

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 330**

51 Int. Cl.:

C07D 231/56 (2006.01)

A61K 31/415 (2006.01)

A61P 13/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2009 E 09718467 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.02.2016 EP 2254870**

54 Título: **Derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol y su utilización en el tratamiento de enfermedades basadas en la expresión de MCP-1, CX3CR1**

30 Prioridad:

07.03.2008 EP 08425139

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

10.05.2016

73 Titular/es:

**AZIENDE CHIMICHE RIUNITE ANGELINI
FRANCESCO A.C.R.A.F. S.P.A. (100.0%)**

**Viale Amelia, 70
00181 Roma, IT**

72 Inventor/es:

**GUGLIELMOTTI, ANGELO;
FURLOTTI, GUIDO;
MANGANO, GIORGINA;
CAZZOLLA, NICOLA y
GAROFALO, BARBARA**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 569 330 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol y su utilización en el tratamiento de enfermedades basadas en la expresión de MCP-1, CX3CR1.

5 La presente invención se refiere a derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol, a una composición farmacéutica que los comprende y a su utilización en el tratamiento de enfermedades basadas en la expresión de MCP-1, CX3CR1 y p40.

10 En particular, la presente invención se refiere a nuevos derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol según la fórmula (I), indicada a continuación, y a una composición farmacéutica que los comprende, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Además, la presente invención se refiere a la utilización de derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol para preparar una composición farmacéutica activa en el tratamiento de enfermedades basadas en la expresión de MCP-1, CX3CR1 y p40, y a su utilización en un método para tratar o prevenir enfermedades
15 basadas en la expresión de MCP-1, CX3CR1 y p40.

Antecedentes de la técnica

20 Tal como es conocido, la MCP-1 (proteína quimiotáctica de monocitos 1) es una proteína que pertenece a la subfamilia β de las quimiocinas. La MCP-1 tiene una potente acción quimiotáctica en los monocitos y también ejerce su acción en los linfocitos T, los mastocitos y los basófilos (Rollins B.J., Chemokines, Blood 1997; 90: 909-928; M. Baggiolini, Chemokines and leukocyte traffic, Nature 1998; 392: 565-568).

25 Otras quimiocinas que pertenecen a la subfamilia β son, por ejemplo, la MCP-2 (proteína quimiotáctica de monocitos 2), la MCP-3, la MCP-4, la MIP-1 α , la MIP-1 β y la RANTES.

La subfamilia β se diferencia de la subfamilia α porque, en la estructura, en la subfamilia β las dos primeras cisteínas son adyacentes, mientras que en la subfamilia α están separadas por un aminoácido intercalado.

30 La MCP-1 está producida por diversos tipos de células (leucocitos, plaquetas, fibroblastos, células endoteliales y células del músculo liso).

Entre todas las quimiocinas conocidas, la MCP-1 muestra la mayor especificidad por los monocitos y los macrófagos, para los que constituye no sólo un factor quimiotáctico, sino también un estímulo de activación, con lo que se inducen procesos para la producción de numerosos factores inflamatorios (superóxidos, ácido araquidónico y sus derivados, citocinas/quimiocinas) y se amplifica la actividad fagocítica.

35 Habitualmente, la secreción de las quimiocinas en general, y de la MCP-1 en particular, está inducida por diversos factores proinflamatorios, por ejemplo, la interleucina 1 (IL-1), la interleucina 2 (IL-2), el TNF α (factor de necrosis tumoral α), el interferón γ y los lipopolisacáridos (LPS) bacterianos.

40 La prevención de la respuesta inflamatoria mediante el bloqueo del sistema quimiocina/receptor de quimiocina representa uno de los principales objetivos de la intervención farmacológica (Gerard C. y Rollins B.J., Chemokines and disease. Nature Immunol. 2001; 2:108-115).

45 Muchos datos sugieren que la MCP-1 tiene un papel clave en los procesos inflamatorios y ha sido indicada como nueva diana validada en diversos estados patológicos.

50 Se han obtenido indicios de una contribución fisiopatológica considerable de la MCP-1 en el caso de pacientes con enfermedades inflamatorias articulares y renales (artritis reumatoide, nefritis lúpica, nefropatía diabética y rechazo después de un trasplante).

55 Sin embargo, más recientemente, la MCP-1 se ha señalado entre los factores que intervienen en las patologías inflamatorias del sistema nervioso central (esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, demencia asociada al VIH) y otros estados patológicos y trastornos, con o sin un componente inflamatorio evidente, incluidas la dermatitis atópica, la colitis, las enfermedades pulmonares intersticiales, la restenosis, la aterosclerosis, las complicaciones después de una intervención quirúrgica (por ejemplo, angioplastia, aterectomía, trasplante, sustitución de órganos

y/o tejidos, implante protésico), el cáncer (adenomas, carcinomas y metástasis) e incluso las enfermedades metabólicas, tales como la resistencia a la insulina y la obesidad.

5 Además, a pesar del hecho de que el sistema de quimiocinas participa en el control y la superación de las infecciones virales, estudios recientes han demostrado que la respuesta de determinadas quimiocinas, y en particular de la MCP-1, puede tener un papel perjudicial en el caso de interacciones huésped-patógeno. En particular, se ha señalado la MCP-1 entre las quimiocinas que contribuyen a dañar órganos y tejidos en patologías mediadas por virus alfa caracterizadas por la infiltración de monocitos/macrófagos en las articulaciones y los músculos (Mahalingam S. y otros, Chemokines and viruses: friend or foes? Trends in Microbiology 2003; 11: 383-391; Rulli N. y otros, Ross River Virus: molecular and cellular aspects of disease pathogenesis. 2005; 107: 329-342).

15 Los monocitos son los principales precursores de los macrófagos y las células dendríticas, y tienen un papel clave como mediadores de los procesos inflamatorios. El CX3CR1, con su ligando CX3CL1 (fractalquina), representa un factor clave en la regulación de la migración y la capacidad de adherencia de los monocitos. El CX3CR1 se expresa en los monocitos, mientras que el CX3CL1 es una quimiocina transmembranaria de las células endoteliales. Los estudios genéticos en el hombre y en modelos animales han demostrado un papel importante del CX3CR1 y el CX3CL1 en la fisiopatología de las enfermedades inflamatorias. De hecho, existen muchos datos que sugieren una contribución clave del CX3CR1 y de su ligando en la patogénesis y la progresión de las enfermedades inflamatorias articulares, renales, gastrointestinales y vasculares (por ejemplo, artritis reumatoide, nefritis lúpica, nefropatía diabética, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, restenosis y aterosclerosis).

25 La expresión del CX3CR1 está sobreexpresada en los linfocitos T, de los que se cree que se acumulan en la membrana sinovial de los pacientes afectados de artritis reumatoide. Además, la expresión del CX3CL1 está sobreexpresada en las células endoteliales y los fibroblastos presentes en la membrana sinovial de dichos pacientes. En consecuencia, el sistema CX3CR1/CX3CL1 tiene un papel importante en el control del tipo de célula y el modo de infiltración de la membrana sinovial, y contribuye a la patogénesis de la artritis reumatoide (Nanki T. y otros, "Migration of CX3CR1-positive T cells producing type 1 cytokines and cytotoxic molecules into the synovium of patients with rheumatoid arthritis", Arthritis & Rheumatism (2002), vol. 46, nº 11, págs. 2878-2883).

30 En los pacientes afectados de lesión renal, la mayoría de los leucocitos inflamatorios que penetran los riñones expresan el CX3CR1, que se expresa particularmente en dos de los principales tipos de células que participan en las patologías renales inflamatorias más comunes y en el rechazo del trasplante de riñón, los linfocitos T y los monocitos (Segeer S. y otros, Expression of the fractalkine receptor (CX3CR1) in human kidney diseases, Kidney International (2002) 62, págs. 488-495).

35 También se ha sugerido la participación del sistema CX3CR1/CX3CL1 en las enfermedades inflamatorias intestinales (EII). De hecho, en los pacientes afectados de EII (por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), se ha demostrado un aumento significativo de la producción de CX3CL1 por parte del sistema capilar intestinal y un aumento significativo de las células positivas a CX3CR1, tanto en el sistema circulatorio como en las mucosas (Sans M. y otros, "Enhanced recruitment of CX3CR1 + T cells by mucosal endothelial cell-derived fractalkine in inflammatory bowel diseases", Gastroenterology 2007, vol. 132, nº 1, págs. 139-153).

45 Todavía más interesante resulta la demostración del papel clave que desempeña el sistema CX3CR1/CX3CL1 en las lesiones vasculares y, en particular, en los estados patológicos, por ejemplo, la aterosclerosis y la restenosis. El CX3CR1 se ha señalado como un factor crítico en el proceso de infiltración y acumulación de monocitos en la pared vascular, y el polimorfismo del CX3CR1 en el hombre se asocia con una reducción de la prevalencia de la aterosclerosis, los trastornos coronarios y la restenosis (Liu P. y otros, "Cross-talk among Smad, MAPK and integrin signalling pathways enhances adventitial fibroblast functions activated by transforming growth factor-1 and inhibited by Gax" Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2008; McDermott D.H. y otros, "Chemokine receptor mutant CX3CR1-M280 has impaired adhesive function and correlates with protection from cardiovascular diseases in humans", J. Clin. Invest. 2003; Niessner A. y otros, Thrombosis and Haemostasis 2005).

50 La IL-12 y la IL-23 son miembros de una pequeña familia de citocinas proinflamatorias heterodiméricas. Ambas citocinas comparten una subunidad común, la p40, que está unida covalentemente a la subunidad p35, para producir la forma madura de la IL-12, o a la subunidad p19, para producir la forma madura de la IL-23. El receptor de la IL-12 está constituido por las subunidades IL-12Rβ1 e IL-12Rβ2, mientras que el receptor de la IL-23 está constituido por

las subunidades IL-12R β 1 e IL-23R.

La IL-12 y la IL-23 están expresadas principalmente por las células dendríticas activadas y los fagocitos. Los receptores de las dos citocinas se expresan en los linfocitos T y NK, y en los linfocitos NK T, pero también están presentes niveles bajos de complejos del receptor de la IL-23 en los monocitos, los macrófagos y las células dendríticas.

A pesar de estas similitudes, existen muchos datos que sugieren que la IL-12 y la IL-23 controlan diferentes circuitos inmunitarios. De hecho, mientras que la IL-12 controla el desarrollo de las células Th1, que son capaces de producir interferón gamma (IFN- γ), y aumenta la respuesta citotóxica, antimicrobiana y antitumoral, la IL-23 regula un circuito que conduce a la generación de células CD4⁺, que son capaces de producir IL-17. La inducción de los procesos dependientes de la IL-23 conduce a la movilización de diversos tipos de células inflamatorias, por ejemplo, la T_H-17, y se ha demostrado crucial para la patogénesis de numerosas patologías inflamatorias mediadas por respuestas inmunitarias.

Son ejemplos típicos de patologías asociadas con la expresión de p40 las enfermedades inflamatorias crónicas del aparato articular (por ejemplo, la artritis reumatoide), del sistema dérmico (por ejemplo, la psoriasis) y del aparato gastrointestinal (por ejemplo, la enfermedad de Crohn). Sin embargo, la IL-23 también desempeña un papel en la promoción de la incidencia y el crecimiento tumorales. De hecho, la IL-23 regula una serie de circuitos en el microambiente tumoral, con lo que se estimula la angiogénesis y la producción de mediadores inflamatorios.

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel que afecta al 3% de la población mundial (Koo J. Dermatol. Clin. 1996; 14:485-96; Schon M.P. y otros, N. Engl. J. Med. 2005; 352: 1899-912). Se ha correlacionado una respuesta inmunitaria aberrante de tipo 1 con la patogénesis de la psoriasis, y las citocinas que inducen esta respuesta, tales como la IL-12 y la IL-23, pueden representar objetos terapéuticos adecuados. La expresión de la IL-12 y la IL-23, que comparten la subunidad p40, está significativamente aumentada en las placas de psoriasis, y los estudios preclínicos han demostrado que estas citocinas participan en la patogénesis de la psoriasis. Más recientemente, el tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-IL-12 y anti-IL-23 de pacientes afectados de psoriasis ha demostrado ser eficaz en la mejoría de los signos de progresión y gravedad de la enfermedad, lo que ha reforzado el papel de la IL-12 y la IL-23 en la fisiopatología de la psoriasis.

La enfermedad de Crohn es una patología inflamatoria crónica del aparato digestivo y puede afectar a cualquier zona del mismo, desde la boca hasta el ano. Habitualmente, afecta a la porción terminal del íleon y a áreas bien definidas del intestino grueso. A menudo se asocia con trastornos autoinmunitarios sistémicos, tales como úlceras bucales y artritis reumática. La enfermedad de Crohn afecta a más de 500.000 personas en Europa y 600.000 personas en los Estados Unidos.

La enfermedad de Crohn es una patología asociada con una actividad excesiva de las citocinas mediada por las células Th1. La IL-12 es una citocina clave en la iniciación de la respuesta inflamatoria mediada por las células Th1. La enfermedad de Crohn se caracteriza por una mayor producción de IL-12 por parte de células que presentan el antígeno en el tejido intestinal, y de interferón gamma (IFN- γ) y TNF α por parte de los linfocitos y los macrófagos intestinales. Estas citocinas inducen y favorecen el proceso inflamatorio y el engrosamiento de la pared intestinal, que son signos característicos de la patología. Los datos preclínicos y clínicos han demostrado que la inhibición de la IL-12 es eficaz en el control de la respuesta inflamatoria en modelos de inflamación intestinal y/o en pacientes afectados por la enfermedad de Crohn.

Actualmente, la relación entre el cáncer y la inflamación es un hecho establecido. Muchas formas de tumores se originan en puntos de inflamación y, en los tumores, a menudo se producen mediadores de la inflamación.

La IL-23 se ha identificado como una citocina asociada con el cáncer y, en particular, la expresión de la IL-23 es significativamente alta en muestras de carcinomas humanos en comparación con los tejidos normales adyacentes. Además, la ausencia de una expresión significativa de IL-23 en los tejidos normales adyacentes sugiere una sobrerregulación de la IL-23 en los tumores, lo que refuerza su papel en la génesis tumoral.

La patente europea EP-B-0 382 276 describe una serie de derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol dotados de actividad analgésica. A su vez, la patente europea EP-B-0 510 748 describe, por otro lado, la utilización de estos derivados para preparar una composición farmacéutica activa en el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias.

