                                                           |
| Ie   | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | o-F-anilino        | 100 ± 10,3                                                                         | 0,55 ± 0,01                                                                           |
| If   | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | m-F-anilino        | > 10 μM (60%)                                                                      | 0,70 ± 0,01                                                                           |
| Ig   | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | p-F-anilino        | > 10 μM (55%)                                                                      | 200 ± 60                                                                              |
| Ih   | CH <sub>2</sub> -CHOH-CH <sub>3</sub>               | α-naftilammino     | 9,8 ± 0,90                                                                         | 0,97 ± 0,06                                                                           |
| Ii   | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | isopropilammino    | > 10 μM (52%)                                                                      | 4,2 ± 0,7                                                                             |
| Ij   | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | benzilammino       | > 10 μM (54%)                                                                      | 7,4 ± 0,2                                                                             |
| Ik   | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | N-benzilpiperazino | 2000 ± 200                                                                         | 0,08 ± 0,003                                                                          |
| Il   | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | o- F-anilino       | 120 ± 12                                                                           | 1,6 ± 0,2                                                                             |
| Im   | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | m- F-anilino       | 0,19 ± 0,01                                                                        | 360 ± 60                                                                              |
| In   | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | p- F-anilino       | 3,2 ± 0,40                                                                         | 1900 ± 130                                                                            |
| Io   | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | α-naftilammino     | 12 ± 1,2                                                                           | 9600 ± 1000                                                                           |
| Ip   | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> | isopropilammino    | 20 ± 2,2                                                                           | 1000 ± 50                                                                             |
| Iq   | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> | benzilammino       | 0,43 ± 0,05                                                                        | 3,2 ± 0,1                                                                             |
| Ir   | CH <sub>2</sub> -CHOH-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> | N-benzilpiperazino | 1,1 ± 0,10                                                                         | 90 ± 4                                                                                |
| Is   | CH <sub>3</sub>                                     | isopropilammino    | 77 ± 7,7                                                                           | 1,8 ± 0,5                                                                             |
| It   | CH <sub>3</sub>                                     | benzilammino       | 18 ± 1,6                                                                           | 1300 ± 110                                                                            |
| Iu   | CH <sub>3</sub>                                     | N-benzilpiperazino | 150 ± 14,2                                                                         | 54,6 ± 0,5                                                                            |
| CSA  |                                                     |                    | 0,047 ± 0,006                                                                      |                                                                                       |
| DMSO |                                                     |                    | > 10.000                                                                           |                                                                                       |

Riferimenti bibliografici:

1. Nauseef, W. et al., "Basic Principles in the Diagnosis and Management of Infectious Diseases", Mandel, Bennett, Dolin Eds.; Churchill Livingstone, NY, 2000, pp 89-112.
2. Kobayashi, S. et al., "Regulation of the neutrophil mediated inflammatory response to infection", *Microbes Infect.*, 2003, 5, 1337-1344.
3. Delves, P. et al., The immune system. Second of two parts., *Adv. Immunol.*, 2000
- (4) Katanaev, V. L., Signal transduction in neutrophil chemotaxis *Biochemistry* 2001, 66, 351—368.
- (5) Panaro, M. A.; Mitolo, V. Cellular responses to FMLP challenging:  
A mini-review *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 1999, 21, 397— 419.
- (6) Selvatici, R.; Falzarano, S.; Mollica, A.; Spisani, S. Signal transduction pathways triggered by selective formylpeptide analogues in human neutrophils. *Eur. J. Pharmacol.* 2006, 534, 1—11.
- (7) Hanahan, D. J. Platelet activating factor: A biologically active phosphoglyceride *Annu. Rev. Biochem.* 1986, 55, 483—509
- (8) Crooks, S. W.; Stockley, R. A. Leukotriene B4. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 1998, 30, 173—178.
- (9) Gerard, C.; Gerard, N. P. C5a anaphylatoxin and its seven trans-membrane-segment receptor. *Annu. Rev. Immunol.* 1994, 12, 775— 808.
- (10) Baggiolini, M. Chemokines and leukocyte traffic. *Nature*

1998, 392, 565—568.

