



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 360 632**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/4745 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) **C07D 471/04** (2006.01)
A61P 13/08 (2006.01) **A61P 29/00** (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01) **A61P 17/06** (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **07763034 .1**

(96) Fecha de presentación : **25.01.2007**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1983990**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **29.10.2008**

(54) Título: **Moduladores alostéricos del receptor A₃ de adenosina.**

(30) Prioridad: **26.01.2006 US 762141 P**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.06.2011

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.06.2011

(73) Titular/es: **Government of the United States of America, Represented by the Secretary, Department of Health and Human Services Office of Technology Transfer National Institutes of Health Suite 325 6011 Executive Boulevard Rockville, Maryland 20892, US Universiteit Leiden**

(72) Inventor/es: **Goblyos, Aniko; Brussee, Johannes; Ijzerman, Adriaan, P.; Gao, Zhan-Guo y Jacobson, Kenneth**

(74) Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 360 632 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

Moduladores alostéricos del receptor A₃ de adenosina

Campo de la invención

La presente invención se refiere a moduladores alostéricos del receptor A₃ de adenosina (RA₃A) y los usos de los mismos.

Técnica anterior

La siguiente es una lista de la técnica anterior que se considera que es pertinente para la descripción del estado de la técnica en el campo de la invención. El reconocimiento de estas referencias en el presente documento se realizará a veces mediante la indicación de su número entre paréntesis de la lista dada a continuación.

- 10 1. Fishman P, y col. Evidence for involvement of Wnt signaling pathway in IB-MECA mediated suppression of melanoma cells. *Oncogene*, 21: 4060-4064 (2002).
2. Fishman P, y col. Targeting the A₃ receptor adenosine for cancer therapy: inhibition of Prostate carcinoma cell growth by A₃AR agonist. *Anticancer Res.*, 23: 2077-2083 (2003).
- 15 3. Madi L, y col. A₃ receptor adenosine activation in melanoma cells: association between receptor fate and tumor growth inhibition. *J. Bio. Chem.*, 278: 42121-42130 (2003).
4. Ohana G, y col. Inhibition of primary colon carcinoma growth and liver metastasis by the A₃ receptor adenosine agonist IB-MECA. *British J. Cancer.*, 89: 1552-1558(2003).
5. Fishman P, y col. An agonist to the A₃ receptor adenosine inhibits colon carcinoma growth in mice via modulation of GSK-3 β and NF- κ B. *Oncogene*, 23: 2465-2471 (2004).
- 20 6. Solicitud de patente de Estados Unidos N° 2004016709 A1.
7. Szabo, C., y col. Suppression of macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α production and collagen-induced arthritis by adenosine receptor agonists. *British J. Pharmacology*, 125:379-387 (1998).
8. Mabley, J., y col. The adenosine A₃ receptor agonist, N⁶-(3-iodobenzyl)-adenosine -5'-N-metiluronamide, is protective in two murine models of colitis. *Europ. J. Pharmacology*, 466: 323-329 (2003).
- 25 9. Baharav, E., y col. The effect of adenosine and the A₃ receptor adenosine agonist IB-MECA on joint inflammation and autoimmune diseases models. *Inter. J. Mol. Med.* 10 (suplemento 1) página S104, resumen 499 (2002).
10. Solicitud PCT, publicación N° WO2005/0063246, titulada "Method for Treatment of Multiple Sclerosis".
11. Montesinos, M. Carmen, y col. Adenosine A_{2A} o A₃ receptors are required for inhibition of inflammation by methotrexate and its analog MX-68. *Arthritis & Rheumatism*, 48: 240-247 (2003).
- 30 12. Madi L, y col. The A₃ Adenosine Receptor is Highly Expressed in Tumor vs. Normal Cells: Potential Target for Tumor Growth Inhibition. *Clinical Cancer Research*, 10: 4472-4479 (2004).
13. Solicitud de patente de Estados Unidos, publicación N° 20040137477 A1, titulada "A₃AR as a marker for a diseased state".
- 35 14. Gessi, S. y col. Elevated expression of A₃ adenosine receptors in human colorectal cancer is reflected in peripheral blood cells *Clinical Cancer Research* 10: 5895-5901 (2004).
15. Birdsall NJ y col., Allosteric regulation of G-protein-linked receptors *biochem Soc Trans* 23: 108-111 (1995).
16. Holzgrave U y Mohr K, Allosteric modulators of ligand binding to muscarinic acetylcholine receptors, *Drug Disc Today* 3: 214-222 (1998).
- 40 17. Bruns RF y Fergus JH, Allosteric enhancement of adenosine A₁ receptor binding and function by 2-amino-3-benzoyltiophenes, *Mol Pharmacol* 38: 939-949 (1990).
18. Gao ZG y IJzerman AP, Allosteric modulation of A_{2A} adenosine receptors by amiloride analogues and sodium ions, *Biochem Pharmacol* 60: 669-676 (2000).
- 45 19. Gao ZG, Jiang Q, Jacobson KA, y IJzerman AP, Site-directed mutagenesis studies of human A_{2A} adenosine receptors. Involvement of Glu13 and His278 in ligand binding and sodium modulation, *Biochem Pharmacol* 60: 661-668 (2000).

20. Gao ZG, Kin SG, Soltysiak KA, Melman N, IJzerman AP, Jacobson KA, Selective allosteric enhancement of agonist binding and function at human A₃ Adenosine receptors by a series of imidazoquinoline derivatives, Mol Pharmacol 62: 81-89 (2002).

Antecedentes de la invención

5 La clase de receptores acoplados a proteína G (GPCR) es la familia más grande de receptores de la superficie celular que desempeñan una función crucial en la transducción de señales intracelulares. Los receptores de adenosina forman parte de la clase GPCR, que pertenece a la Clase A o subfamilia análoga a rodopsina de GPCR. La adenosina, un nucleósido de purina, produce numerosas acciones fisiológicas a través de los receptores de adenosina de la superficie celular. Estos receptores están ampliamente distribuidos a través del cuerpo y se dividen en cuatro subclases, receptores A₁, A_{2A}, A_{2B} y A₃, siendo este último el receptor más recientemente identificado.

10 El receptor A₃ de adenosina (RA₃A) está implicado en una diversidad de procesos fisiológicos. El receptor se expresa en gran medida en diversos tipos de células tumorales mientras que la expresión en los tejidos normales adyacentes es relativamente baja. La activación del receptor por un agonista sintético específico induce la modulación de las rutas de la transducción de señales aguas abajo que incluyen el Wnt y el NF- κ B, dando como resultado la inhibición del crecimiento tumoral (1-5).

15 Los estudios in vivo han mostrado que los agonistas de RA₃A inhiben el desarrollo de carcinomas de colon, próstata y de páncreas así como de melanomas y hepatomas. También se ha mostrado que los agonistas de RA₃A actúan como agentes antiinflamatorios mediante la mejora del proceso inflamatorio en diferentes modelos de autoinmunidad experimentales tales como la artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn y la esclerosis múltiple (6-10). También se ha propuesto que los receptores A_{2A} y A₃ median los efectos antiinflamatorios del metotrexato (11).

20 Los niveles de expresión del receptor A₃ de adenosina (RA₃A) están elevados en las células cancerosas cuando se compara con las células normales (12). Por consiguiente, se ha descrito el nivel de expresión de RA₃A como un medio para el diagnóstico del cáncer (13). Además, también se ha descrito que los niveles de expresión de RA₃A están elevados en las células de sangre periférica de pacientes con cáncer colorrectal (14).

25 Se ha informado que varios miembros de la clase de receptores GPCR están modulados alostéricamente (15), es decir, estos receptores tienen sitios de unión adicionales en un receptor que son distintos del sitio de unión del agonista (sitio ortostérico, receptores ortostéricamente modulados), pero que pueden modular la actividad del receptor.

30 La modulación alostérica de los GPCR se ha caracterizado más ampliamente para los receptores muscarínicos (16), y se ha sugerido que los moduladores alostéricos pueden proporcionar ventajas terapéuticas sobre los agonistas ortostéricos. Tales ventajas pueden incluir una mayor selectividad de subtipos y menos efectos secundarios (15).

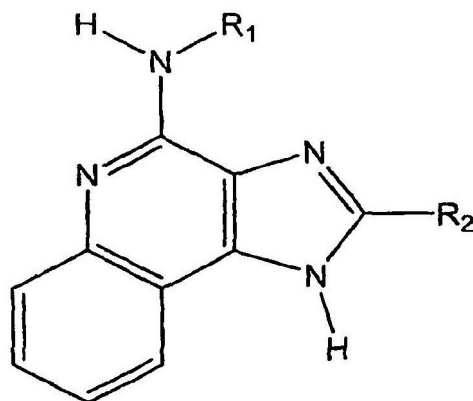
35 Los receptores de adenosina son proteínas alostéricas naturales porque las señales mediadas por agonistas por GPCR requieren un cambio en la conformación de la proteína del receptor transmitido entre dos sitios de unión topográficamente distintos, uno para el agonista y otro para la proteína G. Los sitios alostéricos en los GPCR representan dianas terapéuticas nuevas porque los moduladores alostéricos poseen una serie de ventajas sobre los ligandos ortostéricos clásicos, tales como un nivel máximo para el efecto alostérico y un potencial para una mayor selectividad de subtipo de GPCR.

40 Se ha informado la modulación alostérica de los receptores A₁ de adenosina (17). Una serie de eminobenzoiltiofenos, incluido PD81723, resultaron ser moduladores alostéricos del receptor A₁ de adenosina (19). Se ha mostrado que los compuestos son potenciadores altamente selectivos de subtipo para los receptores A₁ de adenosina (19) y mostraron menor probabilidad de causar desensibilización y regulación por defecto de los receptores que los agonistas selectivos del receptor A₁ de adenosina.

45 Se han descrito algunos derivados de 1H-imidazo-[4,5-c]quinolina como potenciadores alostéricos selectivos de los receptores A₃ de adenosina humanos (20). Específicamente, se ha mostrado que los derivados potencian la eficacia máxima y la potencia de las respuestas inducidas por agonistas a la vez que disminuyen la disociación del agonista N⁶-(4-amino-3-[¹²⁵I]yodobencil)-5'-N-metilcarboxamidoadenosina de los receptores A₃ de adenosina humanos.

Resumen de la invención

50 De acuerdo con el primer aspecto, la presente invención proporciona el uso de un modulador alostérico del receptor A₃ de adenosina (RA₃A) para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de una afección que requiere para dicho tratamiento la modulación del receptor A₃ de adenosina (RA₃A), en el que dicho MRA₃ tiene la siguiente fórmula general (I):



Fórmula I

en la que:

– **R₁** representa un arilo o alcarilo, que opcionalmente está sustituido una o más veces en el anillo aromático con un sustituyente seleccionado de alquilo C₁-C₁₀, halo, alcohol C₁-C₁₀, hidroxilo; acilo C₁-C₁₀, alcoxilo C₁-C₁₀; alcoxi C₁-C₁₀ carbonilo, alcoxi C₁-C₁₀ alquilo; tioalcoxi C₁-C₁₀; alquiléter C₁-C₁₀, amino, hidrazido, alquil C₁-C₁₀ amino, piridiltio, alquenilo C₂-C₁₀; alquinilo C₂-C₁₀, tio y alquil C₁-C₁₀ tio, acetoamido, ácido sulfónico; o dichos sustituyentes pueden formar juntos un cicloalquilo o cicloalquenilo condensado a dicho arilo, comprendiendo el cicloalquilo o el cicloalquenilo opcionalmente uno o más heteroátomos; con la condición de que dicho arilo no sea un grupo fenilo insustituido;

– **R₂** representa hidrógeno o un sustituyente seleccionado de alquilo C₁-C₁₀, alquenilo C₂-C₁₀; alquinilo C₂-C₁₀, cicloalquilo C₄-C₁₀, cicloalquenilo C₄-C₁₀, o un anillo aromático heterocíclico de cinco a siete miembros, cicloalquilo C₅-C₁₅ condensado o con puente, anillos aromáticos o heteroaromáticos bicíclicos; o alquiléter C₁-C₁₀, amino, hidrazido, alquil C₁-C₁₀ amino, alcoxi C₁-C₁₀, alcoxi C₁-C₁₀ carbonilo, alcohol C₁-C₁₀, acilo C₁-C₁₀, tioalcoxi C₁-C₁₀, piridiltio, tio y alquiltio C₁-C₁₀, acetoamido y ácido sulfónico.

y sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que dicha afección se selecciona de trastornos hiperproliferativos, trastornos proliferativos de la piel, trastornos hiperplásicos benignos, enfermedades inflamatorias y afecciones isquémicas.