Por último, la patente europea EP-B-1 005 332 describe la utilización de estos derivados para preparar una composición farmacéutica activa en el tratamiento de enfermedades derivadas de la producción de MCP-1. Se cree que el ácido 2-metil-2-[[1-(fenilmetil)-1H-indazol-3-il]metoxi]propanoico es capaz de inhibir, de un modo dependiente de la dosis, la producción de MCP-1 y TNF- α inducidas in vitro en monocitos de LPS y *Candida albicans*, mientras que el mismo compuesto no ha mostrado efectos en la producción de las citocinas IL-1 e IL-6 y de las quimiocinas IL-8, MIP-1 α y RANTES (Sironi M. y otros, "A small synthetic molecule capable of preferentially inhibiting the production of the CC chemokine monocyte chemotactic protein-1", European Cytokine Network., vol. 10, nº 3, 437-41, septiembre de 1999).

- 10 La solicitud de patente europea EP-A-1 185 528 se refiere a la utilización de derivados de triazina para inhibir la producción de la IL-12. Las solicitudes de patente europea EP-A-1 188 438 y EP-A-1 199 074 se refieren a la utilización de inhibidores de la enzima PDE4, por ejemplo, Rolipram, Ariflo y derivados de diazepina-indol, en el tratamiento y la prevención de enfermedades asociadas con una producción excesiva de IL-12. La solicitud de patente europea EP-A-1 369 119 se refiere a la utilización de hialuronano con un peso molecular comprendido entre 15 600.000 daltons y 3.000.000 daltons para el control y la inhibición de la expresión de la IL-12. La solicitud de patente europea EP-A-1 458 687 se refiere a la utilización de derivados de la pirimidina para el tratamiento de enfermedades relacionadas con una sobreproducción de IL-12. La solicitud de patente europea EP-A-1 819 341 se refiere a la utilización de compuestos heterocíclicos nitrogenados, por ejemplo, derivados de piridina, pirimidina y triazina, para inhibir la producción de la IL-12 (o de otras citocinas, tales como IL-23 e IL-27, que estimulan la producción de la 20 IL-12). La solicitud de patente europea EP-A-1 827 447 se refiere a la utilización de derivados de la pirimidina para el tratamiento de enfermedades relacionadas con una sobreproducción de IL-12, IL-23 e IL-27.

Las solicitudes de patente europea EP-A-1 869 055, EP-A-1 869 056 y EP-A-1 675 862 describen derivados de la 25 1,3-tiazolo-4,5-pirimidina capaces de actuar como antagonistas del receptor de CX3CR1.

A pesar de la actividad desarrollada hasta el momento, sigue persistiendo la necesidad de encontrar composiciones y compuestos farmacéuticos nuevos que sean eficaces en el tratamiento de enfermedades basadas en la expresión de MCP-1, CX3CR1 y p40.

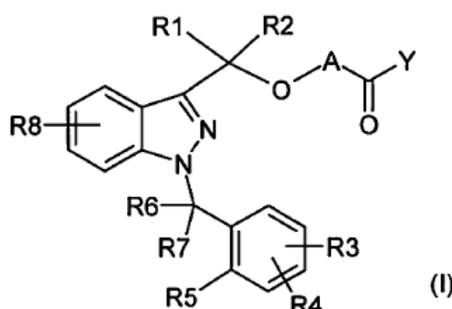
- 30 Sorprendentemente, el presente solicitante ha descubierto nuevos derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol con actividad farmacológica.

Sorprendentemente, el presente solicitante ha descubierto que los nuevos derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol de fórmula (I) según la presente invención son capaces de reducir la producción de la quimiocina MCP-1. 35

Más sorprendentemente, el presente solicitante ha descubierto que los nuevos derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol de fórmula (I) según la presente invención son capaces de reducir la expresión de la quimiocina MCP-1. 40

Aún más sorprendentemente, el presente solicitante ha descubierto que los derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol de fórmula (I) según la presente invención son capaces de reducir la expresión de la subunidad p40, que participa en la producción de las citocinas IL-12 e IL-23, así como la expresión del receptor CX3CR1.

- 45 Así, en un primer aspecto, la presente invención consiste en un compuesto de fórmula (I)



en el que:

A puede ser $-X_1-$ o $-X_1-OC(R_9)(R_{10})-$, donde

5 X_1 puede ser un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 5 átomos de carbono, o uno o más grupos alcoxi que presentan de 1 a 3 átomos de carbono,

10 R_9 y R_{10} , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

Y puede ser $N(R_{11})(R_{12})$, $N(R_{13})O(R_{14})$, $N(R_{13})N(R_{14})(R_{15})$, $N(R_{13})-X_2-N(R_{14})(R_{15})$, $N(R_{13})-X_2-CO-X_3$, donde

15 R_{11} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o R_{11} , junto con R_{12} , forma un heterociclo de entre 4 y 7 miembros,

20 R_{12} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, COR' , $COOR'$, $CON(R')(R'')$, estando representados R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, o R_{12} , junto con R_{11} , forma un heterociclo de entre 4 y 7 miembros,

25 R_{13} y R_{15} , que pueden ser iguales o diferentes, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

R_{14} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, COR' , $COOR'$, $CON(R')(R'')$, estando representados R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono,

30 X_2 puede ser un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 5 átomos de carbono, o uno o más grupos alcoxi que presentan de 1 a 3 átomos de carbono,

X_3 puede ser OH , NH_2 , $NHOH$ o $NHNH_2$,

35 R_1 y R_2 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

40 R_3 , R_4 y R_8 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un átomo de halógeno, $-OH$, $-N(R')(R'')$, $-N(R')COR''$, $-CN$, $-CONR'R''$, $-SO_2NR'R''$, $-SO_2R'$, nitro y trifluorometilo; estando representados R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono,

45 R_5 puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un átomo de halógeno, $-OH$, $-N(R')(R'')$, $-N(R')COR''$, nitro y trifluorometilo, o R_5 , junto con uno de entre R_6 y R_7 , forma un anillo que presenta de 5 a 6 átomos de carbono; estando representados R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono,

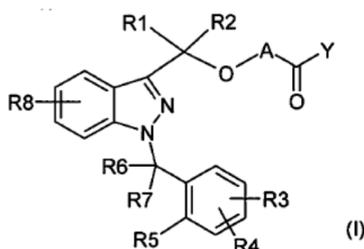
50 R_6 y R_7 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, o juntos forman un grupo $C=O$, o uno de entre R_6 y R_7 , junto con R_5 , forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono.

55 En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende los nuevos derivados del 1-bencil-3-hidroxi-metilindazol de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, junto con, por lo menos, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La sobrerregulación y/o el aumento de la expresión de las MCP-1, CX3CR1 y p40 mencionadas anteriormente, que en el último caso da lugar a la expresión/producción de IL-12 y/o IL-23, lo que provoca el desarrollo de una patología y/o una enfermedad, suele denominarse en la técnica con el término "sobreexpresión". Para el propósito de la presente invención, el término expresión pretende incluir la sobreexpresión, tal como se conoce en la técnica.

Sorprendentemente, el presente solicitante ha descubierto que los nuevos derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol se pueden utilizar para la preparación de una composición farmacéutica que es activa en enfermedades basadas en la expresión de la quimiocina MCP-1, de la subunidad p40 y, en consecuencia, de las citocinas IL-12 e IL-23, y del receptor CX3CR1.

Así, en otro aspecto, la presente invención se refiere a la utilización de un compuesto de fórmula (I)



en el que:

A puede ser $-X_1-$ o $-X_1-OC(R_9)(R_{10})-$, donde

X_1 puede ser un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 5 átomos de carbono, o uno o más grupos alcoxi que presentan de 1 a 3 átomos de carbono,

R_9 y R_{10} , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

Y puede ser $N(R_{11})(R_{12})$, $N(R_{13})O(R_{14})$, $N(R_{13})N(R_{14})(R_{15})$, $N(R_{13})-X_2-N(R_{14})(R_{15})$, $N(R_{13})-X_2-CO-X_3$, donde

R_{11} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o R_{11} , junto con R_{12} , forma un heterociclo de entre 4 y 7 miembros,

R_{12} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, COR' , $COOR'$, $CON(R')(R'')$, estando representados R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, o R_{12} , junto con R_{11} , forma un heterociclo de entre 4 y 7 miembros,

R_{13} y R_{15} , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

R_{14} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, COR' , $COOR'$, $CON(R')(R'')$, estando representados R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono,

X_2 puede ser un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 5 átomos de carbono, o uno o más grupos alcoxi que presentan de 1 a 3 átomos de carbono,

X_3 puede ser OH , NH_2 , $NHOH$ o $NHNH_2$,

R_1 y R_2 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

5 R₃, R₄ y R₈, que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un átomo de halógeno, -OH, -N(R')(R''), -N(R')COR', -CN, -CONR'R'', -SO₂NR'', -SO₂R', nitro y trifluorometilo; estando representados R' y R'', que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono,

10 R₅ puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un átomo de halógeno, -OH, -N(R')(R''), -N(R')COR'', nitro y trifluorometilo, o R₅, junto con uno de entre R₆ y R₇, forma un anillo que presenta de 5 a 6 átomos de carbono; estando representados R' y R'', que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, y

15 R₆ y R₇, que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, o juntos forman un grupo C=O, o uno de entre R₆ y R₇, junto con R₅, forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono,

20 para preparar una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades basadas en la expresión de MCP-1, CX3CR1 y p40.

Además, en otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para tratar o prevenir enfermedades basadas en la expresión de MCP-1, CX3CR1 y p40, caracterizado por la administración de una cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) descrito anteriormente a una persona que lo necesita.

25 Descripción detallada de la invención

Preferentemente, en la fórmula (I) descrita anteriormente, el residuo A está representado por el grupo X₁ o X₁-OC(R₉)(R₁₀), donde X₁ es un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 3 átomos de carbono, o uno o más grupos alcoxi que presentan 1 o 2 átomos de carbono, y R₉ y R₁₀, que pueden ser iguales o diferentes entre sí, son hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono.

35 Más preferentemente, el residuo A está representado por el grupo X₁ o X₁-OC(R₉)(R₁₀), donde X₁ es el grupo CH₂, el grupo CH₂CH₂ o el grupo C(CH₃)₂, y R₉ y R₁₀, que pueden ser iguales o diferentes entre sí, son hidrógeno o un grupo CH₃.

Ventajosamente, el residuo A se selecciona del grupo que comprende un grupo CH₂, un grupo CH₂CH₂, un grupo C(CH₃)₂, un grupo CH₂CH₂OCH₂, un grupo CH₂CH₂OC(CH₃)₂ y un grupo CH₂CH₂CH₂OC(CH₃)₂.

40 Preferentemente, en la fórmula (I) descrita anteriormente, el residuo Y está representado por el grupo N(R₁₁)(R₁₂), N(R₁₃)N(R₁₄)(R₁₅), N(R₁₃)-X₂-N(R₁₄)(R₁₅) o N(R₁₃)-X₂-CO-X₃.

Más preferentemente, en la fórmula (I) descrita anteriormente, el residuo Y está representado por el grupo N(R₁₁)(R₁₂), N(R₁₃)N(R₁₄)(R₁₅) o N(R₁₃)-X₂-N(R₁₄)(R₁₅).

45 Ventajosamente, R₁₁ está representado por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono, o R₁₁, junto con R₁₂, forma un heterociclo de 5 o 6 miembros.

50 Más preferentemente, R₁₁ está representado por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o R₁₁, junto con R₁₂, forma un heterociclo de 5 o 6 miembros.

Ventajosamente, R₁₂ está representado por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono, CON(R')(R''), estando representados R' y R'', que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o R₁₂, junto con R₁₁, forma un heterociclo de 5 o 6 miembros.

Más preferentemente, R_{12} está representado por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta 1 o 2 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono, $CON(R')(R'')$, estando representados R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o R_{12} , junto con R_{11} , forma un heterociclo de 5 o 6 miembros.

5

Preferentemente, R_{13} y R_{15} , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, están representados por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono.

10 Más preferentemente, R_{13} y R_{15} , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, están representados por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta 1 o 2 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono.

15 Preferentemente, R_{14} está representado por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, COR' , $COOR'$, $CON(R')(R'')$, estando representados R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono.

20 Más preferentemente, R_{14} está representado por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta 1 o 2 átomos de carbono, o $CON(R')(R'')$, estando representados R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono.

Ventajosamente, X_2 está representado por un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 3 átomos de carbono, o uno o más grupos alcoxi que presentan 1 o 2 átomos de carbono.

25

Ventajosamente, X_3 está representado por los grupos OH, NH_2 , $NHOH$ o $NHNH_2$.

30 Preferentemente, R_1 y R_2 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, están representados por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono.

35 Preferentemente, R_3 , R_4 y R_8 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, están representados por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono, un átomo de Br, Cl o F, un grupo OH, un grupo nitro, un grupo trifluorometilo o un grupo $N(R')(R'')$ o $N(R')COR''$; $-CN$, $-CONR''$, $-SO_2NR''$, $-SO_2R'$, estando representados R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, por un átomo de hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono.

40 Ventajosamente, R_5 está representado por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono, un átomo de halógeno, un grupo OH, o R_5 , junto con uno de entre R_6 y R_7 , forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono.

45 Preferentemente, R_6 y R_7 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, están representados por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o juntos forman un grupo $C=O$, o uno de entre R_6 y R_7 , junto con R_5 , forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono.

En el caso de determinados sustituyentes, el compuesto de fórmula (I) según la presente invención puede ser un átomo de carbono asimétrico y puede, por consiguiente, encontrarse en forma de estereoisómeros y enantiómeros.

50 Dependiendo de la naturaleza de los sustituyentes, el compuesto de fórmula (I) puede formar sales de adición con ácidos o bases orgánicas o minerales fisiológicamente aceptables.

Entre los ejemplos típicos de ácidos minerales adecuados fisiológicamente aceptables se incluyen el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido sulfúrico, el ácido fosfórico y el ácido nítrico.

55 Entre los ejemplos típicos de ácidos orgánicos fisiológicamente aceptables adecuados se incluyen el ácido acético, el ácido ascórbico, el ácido benzoico, el ácido cítrico, el ácido fumárico, el ácido láctico, el ácido maleico, el ácido metanosulfónico, el ácido oxálico, el ácido para-toluenosulfónico, el ácido bencenosulfónico, el ácido succínico, el

ácido tánico y el ácido tartárico.

Entre los ejemplos típicos de bases minerales adecuadas fisiológicamente aceptables se incluyen hidróxidos, carbonatos e hidrogenocarbonatos de amonio, calcio, magnesio, sodio y potasio, por ejemplo, hidróxido de amonio, hidróxido de calcio, carbonato de magnesio, hidrogenocarbonato de sodio e hidrogenocarbonato de potasio.

Entre los ejemplos típicos de bases orgánicas adecuadas fisiológicamente aceptables se incluyen: arginina, betaína, cafeína, colina, N,N-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, N-metilglucamina, glucamina, glucosamina, histidina, N-(2-hidroxiethyl)piperidina, N-(2-hidroxiethyl)pirrolidina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina y trometamina.