(11) Hart, J.; Barish, G.; Murphy, P. M.; Gao, J. L., N-Formylpeptides induce two distinct concentration optima for mouse neutrophil chemotaxis by differential interaction with two N-  
5 formylpeptide receptor (FPR) subtypes: Molecular characterization of FPR2, a second mouse neutrophil FPR. J. Exp. Med. 1999, 190, 741—747.

(12) Le, Y.; Oppenheim, J. J.; Wang, J, M. Pleiotropic roles of formyl peptide receptors Cytokine Growth Factor Rev. 2001, 12, 91—  
10 105,

(13) Holmes, W. E.; Lee, J.; Kuang, W. J.; Rice, G. C.; Wood, W. Structure and functional expression of a human interleukin-8 receptor. Science 1991, 253, 1278—1280

(14) Murphy P, M.; Tiffany, H. L. Cloning of complementary  
15 DNA encoding a functionai human interleukin-8 receptor. Science 1991, 253, 1280—1283.

(15) Zlotnik A.; Yoshie, O. Chemokines: A new classification system and their role in immunity. Immunity 2000, 12, 121—127.

(16) Chuntharapai, A.; Kim, J. K. Regulation of the expression  
20 of IL8 receptor A/B by IL8: Possible functions of each receptor. J. Immunol. 1995, 155, 2587—2594

(17) Niggli, V. Signaling to migration in neutrophils: Importance of localized pathways. IJBCB 2003, 35, 1619—1638

(18) Cicchetti, G.; Allen, P. G.; Glogauer, M. Chemotactic  
25 signaling pathways in neutrophils: From receptor to actin assembly.

Crit. Rev. Oral Biol. Med. 2002, 13, 220—228.

(19) Stephens, L.; Ellison, C.; Hawkins, P. Roles of PI3Ks in leukocyte chemotaxis and phagocytosis Curr. Opin. Cell. Biol. 2002, 14, 203—213.

5           (20) Weiner, O. D. Regulation of cell polarity during eukaryotic chemotaxis: The chemotactic compass. Curr. Opin. Cell. Biol. 2002, 14, 196—202.

          (21) Fechheimer, M.; Zigmond, S. H. Changes in cytoskeletal proteins of polymorphonuclear leukocytes induced by chemotactic  
10 peptides. Cell. Motil. 1983, 3, 349—361.

          (22) Valerius, N. E.; Stendahl, O.; Hartwig, J. H.; Stossel, T. P. Distribution of actin-binding protein and myosin in polymorphonuclear leukocytes during locomotion and phagocytosis. Cell 1981, 24, 195—202.

15           (23) Wymann, M. P.; Kernen, P.; Bengtsson, T.; Andersson, T.; Baggiolini, M.; Deranleau, D. A. Corresponding oscillations in neutrophil shape and filamentous actin content. J. Biol. Chem. 1990, 265, 619—622

          (24) Condeelis, J. Life at the leading edge: The formation of  
20 cell protrusions. Annu. Rev. Cell. Biol. 1993, 9, 411—444.

          (25) Elson, E. L.; Felder, S. F.; Jay, P. Y.; Kolodney, M. S.; Pasternak, C. Forces in cell locomotion. Biochem. Soc. Symp. 1999, 65, 299—314.

          (26) Carter, S. B. Effects of cytochalasins on mammalian  
25 cells. Nature 1967, 213, 261—264.

(27) Becker, E. L.; Davis, A. T.; Estensen, R. D.; Quie, P. G. Cytochalasin B. IV. Inhibition and stimulation of chemotaxis of rabbit and human polymorphonuclear leukocytes. *J. Immunol.* 1972, 108, 396—402.

5           (28) Zigmond, S. H.; Hirsch, J. G. Effects of cytochalasin B on polymorphonuclear leukocyte locomotion, phagocytosis and glycolysis. *Exp. Cell. Res.* 1972, 73, 383—393.

          (29) Norgauer, J.; Kownatzki, E.; Seifert, R.; Aktories, K. Botulinum C2 toxin ADP-ribosylates actin and enhances  $\text{O}_2^-$  production and secretion but inhibits migration of activated human neutrophils. *J. Clin. Invest.* 1988, 82, 1376—1382.