La invención también proporciona un compuesto para uso en el tratamiento de una afección que requiere para dicho tratamiento la modulación del receptor A₃ de adenosina (RA₃A), siendo el compuesto un modulador alostérico del receptor A₃ (MRA₃) de adenosina, que tiene la fórmula general (I) como se definió anteriormente y estando la afección seleccionada de una de las mencionadas anteriormente.

Una composición de preferencia según la invención está en la forma adecuada para la administración oral.

También se da a conocer que el MRA₃ se utiliza para potenciar el RA₃A.

La invención también proporciona derivados de imidazoquinolina seleccionados de:

N-(4-Metil-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(31)**

N-(4-Metoxi-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(32)**

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(33)**

N-(4-Cloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(34)**

N-(3-Metanol-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(35)**

N-([3,4-c]Indan)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(36)**

N-(1H-indazol-6-il)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(37)**

N-(4-Metoxi-bencil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(38)**

N-(1H-Indol-6-il)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(39)**

N-(Bencil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(40)**

N-(Feniletil)-2-cianopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(41)**

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-cicloheptil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(42)**

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-furil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(43)**

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(44)**

5 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclohexil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(45)**

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(46)**

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-pentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(47)**.

Estos derivados de imidazoquinolina también son algunos de los MRA₃ de preferencia de acuerdo con la invención. Un derivado de imidazoquinolina específicamente de preferencia de acuerdo con la invención es N-(3,4-dicloro-fenil)-2-ciclohexil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina **(45)**

Breve descripción de los dibujos

Con el fin de comprender la invención y para ver cómo puede llevarse a cabo en la práctica, a continuación se describirá una forma de realización de preferencia, sólo a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos que se acompañan, en los que:

15 La **Figura 1** es un esquema del procedimiento sintético para la obtención de derivados de imidazoquinolina.

Las **Figuras 2A-2B** son gráficos de barras que muestran el efecto del derivado de imidazoquinolina N° 45 sobre el número de leucocitos (GBL, **Figura 2A**) y neutrófilos (**Figura 2B**) en ratones que no han recibido estímulo inmunológico previo en comparación con el control.

20 La **Figura 3** es un gráfico que muestra la reducción en la puntuación clínica después del tratamiento con el derivado de imidazoquinolina 45 en comparación con el control.

Descripción detallada de formas de realización de ejemplo

La presente invención se refiere a la modulación alostérica del receptor A₃ de adenosina (RA₃A) por medio del uso de derivados de imidazoquinolina. Se ha encontrado que los derivados de imidazoquinolina pueden aumentar de manera eficaz la eficacia del receptor, tras unirse al mismo.

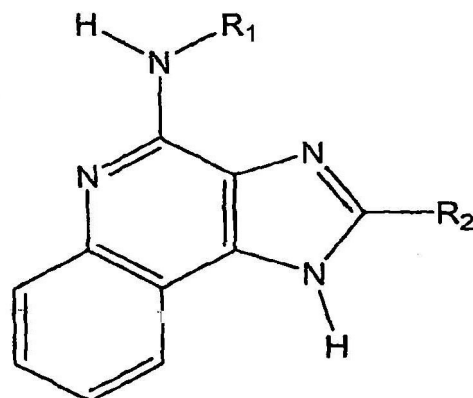
25 Según se usa en el presente documento, la expresión “modulación alostérica”, que puede utilizarse indistintamente con la expresión “regulación alostérica”, indica la regulación o modulación de una enzima, receptor u otra proteína por medio de la unión de una molécula efectora al sitio alostérico de la proteína, que es diferente del sitio de unión del ligando endógeno.

30 Los efectores que potencian la actividad de la proteína se denominan “activadores alostéricos” o “potenciadores alostéricos”.

Además, como se usa en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones, las formas “un”, “una” y “el”, “la” incluyen referencias en singular como también en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, la expresión “un derivado de imidazoquinolina” indica uno o más compuestos que tienen la misma o diferentes modificaciones químicas de la imidazoquinolina.

35 Además, según se usa en el presente documento, el término “consiste” pretende significar que los usos y composiciones de la invención incluyen el derivado de imidazoquinolina nombrado pero sin excluir otras sustancias. La expresión “que consiste esencialmente en” se usa para definir usos y composiciones que incluyen los componentes nombrados pero excluyen otros componentes que pueden tener importancia fundamental en la respuesta bioquímica resultante de la unión del derivado de imidazoquinolina al receptor. Por ejemplo, una composición que consiste esencialmente en un derivado de imidazoquinolina como ingrediente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable no incluirá o incluirá cantidades insignificantes (cantidades que tendrán un efecto no significativo sobre la actividad del receptor) de otros compuestos capaces de unirse al sitio alostérico o al sitio de unión del receptor. Se entenderá que “consiste en” excluye más que los elementos traza de otros componentes.

45 Por consiguiente, según el primer aspecto, la presente invención proporciona el uso de un modulador alostérico del receptor A₃ (MRA₃) de adenosina para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de una afección que requiere para dicho tratamiento de la modulación del receptor A₃ de adenosina (RA₃A), en el que dicho MRA₃ tiene la siguiente fórmula general (I):



Fórmula I

en la que:

– **R₁** representa un arilo o alcarilo, que opcionalmente está sustituido una o más veces en el anillo aromático con un sustituyente seleccionado de alquilo C₁-C₁₀, halo, alcanol C₁-C₁₀, hidroxilo; acilo C₁-C₁₀, alcoxilo C₁-C₁₀; alcoxi C₁-C₁₀ carbonilo, alcoxi C₁-C₁₀ alquilo; tioalcoxi C₁-C₁₀; alquiléter C₁-C₁₀, amino, hidrazido, alquil C₁-C₁₀ amino, piridiltio, alquenilo C₂-C₁₀; alquinilo C₂-C₁₀, tio y alquil C₁-C₁₀ tio, acetoamido, ácido sulfónico; o dichos sustituyentes pueden formar juntos un cicloalquilo o cicloalquenilo condensado a dicho arilo, comprendiendo el cicloalquilo o el cicloalquenilo opcionalmente uno o más heteroátomos; con la condición de que dicho arilo no sea un grupo fenilo insustituido;

– **R₂** representa hidrógeno o un sustituyente seleccionado de alquilo C₁-C₁₀, alquenilo C₂-C₁₀; alquinilo C₂-C₁₀, cicloalquilo C₄-C₁₀, cicloalquenilo C₄-C₁₀, o un anillo aromático heterocíclico de cinco a siete miembros, cicloalquilo C₅-C₁₅ condensado, anillos aromáticos o heteroaromáticos bicíclicos; o alquiléter C₁-C₁₀, amino, hidrazido, alquil C₁-C₁₀ amino, alcoxi C₁-C₁₀, alcoxi C₁-C₁₀ carbonilo, alcanol C₁-C₁₀, acilo C₁-C₁₀, tioalcoxi C₁-C₁₀, piridiltio, tio y alquiltio C₁-C₁₀, acetoamido y ácido sulfónico.

y sus sales farmacéuticamente aceptables, para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de una afección que requiere para dicho tratamiento de la modulación del receptor A₃ de adenosina (RA₃A), en el que la afección se selecciona del grupo que consiste en trastornos hiperproliferativos, trastornos proliferativos de la piel, trastornos hiperplásicos benignos, enfermedades inflamatorias y afecciones isquémicas. De preferencia, la composición es para potenciar la actividad del RA₃A.

El término "alquilo" se utiliza en el presente documento para referirse a cadenas de hidrocarburos lineales o ramificadas que tienen de 1 a 10 átomos de carbono y, de más preferencia, de 1 a 6 átomos de carbono, que incluyen, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, n-heptilo, octilo.

De manera similar, los términos "alquenilo" y "alquinilo" hacen referencia a una cadena de hidrocarburo lineal o ramificada que tiene, respectivamente, de 2 a 10, o de 3 a 10 átomos de carbono y, de más preferencia, de 2 a 6 o de 3 a 6 átomos de carbono, teniendo el alquenilo o alquinilo al menos un enlace insaturado.

Los sustituyentes de alquilo, alquenilo o alquinilo pueden estar sustituidos con un grupo que contiene heteroátomos. Por consiguiente, debe entenderse que mientras no se establezca de manera explícita, cualquiera de las modificaciones de los alquilos definidas anteriormente y que se mencionen a continuación en el presente documento, tales como alquiltio, alcoxi, acanol, alquilamina, etc., también incluyen las modificaciones correspondientes de los alquenilos o alquinilos, tales como, aqueniltio, aqueniloxi, alquenol, alquenilamina, o respectivamente, aquiniltio, alquiniloxi, alquinol, alquinilamina.

El término "arilo" hace referencia a un grupo carbocíclico aromático insaturado de 5 a 14 átomos de carbono que tiene un anillo simple (por ejemplo, fenilo) o anillos múltiples condensados (por ej., naftilo o antrilo). Los arilos de preferencia incluyen fenilo, indanilo, bencimidazol.

El término "alcarilo" se refiere a grupos - alquilenilo-arilo que tienen de preferencia de 1 a 10 átomos de carbono en el resto alquilenilo y de 6 a 14 átomos de carbono en el resto arilo. Los ejemplos de tales grupos alcarilo son bencilo, y fenetilo.

El término "arilo sustituido" se refiere a un resto aromático que está sustituido con desde 1 hasta 3 sustituyentes como se definió anteriormente.

No obstante, algunos sustituyentes de preferencia incluyen, halógeno, amino (sustituido), nitro, ciano, alquilo, alcoxi, aciloxi o alcanol, sulfonilo, sulfinilo.

El término "halo" o "halógeno" se refieren a flúor, cloro, bromo y yodo, de preferencia al cloro.

El término "acilo" se refiere a los grupos H-C(O)- así como a alquil-C(O)- .

- 5 El término "alcanol" se refiere al grupo -COH así como a alc-OH , "alc" hace referencia a una cadena alquilenos, alquilenos o alquilenos.

El término "alcoxi" se utiliza en el presente documento para referirse a -O-alquilo , que incluye, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi.

- 10 El término "alquiltio" se utiliza en el presente documento para referirse a -S-alquilo , que incluye, metiltio, etiltio, n-propiltio, isopropiltio, n-butiltio.

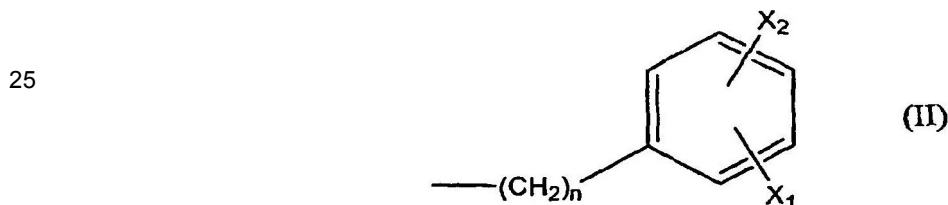
El término "alcoxialquilo" se utiliza en el presente documento para referirse a -alquil-O-alquilo , que incluye, metoximetilo, etoximetilo, n-propoximetilo, isopropoximetilo, n-butoximetilo, isobutoximetilo, t-butoximetilo.