Dependiendo de la naturaleza de los sustituyentes, el compuesto de fórmula (I) puede formar ésteres con ácidos o bases orgánicas fisiológicamente aceptables.

Entre los compuestos de la presente invención, también se incluyen profármacos, estereoisómeros, enantiómeros y sales o ésteres farmacéuticamente aceptables de los compuestos representados por la fórmula (I), que se describen en las reivindicaciones. El profármaco de un compuesto de fórmula (I) es una sustancia en forma sustancialmente inactiva que, cuando se administra a un ser vivo, se metaboliza y da lugar a un compuesto de fórmula (I).

Los términos "farmacéuticamente aceptable" y "fisiológicamente aceptable" tienen por objeto definir, sin ninguna limitación particular, cualquier material adecuado para preparar una composición farmacéutica para su administración a un ser vivo.

Los compuestos según la fórmula (I) de la presente invención pueden utilizarse para la preparación de una composición farmacéutica activa en el tratamiento de enfermedades (o patologías) basadas en la expresión de la quimiocina MCP-1, la citocina p40, la subunidad p40 (que participa en la producción de las citocinas IL-12 e IL-23) y el receptor CX3CR1.

Preferentemente, las patologías asociadas con la expresión de MCP-1 y CX3CR1 son enfermedades articulares, enfermedades renales, enfermedades cardiovasculares, síndrome metabólico, obesidad, diabetes, resistencia a la insulina y cáncer.

En particular, las patologías asociadas a la expresión de MCP-1 son artritis reumatoide, artritis inducida por infecciones virales, artritis psoriásica, artrosis, nefritis lúpica, nefropatía diabética, glomerulonefritis, riñón poliquístico, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, demencia asociada al VIH, dermatitis atópica, psoriasis, vasculitis, restenosis, aterosclerosis, infarto de miocardio, angina de pecho, enfermedades coronarias agudas, adenomas, carcinomas y metástasis, y enfermedades metabólicas, trasplantes, sustituciones de órganos, sustituciones de tejidos e implantes protésicos.

En particular, las patologías asociadas a la expresión de CX3CR1 son artritis reumatoide, nefritis lúpica, nefropatía diabética, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, trastornos coronarios, restenosis, aterosclerosis, infarto de miocardio, angina de pecho.

Preferentemente, las patologías asociadas a la expresión de p40, y por consiguiente de IL-12 e IL-23, son las enfermedades autoinmunitarias, tales como las enfermedades inflamatorias degenerativas crónicas, y el cáncer.

En particular, las patologías asociadas a la expresión de p40 son artritis reumatoide, psoriasis, glomerulonefritis, diabetes, lupus eritematoso, diabetes, enfermedad de Crohn y tumores, tales como, por ejemplo, carcinomas de colon, carcinomas de mama, carcinomas de pulmón y carcinomas de próstata, y neoplasias de piel y del sistema nervioso central.

Preferentemente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se preparan en formas farmacéuticas adecuadas, que comprenden una dosis eficaz, por lo menos, de un compuesto de fórmula (I), o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, y, por lo menos, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Entre los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables conocidos en la técnica anterior se incluyen, por

ejemplo, deslizantes, aglutinantes, disgregantes, rellenos, diluyentes, aromatizantes, colorantes, fluidificantes, lubricantes, agentes conservantes, humectantes, absorbentes y edulcorantes.

5 Entre los ejemplos útiles de excipientes farmacéuticamente aceptables se incluyen azúcares, tales como lactosa, glucosa o sacarosa, almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata, celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa, goma de tragacanto, malta, gelatina, talco, manteca de cacao, ceras, aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja, glicoles, tales como propilenglicol, polioles, tales como glicerol, sorbitol, manitol y polietilenglicol, ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo, agar agar y similares.

15 Entre los ejemplos de formas farmacéuticas adecuadas se encuentran comprimidos, cápsulas, comprimidos recubiertos, gránulos, soluciones y jarabes para su administración oral; emplastos medicinales, soluciones, pastas, cremas y pomadas para administración transdérmica; supositorios para administración rectal y soluciones estériles para inyección o administración mediante aerosol.

Otras formas de dosificación adecuadas son formas de liberación controlada y formas a base de liposomas, para las vías oral o de inyección.

20 Las formas farmacéuticas también pueden contener otros ingredientes convencionales, tales como: conservantes, estabilizantes, tensioactivos, tampones, reguladores de la presión osmótica, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, aromatizantes y similares.

25 Cuando se requiera para determinadas terapias, la composición farmacéutica según la presente invención puede contener otros ingredientes farmacológicamente activos cuya administración simultánea resulte útil.

30 La cantidad de compuesto de fórmula (I), o de sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, en la composición farmacéutica de la presente invención puede variar dentro de un amplio intervalo en función de factores conocidos, tales como el tipo de patología a tratar, la gravedad de la enfermedad, el peso corporal del paciente, la forma farmacéutica, la vía de administración elegida, el número de administraciones diarias y la eficacia del compuesto de fórmula (I) seleccionado. Sin embargo, el experto en la materia podrá determinar la cantidad óptima de forma sencilla y rutinaria.

35 Típicamente, la cantidad de compuesto de fórmula (I), o de sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, en la composición farmacéutica de la presente invención es tal que se asegura un nivel de administración comprendido entre 0,001 mg/kg/día y 100 mg/kg/día. Preferentemente, el nivel de administración está comprendido entre 0,05 mg/kg/día y 50 mg/kg/día, y aún más preferentemente entre 0,1 mg/kg/día y 10 mg/kg/día.

40 Las formas farmacéuticas de la composición farmacéutica según la presente invención se pueden preparar mediante técnicas bien conocidas por los químicos farmacéuticos, incluidas el mezclado, la granulación, el prensado, la disolución, la esterilización y similares.

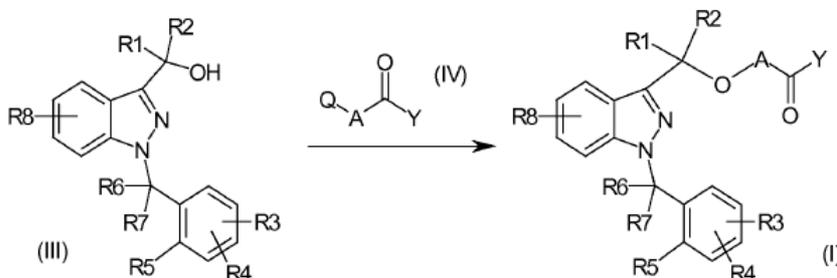
45 La actividad de los compuestos de la presente invención sobre MCP-1 y CX3CR1 se demostró in vitro en monocitos humanos por técnicas de análisis de la expresión génica con RT-PCR "en tiempo real" y por análisis de la producción de proteínas mediante un ensayo inmunoenzimático. Como saben los expertos en la materia, los modelos experimentales mencionados anteriormente se consideran útiles para controlar la actividad de los compuestos con respecto a la expresión y producción de MCP-1 y la expresión de CX3CR1. En consecuencia, los modelos mencionados anteriormente pueden considerarse predictivos de la actividad en el hombre para el tratamiento de patologías caracterizadas por la expresión y producción de MCP-1, por la expresión de CX3CR1 y por condiciones inflamatorias con presencia de infiltrados ricos en monocitos y macrófagos.

55 La actividad de los compuestos de la presente invención sobre la p40 se demostró in vitro en monocitos humanos por técnicas de análisis de la expresión génica por RT-PCR "en tiempo real". Como saben los expertos en la materia, el modelo experimental mencionado anteriormente es útil para controlar la actividad de los compuestos con respecto a la expresión de p40 y puede considerarse predictivo de la actividad en el hombre para el tratamiento de estados patológicos caracterizados por la expresión de p40.

La preparación de los compuestos de fórmula general (I) se puede llevar a cabo según uno de los siguientes métodos.

Método A:

5



10

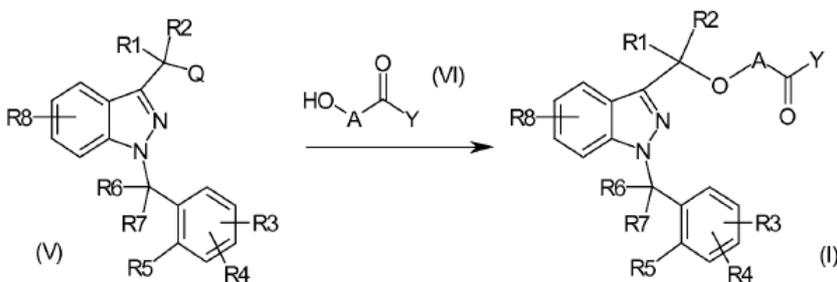
En el método A, los compuestos de fórmula general (III) se hacen reaccionar con los compuestos de fórmula (IV). Los sustituyentes R_1 a R_8 , A e Y tienen los significados indicados anteriormente para los compuestos de fórmula (I), y Q indica un grupo saliente seleccionado dentro del grupo que comprende halógeno, CH_3SO_3^- y $p\text{-CH}_3\text{PhSO}_3^-$.

15

El método A se lleva a cabo según técnicas convencionales. Por ejemplo, los alcoholes de fórmula (III) se hacen reaccionar, respectivamente, con los derivados de fórmula (IV), en los que Q es un grupo saliente, preferentemente seleccionado dentro del grupo que comprende un átomo de cloro, un átomo de bromo y un grupo metanosulfonylo. La reacción se lleva a cabo en presencia de una base adecuada y en un disolvente adecuado. Las bases que pueden utilizarse preferentemente son NaH, butil-litio y diisopropilamida de litio, mientras que los disolventes adecuados para este tipo de reacción son, preferentemente, disolventes apróticos polares, tales como tetrahidrofurano, éter dietílico o 1,4-dioxano. Preferentemente, la temperatura de reacción está comprendida entre la temperatura ambiente y la temperatura de reflujo del disolvente utilizado. Las reacciones de este tipo pueden durar de unas horas a unos días.

20

Método B:



25

En el método B, los compuestos de fórmula general (V) se hacen reaccionar con los compuestos de fórmula (VI). Los sustituyentes R_1 a R_8 , A e Y tienen los significados indicados anteriormente para los compuestos de fórmula (I), y Q indica un grupo saliente seleccionado dentro del grupo que comprende halógeno, CH_3SO_3^- y $p\text{-CH}_3\text{PhSO}_3^-$.

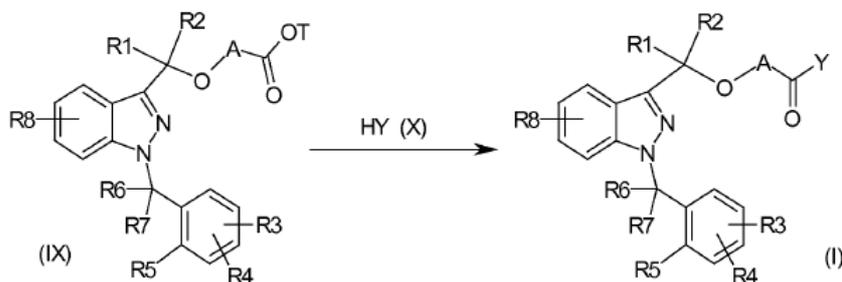
30

El método B se lleva a cabo según técnicas convencionales. Por ejemplo, los alcoholes de fórmula (VI) se hacen reaccionar, respectivamente, con los derivados de fórmula (V), en los que Q es un grupo saliente, preferentemente seleccionado dentro del grupo que comprende un átomo de cloro, un átomo de bromo y un grupo metanosulfonylo. La reacción se lleva a cabo en presencia de una base adecuada y en un disolvente adecuado. Las bases que pueden utilizarse preferentemente son NaH, butil-litio y diisopropilamida de litio, mientras que los disolventes adecuados para este tipo de reacción son, preferentemente, disolventes apróticos polares, tales como tetrahidrofurano, éter dietílico o 1,4-dioxano. Preferentemente, la temperatura de reacción está comprendida entre la temperatura ambiente y la temperatura de reflujo del disolvente utilizado. Las reacciones de este tipo pueden durar de unas horas a unos días.

35

40

Método C



5 En el método C, los productos de fórmula general (IX) se hacen reaccionar con los productos de fórmula general (X). Los sustituyentes R_1 a R_8 , A e Y tienen los significados indicados anteriormente para los compuestos de fórmula (I), y T puede ser hidrógeno o un grupo alquilo.

El método C se lleva a cabo según técnicas convencionales.

10 Cuando T es hidrógeno, el método comprende la utilización de un agente adecuado para activar el ácido carboxílico, tal como cloruro de tionilo, y un disolvente aprótico. Preferentemente, los disolventes utilizados son tolueno, tetrahidrofurano y diclorometano. La reacción se puede llevar a cabo en presencia de una base, que puede ser orgánica, tal como trietilamina o diisopropililamina, o mineral, tal como metóxido de sodio. Preferentemente, la reacción se lleva a cabo a temperaturas comprendidas entre 0°C y la temperatura de reflujo del disolvente utilizado.

15 Generalmente, el tiempo de reacción está comprendido entre 1 hora y 24 horas.

Si T es un grupo alquilo, el método comprende la utilización de una base mineral adecuada, tal como metóxido de sodio o NaOH, y un exceso de amina de fórmula general (X). En general, la reacción se puede llevar a cabo utilizando un disolvente aprótico adecuado, preferentemente tolueno o dioxano, o la misma amina reactiva (X), si su estado físico lo permite. Preferentemente, la reacción se lleva a cabo a temperaturas superiores a la temperatura ambiente y durante períodos que van de unas horas a varios días.

20

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la presente invención sin limitarla, sin embargo, en ningún aspecto.

25 Ejemplos de preparación

Los compuestos de fórmula (I) indicados en la siguiente tabla A se prepararon mediante los métodos de preparación descritos anteriormente.

