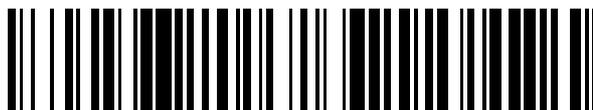


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 570 766**

51 Int. Cl.:

**C07D 231/54** (2006.01)  
**C07D 401/12** (2006.01)  
**A61K 31/416** (2006.01)  
**A61K 31/435** (2006.01)  
**A61P 3/10** (2006.01)  
**A61P 9/00** (2006.01)  
**A61P 13/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.03.2009 E 09718101 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.02.2016 EP 2262777**

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

30 Prioridad:

**07.03.2008 EP 08425141**

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

**20.05.2016**

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 y  
CAZZOLLA, NICOLA**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

**ES 2 570 766 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 y CX3CR1.

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 y CX3CR1.

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 nuevos derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol para preparar una composición farmacéutica activa en el tratamiento de enfermedades basadas en la expresión de MCP-1 y CX3CR1, y a su utilización en un método para tratar o prevenir enfermedades basadas en la expresión de MCP-1 y CX3CR1.

**Antecedentes de la técnica**

Tal como es conocido, la MCP-1 (proteína quimiotáctica de monocitos 1) es una proteína que pertenece a la subfamilia  $\beta$  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).

Otras quimiocinas que pertenecen a la subfamilia  $\beta$  son, por ejemplo, la MCP-2 (proteína quimiotáctica de monocitos 2), la MCP-3, la MCP-4, la MIP-1 $\alpha$ , la MIP-1 $\beta$  y la RANTES.

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

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.

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 $\alpha$  (factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ), el interferón  $\gamma$  y los lipopolisacáridos (LPS) bacterianos.

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).

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.

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).

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.

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).

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).

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).

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).

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).

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).

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- $\alpha$  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 $\alpha$  y RANTES (Sironi M. y otros, "A small synthetic molecule capable of preferentially inhibiting the production of the CC chemokine monocyte chemoattractant protein-1", *European Cytokine Network.*, vol. 10, nº 3, 437-41, septiembre de 1999).

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 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 y CX3CR1.

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

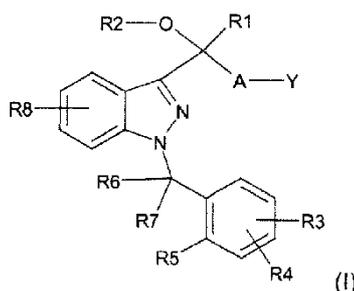
Sorprendentemente, el presente solicitante ha descubierto que los nuevos derivados del 1-bencil-3-

hidroximetilindazol de fórmula (I) según la presente invención son capaces de reducir la producción de la quimiocina MCP-1.

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.

Aún 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 del receptor CX3CR1.

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



en el que:

A puede ser  $-X_1-$  o  $-X_1-O-X_2-$ , en el que

$X_1$  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, y

$X_2$  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,

Y puede ser hidrógeno,  $-OH$ ,  $-N(R_{11})(R_{12})$ ,  $-N(R_{11})O(R_{12})$ , en el que

$R_{11}$  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,

$R_{12}$  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,

$R_1$  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,

$R_3$ ,  $R_4$  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,  $-OH$ ,  $-N(R')(R'')$ ,  $-N(R')COR''$ ,  $-CN$ ,  $-CONR''$ ,  $-SO_2NR'R''$ ,  $-SO_2R'$ , 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,

$R_5$  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,

$R_6$  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.

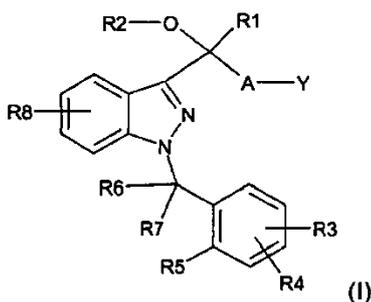
En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende los nuevos

derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, junto con, por lo menos, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 La sobreexpresión y/o el aumento de la expresión de las MCP-1 y CX3CR1 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.