El término "cicloalquilo" se utiliza en el presente documento para referirse a radicales hidrocarburo cíclicos que incluyen, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo.

- 15 El término "alcoxicarbonilo" se utiliza en el presente documento para referirse a -C(O)O-alquilo , que incluye, metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, propoxicarbonilo.

- 20 La expresión "cicloalquilo condensado" se utiliza en el presente documento para referirse a cualquier compuesto o sustituyente que comprende al menos dos anillos alifáticos que están conectados en un único átomo (para formar un resto espirocíclico), en dos átomos unidos mutuamente o a través de una secuencia de átomos (unidos por puentes). Los anillos condensados pueden incluir cualquier resto bicíclico, tricíclico así como restos policíclicos. Los sustituyentes bicíclicos son de preferencia de acuerdo con esta forma de realización de la invención.

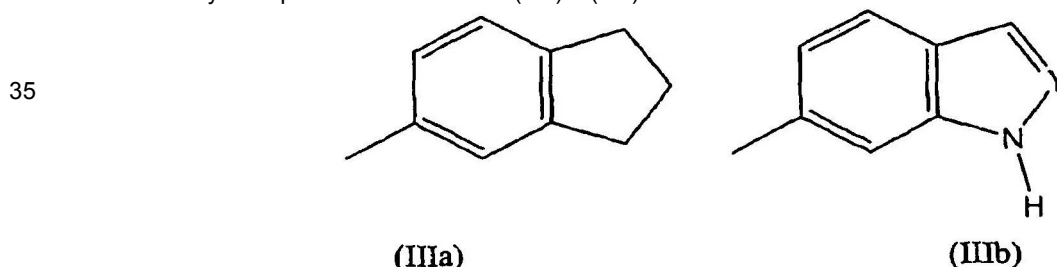
Según otra forma de realización más específica y de preferencia de la invención, el sustituyente R_1 en MRA_3 tiene la siguiente fórmula general (II):



en la que n es 0 o un número entero seleccionado de 1 a 5; de preferencia n es 0, 1 o 2; y

- 30 – X_1 y X_2 , que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan de hidrógeno, halógeno, alquilo, alcanol o alcoxi, indanilo, pirrolina, con la condición de que cuando dicho n es 0, entonces X_1 y X_2 no son hidrógeno.

En otra forma de realización de preferencia más, R_1 en dicho MRA_3 es un sustituyente que tiene la fórmula (II) anterior, en la que X_1 o X_2 , que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan de hidrógeno, cloro, metoxi, metanol o un sustituyente que tiene las fórmulas (IIIa) o (IIIb):

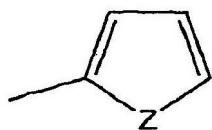


en la que Y se selecciona de N o CH.

- 40 En otra forma de realización R_2 en dicho MRA_3 se selecciona de H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_{10}$, cicloalquilo $\text{C}_4\text{-}_{10}$, la cadena de alquilo puede ser lineal o ramificada o puede formar un anillo cicloalquilo de cuatro a siete miembros.

En otra forma de realización más, R_2 en dicho MRA_3 se selecciona de un anillo aromático heterocíclico de cinco a siete miembros.

- 45 De más preferencia los sustituyentes R_2 se seleccionan de H, n-pentilo o un anillo aromático heterocíclico de cinco miembros que tiene la siguiente fórmula (IV):



(IV)

5 en la que **Z** se selecciona de O, S o NH, de preferencia O.

De acuerdo con otra forma de realización de la invención R_2 comprende anillos condensados, en particular para formar sustituyentes bicíclicos. Los ejemplos de compuestos bicíclicos que pueden utilizarse para formar los sustituyentes en el contexto de la invención comprenden biciclo[2.2.1]heptano, biciclo[4.1.0]heptano, ácido biciclo[4.1.0]heptan-3-carboxílico, ácido biciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico, ácido biciclo[4.1.0]heptan-2-carboxílico, ácido biciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico y ácido biciclo[2.2.1]heptan-2-carboxílico.

De acuerdo con otra forma de realización más, R_2 puede seleccionarse de 2-ciclohexeno y 3-ciclohexeno.

A continuación se presentan derivados de imidazoquinolina específicos de acuerdo con la invención:

N-(4-Metil-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**31**)

N-(4-Metoxi-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**32**)

15 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**33**)

N-(4-Cloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**34**)

N-(3-Metanol-fenil)-2-cianopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**35**)

N-([3,4-c]Indan)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**36**)

N-(1H-indazol-6-il)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**37**)

20 N-(4-Metoxi-bencil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**38**)

N-(1H-Indol-6-il)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**39**)

N-(Bencil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**40**)

N-(Feniletil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**41**)

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-cicloheptil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**42**)

25 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-furil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**43**)

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**44**)

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclohexil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**45**)

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**46**)

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-pentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (**47**).

30 En general, los compuestos **31** – **47** se sintetizaron como se muestra en el esquema representado en la **Fig 1**. La condensación de ácido antranílico clorhidrato (**1**) con ácido metazónico (**2**) dio como resultado ácido 2-β-nitroetilidenaminobenzoico (**3**), que se deshidrató en anhídrido acético en presencia de acetato de potasio para dar 3-nitro-4-hidroxiquinolina (**5**) [Bachman, G. B. y col. Quinoline Derivatives from 3-Nitro-4-hydroxyquinoline, J. Am. Chem. Soc., 1947, 69, 365-371]. La 3-nitro-4-hidroxiquinolina (**5**) se trató con oxicloruro de fósforo para dar 3-nitro-4-cloroquinolina (**6**). Esta fue convertida en 3-nitro-4-aminoquinolina (**7**) con amoníaco, que posteriormente se redujo por hidrogenación catalítica a 3,4-diaminoquinolina (**8**) usando paladio al 10% sobre carbono como catalizador. La siguiente etapa implicó el cierre del anillo, que se llevó a cabo de tres maneras diferentes. Por ejemplo, el Compuesto **10** se preparó por cierre del anillo del ácido carboxílico adecuado y 3,4-diaminoquinolina (**8**) en ácido polifosfórico [Young, R. C. y col. Purine Derivatives as Competitive Inhibitors of Human Erythrocyte Membrane Phosphatidylinositol 4-Kinase. J. Med. Chem. 1990, 33, 2073-2080]. El Compuesto **14** se preparó por cierre del anillo de cloruro de 2-furoilo con 3,4-diaminoquinolina (**8**) [Scammells P.J. y col. Substituted 1,3-dipropylxanthines as irreversible antagonists of A1 adenosine receptors. J. Med. Chem. 1994, 37, 2704-2712]. El Compuesto **9** se preparó por cierre del anillo de 3,4-diaminoquinolina (**8**) con ácido fórmico en trimetilortoformato. La oxidación con ácido 3-cloroperoxibenzoico dio los 5-óxidos **16-22**, que posteriormente podían convertirse con oxicloruro de fósforo en los 4-cloruros **23-29**. Finalmente, la reacción con las aminas adecuadas dio los compuestos **30-47** deseados,

respectivamente [Van Galen, P. J. M. y col. 1-H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amine: Novel Non-Xanthine Adenosine Antagonists. J. Med. Chem. 1991, 34, 1202-1206].

Sorprendentemente, se encontró al modificar el procedimiento de Van Galen utilizando irradiación con microondas (un período corto de aproximadamente 40 minutos como máximo) en la etapa final de la reacción el resultado era una reducción significativa en el tiempo de reacción requerido así como una purificación más sencilla y directa de los productos finales. Esto resultó inesperado puesto nunca antes se había pensado que fuera relevante la irradiación por microondas para esta reacción concreta.

Cabe señalar que se ha demostrado que los anteriores derivados de imidazoquinolina específicos modulan la respuesta obtenida por su unión alostérica al RA₃A.

Se ha demostrado que los derivados de imidazoquinolina de la invención tiene, por un lado, afinidad reducida, si la tienen, por los sitios de unión ortostéricos de los receptores A₁ y A_{2A}, A_{2B} de adenosina y afinidad reducida por el sitio de unión ortostérico del receptor A₃ de adenosina, y por otro lado, elevada afinidad por el sitio alostérico del receptor A₃ de adenosina. Este hallazgo fue inesperado en vista de la afinidad inespecífica de los derivados de imidazoquinolina conocidos, tales como N-fenil-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto **30**) por los sitios de unión ortostéricos así como alostéricos de estos receptores. La afinidad selectiva de los derivados dados a conocer en el presente documento resulta particularmente evidente con respecto a los compuestos **33**, **42**, **44** y **45** de las Tablas 1 y 2.

Como se muestra además en la **Tabla 2** a continuación en el presente documento, se ha demostrado que los derivados de imidazoquinolina específicos de la invención aumentan la actividad del RA₃A. Por consiguiente, de acuerdo con otra forma de realización de preferencia de la invención, la modulación comprende la potenciación de la actividad del RA₃A. En este contexto, los MA₃A se consideran activadores del RA₃A.

El término "**potenciación**" hace referencia al efecto del derivado de imidazoquinolina sobre el receptor que se muestra por un aumento de al menos el 15% en la eficacia del receptor A₃ por la unión de la imidazoquinolina al sitio alostérico del receptor y/o por una disminución en la tasa de disociación de adenosina o un agonista del RA₃A al sitio de unión ortostérico.

La invención también proporciona un compuesto de fórmula I para uso en el tratamiento de una afección que requiere para dicho tratamiento de la modulación del receptor A₃ de adenosina (RA₃A), que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad del MRA₃ según se definió anteriormente, siendo la cantidad eficaz para modular la actividad del RA₃A, en el que la afección se selecciona de las afecciones que se presentan a continuación (véase también las reivindicaciones 1 y 2).

El término "**tratamiento**" según se utiliza en el presente documento se refiere a la administración de una cantidad terapéutica del derivado de imidazoquinolina según se definió anteriormente en el presente documento, solo o en combinación con un ligando para el sitio de unión ortostérico de RA₃A, que es eficaz para lograr un efecto terapéutico, seleccionándose el efecto terapéutico de uno o más de los siguientes: mejora de los síntomas no deseados asociados con una enfermedad, prevención de la manifestación de tales síntomas antes de que se presenten, ralentización de la progresión de la enfermedad, disminución de cualquier deterioro por los síntomas, mejora del inicio de un período de remisión, disminución de los daños irreversibles causados en una fase crónica progresiva de la enfermedad, retraso de la aparición de dicha fase progresiva, disminución de la gravedad o curación de una enfermedad, mejora de la tasa de supervivencia o recuperación más rápida de una enfermedad, prevención de la presentación de una forma de la enfermedad o una combinación de dos o más de los anteriores.

La afección a tratar se selecciona del grupo que consiste en trastornos hiperproliferativos, y en particular todos los tipos de tumores sólidos; enfermedades proliferativas de la piel (por ejemplo, psoriasis); una diversidad de trastornos hiperplásicos benignos; enfermedades inflamatorias; afecciones isquémicas, tales como isquemia de miocardio o isquemia renal.