30 TABLA A

No.	A	Y	Grupos R							
			1	2	3	4	5	6	7	8
9	$\text{C}(\text{CH}_3)_2$	NH_2	H	H	H	H	H	H	H	H
10	"	NHOH	"	"	"	"	"	"	"	"
11	"	NHNH_2	"	"	"	"	"	"	"	"
12	"	NHNHCONH_2	"	"	"	"	"	"	"	"
13	"	$\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$	"	"	"	"	"	"	"	"
14*	"	NH-(2-piridina)	"	"	"	"	"	"	"	"
15*	"	NH-[1-(4- CH_3)-piperazina]	"	"	"	"	"	"	"	"
26	"	NHCH_2COOH	"	"	"	"	"	"	"	"
27*	"	NH-NH-Ph	"	"	"	"	"	"	"	"
28	"	N-morfolina	"	"	"	"	"	"	"	"
29	"	NH_2	"	"	"	"	"	"	"	5- OCH_3
30	"	"	"	"	p-Cl	"	"	"	"	H
31	"	"	"	"	p-Cl	m-Cl	"	"	"	"
32	"	NHOH	"	"	H	H	"	"	"	5-CN
33	"	"	"	"	p- OCH_3	"	"	"	"	5-CN

34	"	"	"	"	H	"	"	CO	H
35	"	"	"	"	"	"	(CH ₂) ₃	H	H
36	CH ₂	"	"	"	p-OCH ₃	"	H	H	"
37	"	NH ₂	"	"	H	"	"	"	5-CONH ₂
38	C(CH ₃) ₂ C H ₂ OC(CH ₃) ₂	"	"	"	"	"	"	"	H
39	C(CH ₃) ₂ C H ₂ OCH ₂	"	"	"	"	"	"	"	"
40	"	NHOH	"	"	"	"	"	"	"
41	"	"	"	"	p-OCH ₃	"	"	"	"
42	CH ₂ CH ₂ O C(CH ₃) ₃	"	"	"	H	"	"	"	"
43	CH ₂ CH ₂ C H ₂ OC(CH ₃) ₂	"	"	"	"	"	"	"	"
44	CH ₂ CH ₂ C H ₂ OCH ₂	"	"	"	"	"	"	"	"
45	"	NH ₂	"	"	"	"	"	"	"
46	CH ₂ CH ₂ O CH ₂	"	"	"	"	"	"	"	"
47	"	NHOH	"	"	"	"	"	"	"
48	"	NHNH ₂	"	"	"	"	"	"	"

* Compuesto de referencia que no forma parte de la invención

Los detalles de la preparación de la mayoría de los compuestos de la tabla A se indican a continuación. Los demás compuestos se prepararon con técnicas similares, utilizando productos de partida y reactivos adecuados.

5

Preparación del compuesto 9

2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanamida

10 9a) 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoato de metilo

15 Una suspensión de ácido 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico (20 g; 0,062 mol) [preparada tal como se describe en la solicitud de patente EP 382 276] en metanol (300 ml) se trató a 0°C con HCl gaseoso durante 4 horas. A continuación, la mezcla se vertió sobre agua (500 ml) y el producto se extrajo con éter dietílico (3 x 250 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución de bicarbonato de sodio al 5% (2 x 100 ml) seguido de agua (50 ml). El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo crudo se purificó por cristalización en hexano.

20

Se obtuvieron 18,5 g de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoato de metilo.

p. f. = 66°-67°C

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,56 (s, 6 H), 3,77 (s, 3 H), 4,87 (s, 2 H), 5,54 (s, 2 H), 7,0-7,4 (m, 8 H), 8,03 (d, J = 7,61 Hz, 1 H).

25

9b) 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanamida

30 Una solución de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoato de metilo (15 g; 0,044 moles) en metanol (250 ml) agitada a temperatura ambiente se trató con NH₃ gaseoso durante 48 horas. A continuación, el disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo crudo se purificó por cristalización en acetato de etilo.

Se obtuvieron 7,3 g de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanamida.

p. f. = 111°-112°C

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,58 (s, 6 H), 4,88 (s, 2 H), 5,57 (s, 2 H), 5,64 (bs, 1 H), 6,94 (bs, 1 H), 7,08-7,43 (m, 8 H), 7,77 (d, J = 8,04 Hz, 1 H).

5

Preparación del compuesto 10

2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-N-hidroxi-2-metilpropanamida

10 10a) 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoato de metilo

Una suspensión de ácido 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico (20 g; 0,062 mol) en metanol (300 ml) se trató a 0°C con HCl gaseoso durante 4 horas. A continuación, la mezcla se vertió sobre agua (500 ml) y el producto se extrajo con éter dietílico (3 x 250 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución de bicarbonato de sodio al 5% (2 x 100 ml) seguido de agua (50 ml). El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo crudo se purificó por cristalización en hexano.

15

De este modo se obtuvieron 18,5 g de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoato de metilo.

20 p. f. = 66°-67°C

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,56 (s, 6 H), 3,77 (s, 3 H), 4,87 (s, 2 H), 5,54 (s, 2 H), 7,0-7,4 (m, 8 H), 8,03 (d, J = 7,61 Hz, 1 H).

25 10b) 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-N-hidroxi-2-metilpropanamida

Se añadió una solución de KOH (9,7 g, 0,173 mol) en metanol (25 ml) a temperatura ambiente a una solución de clorhidrato de hidroxilamina (8,0 g, 0,115 mol) en metanol (45 ml). La mezcla resultante se agitó a 0°C durante 30 minutos y después se filtró, y la solución se añadió a una solución de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoato de metilo (19 g, 0,057 mol) en metanol (30 ml) y CHCl₃ (15 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. La reacción se detuvo mediante la concentración del disolvente a presión reducida y el lavado del residuo recogido en agua (100 ml) con éter dietílico (3 x 50 ml). La fase acuosa se acidificó con HCl 2 N y el producto se extrajo con éter dietílico (3 x 100 ml). A continuación, la fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo crudo resultante se purificó por doble cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/1.

30

35

Se obtuvieron 6 g de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-N-hidroxi-2-metilpropanamida.

p. f. = 115°-116°C

40 ¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,58 (s, 6 H), 4,87 (s, 2 H), 5,57 (s, 2 H), 7,12-7,41 (m, 8 H), 8,10 (bs, 1 H), 7,72 (d, J = 8,09 Hz, 1 H), 10,05 (bs, 1 H).

Preparación del compuesto 11

45 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanohidrazida

A una solución de hidrato de hidrazina 1 M (100 ml, 0,100 mol) agitada a 80°C se le añadió en porciones 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoato de metilo (20 g, 0,060 mol). Una vez completada la adición, la mezcla se agitó durante 30 minutos a la misma temperatura y, a continuación, se calentó a 120°C durante 2 horas. La reacción se detuvo diluyendo la mezcla con agua (600 ml) y extrayendo el producto con éter dietílico (4 x 200 ml). A continuación, las fases orgánicas combinadas se extrajeron con HCl 2 N (4 x 200 ml). A continuación, la fase ácida se llevó a un pH básico con NaOH 10 N y se extrajo de nuevo con éter dietílico (4 x 200 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo crudo resultante se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/1.

50

55

Se obtuvieron 16 g de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanohidrazida.

ES 2 569 330 T3

p. f. = 92°-93°C

¹H-RMN (DMSO-d₆, δ ppm): 1,41 (s, 6 H), 4,30 (s, 2 H), 4,73 (s, 2 H), 5,62 (s, 2 H), 7,15 (ddd, J = 8,00; 6,98; 0,80 Hz, 1 H), 7,20-7,34 (m, 5 H), 7,38 (ddd, J = 8,37; 6,98; 1,17 Hz, 1 H), 7,66 (d, J = 8,48 Hz, 1 H), 7,90 (dt, J = 8,11; 0,91 Hz, 1 H), 8,84 (s, 1 H).

Preparación del compuesto 12

2-{2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoil}hidrazina-carboxamida

A una solución de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanohidrazida (7,0 g, 0,021 mol) en agua (100 ml) y HCl 3 N (15 ml) agitada a temperatura ambiente se le añadió lentamente una solución de KOCN (1,8 g, 0,022 mol) en agua (30 ml). La mezcla se agitó a esta misma temperatura durante 30 minutos y a continuación se detuvo la reacción por filtración del sólido formado de este modo. El sólido aislado se cristalizó a partir de etanol de 95°.

Se obtuvieron 6,0 g de 2-{2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoil}-hidrazina-carboxamida

p. f. = 174°-175°C

¹H-RMN (DMSO-d₆, δ ppm): 1,43 (s, 6 H), 4,80 (s, 2 H), 5,62 (s, 2 H), 5,90 (s, 2 H), 7,14 (t, J = 7,45 Hz, 1 H), 7,20-7,43 (m, 6 H), 7,66 (d, J = 8,48 Hz, 1 H), 7,77 (s, 1 H), 7,96 (d, J = 8,04 Hz, 1 H), 9,37 (s, 1 H).

Preparación del compuesto 13

Clorhidrato de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-N-[2-(dimetilamino)etil]-2-metilpropanamida

A una solución de ácido 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico, preparado tal como se describe en el documento EP 382 276 (19,5 g, 0,060 mol), en tolueno (150 ml) agitada a temperatura ambiente se le añadió trietilamina (8,4 ml, 0,060 mol). A continuación, la mezcla se enfrió a 0°C y se añadió una solución de clorformiato de etilo (7,0 ml, 0,073 mol) en tolueno (30 ml). Una vez completada la adición, la mezcla se agitó a esta misma temperatura durante 30 minutos se añadió N,N-dimetiletan-1,2-diamina (7,0 ml, 0,064 mol) disuelta en tolueno (30 ml). Una vez completada la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. A continuación, la mezcla se diluyó con éter dietílico (500 ml) y se extrajo con HCl 1 N (4 x 150 ml). Las fases acuosas ácidas combinadas se lavaron con éter dietílico (3 x 50 ml), se llevaron a pH básico con NaOH 10 N y se extrajeron de nuevo con éter dietílico (4 x 150 ml). A continuación, la fase orgánica se lavó con agua (2 x 50 ml) y con solución saturada de NaCl (2 x 50 ml). La solución se secó con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se evaporó a presión reducida.

El residuo obtenido se disolvió en acetato de etilo (150 ml) y se trató a temperatura ambiente con una solución de HCl en etanol (aproximadamente 5 N). El sólido formado se filtró y se purificó por cristalización en una mezcla de acetato de etilo/etanol 9/1.

Se obtuvieron 12,1 g de clorhidrato de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-N-[2-(dimetilamino)-etil]-2-metilpropanamida.

p. f. = 136°-137°C

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,54 (s, 6 H), 2,75 (d, J = 4,76 Hz, 6 H), 3,01-3,13 (m, 2 H), 3,69 (q, J = 6,46 Hz, 2 H), 4,87 (s, 2 H), 5,61 (s, 2 H), 7,13-7,41 (m, 8 H), 7,69 (t, J = 5,85 Hz, 1 H), 7,80 (d, J = 8,05 Hz, 1 H), 12,68 (bs, 1 H).

Preparación del compuesto 14 (compuesto de referencia)

2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metil-N-pirid-2-il-propanamida

Se trataron 8 g (0,024 mol) de ácido 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metil-propanoico a temperatura ambiente con metóxido de sodio al 30% (4,33 ml, 0,024 mol) durante 5 minutos. A continuación, el disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo obtenido se suspendió en tolueno (160 ml), seguido de la adición, a temperatura

ambiente, de 2-aminopiridina (6,8 g, 0,072 mol). A la mezcla agitada a temperatura ambiente se añadió lentamente una solución de cloruro de tionilo (2,1 ml, 0,029 mol) en tolueno (40 ml). Una vez completada la adición, la mezcla se agitó durante 24 horas. A continuación, el sólido obtenido se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo crudo obtenido se purificó por cristalización en isopropanol.

5

Se obtuvieron 3 g de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metil-N-pirid-2-il-propanamida.

p. f. = 121°-122°C

10 ¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,65 (s, 6 H), 4,97 (s, 2 H), 5,60 (s, 2 H), 6,98-7,04 (m, 1 H), 7,15 (ddd, J = 8,04; 5,77; 2,12 Hz, 1 H), 7,20-7,37 (m, 7 H), 7,64-7,73 (m, 1 H), 7,84 (d, J = 8,18 Hz, 1 H), 8,22-8,27 (m, 2 H), 9,32 (bs, 1 H).

Preparación del compuesto 15 (compuesto de referencia)

15 1-bencil-3-[[1,1-dimetil-2-(4-metilpiperazin-1-il)-2-oxoetoxi]metil]-1H-indazol

Se trataron 50 ml de 1-metilpiperazina (0,452 mol) a temperatura ambiente con una solución metanólica de metóxido de sodio al 30% (9 ml, 0,045 mol) en metanol (5 ml). A dicha solución, agitada a temperatura ambiente, se añadió 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoato de metilo (15 g, 0,045 mol). La mezcla se agitó a reflujo durante 18 horas. La reacción se detuvo vertiendo la mezcla en agua (500 ml) y extrayendo el producto con éter dietílico (3 x 150 ml). A continuación, las fases orgánicas combinadas se extrajeron con HCl 3 N (3 x 100 ml). A continuación, la fase ácida se llevó a un pH básico con NaOH 10 N y se extrajo con éter dietílico (3 x 150 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/3.

20

Se obtuvieron 6 g de 1-bencil-3-[[1,1-dimetil-2-(4-metilpiperazin-1-il)-2-oxoetoxi]metil]-1H-indazol.

p. f. = 97°-98°C

30 ¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,60 (s, 6 H), 2,21 (s, 3 H), 2,24-2,47 (m, 4 H), 3,47-4,16 (m, 4 H), 4,82 (s, 2 H), 5,56 (s, 2 H), 7,09-7,38 (m, 8 H), 7,76 (d, J = 8,18 Hz, 1 H).

Preparación del compuesto 26

35 N-{2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoil}glicina

Se trataron 4,17 g de éster etílico de glicina (0,040 mol) a temperatura ambiente con una solución de metóxido de sodio al 30% en metanol (0,46 ml) y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se añadió a una solución de ácido 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico (10 g, 0,04 mol) en diclorometano (DCM) (100 ml) con agitación a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla se enfrió a 0°C y se le añadió una solución de N,N'-diciclohexilcarbodiimida (6,73 g, 0,033 mol) en DCM (25 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas.

45 La reacción se detuvo filtrando el sólido formado y concentrando el disolvente a presión reducida. El residuo crudo se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice, utilizando una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/1 como eluyente.

El producto obtenido se suspendió en agua (100 ml) y se le añadió NaOH (1,28 g, 0,032 mol). La mezcla se agitó a 50°C durante 16 horas, y después se enfrió y se acidificó con HCl concentrado. El sólido obtenido se purificó por cristalización en etanol.

50

Se obtuvieron 5,2 g de N-{2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoil}-glicina.

p. f. = 157°-158°C

55

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,55 (s, 6 H), 3,95 (d, J = 5,74 Hz, 2 H), 4,89 (s, 2 H), 5,52 (s, 2 H), 7,0-7,4 (m, 8 H), 7,6 (bt, 1 H), 7,77 (d, J = 7,82 Hz, 1 H), 10,38 (bs, 1 H).