10 Sorprendentemente, el presente solicitante ha descubierto que los nuevos derivados del 1-bencil-3-hidroximetilindazol según la fórmula (I) de la presente invención se pueden utilizar para la preparación de una composición farmacéutica que es activa en el tratamiento de enfermedades basadas en la expresión de la quimiocina MCP-1 y del receptor CX3CR1.

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



en el que:

20 A puede ser  $-X_1-$  o  $-X_1-O-X_2-$ , en el que

$X_1$  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, y

25  $X_2$  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,

30 Y puede ser hidrógeno,  $-OH$ ,  $-N(R_{11})(R_{12})$ ,  $-N(R_{11})O(R_{12})$ , en el que

$R_{11}$  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,

35  $R_{12}$  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,

40  $R_1$  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,

45  $R_3$ ,  $R_4$  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,  $-OH$ ,  $-N(R')(R'')$ ,  $-N(R')COR''$ ,  $-CN$ ,  $-CONR''$ ,  $-SO_2NR'R''$ ,  $-SO_2R'$ , 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,

50  $R_5$  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,

55  $R_6$  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.

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

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

#### Descripción detallada de la invención

- 10 En la fórmula (I) descrita anteriormente, el residuo A es representado por el grupo  $-X_1-$  o por el grupo  $-X_1-O-X_2-$ .
- Preferentemente, en la fórmula (I) descrita anteriormente,  $X_1$  puede ser un grupo alquilo que presenta de 1 a 4 átomos de carbono, sustituido opcionalmente con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 3 átomos de carbono, y  $X_2$  es un grupo alquilo que presenta de 1 a 4 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.
- Más preferentemente,  $X_1$  es un grupo  $CH_2$ , un grupo  $CH_2CH_2$ , un grupo  $C(CH_3)_2$ , o un grupo  $C(CH_3)_2CH_2$ .
- Más preferentemente,  $X_2$  es un grupo  $CH_2$ , un grupo  $CH_2CH_2$ , un grupo  $CH_2CH_2CH_2$ , un grupo  $C(CH_3)_2$ , un grupo  $C(CH_3)_2CH_2$ , o un grupo  $CH_2C(CH_3)_2CH_2$ .
- Ventajosamente, en la fórmula (I) descrita anteriormente, el residuo A está representado por el grupo  $X_1$ , y preferentemente por el grupo  $CH_2$ , y por el grupo  $C(CH_3)_2$ .
- Ventajosamente, en la fórmula (I) descrita anteriormente, el residuo A está representado por el grupo  $-X_1-O-X_2-$ , y preferentemente por el grupo  $CH_2OCH_2CH_2$  y por el grupo  $CH_2OCH_2CH_2CH_2$ .
- 30 En la fórmula (I) descrita anteriormente, Y puede ser hidrógeno,  $-OH$ ,  $-N(R_{11})(R_{12})$ ,  $-N(R_{11})O(R_{12})$ .
- Ventajosamente,  $R_{11}$  está representado por un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono, o  $R_{11}$  junto con  $R_{12}$  forma un heterociclo de 5 o 6 miembros.
- 35 Ventajosamente,  $R_{12}$  está representado por un átomo de hidrógeno, 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.
- 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.
- 40 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  $N(R')(R'')$ ,  $N(R')COR''$ ;  $-CN$ ,  $-CONR''$ ,  $-SO_2NR''$ ,  $-SO_2R'$ , 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.
- 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.
- 50 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.
- 55 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.
- Dependiendo de la naturaleza de los sustituyentes, el compuesto de fórmula (I) puede formar sales de adición con ácidos o bases orgánicos o minerales fisiológicamente aceptables.
- 60 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.
- 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, 5 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, 10 N-(2-hidroxietil)piperidina, N-(2-hidroxietil)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 orgánicos fisiológicamente aceptables. Los ejemplos típicos de ácidos orgánicos fisiológicamente aceptables son el 15 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 compuestos de la presente invención, también se incluyen estereoisómeros, enantiómeros y sales o ésteres farmacéuticamente aceptables de los compuestos representados por la fórmula (I), que se describen en las reivindicaciones.

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 25 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 y el receptor CX3CR1. 30

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 40 pecho, enfermedades coronarias agudas, adenomas, carcinomas y metástasis, y enfermedades metabólicas.