La expresión "**tumores sólidos**" se refiere a carcinomas, sarcomas, adenomas y cánceres de origen neuronal y de hecho a cualquier tipo de cáncer que no tenga origen en las células hemopoyéticas y en particular se refiere a: carcinoma, sarcoma, adenoma, carcinoma hepatocelular, hepatoblastoma, rabdomiosarcoma, carcinoma de esófago, cáncer de tiroides, ganglioblastoma, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, sinovioma, tumor de Ewing, leiomioma, rabdoteliosarcoma, carcinoma de color, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de células renales, hematoma, carcinoma de conducto biliar, melanoma, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer cervical, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependinoma, pinealoma, retinoblastoma, mieloma múltiple, carcinoma rectal, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuello, cáncer cerebral, cáncer del sistema nervioso periférico, cáncer del sistema nervioso central, neuroblastoma, cáncer de endometrio, así como las metástasis de todos los anteriores. Se ha demostrado de acuerdo con la

invención que puede encontrarse expresión aumentada de RA₃A no sólo en el sitio del tumor primario, sino también en sus metástasis.

Los trastornos hiperplásicos benignos incluyen la hiperplasia benigna de próstata (HPB), pólipos no tumorigénicos en el tracto digestivo y en el útero.

- 5 Las enfermedades inflamatorias incluyen la artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn y la esclerosis múltiple.

También se da a conocer la administración combinada del MRA₃ reivindicado de fórmula (I) en combinación con un ligando del sitio de unión ortostérico. Cuando la modulación implica la potenciación del receptor, el MRA₃ puede administrarse en combinación con adenosina o un agonista del RA₃A.

- 10 El término "**combinación**" incluye un programa de tratamiento que implica la administración de al menos el MRA₃ y el ligando para el sitio ortostérico. El programa de tratamiento puede comprender la administración simultánea o combinada de los dos principios activos, o la administración de cada uno separada por un intervalo de tiempo.

Según una forma de realización de preferencia, el MRA₃ se administra al sujeto por vía oral, aunque otras vías de administración son de igual modo aplicables, incluida la vía parenteral (intravenosa, intramuscular, intraarterial, subcutánea, intranasal, vía pulmonar (inhalación)).

- 15 El MRA₃ se utiliza y administra de preferencia en combinación con un vehículo fisiológicamente aceptable para formar una composición farmacéutica, formando también esta última parte de la invención.

- 20 La expresión "**excipiente fisiológicamente aceptable**" hace referencia a cualquier excipiente que resulte útil en la preparación de una composición o formulación farmacéutica, que sea por lo general seguro, no tóxico y que no sea indeseable desde el punto de vista biológico ni desde otro punto de vista, e incluye un excipiente que sea aceptable para uso veterinario así como para uso farmacéutico en seres humanos.

- 25 En la preparación de las composiciones de la presente invención, el derivado de imidazoquinolina generalmente se mezcla con el excipiente, se diluye por medio de un excipiente o se incluye dentro de un vehículo que puede estar en forma de una cápsula, un sobre, papel o otro contenedor. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semi-sólido o líquido, que actúa como un transportador, vehículo o medio para el derivado de imidazoquinolina. Por lo tanto, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, disoluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un medio líquido), cápsulas de gelatina dura y blanda, supositorios, disoluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles.

- 30 La cantidad eficaz del derivado de imidazoquinolina en la composición farmacéutica y en su forma farmacéutica de monodosis se puede variar o ajustar ampliamente dependiendo de la aplicación particular, la manera de introducción, la potencia del compuesto particular y la concentración deseada. La cantidad eficaz se determina normalmente en ensayos clínicos diseñados adecuadamente (estudios de determinación de dosis) y la persona experta en la técnica sabrá cómo realizar correctamente tales ensayos para determinar la cantidad eficaz. Como se sabe generalmente, una cantidad eficaz depende de una variedad de factores, que incluyen la afinidad del derivado de imidazoquinolina por el sitio de unión alostérico, de su perfil de distribución en el cuerpo, de una variedad de parámetros farmacológicos, como la semivida en el cuerpo, de los efectos secundarios no deseados, si los hubiere, de factores como la edad y sexo, etc.

- 35 La expresión "**forma farmacéutica de monodosis**" se refiere a unidades discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y para otros animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado. La cantidad de compuesto terapéuticamente activo en tal forma farmacéutica de monodosis puede variar desde aproximadamente 0,5 mg hasta 500 mg.

- 40 En este caso, la composición de la invención se administrará típicamente durante un período de tiempo prolongado en una sola dosis diaria, en varias dosis al día, como una sola dosis y en varios días, etc. El período de tratamiento se prolongará por lo general de manera proporcional a la duración del proceso de enfermedad y a la eficacia del derivado de imidazoquinolina específico y dependerá de la especie de paciente que se esté tratando.

Algunas formas de realización de ejemplo

Materiales y procedimientos

Instrumentos y análisis

- 50 La síntesis química con ayuda de microondas se realizó en un Emrys™ Optimizer con el software Emrys™ Optimizer. Para las reacciones se utilizaron viales de base redonda con un volumen de 2 a 5 ml.

Los espectros de RMN de ¹H se midieron a 200 MHz con un espectrómetro Bruker AC 200 o Bruker DMX 600. Los espectros de RMN de ¹³C se midieron a 50 o 150 MHz. Los desplazamientos químicos para ¹H y ¹³C se dan en ppm

(δ) con relación al tetrametilsilano (TMS) como patrón interno, las constantes de acoplamiento se dan en Hz. Los puntos de fusión se determinaron con un aparato de punto de fusión capilar Büchi y no están corregidos. Los análisis de combustión de los nuevos compuestos diana fueron realizados por el departamento de análisis de laboratorios Gorlaeus, de la Universidad de Leiden (Holanda) y, a menos que se indique lo contrario, están dentro del 0,4% de los valores teóricos.

Síntesis química

Ácido 2-β-nitroetilideaminobenzoico (compuesto 3)

El compuesto 3 se preparó como ya se describió anteriormente [Bachman, G. B. y col. Quinoline Derivatives from 3-Nitro-4-hidroxiquinoline, J. Am. Chem. Soc., 1947, 69, 365-371]. Brevemente, se enfrió y se agitó una disolución de NaOH (13,4 g) en agua (26,8 ml). Se añadió nitrometano (6,7 g, 5,9 ml, 110 mmol) gota a gota, manteniendo la temperatura en 25-30 °C. A continuación se calentó la mezcla hasta 40 °C y nuevamente se enfrió y se agitó mientras se añadía lentamente otra porción de nitrometano (6,7 g, 5,9 ml, 110 mmol) a 40-45 °C. Se mantuvo esta temperatura hasta que se disolvió todo el sólido y se obtuvo una disolución roja transparente. A continuación se calentó la disolución hasta 50-55 °C durante dos a cinco minutos y finalmente se enfrió hasta 30 °C, se vertió sobre hielo molido (30 g) y se acidificó con HCl concentrado (30 ml). La disolución resultante del ácido metazónico 2 se añadió inmediatamente a una disolución de ácido antranílico 1 (13,7 g, 100 mmol) y HCl concentrado (9,2 ml) en agua (200 ml). Se formó un precipitado amarillo, que se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 12-18 horas. El precipitado se retiró por filtración y se lavó con agua. La torta se cortó en finas escamas y se secó. Rendimiento: 18,40 g (89%). Pf.: 196 °C - 197 °C. RMN de ¹H (DMSO-d₆): δ 6,76 (d, 2H, J = 6,6 Hz, CH₂); 7,24 (t, 1H, J = 6,6 Hz, N=CH); 7,54-7,82 (m, 2H, Ar); 8,02-8,12 (m, 2H, Ar); 12,09 (s, 1H, COOH).

3-Nitro-4-hidroxiquinolina (compuesto 5)

El compuesto 5 se preparó como ya se describió anteriormente [Bachman, G. B. y col. Quinoline Derivatives from 3-Nitro-4-hidroxiquinoline, J. Am. Chem. Soc., 1947, 69, 365-371]. Brevemente, se colocó una mezcla del ácido 2-β-nitroetilideaminobenzoico 3 (10,4 g, 50 mmol) y anhídrido acético de grado técnico (50 ml) en un matraz de 3 bocas de al menos 100 ml de capacidad equipado con termómetro, agitador magnético y condensador de reflujo. Se agitó y se calentó hasta 100-105 °C hasta que se obtuvo una disolución transparente. A continuación se interrumpió el calentamiento y se añadió rápidamente acetato de potasio anhidro (5,0 g, 51 mmol) con agitación. La temperatura aumentó espontáneamente hasta 134-138 °C. Cuando comenzó a descender (de cinco a diez minutos) se aplicó calentamiento externo y la mezcla se sometió a reflujo durante quince minutos con agitación vigorosa, a continuación se dejó enfriar lentamente hasta temperatura ambiente. El producto se recogió por filtración y se lavó con ácido acético glacial hasta que los lavados resultaron incoloros. A continuación se suspendió en agua (50 ml) y se secó en vacío a 80 °C. Rendimiento: 6,93 g (49%). Pf.: >300 °C. RMN de ¹H (DMSO-d₆): δ 7,54 (t, 1H, J = 7,3 Hz, Ar); 7,76-7,86 (m, 2H, Ar); 8,27 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 9,21 (s, 1H, Ar).

3-Nitro-4-cloroquinolina (compuesto 6)

El compuesto 6 se preparó como ya se describió anteriormente [Van Galen, P. J. M. y col. 1-H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amines: Novel Non-Xanthine Adenosine Antagonists. J. Med. Chem. 1991, 34, 1202-1206]. Brevemente, se añadió 3-nitro-4-hidroxiquinolina 5 (5,7 g, 30 mmol) al oxiclورو de fósforo (70,0 g, 41,2 ml, 450 mmol) con agitación. La mezcla se sometió a reflujo durante 30 minutos. Tras enfriar se vertió el disolvente sobre hielo molido con agitación. Tras 1 hora, se sometió el sólido que se había formado a filtración, se lavó con agua fría y se disolvió en acetato de etilo. La disolución se extrajo con NaOH helado (1 M) hasta lograr un pH = 8-9 y se secó sobre MgSO₄. Se evaporó el disolvente y se secó el residuo. Rendimiento: 5,05 g (81%). Pf.: 118 °C - 119 °C. RMN de ¹H (DMSO-d₆): δ 7,94-8,11 (m, 2H, Ar); 8,25 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 8,47 (d, 1H, J = 9,5 Hz, Ar); 9,42 (s, 1H, Ar).

3-Nitro-4-aminoquinolina (compuesto 7)

El compuesto 7 se preparó como ya se describió anteriormente [Van Galen, P. J. M. y col. (1991) *ibid.*]. Brevemente, se hizo pasar amoníaco gas a través de una disolución de 3-nitro-4-cloroquinolina 6 (7,0 g, 30 mmol) en tolueno (95 ml) y propanol (15 ml) con agitación hasta que se formó el producto. Durante el transcurso de la reacción, la temperatura aumentó gradualmente hasta 70 °C. Tras enfriar, se separó el sólido por medio de filtración y se lavó satisfactoriamente con tolueno/2-propanol (70:30), éter y agua fría hasta que no se detectó más Cl⁻. El sólido se retiró por filtración y se secó a 80 °C. Rendimiento: 6,1 g (95%). Pf.: 255-257 °C. RMN de ¹H (DMSO-d₆): δ 7,50-7,66 (m, 1H, Ar); 7,81-7,92 (m, 2H, Ar); 8,59 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 9,03 (s ancho, 2H, NH₂); 9,18 (s, 1H, Ar).