Preparación del compuesto 27 (compuesto de referencia)

2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metil-N'-fenilpropanohidrazida

5 Se trataron 24 g de ácido 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico (0,074 mol) a temperatura ambiente con una solución de metóxido de sodio en metanol al 30% (13 ml, 0,074 mol) durante 10 minutos, el disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se suspendió en tolueno (240 ml) y se le añadió fenilhidrazina (29,1 ml, 0,296 mol). A la mezcla, mantenida en agitación a esta misma temperatura, se añadió lentamente una solución de cloruro de tionilo (6,3 ml, 0,088 mol) en tolueno (50 ml). Una vez completada la adición, la mezcla se agitó durante 24 horas.

10 A continuación, el sólido formado se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo crudo se lavó con hexano (3 x 100 ml) y con una mezcla de hexano/acetato de etilo 10/1 (30 ml).

15 El residuo crudo obtenido se purificó mediante cristalizaciones sucesivas en isopropanol.

Se obtuvieron 11 g de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metil-N'-fenilpropanohidrazida.

20 p. f. = 124°-125°C

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,61 (s, 2 H), 4,94 (s, 2 H), 5,53 (s, 2 H), 6,10 (bd, J = 4,70 Hz, 1 H), 6,7-7,0 (m, 3 H), 7,1-7,4 (m, 13 H), 7,78 (dt, J₁, J₂ = 7,78; 1,19 Hz, 1 H), 8,99 (bd, J = 4,70 Hz, 1 H).

25 Preparación del compuesto 28

1-bencil-3-[(1,1-dimetil-2-morfolin-4-il-2-oxoetoxi)metil]-1H-indazol

30 Se trataron 72 g (0,222 mol) de ácido 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico a temperatura ambiente con una solución metanólica de metóxido de sodio al 30% (39 ml; 0,222 mol) durante 10 minutos, el disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo obtenido se suspendió en tolueno anhidro (750 ml). A la suspensión, agitada a temperatura ambiente, se añadió morfolina (77,6 ml; 0,888 mol), seguida de la adición lenta de una solución de cloruro de tionilo (19,3 ml; 0,266 mol) en tolueno (150 ml). La mezcla se agitó durante 24 horas y a continuación se detuvo la reacción filtrando el sólido obtenido. La solución se concentró a presión reducida y el residuo crudo

35 obtenido se purificó por cristalización en isopropanol.

Se obtuvieron 14 g de 1-bencil-3-[(1,1-dimetil-2-morfolin-4-il-2-oxoetoxi)metil]-1H-indazol.

p. f. = 135°-137°C

40 ¹H-RMN (DMSO-d₆, δ ppm): 1,47 (s, 6 H), 3,1-4,0 (2bs, 8 H), 4,73 (s, 2 H), 5,83 (s, 2 H), 7,0-7,9 (m, 9 H).

Preparación del compuesto 29

45 2-[(1-bencil-5-metoxi-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanamida

29a) 1-bencil-5-metoxi-1H-indazol-3-carboxilato de bencilo

50 Una suspensión de ácido 5-metoxi-1H-indazol-3-carboxílico (21,5 g; 0,11 mol) y NaH al 60% (10,5 g; 0,44 mol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (200 ml) se agitó a 70°C durante 1 hora. A continuación, a la suspensión se le añadió lentamente cloruro de bencilo (32,9 g; 0,26 mol) y la mezcla se agitó a 70°C durante 4 horas. La reacción se detuvo enfriando la mezcla a temperatura ambiente y vertiendo la mezcla en agua y hielo. El producto se extrajo con acetato de etilo (3 x 250 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. El residuo crudo obtenido se purificó mediante cristalizaciones sucesivas en etanol de 95°, obteniéndose 18 g de 1-bencil-5-metoxi-1H-indazol-3-carboxilato de bencilo con un punto de fusión de 107-109°C.

55 ¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 3,78 (s, 3 H), 5,51 (s, 2 H), 6,9-7,6 (m, 13 H).

29b) (1-bencil-5-metoxi-1H-indazol-3-il)metanol

A una solución de 1-bencil-5-metoxi-1H-indazol-3-carboxilato de bencilo (17,7 g; 0,05 mol), éter dietílico (100 ml) y tetrahidrofurano (THF) (170 ml), agitada a temperatura ambiente, se le añadió lentamente LiAlH_4 (3,8 g; 0,1 mol). Una vez completada la adición, la suspensión se agitó a reflujo durante 24 horas. La reacción se detuvo destruyendo el exceso de LiAlH_4 mediante la adición de agua (40 ml) y NaOH 5 N (10 ml). La fase orgánica se separó y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo crudo obtenido se purificó por cristalización en etanol de 95°, obteniéndose 14 g de (1-bencil-5-metoxi-1H-indazol-3-il)metanol con un punto de fusión de 97-98°C.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ ppm): 3,3 (bs, 1 H), 3,80 (s, 3 H), 4,92 (s, 2 H), 5,47 (s, 2 H), 6,9-7,5 (m, 8 H).

29c) 1-bencil-3-(clorometil)-5-metoxi-1H-indazol

A una solución de (1-bencil-5-metoxi-1H-indazol-3-il)metanol (18 g; 0,07 mol) en cloroformo (200 ml) agitada a temperatura ambiente se le añadió lentamente cloruro de tionilo (15,8 g; 0,13 mol). Una vez completada la adición, la solución se sometió a reflujo durante 24 horas. A continuación, la reacción se detuvo enfriando la mezcla a temperatura ambiente y evaporando el disolvente a presión reducida. A continuación, el residuo se recogió varias veces en tolueno y se concentró a presión reducida. El residuo crudo obtenido se purificó por cristalización en hexano, obteniéndose 9,5 g de 1-bencil-3-(clorometil)-5-metoxi-1H-indazol con un punto de fusión de 78-80°C.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ ppm): 3,85 (s, 3 H), 4,97 (s, 2 H), 5,51 (s, 2 H), 6,9-7,4 (m, 8 H).

29d) Ácido 2-[(1-bencil-5-metoxi-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico

A una solución que contenía 1-bencil-3-(clorometil)-5-metoxi-1H-indazol (2,95 g; 0,01 mol) y 3-hidroxi-3-metilbutanoato de etilo (1,98 g; 0,015 mol) en DMF (30 ml) agitada a temperatura ambiente se le añadió lentamente NaH al 60% (0,36 g; 0,015 mol). La mezcla se calentó a 40°C durante 24 horas. La reacción se detuvo enfriando la suspensión a temperatura ambiente y añadiendo agua (200 ml). El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se trató a reflujo con NaOH (0,84 g; 0,021 mol) en agua (6 ml) y etanol de 95° (6 ml) durante 6 horas. A continuación, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con agua (50 ml). La fase alcalina se lavó con éter dietílico (2 x 20 ml), y a continuación se acidificó con HCl concentrado y se extrajo con éter dietílico (3 x 30 ml).

Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo crudo obtenido se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 10/1, obteniéndose 0,8 g de ácido 2-[(1-bencil-5-metoxi-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico con un punto de fusión de 128-130°C.

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6 , δ ppm): 1,44 (s, 6 H), 3,77 (s, 3 H), 4,69 (s, 2 H), 5,55 (s, 2 H), 7,02 (dd, $J = 9,15; 2,38$ Hz, 1 H), 7,17-7,33 (m, 5 H), 7,41 (d, $J = 2,38$ Hz, 1 H), 7,55 (d, $J = 9,15$ Hz, 1 H), 12,79 (s, 1 H).

29e) 2-[(1-bencil-5-metoxi-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanamida

El producto se preparó mediante los procedimientos descritos en la preparación del compuesto 9, utilizando ácido 2-[(1-bencil-5-metoxi-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico como reactivo de partida.

Preparación del compuesto 30

2-[[1-(4-clorobencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanamida

30a) [1-(4-clorobencil)-1H-indazol-3-il]metanol

A una suspensión de NaH al 60% (2,7 g; 0,07 mol) en tolueno (200 ml) se le añadió 1-bencil-3-hidroximetilindazol (10 g; 0,07 mol). La mezcla se llevó al punto de ebullición y se mantuvo agitada a reflujo durante 1 hora. A continuación se añadió cloruro de 4-clorobencilo (14,4 g; 0,09 mol). A continuación, la mezcla se agitó a reflujo durante 4 horas. La reacción se detuvo enfriando la mezcla a temperatura ambiente y añadiendo agua (50 ml). La fase orgánica se separó y se lavó, respectivamente, con HCl 2 N (50 ml) y agua (5 x 50 ml). El disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice,

utilizando una mezcla de hexano/acetato de etilo 3/1 como eluyente. El producto obtenido se cristalizó en una mezcla de hexano/acetato de etilo 5/1, obteniéndose 4,4 g de [1-(4-clorobencil)-1H-indazol-3-il]metanol.

p. f. = 102°-104°C

5

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 3,5 (bs, 1 H), 5,01 (s, 2 H), 5,37 (s, 2 H), 6,8-7,5 (m, 7 H), 7,81 (d, J = 7,82 Hz, 1 H).

30b) Ácido 2-[[1-(4-clorobencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanoico

10 A una suspensión de NaOH (15,6 g; 0,39 mol) en acetona (50 ml) se le añadió [1-(4-clorobencil)-1H-indazol-3-il]metanol (9,1 g; 0,03 mol). A la mezcla se añadió lentamente una solución de cloroformo (7,2 ml; 0,09 mol) y acetona (7,2 ml; 0,1 mol). La adición provocó el reflujo de la mezcla de disolventes. Una vez completada la adición, la mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora. La reacción se detuvo enfriando la mezcla a temperatura ambiente y evaporando el disolvente a presión reducida. El residuo crudo resultante se recogió en tolueno (100 ml) y agua (50

15 ml). Luego, la fase orgánica se separó de la fase acuosa y se lavó con tolueno (2 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se extrajeron con agua (3 x 50 ml). Las fases acuosas combinadas se lavaron con hexano (2 x 30 ml), y a continuación se acidificaron con HCl 2 N y se agitaron a temperatura ambiente. El sólido obtenido se filtró y se cristalizó primero en una mezcla de agua/ácido acético 5/1, y luego en tolueno, obteniéndose 4,0 g de ácido 2-[[1-(4-clorobencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanoico.

20

p. f. = 186°-188°C.

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,61 (s, 6 H), 4,91 (s, 2 H), 5,54 (s, 2 H), 7,0-7,5 (m, 7 H), 8,07 (s, 1 H), 10,3 (bs, 1 H).

25 30c) 2-[[1-(4-clorobencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanamida

El producto se preparó mediante los procedimientos descritos en la preparación del compuesto 9, utilizando ácido 2-[[1-(4-clorobencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanoico como reactivo de partida.

30 Preparación del compuesto 31

2-[[1-(3,4-diclorobencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanamida

31a) [1-(3,4-diclorobencil)-1H-indazol-3-il]metanol

35

El producto se obtuvo mediante el procedimiento descrito en el ejemplo 30a), utilizando cloruro de 3,4-clorobencilo como reactivo. El producto obtenido se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/1.

p. f. = 118°-120°C

40

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 3,1-3,3 (m, 1 H), 4,9-5,2 (m, 2 H), 5,38 (s, 2 H), 6,89 (dd, J₁, J₂ = 8,27; 2,05 Hz, 1 H), 7,1-7,5 (m, 5 H), 7,82 (dt, J₁, J₂ = 8,01; 0,93, 1 H).

31b) Ácido 2-[[1-(3,4-diclorobencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanoico

45

El producto se obtuvo mediante el procedimiento descrito en el ejemplo 30b), utilizando [1-(3,4-diclorobencil)-1H-indazol-3-il]metanol como reactivo de partida. El producto obtenido se purificó por cristalización en tolueno.

p. f. = 174°-176°C

50

¹H-RMN (DMSO-d₆, δ ppm): 1,44 (s, 6 H), 4,76 (s, 2 H), 5,64 (s, 2 H), 7,12-7,22 (m, 2 H), 7,41 (t, J = 7,68 Hz, 1 H), 7,54 (d, J = 2,01 Hz, 1 H), 7,58 (d, J = 8,42 Hz, 1 H), 7,72 (d, J = 8,42 Hz, 1 H), 7,95 (d, J = 8,05 Hz, 1 H), 12,81 (bs, 1 H).

55 31c) 2-[[1-(3,4-diclorobencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanamida

El producto se preparó mediante los procedimientos descritos en la preparación del compuesto 9, utilizando ácido

2-[[1-(3,4-diclorobencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanoico como reactivo de partida.

Preparación del compuesto 34

5 2-[[1-(1-benzoil-1H-indazol-3-il)metoxi]-N-hidroxi-2-metilpropanamida

34a) (1-tritilindazol-3-il)metanol

10 A una solución que contenía 1H-indazol-3-carboxilato de isobutilo (280 g; 1,28 mol) en cloroformo (2 l), agitada a temperatura ambiente, se le añadieron trietilamina (300 ml; 2,16 mol) y trifenilclorometano (400 g; 1,4 mol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 4 días, y a continuación se añadió agua (500 ml). La fase orgánica se separó y se concentró a presión reducida. El residuo crudo obtenido se utilizó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

15 A una solución del 1-tritilindazol-3-carboxilato de isobutilo crudo (180 g; 0,39 mol) en THF (1 l), agitada a temperatura ambiente, se le añadió lentamente una suspensión de LiAlH_4 (18 g; 0,48 mol) en THF (100 ml). Una vez completada la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos, y a continuación se detuvo la reacción enfriando la mezcla a 0°C y añadiendo sucesivamente agua (40 ml), NaOH 2 N (40 ml) y agua (60 ml). El sólido formado se separó por filtración y la solución se concentró a presión reducida. El residuo crudo obtenido se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/1. Se obtuvieron 120 g de (1-tritilindazol-3-il)metanol.

p. f. = $192^\circ\text{-}193^\circ\text{C}$

25 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 ; δ ppm): 2,51 (t, $J = 6,98$ Hz, 1 H), 4,90 (d, $J = 6,98$ Hz, 2 H), 6,2-6,5 (m, 1 H), 6,9-7,4 (m, 17 H), 7,6-7,8 (m, 1 H).

34b) Ácido 2-(1-tritilindazol-3-il-metoxi)-2-metilpropanoico

30 A una suspensión de (1-tritilindazol-3-il)metanol (78 g; 0,20 mol), acetona (260 ml) y agua (0,5 ml), agitada a temperatura ambiente, se le añadió NaOH (76 g; 1,9 mol) y, lentamente, una mezcla de cloroformo/acetona 1/1 (100 ml). La reacción es exotérmica y la velocidad de adición se ajustó de modo que la temperatura de reacción se mantuviera cercana al punto de ebullición. 30 minutos después de la compleción de la adición, la reacción se detuvo enfriando la mezcla a temperatura ambiente y evaporando el disolvente a presión reducida. El residuo se recogió en agua (500 ml) y se lavó con éter dietílico (3 x 100 ml). A continuación, la fase acuosa se acidificó con HCl concentrado y el producto se extrajo con tolueno (3 x 250 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo crudo obtenido se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 3/7, obteniéndose 22 g de ácido 2-(1-tritilindazol-3-il-metoxi)-2-metilpropanoico.