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 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. 50

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. 60

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. 65

Otras formas de dosificación adecuadas son formas de liberación controlada y formas a base de liposomas, para las

vías oral o de inyección.

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.

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

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.

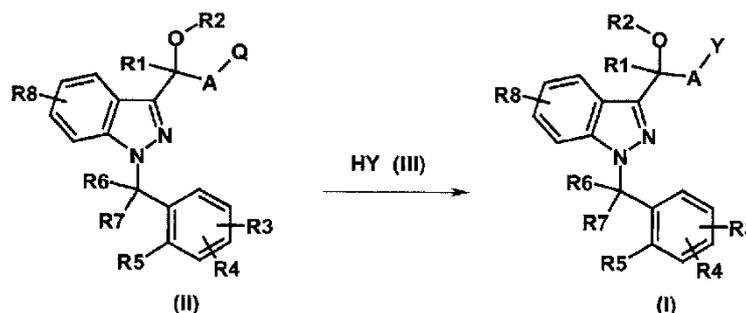
Típicamente, la cantidad de compuesto de fórmula (I), o de sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, en la composición farmacéutica de la presente invención es tal que se asegura un nivel de administración comprendido entre 0,001 mg/kg/día y 100 mg/kg/día. Preferentemente, el nivel de administración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

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.

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.

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

Método (A):



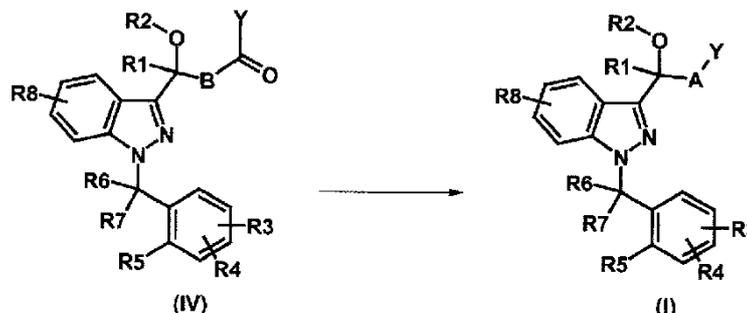
En el método (A), los productos de fórmula general (III), en la que Q indica un grupo saliente seleccionado de entre el grupo que comprende halógeno,  $\text{CH}_3\text{SO}_3^-$  y  $p\text{-CH}_3\text{PhSO}_3^-$  se hacen reaccionar con los alcoholes y aminas de la fórmula (II). Los sustituyentes  $\text{R}_1$  a  $\text{R}_8$ , A e Y tienen los significados indicados anteriormente para los compuestos de fórmula (I).

El método (A) puede llevarse a cabo según técnicas convencionales.

Por ejemplo, las aminas de la fórmula general (III) se hacen reaccionar con los derivados de fórmula (II) en presencia de una base adecuada en un disolvente adecuado. Preferentemente, Q es un grupo saliente, preferentemente seleccionado dentro del grupo que comprende un átomo de cloro, un átomo de bromo y un grupo metanosulfonilo. Las bases utilizadas preferentemente son el carbonato sódico, el carbonato potásico, y las aminas alifáticas tales como trietilamina, diisopropilamina o la misma amina reactiva (III). Los disolventes que son utilizados preferentemente son generalmente disolventes apróticos polares tales como N,N-dimetilformamina, tetrahidrofurano y diclorometano. En general, la reacción se lleva a cabo a una temperatura ambiente y la temperatura de reflujo del disolvente utilizado. Las reacciones de este tipo pueden durar de unas horas a unos días.

5 Cuando los compuestos de la fórmula (III) son alcoholes, las técnicas de reacción convencionales pueden utilizar un base fuerte adecuada tal como NaH, butil litio, diisopropilamida de litio, y unos disolventes apróticos apolares adecuados tales como tetrahidrofurano, dietil éter o 1,4-dioxano. La temperatura a la que este tipo de reacción se realiza generalmente varía entre la temperatura ambiente y la temperatura de reflujo del disolvente utilizado. Las reacciones de este tipo pueden prolongarse desde unas pocas horas a unos pocos días.