          (30) Pollard, T. D.; Blanchoin, L.; Mullins, R. D. Molecular mechanisms controlling actin filament dynamics in nonmuscle cells. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 2000, 29, 545—576.

15           (31) Li, Z.; Jiang, H.; Xie, W.; Zhang, Z.; Smrcka, A. V.; Wu, D. Roles of PLC- $\beta$ 2 and - $\beta$ 3 and PI3K $\gamma$  in chemoattractant-mediated signal transduction. *Science* 2000, 287, 1046—1049.

          (32) Hirsch, E.; Katanaev, V. L.; Garlanda, C.; Azzolino, O.; Pirola, L.; Silengo, L.; Sozzani, S.; Mantovani, A.; Altruda, F.; Wymann, M.

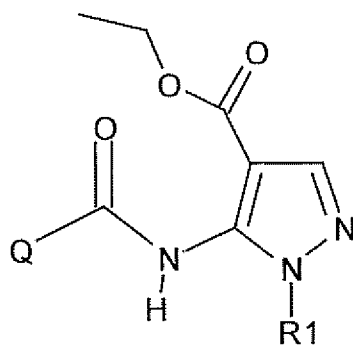
20           P. Central role for G protein-coupled phosphoinositide 3-kinase  $\gamma$  in inflammation *Science* 2000, 287, 1049—1053.

          (33) Sadhu, C.; Masinovsky, B.; Dick, K.; Sowell, C. G.; Staunton, D. E. Essential role of phosphoinositide 3-kinase  $\delta$  in neutrophil directional movement. *J. Immunol.* 2003, 170, 2647—2654.

- (34) Wang, E.; Herzmark, P.; Weiner, O. D.; Srinivasan, S.; Servant, O.; Boume, H. R. Lipid products of PI(3)Ks maintain persistent celi polarity and directed motility in neutrophils. *Nat. Cell. Biol.* 2002, 4, 513—518.
- 5           (35) Chodniewicz, D.; Zhelev, D. V. Novel pathways of F-actin polymerization in the human neutrophil. *Blood* 2003, 102, 2251—2258
- (36) Chodniewicz, D.; Zhelev, D. V. Chemoattractant receptor-stimulated F-actin polymerization in the human neutrophil is signaled by 2 distinct pathways. *Blood* 2003, 101, 1181—1184.
- 10           (37) Zhelev, D. V.; Alteraifi, A. M.; Chodniewicz D. Controlled pseudopod extension of human neutrophils stimulated with different chemoattractants *Biophys. J.* 2004, 87, 688—695.
- (38) White, J. R.; Lee, J. M.; Young, P. E.; Hertzberg, R. 9.; Jurewicz, A. J.; Chaikin, M. A.; Widdowson, K. L.; Foley, i. i.; Martin, L.
- 15           D.; Griswold, D. E.; Sarau, H. M. Identification of a potent, selective non-peptide CXCR2 antagonist. that inhibits interleukin-8-induced neutrophil migration. *J. Biol. Chem.* 1998, 273, 10095—10098.
39. Homk, E. Chemokine receptor antagonists. *Med. Res. Rev.* 2000, 20, 155—168.
- 20           40. Johnson, Z. et al., Chemokine inhibition-Why, when, where, which and how? *Biochem. Soc. Trans.* 2004, 32, 366-377.
41. Bruno, O., Brullo, C., Arduino, N., Schenone, S, Ranise, A., Bondavalli, F., Ottonello, L., Dapino, P., Dallegrì, F., Synthesis and biological evaluation of neutrophilic inflammation inhibitors, *Farmaco*
- 25           2004, 59, 223-235.

### RIVENDICAZIONI

1. Composto di formula (I),



(I)

in cui:

$R_1 = H, C_1-C_8$  alchile eventualmente sostituito,  $-CH_2-CH(R_3)OR_2$ , dove  $R_2 = H$  o  $C_1-C_3$  alchile e  $R_3 = C_1-C_8$  alchile eventualmente sostituito;

$Q = NHR_4$  o un anello eterociclico saturo contenente azoto a 3-7 membri, dove  $R_4 = C_3-C_8$  alchile eventualmente sostituito, arilalchile eventualmente sostituito, arile eventualmente sostituito;

a condizione che, quando  $R_1 = H$  o  $CH_3$ ,  $Q$  sia diverso da anilino e cloroanilino,

e suoi enantiomeri, diastereoisomeri e sali farmaceuticamente accettabili.

2. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui

$R_1 = C_1-C_5$  alchile,  $-CH_2-CH(R_3)OR_2$ , dove  $R_3 = C_1-C_3$  alchile e  $R_2$  è definito come nella rivendicazione 1;

Q = -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, -NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>X, N-benzilpiperazino, ciclopropilammino, pirrolidino, piperidino, morfolino, N-metilpiperazino o α-naftilammino, dove X = alogeno.

3. Composto secondo la rivendicazione 2, in cui

5 Q = -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, -NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>X, N-benzilpiperazino o α-naftilammino, dove X = alogeno

4. Composto secondo la rivendicazione 2, in cui

R<sub>1</sub> = -CH<sub>2</sub>-CH(OH)CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH(OH)C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH(OH)C<sub>3</sub>H<sub>7</sub> e

10 Q = -NH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, N-benzilpiperazino, α-naftilammino, o-fluoroanilino o m-fluoroanilino.

5. Composto secondo la rivendicazione 4, avente la seguente formula:

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-(3-isopropilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico;

15 - Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossi-2-feniletil)-5-[3-(1-naftil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-(3-benzilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico;

20 - Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-[3-(4-benzil)piperazinilureido]-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-(3-isopropilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-(3-benzilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico;

25 - Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-[3-(4-

benzil)piperazinilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipentil)-5-(3-isopropilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipentil)-5-(3-

5 benzilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipentil)-5-[3-(4-benzil)piperazinilureido)-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-[3-(1-naftil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico;

10 - Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-[3-(1-naftil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-[3-(2-fluorofenil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-[3-(3-

15 fluorofenil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossipropil)-5-[3-(4-fluorofenil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-[3-(2-fluorofenil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico;

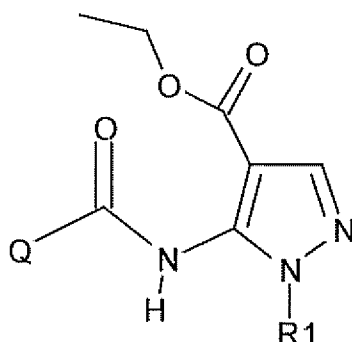
20 - Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-[3-(3-fluorofenil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico;

- Estere etilico dell'acido 1-(2-idrossibutil)-5-[3-(4-fluorofenil)ureido]-1H-pirazol-4-carbossilico.

6. Composto di formula (I)

25

5



(I)

10

in cui:

$R_1 = H, C_1-C_8$  alchile eventualmente sostituito,  $-CH_2-CH(R_3)OR_2$ , dove  $R_2 = H$  o  $C_1-C_3$  alchile e  $R_3 = C_1-C_8$  alchile eventualmente sostituito;

15

$Q = NHR_4$  o un anello eterociclico saturo contenente azoto a 3-7 membri, dove  $R_4 = C_3-C_8$  alchile eventualmente sostituito, arilalchile eventualmente sostituito, arile eventualmente sostituito,

e suoi enantiomeri, diastereoisomeri e sali farmaceuticamente accettabili per l'uso come medicamento ad attività antiinfiammatoria.

7. Composto secondo la rivendicazione 6, in cui:

20

$R_1 = C_1-C_5$  alchile,  $-CH_2-CH(R_3)OR_2$ , dove  $R_3 = C_1-C_3$  alchile e  $R_2$  è definito come nella rivendicazione 5;

$Q = -NH-CH(CH_3)_2, -NH-CH_2-C_6H_5, -NH-C_6H_4X, N$ -benzilpiperazino, ciclopropilammino, pirrolidino, piperidino, morfolino, N-metilpiperazino o  $\alpha$ -naftilammino, dove  $X =$  alogeno,

25

e suoi enantiomeri, diastereoisomeri e sali farmaceuticamente

accettabili per l'uso come medicamento ad attività antiinfiammatoria.