3,4-Diaminoquinolina (compuesto 8)

El compuesto 8 se preparó como ya se describió anteriormente [Van Galen, P. J. M. y col. (1991) *ibid.*]. Brevemente, a una mezcla de 3-nitro-4-aminoquinolina 7 (3,2 g, 20 mmol) en etanol absoluto (60 ml) se le añadió paladio al 10% sobre carbón activado (0,17 g). La mezcla se hidrogenó bajo 2,5-3,5 atm de presión hasta que se formó el producto y posteriormente se filtró sobre Hyflo. Se evaporó el filtrado y el residuo se solidificó gradualmente y se secó en vacío. Rendimiento: 2,66 g (98%). Pf.: 183-185 °C. EM (IEV) m/z 161,0 (M + 1)⁺. RMN de ¹H (DMSO-d₆): δ 4,73 (s

ancho, 2H, NH₂); 5,88 (s, 2H, NH₂); 7,16-7,37 (m, 2H, Ar); 7,64-7,70 (m, 1H, Ar); 7,98-8,03 (m, 1H, Ar); 8,22 (s, 1H, Ar).

Procedimiento general de las 1H-imidazo[4,5-c]quinolinas (Compuestos 9-13)

Las 1H-imidazo[4,5-c]quinolinas se prepararon como ya se describió anteriormente [Young, R. C. y col. Purine Derivatives as Competitive Inhibitors of Human Erythrocyte Membrane Phosphatidylinositol 4-Kinase. J. Med. Chem. 1990, 33, 2073-2080]. Brevemente, se añadió ácido polifosfórico (1,3 ml/mmol) a 3,4-diaminoquinolina **8** y al ácido carboxílico adecuado (1,2 eq.). La mezcla se agitó a 100 °C durante 5 horas. A continuación se enfrió hasta 0 °C y se añadió NH₄OH lentamente hasta pH = 8-9. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 veces 15 ml), a continuación se lavó con agua, salmuera y nuevamente con agua y se secó sobre MgSO₄. Se evaporó el disolvente y se secó el residuo.

1H-Imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 9)

El compuesto **9** se preparó como ya se describió anteriormente [Van Galen, P. J. M. y col. (1991) *ibid.*]. Brevemente, el compuesto **8** (1,4 g, 8,71 mmol) se calentó bajo agitación con ortoformato de trimetilo (23,8 ml). A una disolución transparente se le añadió cuidadosamente ácido fórmico (0,45 ml) con lo cual precipitó un sólido. La mezcla se sometió a reflujo durante 1 hora. Tras enfriar hasta 40 °C, se añadió éter (3,1 ml) y etanol absoluto (0,36 ml) y la mezcla se enfrió sobre hielo durante 1 hora. El sólido que se formó se recogió por filtración, se lavó con éter y posteriormente con acetato de etilo y se secó. Rendimiento: 0,44 g (81%). Pf.: 263-265 °C. RMN de ¹H (DMSO-d₆): δ 7,67-7,72 (m, 2H, Ar); 8,18 (s, 1H, Ar); 8,29-8,34 (m, 1H, Ar); 8,61-8,65 (m, 1H, Ar); 8,93 (s, 1H, Ar).

2-Ciclobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 10)

Escala: 6,2 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era acetato de etilo:éter de petróleo = 1:1. Rendimiento: 0,88 g (63%). Pf.: 191-192 °C. EM (IEV) *m/z* 223,6 (M + 1)⁺. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 1,95-2,32 (m, 2H, CH₂); 2,44-2,66 (m, 4H, 2 CH₂); 3,82-4,01 (m, 1H, CH); 7,58-7,71 (m, 2H, Ar); 8,01-8,11 (m, 1H, Ar); 8,32-8,38 (m, 1H, Ar); 9,01 (s, 1H, Ar).

2-Ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 11).

Escala: 4,0 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 5% en diclorometano. Rendimiento: 0,77 g (81%). Pf.: 192 °C. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,70-1,88 (m, 6H, 3 CH₂); 2,03-2,22 (m, 2H, CH₂); 3,39-3,56 (m, 1H, CH); 7,27 (s, 1H, Ar); 7,53-7,66 (m, 2H, Ar); 8,21 (d, 2H, J = 8,0 Hz, Ar); 9,18 (s, 1H, NH).

2-Ciclohexil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 12).

Escala: 6,3 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 1-5% en diclorometano. Rendimiento: 0,60 g (38%). Pf.: 205-206 °C. EM (IEV) *m/z* 251,7 (M + 1)⁺. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,12-1,39 (m, 4H, 2 CH₂); 1,66-1,77 (m, 4H, 2 CH₂); 2,16-2,21 (m, 2H, CH₂); 3,01-3,13 (m, 1H, CH); 7,41-7,60 (m, 2H, Ar); 8,19 (d, 1H, J = 8,8 Hz, Ar); 8,31 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 9,16 (s, 1H, Ar).

2-Cicloheptil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 13).

Escala: 6,3 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 1-5% en diclorometano. Rendimiento: 0,45 g (27%). Pf.: 225-226 °C. EM (IEV) *m/z* 266,3 (M + 1)⁺. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,25-1,24 (m, 12H, 6 CH₂); 3,20-3,32 (m, 1H, CH); 7,42-7,62 (m, 2H, Ar); 8,20 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 8,33 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 9,19 (s, 1H, Ar).

2-Furil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 14)

Se añadió gota a gota cloruro de 2-furoilo (1,1 g, 0,8 ml, 8,1 mmol) en diclorometano seco (15 ml) a una disolución de 3,4-diaminoquinolina **8** (1,0 g, 6,0 mmol) en piridina seca (6,2 ml) bajo nitrógeno. La disolución se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se añadió agua (15 ml) para extinguir la reacción y el disolvente se evaporó bajo presión reducida dando un sólido naranja. Este sólido bruto en NaOH 2N (15 ml) se sometió a reflujo durante 2 horas. Tras enfriar sobre hielo, se ajustó el pH hasta 7 usando HCl concentrado. El sólido que precipitó se recogió por filtración y se lavó con agua y éter. A continuación se extrajo con acetato de etilo (3 veces 15 ml) y se lavó con agua (3 veces 15 ml) y se secó sobre MgSO₄. Se evaporó el disolvente y se secó el residuo. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 1-5% en diclorometano. Rendimiento: 0,62 g (44%). Pf.: 236-238 °C. RMN de ¹H (DMSO-d₆): δ 6,74 (s, 1H, Ar); 7,35 (d, 1H, J = 3,7 Hz, Ar); 7,69-7,73 (m, 2H, Ar); 7,83 (s, 1H, Ar); 8,09 (s, 1H, Ar); 8,46 (s, 1H, Ar); 9,09 (s, 1H, Ar). RMN de ¹³C (DMSO-d₆): δ 111,4, 112,6, 120,7, 121,8, 126,5, 127,2, 129,5, 138,2, 143,6, 144,3, 145,1, 147,2, 155,4.

2-Pentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 15).

Se preparó como se describió para el compuesto de furilo (**14**) usando cloruro de hexanoilo (1,75 g, 13 mmol). El eluyente para la cromatografía en columna era acetato de etilo:éter de petróleo 1:4 hasta 4:1. Rendimiento: 0,85 g (41%); pf 142-143 °C. RMN de ¹H (DMSO-d₆): δ 0,91 (t, 3H, J = 6, CH₃), 1,37-1,39 (m, 4H, 2 x CH₂), 1,83-1,91 (m,

2H, CH₂), 1,93-2,30 (t, 2H, *J* = 8, CH₂), 7,64-7,69 (m, 2H, Ar); 8,08-8,13 (m, 1H, Ar); 8,28-8,42 (m, 1, Ar); 9,12. (s, 1H, Ar).

Procedimiento general de 1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-5-óxido sustituidos en posición 2 (compuestos 16-22)

- 5 El material de partida (**9-15**) se disolvió casi por completo (con calor) en cloroformo (2,5 ml/mmol), diclorometano (2,5 ml/mmol) y metanol (0,25 ml/mmol). Se añadió ácido 3-cloroperoxibenzoico (2,5 eq.) y la disolución se sometió a reflujo. Tras 30 minutos, se añadió Na₂CO₃ (0,04 g/mmol) y la mezcla se sometió a reflujo durante una hora más. La mezcla de reacción se enfrió sobre un baño de hielo y se evaporó el disolvente. Fue necesario realizar cromatografía en columna para la purificación y para eliminar el ácido 3-cloroperoxibenzoico.

1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-5-óxido (compuesto 16)

- 10 Escala: 8,3 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 2% en diclorometano. Rendimiento: 0,55 g (36%). Pf.: 290-295 °C. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 7,41-7,61 (m, 1H, Ar); 7,87-7,96 (m, 2H, Ar); 8,45-8,53 (m, 1H, Ar); 8,75-8,80 (m, 1H, Ar); 9,16 (s, 1H, Ar).

2-Ciclobutil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-5-óxido (compuesto 17).

- 15 Escala: 1,8 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 2% (aumentado hasta el 6%) en diclorometano. Rendimiento: 0,18 g (42%). Pf.: 123-130 °C. RMN de ¹H (DMSO-*d*₆): δ 1,95-2,22 (m, 2H, CH₂); 2,38-2,59 (m, 4H, 2CH₂); 3,41-3,93 (m, 1H, CH); 7,72-7,93 (m, 2H, Ar); 8,39-8,41 (m, 1H, Ar); 8,65-8,99 (m, 1H, Ar); 11,52 (s, 1H, Ar).

2-Ciclopentil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-5-óxido (compuesto 18).

- 20 Escala: 0,8 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 5% en diclorometano. Rendimiento: 0,19 g (95%). Pf.: 155-157 °C. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 1,74-2,13 (m, 6H, 3 CH₂); 2,18-2,39 (m, 2H, CH₂); 3,38-3,54 (m, 1H, CH); 7,29-7,42 (m, 2H, Ar); 7,83-7,92 (m, 2H, Ar); 9,03 (s, 1H, Ar).

2-Ciclohexil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-5-óxido (compuesto 9).

- 25 Escala: 2,4 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 5-10% en diclorometano. Rendimiento: 0,59 g (92%). Pf.: 160-165 °C. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 1,17-2,19 (m, 10H, 5 CH₂); 2,97-3,12 (m, 1H, CH); 7,79-7,93 (m, 2H, Ar); 8,42-8,46 (m, 1H, Ar); 8,69-8,77 (m, 1H, Ar); 9,03 (s, 1H, Ar). RMN de ¹³C (CD₃OD): δ 26,6, 26,8, 32,5, 39,7, 120,8, 123,1, 128,6, 129,9, 130,1, 130,3, 132,5, 138,0, 142,6, 164,1, 166,0, 170,9, 173,8.

2-Cicloheptil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-5-óxido (compuesto 20).

- 30 Escala: 2,0 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 3-8% en diclorometano. Rendimiento: 0,22 g (39%). Pf.: 115-120 °C. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 1,67-2,11 (m, 12H, 6 CH₂); 3,05-3,31 (m, 1H, CH); 7,78-7,90 (m, 2H, Ar); 8,28-8,48 (m, 1H, Ar); 8,62-8,73 (m, 1H, Ar); 9,00 (s, 1H, Ar). RMN de ¹³C (CD₃OD): δ 25,0, 26,4, 32,1, 39,2, 117,4, 118,2, 120,6, 126,2, 127,4, 127,8, 128,2, 130,0, 130,6, 132,3, 132,6, 135,2, 162,7, 166,5.

2-Furil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-5-óxido (compuesto 21).

- 35 Escala: 2,2 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 1-10% en diclorometano. Rendimiento: 0,36 g (66%). Pf.: >280 °C. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 6,74-6,77 (m, 1H, Ar); 7,37-7,47 (m, 2H, Ar); 7,87-7,96 (m, 2H, Ar); 8,55-8,60 (m, 1H, Ar); 8,74-8,79 (m, 1H, Ar); 9,07 (s, 1H, Ar).