Método (B):



10 En el que los derivados carboxílicos de la fórmula general (IV) son reducidos a los productos de la fórmula general (I). Los sustituyentes R<sub>1</sub> a R<sub>8</sub>, A e Y presentan los significados proporcionados anteriormente para los compuestos de fórmula (I), y en el que el grupo B-CH<sub>2</sub> presenta el mismo significado que A.

15 El método (B) puede realizarse según los procedimientos convencionales.

20 Por ejemplo, puede realizarse la reducción de los compuestos carboxílicos de la fórmula (IV) con la ayuda de los reactivos reductores tales como el hidruro de litio y aluminio, el borohidruro de sodio o agentes organometálicos tales como los reactivos de Grignard. En general, la reacción se realiza en un disolvente aprótico adecuado, por ejemplo, tetrahidrofurano, dietil éter y 1,4-dioxano.

25 Las reacciones se realizan generalmente a una temperatura que puede variar desde aproximadamente 0° C a la temperatura de reflujo del disolvente, mientras que pueden prolongarse desde 1-2 horas a 24 horas.

Los ejemplos siguientes están destinados a ilustrar la presente invención sin, embargo, limitar en ningún caso.

Ejemplos de preparación

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

TABLA A

No.	A	Y	Grupos R							
			1	2	3	4	5	6	7	8
1	CH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	H	H	H	H	H	H	H	H
2	"	NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	"	"	"	"	"	"	"	"
3	"	NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	"	"	p-Cl	"	"	"	"	"
4	"	N-morfolina	"	"	o-OCH <sub>3</sub>	"	"	"	"	"
5	"	NH-(2-piridina)	"	"	p-OCH <sub>3</sub>	o-CH <sub>3</sub>	o'-CH <sub>3</sub>	"	"	"
6	"	NHOCH <sub>3</sub>	"	"	H	H	H	"	"	"
7*	"	NHOCH <sub>2</sub> Ph	"	CH <sub>3</sub>	"	"	"	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	"
8	"	NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	"	H	p-CF <sub>3</sub>	"	"	H	H	5-NO <sub>2</sub>
9	"	"	"	"	p-F	"	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C H <sub>2</sub>	"	"	H
10	"	OH	"	"	p-OCH <sub>3</sub>	"	H	H	"	5-F
11	"	"	"	"	o-CH <sub>3</sub>	"	"	CO	"	H
12	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	"	CH <sub>3</sub>	p-Cl	"	"	H	H	5-OCH <sub>3</sub>
13	"	-	"	H	H	"	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C H <sub>2</sub>	"	"	5-F
14	"	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	"	"	p-OCH <sub>3</sub>	o-	H	CO	"	H

No.	A	Y	Grupos R							
			1	2	3	4	5	6	7	8
						OC H <sub>3</sub>				
15	"	N-morfolina	"	"	o-CF <sub>3</sub>	H	"	H	H	5-OCH <sub>3</sub>
16	"	OH	"	"	H	"	"	CO		5-NO <sub>2</sub>
17	"	"	"	"	"	"	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C H <sub>2</sub>		H	5-Cl
18	CH <sub>2</sub> O( CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	"	"	o-CF <sub>3</sub>	"	H	H	"	H
19	"	OH	"	"	p- NH <sub>2</sub> COC H <sub>3</sub>	"	"	"	"	5-OCH <sub>3</sub>
20	CH <sub>2</sub> O( CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	OH	"	"	H	"	"	CO		5-F
21	"	NH <sub>2</sub>	"	"	m-CH <sub>3</sub>	"	"	"		H
22	CH <sub>2</sub>	"	"	"	H	"	"	H	H	5-CN
23	"	"	"	"	"	"	"	"	"	5-CONH <sub>2</sub>

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

Los detalles de la preparación de los compuestos 1 y 2 se indican a continuación. Los compuestos 3 a 23 se prepararon con técnicas similares, utilizando productos de partida y reactivos adecuados.