40 p. f. = $179^\circ\text{-}180^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ ppm): 1,53 (s, 6 H), 4,88 (s, 2 H), 6,3-6,5 (m, 1 H), 6,9-7,5 (m, 17 H), 7,8-8,0 (m, 1 H), 9,3 (bs, 1 H).

45 34c) Ácido 2-(1H-indazol-3-il-metoxi)-2-metilpropanoico

50 A una solución de ácido 2-(1-tritilindazol-3-il-metoxi)-2-metilpropanoico (83 g; 0,174 mol) en diclorometano (DCM) (900 ml), agitada a temperatura ambiente, se le añadió ácido para-toluenosulfónico (PTSA) (50 g; 0,29 mol). La mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente y, a continuación, se vertió sobre NaOH 5 N (400 ml). La fase orgánica se separó y se lavó con agua (300 ml). Las fases acuosas combinadas se acidificaron con HCl concentrado y, a continuación, se extrajeron con acetato de etilo (5 x 300 ml). Las fases orgánicas combinadas se evaporaron a presión reducida y el residuo crudo resultante se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/1.

55 Se obtuvieron 42 g de ácido 2-(1H-indazol-3-il-metoxi)-2-metilpropanoico.

p. f. = $135^\circ\text{-}137^\circ\text{C}$.

¹H-RMN (DMSO-d₆, δ ppm): 1,46 (s, 6 H), 4,77 (s, 2 H), 7,0-7,6 (m, 3 H), 7,94 (d, J = 7,88 Hz, 1 H).

34d) Ácido 2-[(1-benzoil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico

5 A una solución de ácido 2-(1H-indazol-3-il-metoxi)-2-metilpropanoico (6 g; 0,026 mol) en acetona (50 ml), agitada a temperatura ambiente, se le añadió K₂CO₃ (6,8 g; 0,049 mol) y, a continuación, lentamente, una solución de cloruro de benzoílo (5 ml; 0,043 mol) en acetona (30 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas y, a continuación, se vertió sobre agua (1 l). A continuación, la solución se llevó a un pH básico con NaOH 5 N y se lavó con éter dietílico (3 x 150 ml). A continuación, la fase alcalina se acidificó con HCl concentrado y se extrajo con éter dietílico (3 x 300 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo crudo obtenido se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/1. Se obtuvieron 2 g de ácido 2-[(1-benzoil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico.

15 p. f. = 132°-135°C.

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,61 (s, 6 H), 4,93 (s, 2 H), 7,41 (t, J = 7,60 Hz, 1 H), 7,46-7,66 (m, 4 H), 8,02-8,09 (m, 3 H), 8,68 (bs, 1 H), 8,53 (d, J = 8,42 Hz, 1 H).

20 34e) 2-[(1-benzoil-1H-indazol-3-il)metoxi]-N-hidroxi-2-metilpropanamida

El producto se preparó mediante los procedimientos descritos en la preparación del compuesto 10, utilizando ácido 2-[(1-benzoil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoico como reactivo de partida.

25 Se obtuvieron 0,34 g de 2-[(1-benzoil-1H-indazol-3-il)metoxi]-N-hidroxi-2-metilpropanamida.

Preparación del compuesto 35

2-[[1-(1,2,3,4-tetrahidronaft-1-il)-1H-indazol-3-il]metoxi]-N-hidroxi-2-metilpropanamida

30 35a) Ácido 2-metil-2-[[1-(1,2,3,4-tetrahidronaft-1-il)-1H-indazol-3-il]metoxi]-propanoico

A una solución de ácido 2-metil-2-[(1H-indazol-3-il)metoxi]propanoico (26 g; 0,093 mol) en DMF (200 ml) se le añadió NaH al 60% (10 g; 0,25 mol) y la mezcla se agitó durante 10 minutos a 60°C. A continuación, se añadió 1-cloro-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno (0,217 mol) a la mezcla y el conjunto se agitó a 60°C durante 18 horas. La reacción se detuvo vertiendo la mezcla en agua (1 l), seguido de acidificación con HCl 5 N y extracción del producto con éter dietílico (3 x 250 ml). El residuo obtenido se disolvió en etanol de 95° (100 ml) y se sometió a reflujo con NaOH 1 N (200 ml) durante 2 horas. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se lavó con éter dietílico (3 x 200 ml). A continuación, la fase alcalina se acidificó con HCl concentrado y se extrajo con acetato de etilo (3 x 300 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo crudo obtenido se purificó por cristalización en acetato de etilo. Se obtuvieron 31 g de ácido 2-metil-2-[[1-(1,2,3,4-tetrahidronaft-1-il)-1H-indazol-3-il]metoxi]-propanoico.

p. f. = 132°-134°C

45 ¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,60 (d, J = 2,15 Hz, 6 H), 1,84-2,02 (m, 1H), 2,03-2,18 (m, 1 H), 2,23-2,46 (m, 2 H), 2,90 (dt, J = 16,50; 4,85 Hz, 1 H), 2,98-3,12 (m, 1 H), 4,95 (s, 2 H), 5,92 (dd, J = 8,83; 6,52 Hz, 1 H), 6,71 (d, J = 7,76 Hz, 1 H), 6,93-7,05 (m, 2 H), 7,08-7,32 (m, 4 H), 7,85 (d, J = 8,09 Hz, 1 H).

50 35b) 2-[[1-(1,2,3,4-tetrahidronaft-1-il)-1H-indazol-3-il]metoxi]-N-hidroxi-2-metilpropanamida.

El producto se obtuvo utilizando el mismo procedimiento descrito en la preparación del compuesto 10, utilizando ácido 2-metil-2-[[1-(1,2,3,4-tetrahidronaft-1-il)-1H-indazol-3-il]metoxi]-propanoico como material de partida.

55 Preparación del compuesto 36

{[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi}-N-hidroxiacetamida

36a) [1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metanol

5 A una suspensión de NaH al 60% (2,7 g; 0,07 mol) en tolueno (200 ml) se le añadió 1-bencil-3-hidroximetilindazol (10 g; 0,07 mol). La mezcla se llevó al punto de ebullición y se mantuvo agitada a reflujo durante 1 hora. A continuación se añadió cloruro de 4-metoxibencilo (14 g; 0,09 mol). A continuación, la mezcla se agitó a reflujo durante 4 horas. La reacción se detuvo enfriando la mezcla a temperatura ambiente y añadiendo agua (50 ml). La fase orgánica se separó y se lavó, respectivamente, con HCl 2 N (50 ml) y agua (5 x 50 ml). El disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice, utilizando una mezcla de hexano/acetato de etilo 3/2 como eluyente. El producto obtenido se cristalizó en una mezcla de hexano/acetato de etilo 5/1, obteniéndose 5,1 g de [1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metanol con un punto de fusión de 95-97°C.

15 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ ppm): 3,43 (t, J = 6,9 Hz, 1 H), 3,67 (s, 3 H), 4,98 (d, J = 6,9 Hz, 2 H), 5,36 (s, 2 H), 6,5-6,8 (m, 2 H), 6,9-7,4 (m, 7 H), 7,80 (d, J = 7,86 Hz, 1 H).

36b) Ácido {[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi}acético

20 Una suspensión que contenía [1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metanol (6 g; 0,022 mol), ácido bromoacético (4 g; 0,03 mol) y NaH al 50% (3 g; 0,066 mol) en THF (170 ml) se agitó a reflujo durante 72 horas. A continuación, la reacción se detuvo diluyendo con una suspensión con agua y hielo (300 ml) y lavando la fase acuosa con éter dietílico (3 x 150 ml). La fase acuosa se acidificó con HCl concentrado. El sólido formado se filtró y se purificó por cristalización en isopropanol. Se obtuvieron 4,5 g de ácido {[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi}acético.

25 36c) {[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi}-N-hidroxiacetamida

El producto se obtuvo por el método descrito para la preparación del compuesto 10, utilizando ácido {[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi}acético como material de partida.

30 Preparación del compuesto 39

[2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropoxi]acetamida

35 39a) 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropan-1-ol

A una suspensión de LiAlH_4 (4,48 g; 0,118 mol) en éter dietílico (100 ml), agitada a temperatura ambiente, se le añadió lentamente una solución de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropanoato de metilo, preparada según el método descrito en el documento EP 0 382 276 (20 g; 0,06 mol) en éter dietílico (200 ml) y THF (50 ml). Una vez completada la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y a continuación se completó la reacción añadiendo NaOH 10 N (20 ml) y agua (40 ml). El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo oleoso se purificó por destilación a 0,01 mmHg y a 190°C. El producto sólido obtenido se cristalizó en isopropanol.

45 Se obtuvieron 11 g de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropan-1-ol.

p. f. = 52°-53°C

50 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ ppm): 1,34 (s, 6 H), 2,50 (bs, 1 H), 3,51 (s, 2 H), 4,87 (s, 2 H), 5,55 (s, 2 H), 7,14 (ddd, J = 8,04; 6,21; 1,68 Hz, 1 H), 7,17-7,38 (m, 7 H), 7,78 (dt, J = 8,08; 1,00 Hz, 1H).

39b) Ácido {2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropoxi}acético

55 A una solución de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropan-1-ol (11,0 g, 0,04 mol) en tetrahidrofurano seco (THF) (100 ml), agitada a temperatura ambiente, se le añadió hidruro de sodio al 60% (1,6 g, 0,04 mol). La mezcla se calentó a la temperatura de ebullición durante 2 horas y a continuación se enfrió a temperatura ambiente y se añadió lentamente una solución de bromoacetato de etilo (7,4 g, 0,044 mol) en THF (7 ml). Una vez completada la adición, la mezcla se sometió a reflujo durante 2 horas más. La reacción se detuvo enfriando a temperatura

ambiente y evaporando el disolvente a presión reducida. El residuo se recogió en NaOH 2 N (100 ml) y el producto se extrajo con éter dietílico (3 x 150 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida.

5 El residuo crudo se recogió en una solución de NaOH (1,9 g, 0,045 mol) en una mezcla de agua/etanol 1/1 (160 ml). A continuación, la mezcla se agitó a reflujo durante 2 horas. La reacción se detuvo mediante la concentración del disolvente a presión reducida, y el residuo se recogió en agua (100 ml) y se lavó con éter dietílico (3 x 50 ml). A continuación, la fase alcalina se acidificó con HCl concentrado y el sólido formado se filtró. El producto se purificó por doble cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/2. Se obtuvieron 4,6 g de ácido {2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropoxi}acético.

10 39c) {2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropoxi}acetamida

El producto se preparó mediante los procedimientos descritos en la preparación del compuesto 9, utilizando ácido {2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropoxi}acético como reactivo de partida.

15 Preparación del compuesto 40

{2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropoxi}-N-hidroxiacetamida

20 El producto se preparó mediante los procedimientos descritos en la preparación del compuesto 10, utilizando ácido {2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-2-metilpropoxi}acético como reactivo de partida.

Preparación del compuesto 41

25 (2-[[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropoxi)-N-hidroxi-acetamida

41a) [1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metanol

30 A una suspensión de NaH al 60% (2,7 g; 0,07 mol) en tolueno (200 ml) se le añadió 1-bencil-3-hidroximetilindazol (10 g; 0,07 mol). La mezcla se llevó al punto de ebullición y se mantuvo agitada a reflujo durante 1 hora. A continuación, se añadió cloruro de 4-metoxibencilo (14 g; 0,09 mol). A continuación, la mezcla se agitó a reflujo durante 4 horas. La reacción se detuvo enfriando la mezcla a temperatura ambiente y añadiendo agua (50 ml). La fase orgánica se separó y se lavó, respectivamente, con HCl 2 N (50 ml) y agua (5 x 50 ml). El disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice, utilizando una mezcla de hexano/acetato de etilo 3/2 como eluyente. El producto obtenido se cristalizó en una mezcla de hexano/acetato de etilo 5/1, obteniéndose 5,1 g de [1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metanol con un punto de fusión de 95-97°C.

35 ¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 3,43 (t, J = 6,9 Hz, 1 H), 3,67 (s, 3 H), 4,98 (d, J = 6,9 Hz, 2 H), 5,36 (s, 2 H), 6,5-6,8 (m, 2 H), 6,9-7,4 (m, 7 H), 7,80 (d, J = 7,86 Hz, 1 H).

41b) Ácido 2-[[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanoico

45 A una suspensión de NaOH (15,6 g; 0,39 mol) en acetona (50 ml) se le añadió [1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metanol (8,7 g; 0,03 mol). A la mezcla se añadió lentamente una solución de cloroformo (7,2 ml; 0,09 mol) y acetona (7,2 ml; 0,1 mol). La adición provocó el reflujo de la mezcla de disolventes. Una vez completada la adición, la mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora. La reacción se detuvo enfriando la mezcla a temperatura ambiente y evaporando el disolvente a presión reducida. El residuo crudo resultante se recogió en tolueno (100 ml) y agua (50 ml). Luego, la fase orgánica se separó de la fase acuosa y se lavó con tolueno (2 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se extrajeron con agua (3 x 50 ml). Las fases acuosas combinadas se lavaron con hexano (2 x 30 ml), y a continuación se acidificaron con HCl 2 N y se agitaron a temperatura ambiente. El sólido obtenido se filtró y se cristalizó primero en una mezcla de agua/ácido acético 5/1, y luego en tolueno, obteniéndose 4,8 g de ácido 2-[[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanoico con un punto de fusión de 169-171°C.

55 ¹H-RMN (DMSO-d₆, δ ppm): 1,44 (s, 6 H), 3,69 (s, 3 H), 4,74 (s, 2 H), 5,52 (s, 2 H), 6,82-6,90 (m, 2 H), 7,13 (t, J = 7,50 Hz, 1 H), 7,18-7,26 (m, 2 H), 7,36 (t, J = 7,23 Hz, 1 H), 7,66 (d, J = 8,42 Hz, 1 H), 7,92 (dd, J = 8,14; 1,01 Hz, 1 H), 12,76 (s, 1 H).

41c) 2-[[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropan-1-ol

5 El producto se obtuvo por el método descrito para la preparación del compuesto 39a, utilizando ácido 2-[[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropanoico como material de partida.

41 d) Ácido (2-[[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropoxi)acético

10 El producto se obtuvo por el método descrito para la preparación del compuesto 39b, utilizando ácido 2-[[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropan-1-ol como material de partida.

41e) (2-[[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropoxi)-N-hidroxi-acetamida

15 El producto se obtuvo por el método descrito para la preparación del compuesto 10, utilizando ácido (2-[[1-(4-metoxibencil)-1H-indazol-3-il]metoxi]-2-metilpropoxi)acético como material de partida.