2-Pentil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-5-óxido (compuesto 22)

- 40 Escala: 3,34 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 1-5% en diclorometano. Rendimiento: 0,12 g (14%). RMN de ¹H (CD₃OD): δ 0,88-0,94 (t, 3H, CH₃, *J* = 6 Hz); 1,26-1,39 (m, 4H, 2 x CH₂); 1,81-1,88 (m, 2H, CH₂), 2,88-2,95 (t, 2H, CH₂, *J* = 8 Hz); 7,44-7,58 (m, 2H, Ar); 7,90-8,09 (m, 2H, Ar); 9,03 (s, 1H, Ar).

Procedimiento general de 4-cloro-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolina (compuestos 23-29)

- 45 Una mezcla de tolueno (0,45 ml/mmol) y dimetilformamida (0,90 ml/mmol) se enfrió en un baño de hielo y se añadió oxiclóruo de fósforo (2,6 eq.). Después de 10 minutos se añadió el 1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-5-óxido adecuado y la disolución se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Posteriormente se calentó la disolución hasta 100 °C en un baño de vapor durante 30 minutos. Tras enfriar, se evaporó el disolvente y el jarabe resultante se vertió sobre hielo molido, con agitación. A continuación, se calentó la mezcla hasta temperatura ambiente y se ajustó cuidadosamente hasta pH 6-7 con NaHCO₃ sólido. Tras 2 horas, el sólido que se había formado se recogió por filtración, se lavó con agua y diisopropiléter y posteriormente se secó.

4-Cloro-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 23)

Escala: 3,5 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 2% en diclorometano. Rendimiento: 0,31 g (44%). Pf.: 257-258 °C. EM (IEV) m/z 203,8 ($M + 1$)⁺, 206,0 ($M + 3$)⁺. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 8,46-8,56 (m, 2H, Ar); 8,82-8,87 (m, 1H, Ar); 9,14-9,19 (m, 1H, Ar); 9,35 (s, 1H, Ar); 10,16 (s ancho, 1H, NH).

5 **4-Cloro-2-ciclobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 24).**

Escala: 0,6 mmol. Rendimiento: 0,16 g (99%). Pf.: 142-145 °C. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 2,06-2,24 (m, 2H, CH₂); 2,52-2,66 (m, 4H, 2 CH₂); 3,87-4,00 (m, 1H, CH); 7,56-7,68 (m, 2H, Ar); 8,02-8,06 (m, 1H, Ar); 8,30-8,32 (m, 1H, Ar).

4-Cloro-2-ciclopropil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 25).

10 Escala: 12,7 mmol. Rendimiento: 2,65 g (75%). Pf.: > 265 °C. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 1,81-2,22 (m, 6H, 3 CH₂); 2,25-2,31 (m, 2H, CH₂); 3,40-3,51 (m, 1H, CH); 7,63-7,74 (m, 2H, Ar); 8,00-8,03 (m, 1H, Ar); 8,33-8,38 (m, 1H, Ar).

4-Cloro-2-ciclohexil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 26).

Escala: 2,2 mmol. Rendimiento: 0,65 g (97%). Pf.: 245-250 °C. EM (IEV) m/z 285,9 ($M + 1$)⁺, 288,0 ($M + 3$)⁺. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 1,37-2,17 (m, 10H, 5 CH₂); 3,03-3,18 (m, 1H, CH); 7,68-7,71 (m, 2H, Ar); 8,00-8,08 (m, 1H, Ar); 8,32-8,40 (m, 1H, Ar).

15 **4-Cloro-2-cicloheptil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 27).**

Escala: 0,8 mmol. Rendimiento: 0,38 g (86%). Pf.: 195-200 °C. EM (IEV) m/z 299,9 ($M + 1$)⁺, 301,7 ($M + 3$)⁺. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 1,73-2,13 (m, 12H, 6 CH₂); 3,21-3,40 (m, 1H, CH); 7,63-7,79 (m, 2H, Ar); 7,97-8,05 (m, 1H, Ar); 8,29-8,38 (m, 1H, Ar).

4-Cloro-2-furil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 28).

20 Escala: 1,4 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era éter de petróleo:acetato de etilo en proporción 75:25. Rendimiento: 0,1 g (26%). Pf.: 235-238 °C. EM (IEV) m/z 269,8 ($M + 1$)⁺, 272,1 ($M + 3$)⁺. RMN de ¹H (CD₃OD): 6,72-6,75 (m, 1H, Ar); 7,40-7,43 (m, 1H, Ar); 7,63-7,75 (m, 2H, Ar); 7,83-7,88 (m, 1H, Ar); 7,98-8,01 (m, 1H, Ar); 8,36-8,40 (m, 1H, Ar).

4-Cloro-2-pentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (compuesto 29).

25 Escala: 0,45 mmol. Rendimiento: 0,052 g (41%); pf 236-237 °C; EM (IEV) m/z 273,9 ($M + 1$)⁺, RMN de ¹H (CDCl₃): δ 0,65-0,72 (t, 3H, CH₃, $J = 6$ Hz); 1,14-1,21 (m, 4H, 2 X CH₂); 1,61-1,72 (m, 2H, CH₂); 2,76-2,84 (t, 2H, CH₂, $J = 8$ Hz); 7,33-7,47 (m, 2H, Ar); 7,76-7,80 (m, 1H, Ar); 7,95-8,15 (m, 1H, Ar).

Procedimiento general de las 1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-aminas N-sustituidas (compuestos 30-47)

30 Estos compuestos se prepararon por medios químicos con ayuda de microondas. Se añadió etanol absoluto (2,5-3,0 ml) a la 4-cloro-1H-imidazo[4,5-c]quinolina adecuada y a la anilina adecuada (2-3 eq.). Condiciones: 60 segundos de agitación previa, temperatura 120 °C, tiempo 2400 segundos, absorción normal de la muestra, tiempo de retención fijo. Una vez completada la reacción, se evaporó el disolvente y el producto restante se purificó por medio de cromatografía en columna y se recrystalizó.

N-Fenil-2-ciclopropil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 30).

35 El compuesto 30 se preparó como ya se describió anteriormente [Van Galen P.J.M. y col. (1991) *ibid.*].

Escala: 0,8 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 2,5-10% en diclorometano. Rendimiento: 40 mg (15%). El producto se recrystalizó a partir de metanol. Pf.: 155-157 °C. EM (IEV) m/z 328,9 ($M + 1$)⁺. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,80-2,27 (m, 8H, 4 CH₂); 3,31-3,55 (m, 1H, CH); 7,00-7,09 (m, 1H, Ar); 7,15-7,29 (m, 4H, Ar); 7,49-7,56 (m, 1H, Ar); 7,78 (d, 1H, $J = 6,6$ Hz, Ar); 7,96-8,09 (m, 2H, Ar). RMN de ¹³C 750 MHz (CDCl₃): δ 24,9, 31,7, 38,9, 114,7, 117,9, 118,1, 118,3, 119,2, 119,8, 120,9, 121,9, 123,6, 124,1, 126,2, 126,4, 126,5, 126,7, 128,1, 128,2, 128,9, 133,5, 140,5, 143,3, 146,6, 156,3, 159,1. Anal. (C₂₁H₂₀N₄·0,7 H₂O) C, H, N.

N-(4-Metil-fenil)-2-ciclopropil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 31).

45 Escala: 0,7 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 1% en diclorometano. Rendimiento: 80 mg (35%). El producto se recrystalizó a partir de metanol. Pf.: 125-126 °C. EM (IEV) m/z 342,7 ($M + 1$)⁺, 343,8 ($M + 2$)⁺. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,55-2,15 (m, 8H, 4 CH₂); 2,24 (s, 3H, CH₃); 3,21-3,33 (m, 1H, CH); 7,07 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, Ar); 7,21-7,28 (m, 1H, Ar); 7,46 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar); 7,74-7,87 (m, 4H, Ar). RMN de ¹³C 400 MHz (CDCl₃): δ 20,7, 24,4, 29,7, 32,4, 39,6, 62,5, 115,8, 120,7, 122,6, 126,7, 127,3, 129,4, 132,4, 137,1, 143,8, 147,5, 157,1. Anal. (C₂₂H₂₂N₄·1,7 H₂O) C, H, N.

N-(4-Metoxi-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 32)

5 Escala: 0,7 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 1% en diclorometano. Rendimiento: 90 mg (38%). El producto se recrystalizó a partir de metanol. Pf.: 106-107 °C; EM (IEV) m/z 358,8 (M + 1)⁺. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,71-2,29 (m, 8H, 4 CH₂); 3,22-3,38 (m, 1H, CH); 3,65 (s, 3H, OCH₃); 6,80-6,84 (m, 2H, Ar); 7,26 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 7,46 (t, 1H, J = 7,3 Hz, Ar); 7,76-7,93 (m, 4H, Ar). RMN de ¹³C 400 MHz (CDCl₃): δ 25,5, 32,5, 39,6, 53,4, 55,4, 114,2, 114,8, 116,5, 120,4, 122,1, 122,4, 127,0, 127,2, 133,1, 144,0, 147,8, 155,4, 156,7. Anal. (C₂₂H₂₂N₄O·CH₃OH)C, H, N.

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 33).

10 Escala: 0,7 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era diclorometano. Se incrementó la polaridad lentamente con metanol hasta 2%. Rendimiento: 150 mg (54%). El producto se recrystalizó a partir de metanol. Pf.: 114-115 °C. EM (IEV) m/z 396,5 (M + 1)⁺, 398,5 (M + 2)⁺, 400,5 (M + 3)⁺. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,68-2,29 (m, 8H, 4 CH₂); 3,29-3,43 (m, 1H, CH); 7,33 (t, 2H, J = 8,8 Hz, Ar); 7,54 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 7,78 (t, 2H, J = 8,0 Hz, Ar); 7,99 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 8,44 (s, 1H, Ar); 9,62 (s ancho, 1H, NH). Anal. (C₂₁H₁₈Cl₂N₄·2,2 H₂O) C, H, N.

N-(4-Cloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 34).

15 Escala: 1,0 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 0,5-2% en diclorometano. Rendimiento: 120 mg (33%). El producto se recrystalizó a partir de metanol. Pf.: 189-190 °C. EM (IEV) m/z 362,7 (M + 1)⁺, 365,0 (M + 3)⁺. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,67-2,25 (m, 8H, 4 CH₂); 3,28-3,43 (m, 1H, CH); 7,27-7,39 (m, 3H, Ar); 7,49-7,59 (m, 1H, Ar); 7,71-7,79 (m, 1H, Ar); 7,97 (t, 3H, J = 8,0 Hz, Ar); 8,46 (s ancho, 1H, NH). Anal. (C₂₁H₁₉ClN₄·1,5 H₂O) C, H, N.

N-(3-Metanol-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 35).

25 Escala: 0,4 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era acetato de etilo:éter de petróleo = 50:50, posteriormente se incrementó hasta 70:30, respectivamente. Rendimiento: 33 mg (25%). El producto se recrystalizó a partir de metanol dando cristales blancuzcos. Pf.: 228-230 °C. EM (IEV) m/z 359,0 (M + 1)⁺. RMN de ¹H (CDCl₃/CD₃OD): δ 1,63-2,16 (m, 8H, 4 CH₂); 3,23-3,24 (m, 1H, CH); 3,95-4,05 (q, 2H, J = 7,3 Hz, CH₂); 6,93 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 7,18-7,28 (m, 3H, Ar); 7,39 (t, 1H, J = 7,3 Hz, Ar); 7,72-7,92 (m, 3H, Ar, OH). Anal. (C₂₂H₂₂N₄O·0,5 CH₃OH) C, H, N.

N-([3,4-c]Indan)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 36).