5

### Preparación del compuesto 1

2-amino-1-(1-bencil-1H-indazol-3-il)etanol

#### 1a) 1-(1-bencilindazol-3-il)-2-nitroetanol

Se añade nitrometano (9,4 g; 0,154 mol) a una suspensión de 1-bencil-3-formilindazol (18 g; 0,076 mol) en etanol anhidro (100 ml) agitada a aproximadamente 5°C, y lentamente, una disolución de sodio (3,5 g; 0,152 mol) en metanol (42 ml). Una vez son completadas las adiciones, se agita la mezcla a la misma temperatura de aproximadamente 5°C durante 3 horas, y se completa la reacción a continuación filtrando el sólido así formado. Se suspende el sólido en dietil éter (100 ml) y se agita a 0°C. Se añade a continuación a la mezcla una disolución de ácido acético glacial (18 g; 0,30 mol) en dietil éter anhidro frío (250 ml). Una vez se han completado las adiciones, se agita la mezcla bajo unas condiciones de frío durante 2 horas y a continuación es calentada a temperatura ambiente y se deja a esta temperatura durante la noche.

Se completa la reacción añadiendo hielo y agua (500 ml) y filtrando la fase orgánica. Esta fase orgánica es lavada primero con una disolución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5% fría (5 x 100 ml) y a continuación con agua fría hasta su neutralidad (3 x 50 ml). La fase orgánica es concentrada a continuación bajo una presión reducida y se purifica el residuo crudo obtenido mediante la cristalización a partir del hexano y a continuación a partir del benceno.

Son obtenidos así 20 g de 1-(1-bencilindazol-3-il)-2-nitroetanol.

p. f. = 100-101°C

Análisis elemental: C (64,41%), H (5,40%), N (14,31%).

#### 1b) 2-amino-1-(1-bencil-1H-indazol-3-il)etanol

Se dispone una mezcla de 1-(1-bencilindazol-3-il)-2-nitroetanol (22 g; 0,074 mol) y níquel Raney (12 ml) en etanol absoluto (200 ml) bajo una atmósfera de hidrógeno en un hidrogenador Parr modelo 3921 a temperatura ambiente, y es agitada durante 3 horas. La mezcla es filtrada a continuación y se evapora la disolución a presión reducida. Se disuelve el residuo crudo en 1,5 N HCl (100 ml) y se lava con dietil éter (3 x 100 ml). Se lleva la fase ácida un pH básico con 10 N NaOH y el sólido así formado es filtrado y purificado mediante cristalización a partir de benceno.

Se disuelve el producto en dietil éter (100 ml) y se trata a temperatura ambiente con una disolución de aproximadamente 1 N de HCl en dietil éter.

El sólido así formado es filtrado y purificado mediante cristalización a partir de etanol absoluto.

Son obtenidos así 10,0 g de 2-amino-1-(1-bencil-1H-indazol-3-il)etanol.

p. f. = 126°C con descomposición.

1H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, δ ppm): 3.26 (d, J = 6.87 Hz, 2 H), 5.29 (q, J = 5.90 Hz, 1 H), 5.63 (s, 2 H), 6.31 (d, J = 5.12 Hz, 1H), 7.15 (t, J = 7.45 Hz, 1 H), 7.21-7.35 (m, 5 H), 7.38 (t, J = 7.67 Hz, 1 H), 7.67 (d, J = 8.62 Hz, 1 H), 7.94 (d, J = 8.04 Hz, 1 H), 8.30 (bs, 2 H).

### Preparación del compuesto 2

1-(1-bencil-1H-indazol-3-il)-2-(etilamino)etanol

Es calentada una mezcla de 1-(1-bencil-1H-indazol-3-il)-2-cloroetano (8,8 g; 0,031 mol) y etilamina (7 g; 0,155 mol) en benceno (60 ml) a 130°C en un tubo cerrado durante 8 horas. La reacción es completada enfriando la mezcla hasta la temperatura ambiente y con un lavado con agua (3 x 20 ml). Se extrae a continuación la fase orgánica con 1 N HCl (3 x 50 ml). Se lavan las fases ácidas combinadas con dietil éter (3 x 50 ml) y se llevan a continuación a un pH básico con una disolución de NaOH al 25%. Es filtrado el sólido precipitado, disuelto en cloroformo (200 ml) y lavado con agua hasta su neutralidad. Se concentra a continuación el disolvente bajo una presión reducida y se purifica el residuo crudo mediante cristalización a partir de benceno.