8. Composto secondo la rivendicazione 7, in cui:

$Q = -NH-CH(CH_3)_2, -NH-CH_2-C_6H_5, -NH-C_6H_4X,$  N-benzilpiperazino o  $\alpha$ -naftilammino, dove  $X =$  alogeno, e suoi

5 enantiomeri, diastereoisomeri e sali farmaceuticamente accettabili per l'uso come medicamento ad attività antiinfiammatoria.

9. Composto secondo la rivendicazione 8, in cui

$R_1 = -CH_2-CH(OH)CH_3, -CH_2-CH(OH)C_2H_5, -CH_2-CH(OH)C_3H_7$  e

$Q = -NH-CH(CH_3)_2, -NH-CH_2-C_6H_5,$  N-benzilpiperazino,  $\alpha$ -

10 naftilammino, o-fluoroanilino o m-fluoroanilino,

e suoi enantiomeri, diastereoisomeri e sali farmaceuticamente accettabili per l'uso come medicamento ad attività antiinfiammatoria.

10. Composto secondo una qualunque delle rivendicazioni da

1 a 5 e suoi enantiomeri, diastereoisomeri e sali farmaceuticamente

15 accettabili per l'uso come medicamento.

11. Composto secondo una qualunque delle rivendicazioni da

1 a 5 e suoi enantiomeri, diastereoisomeri e sali farmaceuticamente accettabili per l'uso come agente che inibisce la chemiotassi di neutrofili indotta da interleuchina 8.

20 12. Composto secondo una qualunque delle rivendicazioni da 6 a 9 per l'uso nel trattamento di patologie infiammatorie di natura autoimmune.

13. Uso di un composto secondo una qualunque delle rivendicazioni da 1 a 9 per la produzione di un medicamento per il  
25 trattamento di patologie infiammatorie, in particolare di patologie

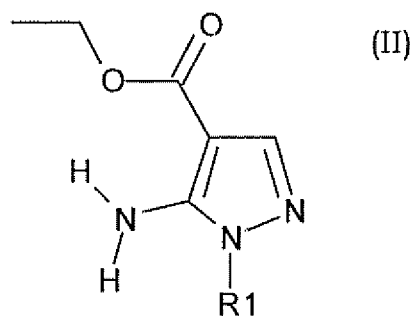
infiammatorie di natura autoimmune.

14. Uso di un composto secondo una qualunque delle rivendicazioni da 1 a 9 per la produzione di un medicamento per il trattamento di psoriasi, colite ulcerosa, glomerulonefrite, insufficienza  
5 respiratoria acuta, fibrosi cistica, artrite reumatoide, malattia polmonare ostruttiva cronica.

15. Uso di un composto secondo una qualunque delle rivendicazioni da 1 a 9 per la produzione di un medicamento per la prevenzione ed il trattamento di danni da ischemia da riperfusione.

10 16. Composizione farmaceutica comprendente almeno un composto secondo una qualunque delle rivendicazioni da 1 a 5 e un supporto farmaceuticamente accettabile.

17. Procedimento per la preparazione di un composto secondo una qualunque delle rivendicazioni da 1 a 5, comprendente la  
15 reazione di un composto di formula (II)



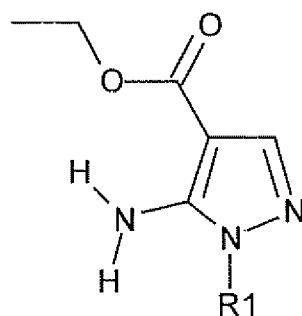
20

in cui R<sub>1</sub> è come definito nella rivendicazione 1, con COCl<sub>2</sub> e successivamente con un'ammina di formula QH, dove Q è definito come nella rivendicazione 1.

18. Procedimento per la preparazione di un composto  
25 secondo una qualunque delle rivendicazioni da 1 a 5, comprendente la

reazione di un composto di formula (II)

5



(II)

10            in cui R<sub>1</sub> è come definito nella rivendicazione 1, con un isocianato di formula QNCO, dove Q rappresenta un arile eventualmente sostituito.

  
Dr. Rinaldo FERRECCIO  
N. Iscriz. ALBO 525 BM