30 Escala: 0,4 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 1% en diclorometano. Rendimiento: 120 mg (81%). El producto se recrystalizó a partir de metanol dando cristales marrón claro. Pf.: 142-145 °C. EM (IEV) m/z 369,0 (M + 1)⁺. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 1,15-1,34 (m, 2H, CH₂); 1,65-2,19 (m, 8H, 4 CH₂); 2,76 (t, 4H, J = 7,3 Hz, 2 CH₂); 3,24-3,27 (m, 1H, CH); 7,06 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 7,22-7,29 (m, 1H, Ar); 7,40-7,49 (m, 2H, Ar); 7,73 (s, 1H, Ar); 7,85-7,96 (m, 2H, Ar). Anal. (C₂₄H₂₄N₄·1,2 H₂O) C, H, N.

N-(1H-indazol-6-il)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 37).

35 Escala: 0,4 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era acetato de etilo:éter de petróleo = 80:20. Rendimiento: 110 mg (74%). El producto se recrystalizó a partir de acetato de etilo:éter de petróleo = 50:50 dando cristales blancuzcos. Pf.: 235-236 °C. EM (IEV) m/z 368,8 (M + 1)⁺. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 1,70-2,38 (m, 8H, 4 CH₂); 3,23-3,50 (m, 1H, CH); 7,31-7,38 (m, 1H, Ar); 7,47-7,60 (m, 2H, Ar); 7,71-7,75 (m, 1H, Ar); 7,82-7,86 (m, 1H, Ar); 8,01-8,08 (m, 2H, Ar); 8,68 (s, 1H, Ar). Anal. (C₂₂H₂₀N₆·1,5 H₂O) C, H, N.

N-(4-Metoxi-bencil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 38).

40 Escala: 0,4 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era diisopropiléter. Rendimiento: 33 mg (22%). El producto se recrystalizó a partir de metanol dando cristales blancos. Pf.: 245-247 °C. EM (IEV) m/z 372,9 (M + 1)⁺. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 1,72-2,30 (m, 8H, 4CH₂); 3,26-3,41 (m, 1H, CH); 3,77 (s, 3H, OCH₃); 4,76 (s, 2H, CH₂); 6,87-6,92 (m, 2H, Ar); 7,23-7,49 (m, 4H, Ar); 7,78 (d, 1H, J = 8,8 Hz, Ar); 8,00 (d, 1H, J = 7,3 Hz, Ar). Anal. (C₂₃H₂₄N₄O) C, H, N.

N-(1H-Indol-6-il)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 39).

50 Escala: 0,4 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era acetato de etilo:éter de petróleo = 20:80, se aumentó hasta 30:70. Rendimiento: 30 mg (20%). El producto se recrystalizó a partir de metanol dando cristales de color gris claro. Pf.: 260-261 °C. EM (IEV) m/z 368,0 (M + 1)⁺. RMN de ¹H (CD₃OD): δ 1,79-2,29 (m, 8H, 4 CH₂); 3,30-3,46 (m, 1H, CH); 6,45 (d, 1H, J = 2,9 Hz, Ar); 7,23-7,50 (m, 5H, Ar); 7,77 (d, 1H, J = 7,8 Hz, Ar); 8,01 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar); 8,20 (s, 1H, Ar). Anal. (C₂₃H₂₁N₅) C, H, N.

N-(Bencil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 40).

Escala: 0,8 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 2% en diclorometano. Rendimiento: 0,07 mg (25%). El producto resultó aceitoso. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,50-2,11 (m, 8H, 4 CH_2); 3,14-3,31 (m, 1H, CH); 4,85 (s, 2H, CH_2); 6,25 (s ancho, 2H, 2 NH); 7,08-7,20 (m, 6H, Ar); 7,38 (t, 1H, $J = 8,8$ Hz, Ar); 7,87 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, Ar); 8,09 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, Ar). RMN de ^{13}C (CDCl_3): δ 25,3, 32,3, 39,7, 45,4, 116,1, 121,3, 122,2, 125,3, 127,0, 127,4, 128,1, 138,1, 143,3, 144,0, 149,7, 157,4, 160,6. Anal. ($\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_4$) C, H, N.

N-(Feniletil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 41).

Escala: 0,8 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era metanol al 1% (se aumentó hasta el 4%) en diclorometano. Rendimiento: 160 mg (56%). El producto se recrystalizó a partir de metanol absoluto dando cristales blancuzcos: pf 95-97 °C; EM (IEV) m/z 356,9 ($M + 1$)⁺, 357,7 ($M + 2$)⁺, 359,0 ($M + 3$)⁺. RMN de ^1H (CD_3OD): δ 1,75-2,21 (m, 8H, 4 CH_2); 3,02 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz, CH_2); 3,30-3,38 (m, 1H, CH); 3,89 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz, CH_2); 7,15-7,45 (m, 7H, Ar); 7,76 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, Ar); 7,97 (d, 1H, $J = 6,3$ Hz, Ar). RMN de ^{13}C (CD_3OD): δ 27,6, 29,0, 34,9, 41,6, 116,8, 119,1, 121,1, 121,6, 124,2, 125,1, 128,2, 128,3, 131,2, 133,3, 141,7, 144,4, 147,3, 160,1. Anal. ($\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_4$) C, H, N.

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-cicloheptil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 42).

Escala: 0,8 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era acetato de etilo:éter de petróleo = 70:90, se aumentó hasta acetato de etilo al 100%. Rendimiento: 164 mg (50%). El producto se recrystalizó a partir de metanol dando cristales blancuzcos. Pf.: 236-238 °C. EM (IEV) m/z 424,9 ($M + 1$)⁺, 426,8 ($M + 2$)⁺, 428,1 ($M + 3$)⁺. RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 9/1, v/v): δ 1,62-2,00 (m, 10H, 5 CH_2); 2,17-2,24 (m, 2H, CH_2); 3,09-3,23 (m, 1H, CH); 7,32-7,39 (m, 2H, Ar); 7,50-7,58 (m, 1H, Ar); 7,71-7,85 (m, 2H, Ar); 7,98 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, Ar); 8,41 (s, 1H, Ar). RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$): δ 26,2, 27,7, 33,4, 40,2, 115,2, 119,3, 120,2, 121,0, 122,0, 122,9, 127,0, 128,3, 130,1, 130,6, 134,2, 141,6, 142,7, 146,8, 158,6. Anal. ($\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_4 \cdot 1,3 \text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-furil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 43).

Escala: 0,4 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era acetato de etilo:éter de petróleo = 20:80. Rendimiento: 96 mg (64%). El producto se recrystalizó a partir de metanol dando cristales de color naranja. Pf.: 135-138 °C. EM (IEV) m/z 394,7 ($M + 1$)⁺, 396,7 ($M + 3$)⁺. RMN de ^1H (CD_3OD): δ 6,64-6,67 (m, 1H, Ar); 7,10 (d, 1H, $J = 3,7$ Hz, Ar); 7,21-7,44 (m, 4H, Ar); 7,65-7,72 (m, 2H, Ar); 7,95 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, Ar); 8,43-8,44 (m, 1H, Ar). RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$): δ 110,6, 112,6, 115,3, 119,5, 120,4, 121,5, 122,2, 123,2, 127,1, 127,6, 128,2, 130,1, 130,3, 130,6, 134,6, 141,5, 142,3, 143,2, 144,7, 145,1, 146,9. Anal. ($\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O} \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 44).

Escala: 0,7 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era acetato de etilo:éter de petróleo = 20:80. Rendimiento: 121 mg (48%). El producto se recrystalizó a partir de metanol:acetato de etilo = 20:80 dando cristales blancuzcos. Pf.: 131-134 °C. EM (IEV) m/z 382,8 ($M + 1$)⁺. RMN de ^1H (CD_3OD): δ 2,00-2,22 (m, 2H, CH_2); 2,42-2,56 (m, 4H, 2 CH_2); 3,72-3,89 (m, 1H, CH); 7,26-7,33 (m, 2H, Ar); 7,47-7,54 (m, 1H, Ar); 7,64-7,69 (m, 1H, Ar); 7,88-7,96 (m, 2H, Ar); 8,30 (s, 1H, Ar). Anal. ($\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_4 \cdot 1,0 \text{MeOH}$) C, H, N.

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclohexil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 45).

Escala: 0,9 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era acetato de etilo:éter de petróleo = 15:85, se aumentó hasta 30:70. Rendimiento: 160 mg (44%). El producto se recrystalizó a partir de metanol:acetato de etilo = 1:99 dando cristales blancuzcos. Pf.: 237-240 °C. EM (IEV) m/z 410,8 ($M + 1$)⁺, 412,7 ($M + 2$)⁺, 414,7 ($M + 3$)⁺. RMN de ^1H (CD_3OD): δ 1,40-2,00 (m, 8H, 4 CH_2); 2,15-2,28 (m, 2H, CH_2); 2,95-3,07 (m, 1H, CH); 7,34-7,56 (m, 4H, Ar); 7,77-7,88 (m, 2H, Ar); 8,52 (s, 1H, Ar). RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$): δ 25,6, 31,6, 38,2, 115,5, 119,2, 120,1, 121,1, 122,0, 123,0, 127,0, 130,1, 130,6, 134,1, 141,6, 142,7, 146,7, 153,2, 157,5. Anal. ($\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_4 \cdot 2,1 \text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 46).

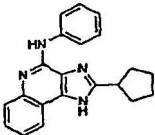
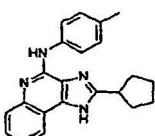
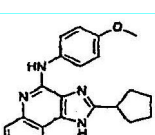
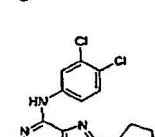
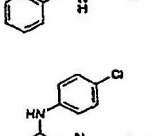
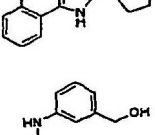
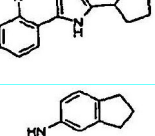
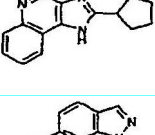
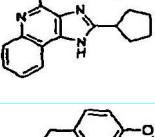
Escala: 1,0 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era acetato de etilo:éter de petróleo = 20:80. Rendimiento: 160 mg (50%). El producto se recrystalizó a partir de acetato de etilo:éter de petróleo = 30:70 dando cristales blancos. Pf.: 167-172 °C. EM (IEV) m/z 328,9 ($M + 1$)⁺, 331,0 ($M + 2$)⁺, 332,0 ($M + 3$)⁺. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 7,23-7,36 (m, 2H, Ar); 7,39-7,43 (m, 1H, Ar); 7,62-7,72 (m, 1H, Ar); 7,65-7,95 (m, 3H, Ar); 8,32 (s, 1H, Ar). Anal. ($\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_4 \cdot 1,1 \text{H}_2\text{O}$) C, H, N.

N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-pentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (compuesto 47).

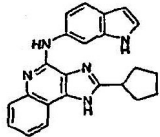
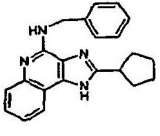
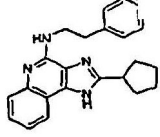
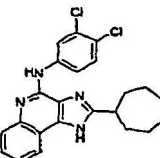
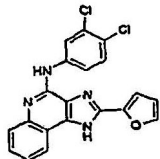
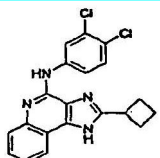
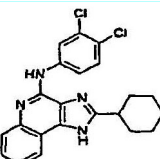
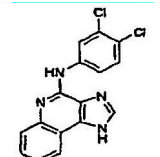
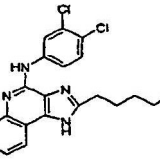
Escala: 0,2 mmol. El eluyente para la cromatografía en columna era diclorometano. Rendimiento: 44 mg (73%). El producto se recrystalizó a partir de acetato de etilo:éter de petróleo = 50:50 dando cristales blancos. Pf.: 195-200 °C. EM (IEV) m/z 398,9 ($M + 1$)⁺, 400,8 ($M + 3$)⁺. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 0,82-0,97 (m, 3H, CH_3); 1,39-1,51 (m, 2H, CH_2); 1,81-(m, 4H, 2 CH_2); 2,98 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz, CH_2); 7,33-7,41 (m, 2H, Ar); 7,52-7,60 (m, 1H, Ar); 7,74-7,81 (m, 2H, Ar); 7,99 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, Ar); 8,48 (s, 1H, Ar). Anal. ($\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_4$) C, H, N.