El sólido es disuelto a continuación en isopropanol (150 ml) y tratado a temperatura ambiente con una disolución de aproximadamente 1 N de HCl en dietil éter. El producto precipitado es filtrado y purificado mediante cristalización a partir de isopropanol.

Son obtenidos 4,8 g de clorhidrato de 1-(1-bencil-1H-indazol-3-il)-2-(etilamino)etanol.

p. f. = 153-154°C

1H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, δ ppm): 1.25 (t, J = 7.27 Hz, 3 H), 3.05 (q, J = 7.16 Hz, 2 H), 3.29-3.43 (m, 2 H), 5.36-5.49 (m, 1H), 5.63 (s, 2 H), 6.39 (d, J = 4.95 Hz, 1 H), 7.16 (ddd, J = 8.01; 7.02; 0.83 Hz, 1 H), 7.21-7.35 (m, 5 H), 7.39 (ddd, J = 8.38; 6.98; 0.99 Hz, 1 H), 7.68 (d, J = 8.60 Hz, 1 H), 7.96 (dt, J = 8.13; 0.89 Hz, 1 H), 8.65-9.63 (m, 1 H).

### Ejemplo 1

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

Se evaluó la capacidad del compuesto 1 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. El compuesto se sometió 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.

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 ΔΔCt.

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

TABLA 1

No.	% de inhibición	[μM]
1	64	150
2	53	150

Como muestran los resultados obtenidos y recogidos en la tabla 1, los compuestos 1 y 2 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 de 64% y 53%, respectivamente.

**Ejemplo 2**Medición de la producción de MCP-1 en una línea de monocitos humanos

5 Se evaluó la capacidad de los compuestos 1 y 2 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  $\mu\text{M}$ ) y se incubó durante 1 hora. A continuación, las células se estimularon con LPS (100 ng/ml) durante 20 horas.

10 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).

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

TABLA 2

No.	% de inhibición	[ $\mu\text{M}$ ]
1	73	150
2	67	150

20 Como muestran los resultados obtenidos y recogidos en la tabla 2, los compuestos 1 y 2 de la presente invención 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 de 73% y 67%, respectivamente.

**Ejemplo 3**Análisis de la expresión génica de CX3CR1 en una línea de monocitos humanos

25 Se evaluó la capacidad del compuesto 1 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. El compuesto se sometió a ensayo a la concentración máxima soluble indicada en la tabla 3 (dentro del intervalo 30-300  $\mu\text{M}$ ) y se incubó durante 1 hora. A continuación, las células se estimularon con LPS (100 ng/ml) durante 20 horas.

30 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  $\beta$ -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  $\Delta\Delta\text{Ct}$ .

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

TABLA 3

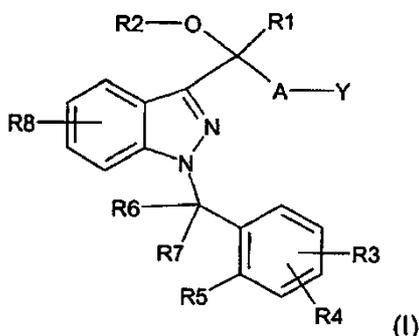
No.	% de inhibición	[ $\mu\text{M}$ ]
1	96	150
2	85	150

45 Como muestran los resultados obtenidos y recogidos en la tabla 3, los compuestos 1 y 2 de la presente invención 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 de 96% y 85%, respectivamente.

50

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I)



5

en el que:

A puede ser  $-X_1-$  o  $-X_1-O-X_2-$ , 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  $X_2$  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,

Y puede ser hidrógeno,  $-OH$ ,  $-N(R_{11})(R_{12})$ ,  $-N(R_{11})O(R_{12})$ , 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,

$R_1$  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,

30  $R_3$ ,  $R_4$  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,

35  $R_5$  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,

40  $R_6$  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 forman 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.

45

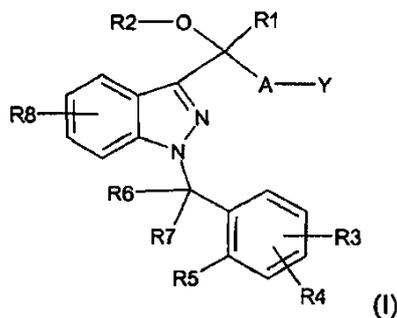
2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que  $X_1$  puede ser un grupo alquilo que presenta de 1 a 4 átomos de carbono, sustituido opcionalmente con uno o más grupos alquilo que presentan de 1 a 3 átomos de carbono, y  $X_2$  es un grupo alquilo que presenta de 1 a 4 átomos de carbono, 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.