Preparación del compuesto 42

2-[[2-[[1-bencil-1H-indazol-3-il]metoxi]etoxi]-N-hidroxi-2-metilpropanamida

20

42a) 2-[[1-bencil-1H-indazol-3-il]metoxi]etanol

25 A una solución de NaOH (2,8 g; 0,07 mol) en etilenglicol (150 ml), agitada a temperatura ambiente, se le añadió 1-bencil-3-clorometilindazol, preparado tal como se describe en el documento EP 0 382 276 (17,6 g; 0,07 mol). La solución se calentó a 130°C durante 4 horas, y a continuación se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se recogió en agua (100 ml) y el producto se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo crudo obtenido se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo aproximadamente 1/1.

30 Se obtuvieron 13,8 g de 2-[[1-bencil-1H-indazol-3-il]metoxi]etanol.

p. f. = 67°-69°C

35 ¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 2,15 (bs, 1 H), 3,61-3,82 (m, 4 H), 4,97 (s, 2 H), 5,57 (s, 2 H), 7,11-7,38 (m, 8 H), 7,81 (dt, J = 8,15; 0,97 Hz, 1 H).

42b) Ácido 2-[[2-[[1-bencil-1H-indazol-3-il]metoxi]etoxi]-2-metilpropanoico

40 A una mezcla de 2-[[1-bencil-1H-indazol-3-il]metoxi]etanol (35 g, 0,124 mol) y NaOH (63 g, 1,57 mol) en acetona (180 ml) y agua (1 ml), agitada a temperatura ambiente, se le añadió lentamente una mezcla de cloroformo/acetona 1/1 (80 ml). Durante la adición, la temperatura se elevó al punto de reflujo. Una vez completada la adición, el disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo se recogió en agua (100 ml) y se lavó con éter dietílico (3 x 50 ml). La fase acuosa se acidificó con ácido acético glacial y, a continuación, se extrajo con éter dietílico (3 x 150 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. El residuo crudo obtenido se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/1.

45 Se obtuvieron 12,4 g de ácido 2-[[2-[[1-bencil-1H-indazol-3-il]metoxi]etoxi]-2-metilpropanoico.

p. f. = 94°-95°C

50

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1.43 (s, 6 H), 3.56-3.63 (m, 2 H), 3.65-3.71 (m, 2 H), 5.03 (s, 2 H), 5.58 (s, 2 H), 7.13-7.39 (m, 8 H), 7.83 (dt, J = 8.05; 0.82 Hz, 1 H), 9.60 (bs, 1 H).

42c) 2-[[2-[[1-bencil-1H-indazol-3-il]metoxi]etoxi]-N-hidroxi-2-metilpropanamida

55

El producto se obtuvo por el método descrito para la preparación del compuesto 34e), utilizando ácido 2-[[2-[[1-bencil-1H-indazol-3-il]metoxi]etoxi]-2-metilpropanoico como material de partida.

Preparación del compuesto 43

2-{3-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]propoxi}-N-hidroxi-2-metilpropanamida

5

43a) 3-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]propan-1-ol

A una solución de NaOH (2,8 g; 0,07 mol) en 1,3-propanodiol (150 ml), agitada a temperatura ambiente, se le añadió 1-bencil-3-clorometilindazol, preparado tal como se describe en el documento EP 0 382 276 (17,6 g; 0,07 mol). La solución se calentó a 130°C durante 4 horas, y a continuación se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se recogió en agua (100 ml) y el producto se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice, utilizando una mezcla de hexano/acetato de etilo aproximadamente 1/1 como eluyente.

15

Se obtuvieron 10,5 g de 3-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]propan-1-ol.

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 1,85 (q, J = 5,83 Hz, 2 H), 2,75 (bs, 1 H), 3,71 (t, J = 7,74 Hz, 4 H), 4,91 (s, 2 H), 5,55 (s, 2 H), 7,0-7,4 (m, 8 H), 7,80 (d, J = 7,77 Hz, 1H).

20

43b) Ácido 2-{3-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]propoxi}-2-metil-propanoico

El producto se obtuvo mediante el método descrito en el ejemplo 42b), utilizando 3-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]propan-1-ol como material de partida. El producto se purificó por doble cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 7/3.

25

p. f. = 57°-59°C

¹H-RMN (DMSO-d₆, δ ppm): 1,25 (s, 6 H), 1,72 (quint., J = 6,40 Hz, 2 H), 3,37 (t, J = 6,40 Hz, 2 H), 3,53 (t, J = 6,40 Hz, 2 H), 4,77 (s, 2 H), 5,62 (s, 2 H), 7,14 (ddd, J = 8,00; 7,00; 0,73 Hz, 1 H), 7,19-7,33 (m, 5 H), 7,38 (ddd, J = 8,37; 7,00; 0,91 Hz, 1 H), 7,66 (d, J = 8,42 Hz, 1 H), 7,79 (dt, J = 8,05; 0,91 Hz, 1 H), 12,46 (s, 1 H).

30

43c) 2-{3-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]propoxi}-N-hidroxi-2-metilpropanamida

El producto se obtuvo por el método descrito para la preparación del compuesto 10, utilizando ácido 2-{3-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]propoxi}-2-metilpropanoico como material de partida.

35

Preparación del compuesto 46

{2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etoxi}acetamida

40

46a) 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etanol

A una solución de NaOH (2,8 g; 0,07 mol) en etilenglicol (150 ml), agitada a temperatura ambiente, se le añadió 1-bencil-3-clorometilindazol, preparado tal como se describe en el documento EP 0 382 276 (17,6 g; 0,07 mol). La solución se calentó a 130°C durante 4 horas, y a continuación se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se recogió en agua (100 ml) y el producto se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo crudo obtenido se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo aproximadamente 1/1.

50

Se obtuvieron 13,8 g de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etanol.

p. f. = 67°-69°C

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 2,15 (bs, 1 H), 3,61-3,82 (m, 4 H), 4,97 (s, 2 H), 5,57 (s, 2 H), 7,11-7,38 (m, 8 H), 7,81 (dt, J = 8,15; 0,97 Hz, 1 H).

55

46b) Ácido {2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etoxi}acético

A una solución de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etanol (11,28 g, 0,04 mol) en tetrahidrofurano seco (THF) (100 ml), agitada a temperatura ambiente, se le añadió hidruro de sodio al 60% (1,6 g, 0,04 mol). La mezcla se calentó a la temperatura de ebullición durante 2 horas y a continuación se enfrió a temperatura ambiente y se añadió lentamente una solución de bromoacetato de etilo (7,4 g, 0,044 mol) en THF (7 ml). Una vez completada la adición, la mezcla se sometió a reflujo durante 2 horas más. La reacción se detuvo enfriando a temperatura ambiente y evaporando el disolvente a presión reducida. El residuo se recogió en NaOH 2 N (100 ml) y el producto se extrajo con éter dietílico (3 x 150 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida.

El residuo crudo se recogió en una solución de NaOH (1,9 g, 0,045 mol) en una mezcla de agua/etanol 1/1 (160 ml). A continuación, la mezcla se agitó a reflujo durante 2 horas. La reacción se detuvo mediante la concentración del disolvente a presión reducida, y el residuo se recogió en agua (100 ml) y se lavó con éter dietílico (3 x 50 ml). A continuación, la fase alcalina se acidificó con HCl concentrado y el sólido formado se filtró. El producto se purificó por doble cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/3.

Se obtuvieron 5,8 g de ácido {2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etoxi}acético.

p. f. = 101°-103°C

¹H-RMN (CDCl₃, δ ppm): 3,66-3,79 (m, 4H), 4,13 (s, 2 H), 5,01 (s, 2 H), 5,58 (s, 2 H), 7,66 (bs, 1 H), 7,14-7,40 (m, 8 H), 7,84 (dt, J = 8,11; 0,99 Hz, 1 H).

46c) {2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etoxi}acetamida

El producto se obtuvo por el método descrito para la preparación del compuesto 9, utilizando ácido {2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etoxi}acético como material de partida.

Preparación del compuesto 47

{2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etoxi}-N-hidroxi-acetamida

El producto se obtuvo por el método descrito para la preparación del compuesto 10, utilizando ácido {2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etoxi}acético como material de partida.

Preparación del compuesto 48

{2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etoxi}-acetohidrazida

Una suspensión de ácido 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]etoxi}acético (19 g; 0,06 mol) en metanol (300 ml) se trató a 0°C con HCl gaseoso durante 4 horas. A continuación, la mezcla se vertió sobre agua (500 ml) y el producto se extrajo con éter dietílico (3 x 250 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución de bicarbonato de sodio al 5% (2 x 100 ml) seguido de agua (50 ml). El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo crudo se purificó por cristalización en hexano. Se obtuvieron 16 g de 2-[(1-benzoil-1H-indazol-3-il)metoxi]-acetato de metilo.

A una solución de hidrato de hidrazina 1 M (100 ml, 0,100 mol), agitada a 80°C, se le añadió en porciones 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-acetato de metilo (19 g, 0,06 mol). Una vez completada la adición, la mezcla se agitó durante 30 minutos a la misma temperatura y, a continuación, se calentó a 120°C durante 2 horas. La reacción se detuvo diluyendo la mezcla con agua (600 ml) y extrayendo el producto con éter dietílico (4 x 200 ml). A continuación, las fases orgánicas combinadas se extrajeron con HCl 2 N (4 x 200 ml). A continuación, la fase ácida se llevó a un pH básico con NaOH 10 N y se extrajo de nuevo con éter dietílico (4 x 200 ml). Las fases orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y el residuo crudo resultante se purificó por cristalización en una mezcla de hexano/acetato de etilo 1/1.

Se obtuvieron 15 g de 2-[(1-bencil-1H-indazol-3-il)metoxi]-acetohidrazida.

Ejemplo 1

Análisis de la expresión génica de MCP-1 en una línea de monocitos humanos

5

Se evaluó la capacidad de los compuestos para inhibir la expresión de MCP-1 por parte de células MonoMac-6 estimuladas con lipopolisacáridos (LPS). Las células se colocaron en placas de 96 pocillos a una concentración de 50.000 células/pocillo. Los compuestos se sometieron a ensayo a la concentración máxima soluble indicada en la tabla 1 (dentro del intervalo 30-300 μM) y se incubó durante 1 hora. A continuación, las células se estimularon con LPS (100 ng/ml) durante 4 horas.

10

Se extrajo el ARN total del sedimento celular utilizando el minikit RNeasy (Qiagen), se retrotranscribió con el kit de síntesis de reactivos de retrotranscripción TaqMan Reverse (Applied Biosystems) y el ADNc obtenido se utilizó en la reacción de PCR en tiempo real. La amplificación se obtuvo en placas de 96 pocillos utilizando el sistema de detección de secuencia ABI Prism 7000 (Applied Biosystems), aplicando el siguiente perfil de temperatura: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos y 45 ciclos a 95°C durante 15 segundos y 60°C durante 1 minuto. Para la amplificación, se utilizó un conjunto de cebadores y sonda específicos para la MCP-1 humana (Applied Biosystems, RefSeq NM_002982.3). Se utilizó un conjunto de cebadores y sonda para la β -actina en pocillos separados como control interno de las muestras con fines de normalización. Una vez que la reacción había tenido lugar, se analizaron los datos de fluorescencia mediante el software ABI Prism 7000 SDS, calculando el ciclo umbral (Ct) para cada muestra y llevando a cabo, a continuación, una cuantificación relativa por el método $\Delta\Delta\text{Ct}$.

15

20

Los resultados obtenidos, expresados como porcentaje de inhibición, se recopilan en la siguiente tabla 1.

25

TABLA 1

No.	% de inhibición	[μM]
9	99	300
10	61	150
11	68	150
12	20	300
13	72	75
14*	49	30
15*	40	75

* Compuesto de referencia que no forma parte de la invención

Como muestran los resultados obtenidos y recogidos en la tabla 1, los compuestos fueron capaces de inhibir significativamente la expresión inducida por LPS de MCP-1 en una línea de monocitos humanos, mostrando una reducción de los niveles de ARNm específico comprendida entre el 20% y el 99%.

30

Ejemplo 2

Medición de la producción de MCP-1 en una línea de monocitos humanos

35

Se evaluó la capacidad de los compuestos para inhibir la expresión de la proteína MCP-1 por parte de células MonoMac-6 estimuladas con lipopolisacáridos (LPS). Las células se colocaron en placas de 96 pocillos a una concentración de 50.000 células/pocillo. Los compuestos se sometieron a ensayo a la concentración máxima soluble indicada en la tabla 2 (dentro del intervalo 30-300 μM) y se incubó durante 1 hora. A continuación, las células se estimularon con LPS (100 ng/ml) durante 20 horas.

40

La cantidad de MCP-1 producida se midió en los sobrenadantes, adecuadamente diluidos con tampón, mediante un ensayo inmunoenzimático (ELISA), utilizando un kit comercial (ELISA MCP-1/JE, R&D Systems).

45

Los resultados obtenidos, expresados como porcentaje de inhibición, se recopilan en la siguiente tabla 2.

TABLA 2

No.	% de inhibición	[μ M]
9	98	300
10	91	150
11	79	150
12	48	300
13	74	75
14*	70	30
15*	59	75
27*	82	30

* Compuesto de referencia que no forma parte de la invención

5 Como muestran los resultados obtenidos y recogidos en la tabla 2, los compuestos fueron capaces de inhibir significativamente la expresión inducida por LPS de MCP-1 en una línea de monocitos humanos, mostrando una reducción de los niveles de proteína producida comprendida entre el 48% y el 98%.

Ejemplo 3

10 Análisis de la expresión génica de CX3CR1 en una línea de monocitos humanos

Se evaluó la capacidad de los compuestos para inhibir la expresión de CX3CR1 por parte de células MonoMac-6 estimuladas con lipopolisacáridos (LPS). Las células se colocaron en placas de 96 pocillos a una concentración de 50.000 células/pocillo. Los compuestos se sometieron a ensayo a la concentración máxima soluble indicada en la tabla 3 (dentro del intervalo 30-300 μ M) y se incubó durante 1 hora. A continuación, las células se estimularon con LPS (100 ng/ml) durante 20 horas.