50

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  $CH_2CH_2$ , un grupo  $C(CH_3)_2$ , o un grupo  $C(CH_3)_2CH_2$ , y  $X_2$  se selecciona de entre el grupo que comprende un grupo  $CH_2$ , un grupo  $CH_2CH_2$ , un grupo  $CH_2CH_2CH_2$ , un grupo  $C(CH_3)_2$ , un grupo  $C(CH_3)_2CH_2$ , o

un grupo  $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2$ .

4. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que el residuo A se selecciona de entre el grupo que comprende el grupo  $\text{CH}_2$ , el grupo  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ , el grupo  $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2$ , y el grupo  $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ .
5. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que  $\text{R}_{11}$  y  $\text{R}_{12}$ , 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 forman conjuntamente un heterociclo de 5 o 6 miembros.
6. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que  $\text{R}_1$  y  $\text{R}_2$ , que pueden ser iguales o diferentes entre sí, son un átomo de hidrógeno, o un grupo alquilo que presenta de 1 a 3 átomos de carbono.
7. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que  $\text{R}_3$ ,  $\text{R}_4$  y  $\text{R}_8$ , 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  $\text{N}(\text{R}')(\text{R}'')$ ,  $-\text{N}(\text{R}')\text{COR}''$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CONR}'\text{R}''$ ,  $-\text{SO}_2\text{NR}'\text{R}''$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}'$ , con  $\text{R}'$  y  $\text{R}''$ , 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.
8. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que  $\text{R}_5$  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  $\text{R}_5$ , junto con uno de entre  $\text{R}_6$  y  $\text{R}_7$ , forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono.
9. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que  $\text{R}_6$  y  $\text{R}_7$ , 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 forman conjuntamente un grupo  $\text{C}=\text{O}$ , o uno de entre  $\text{R}_6$  y  $\text{R}_7$ , junto con  $\text{R}_5$ , forma un anillo que presenta 5 o 6 átomos de carbono.
10. 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.
11. Composición farmacéutica según la reivindicación 10, caracterizada por que dicha sal farmacéuticamente aceptable es una sal de adición con ácidos o bases orgánicos o minerales fisiológicamente aceptables.
12. Composición farmacéutica según la reivindicación 11, 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 benzenosulfónico, ácido succínico, ácido tánico y ácido tartárico.
13. Composición farmacéutica según la reivindicación 11, 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-hidroxi)etilpiperidina, N-(2-hidroxi)etilpirrolidina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina y trometamina.
14. Composición farmacéutica según la reivindicación 10, caracterizada por que dicho éster farmacéuticamente aceptable está formado con ácidos orgánicos fisiológicamente aceptables seleccionados de entre el grupo que comprende ácido acético, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido láctico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido para-toluenosulfónico, ácido benzenosulfónico, ácido succínico, ácido tánico y ácido tartárico.
15. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14, 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.
16. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 15, 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.
17. Utilización de un compuesto de fórmula (I)



en el que:

- 5 A puede ser  $-X_1-$  o  $-X_1-O-X_2-$ , 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
- $X_2$  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,
- 15 Y puede ser hidrógeno,  $-OH$ ,  $-N(R_{11})(R_{12})$ ,  $-N(R_{11})O(R_{12})$ , en el que
- $R_{11}$  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  $R_1$  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,
- $R_3$ ,  $R_4$  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,
- 30  $R_5$  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,
- 35  $R_6$  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,
- 40 para la preparación de una composición farmacéutica para tratar enfermedades basadas en la expresión de MCP-1 y CX3CR1 seleccionadas de entre el grupo que comprende enfermedades articulares, enfermedades renales, enfermedades cardiovasculares, síndrome metabólico, obesidad, diabetes, resistencia a la insulina y cáncer.
- 45 18. Utilización según la reivindicación 17, 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.
- 50

19. Utilización según la reivindicación 17, 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.

5