Se extrajo el ARN total del sedimento celular utilizando el minikit RNeasy (Qiagen), se retrotranscribió con el kit de síntesis de reactivos de retrotranscripción TaqMan Reverse (Applied Biosystems) y el ADNc obtenido se utilizó en la reacción de PCR en tiempo real. La amplificación se obtuvo en placas de 96 pocillos utilizando el sistema de detección de secuencia ABI Prism 7000 (Applied Biosystems), aplicando el siguiente perfil de temperatura: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos y 45 ciclos a 95°C durante 15 segundos y 60°C durante 1 minuto. Para la amplificación, se utilizó un conjunto de cebadores y sonda específicos para la CX3CR1 humana (Applied Biosystems, RefSeq NM_001337.3). Se utilizó un conjunto de cebadores y sonda para la β -actina en pocillos separados como control interno de las muestras con fines de normalización. Una vez que la reacción había tenido lugar, se analizaron los datos de fluorescencia mediante el software ABI Prism 7000 SDS, calculando el ciclo umbral (Ct) para cada muestra y llevando a cabo, a continuación, una cuantificación relativa por el método $\Delta\Delta$ Ct.

30 Los resultados obtenidos, expresados como porcentaje de inhibición, se recopilan en la siguiente tabla 3.

TABLA 3

No.	% de inhibición	[μ M]
9	99	300
10	95	150
11	90	150
12	83	300
13	100	75
14*	44	30
15*	89	75

* Compuesto de referencia que no forma parte de la invención

35 Como muestran los resultados obtenidos y recogidos en la tabla 3, los compuestos fueron capaces de inhibir significativamente la expresión inducida por LPS de CX3CR1 en una línea de monocitos humanos, mostrando una reducción de los niveles de ARNm específico comprendida entre el 44% y el 100%.

Ejemplo 4

Análisis de la expresión génica de p40 en una línea de monocitos humanos

5 Se evaluó la capacidad de los compuestos para inhibir la expresión de p40 por parte de células MonoMac-6 estimuladas con lipopolisacáridos (LPS). Las células se colocaron en placas de 96 pocillos a una concentración de 50.000 células/pocillo. Los compuestos se sometieron a ensayo a la concentración máxima soluble indicada en la tabla 4 (dentro del intervalo 30-300 μ M) y se incubó durante 1 hora. A continuación, las células se estimularon con LPS (100 ng/ml) durante 4 horas.

10 Se extrajo el ARN total del sedimento celular utilizando el minikit RNeasy (Qiagen), se retrotranscribió con el kit de síntesis de reactivos de retrotranscripción TaqMan Reverse (Applied Biosystems) y el ADNc obtenido se utilizó en la reacción de PCR en tiempo real. La amplificación se obtuvo en placas de 96 pocillos utilizando el sistema de detección de secuencia ABI Prism 7000 (Applied Biosystems), aplicando el siguiente perfil de temperatura: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos y 45 ciclos a 95°C durante 15 segundos y 60°C durante 1 minuto. Para la amplificación, se utilizó un conjunto de cebadores y sonda específicos para la p40 humana (Applied Biosystems, RefSeq NM_002187.2). Se utilizó un conjunto de cebadores y sonda para la β -actina en pocillos separados como control interno de las muestras con fines de normalización. Una vez que la reacción había tenido lugar, se analizaron los datos de fluorescencia mediante el software ABI Prism 7000 SDS, calculando el ciclo umbral (Ct) para cada muestra y llevando a cabo, a continuación, una cuantificación relativa por el método $\Delta\Delta$ Ct.

Los resultados obtenidos, expresados como porcentaje de inhibición, se recopilan en la siguiente tabla 4.

TABLA 4

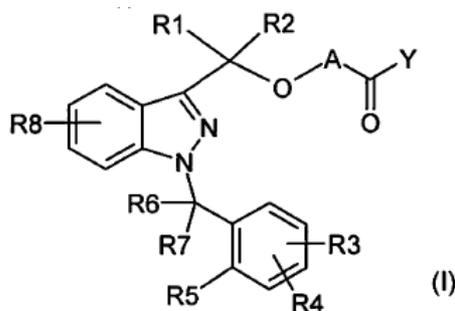
No.	% de inhibición	[μ M]
9	96	300
10	54	150
11	44	150
13	59	75
14*	27	30
15*	33	75

25 * Compuesto de referencia que no forma parte de la invención

Como muestran los resultados obtenidos y recogidos en la tabla 4, los compuestos fueron capaces de inhibir significativamente la expresión inducida por LPS de p40 en una línea de monocitos humanos, mostrando una reducción de los niveles de ARNm específico comprendida entre el 33% y el 96%.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I)



5

en el que:

A puede ser $-X_1-$ o $-X_1-OC(R_9)(R_{10})-$, en el que

10

X_1 puede ser un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, sustituido opcionalmente con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 5 átomos de carbono o uno o más grupos alcoxi que presentan de 1 a 3 átomos de carbono, y

15

R_9 y R_{10} , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

Y puede ser $N(R_{11})(R_{12})$, $N(R_{13})O(R_{14})$, $N(R_{13})N(R_{14})(R_{15})$, $N(R_{13})-X_2-N(R_{14})(R_{15})$, $N(R_{13})-X_2-CO-X_3$, en el que

20

R_{11} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o R_{11} , junto con R_{12} , forma un heterociclo de 4 a 7 miembros,

25

R_{12} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, COR' , $COOR'$, $CON(R')(R'')$, con R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representados por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, o R_{12} , junto con R_{11} , forma un heterociclo de 4 a 7 miembros,

30

R_{13} y R_{15} , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

35

R_{14} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, COR' , $COOR'$, $CON(R')(R'')$, con R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representados por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono,

40

X_2 puede ser un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, sustituido opcionalmente con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 5 átomos de carbono o uno o más grupos alcoxi que presentan de 1 a 3 átomos de carbono,

45

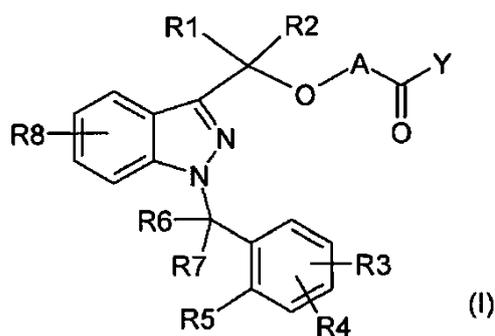
X_3 puede ser OH, NH_2 , $NHOH$ o $NHNH_2$,

R_1 y R_2 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

R_3 , R_4 y R_8 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un átomo de halógeno, $-OH$, $-N(R')(R'')$, $-N(R')COR''$, $-CN$, $-CONR'R''$, $-SO_2NR'R''$, $-SO_2R'$, nitro y trifluorometilo; con R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representados por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono,

- 5 R_5 puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un átomo de halógeno, -OH, -N(R')(R''), -N(R')COR'', nitro y trifluorometilo, o R_5 , junto con uno de entre R_6 y R_7 , forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono; con R' y R'', que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representados por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono,
- 10 R_6 y R_7 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, o juntos forman un grupo C=O, o uno de entre R_6 y R_7 , junto con R_5 , forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono.
- 15 2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que X_1 es un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, sustituido opcionalmente con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 3 átomos de carbono, o uno o más grupos alcoxi que presentan 1 o 2 átomos de carbono.
- 20 3. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que X_1 se selecciona de entre el grupo que comprende un grupo CH_2 , un grupo CH_2CH_2 o un grupo $C(CH_3)_2$, y R_9 y R_{10} , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, son hidrógeno o un grupo CH_3 .
- 25 4. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que el residuo A se selecciona de entre el grupo que comprende un grupo CH_2 , un grupo CH_2CH_2 , un grupo $C(CH_3)_2$, un grupo $CH_2CH_2OCH_2$, un grupo $CH_2CH_2OC(CH_3)_2$ y un grupo $CH_2CH_2CH_2OC(CH_3)_2$.
- 30 5. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R_{11} es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono, o R_{11} junto con R_{12} forma un heterociclo de 5 o 6 miembros.
- 35 6. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R_{12} es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono, CON(R')(R''), con R' y R'', que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representados por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o R_{12} junto con R_{11} forma un heterociclo de 5 o 6 miembros.
- 40 7. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R_{13} y R_{15} , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, son un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono.
- 45 8. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R_{14} es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, COR', COOR', CON(R')(R''), con R' y R'', que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representados por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono.
- 50 9. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que X_2 es un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, sustituido opcionalmente con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 3 átomos de carbono, o uno o más grupos alcoxi que presentan 1 o 2 átomos de carbono.
- 55 10. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que X_3 se selecciona de entre el grupo que comprende OH, NH_2 , NHOH y $NHNH_2$.
11. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R_1 y R_2 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, son un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono.
12. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R_3 , R_4 y R_8 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de entre el grupo que comprende un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono, un átomo de Br, Cl o F, un grupo OH, un grupo nitro, un grupo trifluorometilo o un grupo N(R')(R'') o -N(R')COR'', -CN, -CONR'R'', -SO₂NR'R'', -SO₂R', con R' y R'', que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representados por un átomo de hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono.

- 5 13. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R₅ se selecciona de entre el grupo que comprende un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta 1 o 2 átomos de carbono, un átomo de halógeno, un grupo OH, o R₅, junto con uno de entre R₆ y R₇, forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono.
- 10 14. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R₆ y R₇, que pueden ser iguales o diferentes entre sí, se seleccionan de entre el grupo que comprende un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o juntos forman un grupo C=O, o uno de entre R₆ y R₇, junto con R₅, forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono.
- 15 15. Composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, o una sal o éster farmacéuticamente aceptables del mismo, y por lo menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.
16. Composición farmacéutica según la reivindicación 15, caracterizada por que dicha sal farmacéuticamente aceptable es una sal de adición con ácidos o bases orgánicos o minerales fisiológicamente aceptables.
- 20 17. Composición farmacéutica según la reivindicación 16, caracterizada por que dichos ácidos fisiológicamente aceptables se seleccionan de entre el grupo que comprende ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido acético, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido láctico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido para-toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido succínico, ácido tánico y ácido tartárico.
- 25 18. Composición farmacéutica según la reivindicación 16, caracterizada por que dichas bases fisiológicamente aceptables se seleccionan de entre el grupo que comprende hidróxido de amonio, hidróxido de calcio, carbonato de magnesio, hidrogenocarbonato de sodio, hidrogenocarbonato de potasio, arginina, betaína, cafeína, colina, N,N-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, N-metilglucamina, glucamina, glucosamina, histidina, N-(2-hidroxietyl)piperidina, N-(2-hidroxietyl)pirrolidina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina y trometamina.
- 30 19. Composición farmacéutica según la reivindicación 15, caracterizada por que dicho éster farmacéuticamente aceptable está formado con alcoholes o ácidos orgánicos fisiológicamente aceptables.
- 35 20. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 15 a 19, caracterizada por que dicha composición contiene un estereoisómero o un enantiómero del compuesto de fórmula (I), o una sal o un éster farmacéuticamente aceptables del mismo, o una mezcla de los mismos.
- 40 21. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 15 a 20, caracterizada por que dicho vehículo farmacéuticamente aceptable se selecciona de entre el grupo que comprende deslizantes, aglutinantes, disgregantes, rellenos, diluyentes, aromatizantes, colorantes, fluidificantes, lubricantes, agentes conservantes, humectantes, absorbentes y edulcorantes.
- 45 22. Utilización de un compuesto de fórmula (I)



en el que:

A puede ser $-X_1-$ o $-X_1-OC(R_9)(R_{10})-$, en el que

5

X_1 puede ser un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, sustituido opcionalmente con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 5 átomos de carbono, o uno o más grupos alcoxi que presentan de 1 a 3 átomos de carbono, y

10

R_9 y R_{10} , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

Y puede ser $N(R_{11})(R_{12})$, $N(R_{13})O(R_{14})$, $N(R_{13})N(R_{14})(R_{15})$, $N(R_{13})-X_2-N(R_{14})(R_{15})$, $N(R_{13})-X_2-CO-X_3$, en el que

15

R_{11} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o R_{11} junto con R_{12} forma un heterociclo de 4 a 7 miembros,

20

R_{12} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, COR' , $COOR'$, $CON(R')(R'')$, con R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representados por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, o R_{12} junto con R_{11} forma un heterociclo de 4 a 7 miembros,

25

R_{13} y R_{15} , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

30

R_{14} puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, COR' , $COOR'$, $CON(R')(R'')$, con R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representados por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono,

35

X_3 puede ser OH , NH_2 , $NHOH$ o $NHNH_2$,

R_1 y R_2 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono,

40

R_3 , R_4 y R_8 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un átomo de halógeno, $-OH$, $-N(R')(R'')$, $-N(R')COR''$, $-CN$, $-CONR'R''$, $-SO_2NR'R''$, $-SO_2R'$, nitro y trifluorometilo; con R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representados por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono,

45

R_5 puede ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alcoxi que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, un átomo de halógeno, $-OH$, $-N(R')(R'')$, $-N(R')COR''$, nitro y trifluorometilo, o R_5 junto con uno de entre R_6 y R_7 forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono; con R' y R'' , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, representados por hidrógeno y un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono,

50

R_6 y R_7 , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, pueden ser hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 5 átomos de carbono, o formar conjuntamente un grupo $C=O$, o uno de entre R_6 y R_7 , junto con R_5 , forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono,

55

para la preparación de una composición farmacéutica para tratar enfermedades basadas en la expresión de MCP-1, CX3CR1 y p40, en la que dichas enfermedades basadas en la expresión de MCP-1 y CX3CR1 se seleccionan de entre el grupo que comprende enfermedades articulares, enfermedades renales, enfermedades

cardiovasculares, síndrome metabólico, obesidad, diabetes, resistencia a la insulina y cáncer, y dichas enfermedades basadas en la expresión de p40 se seleccionan de entre el grupo que comprende enfermedades autoinmunitarias, enfermedades inflamatorias degenerativas crónicas y cáncer.

5 23. Utilización según la reivindicación 22, caracterizada por que dichas enfermedades basadas en la expresión de MCP-1 se seleccionan de entre el grupo que comprende artritis reumatoide, artritis inducida por infecciones víricas, artritis psoriásica, artrosis, nefritis lúpica, nefropatía diabética, glomerulonefritis, poliquistosis renal, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, demencia asociada al VIH, dermatitis atópica, psoriasis, vasculitis, restenosis, aterosclerosis, infarto de miocardio, angina de pecho, enfermedades coronarias agudas, adenomas, carcinomas y metástasis, y enfermedades metabólicas.

10 24. Utilización según la reivindicación 22, caracterizada por que dichas enfermedades basadas en la expresión de CX3CR1 se seleccionan de entre el grupo que comprende artritis reumatoide, nefritis lúpica, nefropatía diabética, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, trastornos coronarios, restenosis, aterosclerosis, infarto de miocardio y angina de pecho.

15 25. Utilización según la reivindicación 22, caracterizada por que dichas enfermedades basadas en la expresión de p40 se seleccionan de entre el grupo que comprende artritis reumatoide, psoriasis, glomerulonefritis, diabetes, lupus eritematoso, diabetes, enfermedad de Crohn y tumores.