La **Tabla 1** resume las estructuras químicas y las características fisicoquímicas de los derivados de imidazoquinolina preparados como se describió anteriormente.

Tabla 1: Estructuras químicas y las características fisicoquímicas

Nº	Compuesto	Fórmula molecular	PM	Pf (°C)	EM	Disolvente de recristalización
30		$C_{21}H_{20}N_4$	328,42	155-157	328,9	MeOH
31		$C_{22}H_{22}N_4$	342,45	125-126	342,7 343,8	MeOH
32		$C_{22}H_{22}N_4O$	358,45	106-107	358,8	MeOH
33		$C_{21}H_{18}Cl_2N_4$	397,31	114-115	396,5	MeOH
34		$C_{21}H_{19}ClN_4$	362,87	189-190	362,7	MeOH
35		$C_{22}H_{22}N_4O$	358,45	228-230	359,0	MeOH
36		$C_{24}H_{24}N_4$	368,49	142-145	369,0	MeOH
37		$C_{22}H_{20}N_6$	368,44	235-236	368,8	50/50 AE/EP
38		$C_{23}H_{24}N_4O$	372,47	245-247	372,9	MeOH

(continuación)

39		$C_{23}H_{21}N_5$	367,46	260-261	368,0	MeOH
40		$C_{22}H_{22}N_4$	342,45	-	-	aceite
41		$C_{23}H_{24}N_4$	356,47	95-97	356,9 357,7 359,0	MeOH
42		$C_{23}H_{22}Cl_2N_4$	425,36	236-238	424,9 426,8	MeOH
43		$C_{20}H_{12}Cl_2N_4O$	395,25	135-138	394,7 396,7	MeOH
44		$C_{20}H_{16}Cl_2N_4$	383,28	131-134	382,8 386,9	MeOH/AE 20/80
45		$C_{22}H_{20}Cl_2N_4$	411,34	237-340	410,8 412,7 414,7	AE + MeOH al 1%
46		$C_{16}H_{10}Cl_2N_4$	329,19	167-172	328,9 331,0 332,0	EP/AE 30/70
47		$C_{21}H_{20}Cl_2N_4$	399,33	195-200	398,9 400,8	AE/EP 50/50

PM: peso molecular (D); Pf: punto de fusión (°C); EM: datos de espectrometría de masas. (M+1, M+2, M+3)

Experimentos biológicos

Material:

5 $[^{125}\text{I}]\text{N}^6$ -(4-amino-3-yodobencil)adenosina-5'-N-metiluronamida (I-AB-MECA; 2000 Ci/mmol), $[^3\text{H}]\text{R-PIA}$ (R-N⁶-[fenilisopropil]adenosina, 34 Ci/mmol), $[^3\text{H}]\text{CGS21680}$ (2-[p-(2-carboxietil)feniletilamino]-5'-N-etilcarboxamidoadenosina, 47 Ci/mmol) y $[^3\text{H}]\text{AMP}$ cíclico (40 Ci/mmol) de Amersham Pharmacia Biotech (Buckinghamshire, RU).

Cultivo celular y preparación de membranas:

10 Se cultivaron células CHO (ovario de hámster chino) que expresan los RA humanos recombinantes (se usaron células HEK-293 para el RA A_{2A} humano) en DMEM y F12 (1:1) suplementado con suero de ternera fetal al 10%, penicilina 100 unidades/ml, estreptomicina 100 µg/ml y 2 glutamina µmol/ml. Las células se recogieron por medio de tratamiento con tripsina. Después de la homogeneización y suspensión, las células se centrifugaron a 500 g durante 10 minutos y el sedimento se resuspendió en tampón Tris-HCl 50 mM (pH 7,4) que contenía MgCl₂ 10 mM. La suspensión se homogeneizó con un homogenizador eléctrico durante 10 segundos y a continuación se volvió a centrifugar a 20.000 g durante 20 minutos a 4 °C. Los sedimentos resultantes se resuspendieron en tampón en presencia de adenosina desaminasa 3 unidades/ml, y la suspensión se almacenó a - 80 °C hasta la realización de los experimentos de unión. La concentración de proteínas se midió utilizando el ensayo de Bradford.

Ensayos de unión a los RA A₁ y A_{2A} humanos:

20 Para la unión al RA A₁ humano, se incubó $[^3\text{H}]\text{R-PIA}$ (2 nM) con membranas (40 µg/tubo) de células CHO que expresaban de manera estable el RA A₁ humano a 25 °C durante 60 minutos en tampón Tris-HCl 50 mM (pH 7,4; MgCl₂, 10 mM) en un volumen total del ensayo de 200 µl. La unión inespecífica se determinó usando 10 µM de N⁶-ciclopentiladenosina. Para la unión a RA A_{2A} humano, se incubaron membranas (20 µg/tubo) de células HEK-293 que expresaban de manera estable el RA A_{2A} humano con $[^3\text{H}]\text{CGS21680}$ 15 nM a 25 °C durante 60 minutos en 200 µl de Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, que contenía MgCl₂ 10 mM. Para definir la unión inespecífica se utilizó N-5'-etiluronamidoadenosina (10 µM). La reacción se terminó por filtración con filtros GF/B.

Ensayo de unión al RA A₃ humano:

25 Cada tubo en el ensayo de unión competitiva contenía 100µl de suspensión de membranas (proteínas 20 µg), $[^{125}\text{I}]\text{-AB-MECA}$ (0,5 nM) 50 µl y 50 µl de concentraciones crecientes de los ligandos de prueba en tampón Tris-HCl (50 mM, pH 8,0) que contenía MgCl₂ 10 mM, EDTA 1 mM. La unión inespecífica se determinó usando 10 µM de 5'-N-etilcarboxamidoadenosina en el tampón. Las mezclas se incubaron a 25 °C durante 60 minutos. Las reacciones de unión se terminaron por filtración a través de filtros Whatman GF/B bajo presión reducida mediante un recolector de células MT-24 (Brandell, Gaithersburgh, MD, EEUU). Los filtros se lavaron tres veces con 9 ml de tampón helado. La radiactividad se determinó en un contador y Beckman 5500B.

Cinética de disociación de $[^{125}\text{I}]\text{-AB-MECA}$ de los RAA₃ humanos:

35 La disociación de $[^{125}\text{I}]\text{-AB-MECA}$ se midió de la siguiente manera. Se preincubaron membranas (20 µg) a 25 °C con $[^{125}\text{I}]\text{-AB-MECA}$ 0,5 nM, en un volumen total de 100 µl de tampón Tris-HCl (50 mM, pH 8,0) que contenía MgCl₂ 10 mM y EDTA 1 mM durante 60 minutos. A continuación se inició la disociación mediante la adición de Cl-IB-MECA 3 µM con o sin moduladores alostéricos. El curso del tiempo de disociación de la unión total se midió por filtración rápida a intervalos de tiempo adecuados. La unión inespecífica se midió después de 60 minutos de incubación en presencia de Cl-IB-MECA 3 µM. Otro ensayo fue como se describió anteriormente.

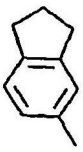
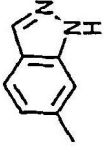
Ensayo de acumulación de AMP cíclico:

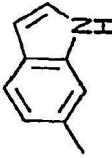
40 Los niveles intracelulares de AMP cíclico se midieron con un procedimiento de unión competitiva de proteínas (Nordstedt y Fredholm, 1990). Se recogieron células CHO que expresaban RAA3 humanos recombinantes por tratamiento con tripsina. Después de la centrifugación y resuspensión en el medio, las células se plaquearon en placas de 24 pocillos en 0,5 ml de medio. Tras 24 horas, se retiró el medio y las células se lavaron tres veces con DMEM 1 ml, que contenía HEPES 50 mM, pH 7,4. Las células se trataron a continuación con agonistas y/o compuestos de prueba en presencia de rolipram (10 µM) y adenosina desaminasa (3 unidades/ml). Después de 45 minutos se añadió forskolin (10 µM) al medio y la incubación continuó durante otros 15 minutos. La reacción se terminó por eliminación del sobrenadante, se lisaron las células por medio de la adición de 200 µl de HCl 0,1 M helado. El lisado celular se resuspendió y se almacenó a - 20 °C. Para la determinación de la producción de AMP cíclico, se incubó proteína cinasa A (PCA) con $[^3\text{H}]\text{AMP}$ cíclico (2 nM) en tampón K₂HPO₄/EDTA (K₂HPO₄, 150 mM; EDTA, 10 mM), 20 µl del lisado celular y 30 µl de HCl 0,1 M o 50 µl de disolución de AMP cíclico (0-16 pmol/200 µl para la curva patrón). La radiactividad unida se separó por filtración rápida a través de filtros Whatman GF/C y se lavaron una vez con tampón frío. La radiactividad unida se midió por espectrometría de centelleo líquido.

Análisis estadístico

Los parámetros funcionales y de unión se calcularon utilizando el software Prism 5.0 (GraphPAD, San Diego, CA, EEUU). Los valores de CL50 obtenidos de las curvas de competición se convirtieron en valores K; utilizando la ecuación de Cheng-Prusoff. Datos se expresaron como media $\pm$ error estándar.

Tabla 2: Potencia de derivados de 1H-imidazo-[4,5-c]quinolin-4-amina en ensayos de unión o de activación en RA A₁, A_{2A}, A_{2B} y A₃ humanos y efectos alostéricos en el RA A₃ humano

Nº	R ₁	R ₂	K _i (RAA _{1h}), nM ^a o % a 10 µM	K _i (RAA _{2Ah}), nM ^a o % a 10 µM	Inhib. RAA _{2Bh} ^b . a 10 µM	K _i (RAA _{3h}), nM ^a o % a 10 µM	Ag. de RAA _{3h} Disociación a 10 µM	% de aumento de eficacia en RAA _{3h} ^d a 10 µM
30	Ph	CP	3420 ± 230	3150 ± 210	-6,8%	786 ± 67 (90%)	174 ± 5	138 ± 8
31	4-CH ₃ -Ph	CP	3850 ± 500	5220 ± 320	-4,1%	1190 ± 107 (87%)	153 ± 4	128 ± 4
32	4-CH ₃ O-Ph	CP	4170 ± 730	>10.000 (16%)	7,3%	410 ± 64 (92%)	166 ± 11	132 ± 4
33	3,4-Cl ₂ -Ph	CP	>10.000 (15%)	>10.000 (0%)	-6,7%	4690 ± 970 (67%)	144 ± 9	141 ± 5
34	4-Cl-Ph	CP	>10.000 (22%)	>10.000 (17%)	-10,2%	1610 ± 550 (82%)	159 ± 5	136 ± 3
35	3-HOCH ₂ -Ph	CP	51%	49%	-4,1%	56%	129 ± 15	118 ± 4
36		CP	21%	8%	-10,7%	69%	108 ± 4	111 ± 5
37		CP	56%	68%	5,0%	67%	109 ± 3	96 ± 2

(continuación)									
38	4-CH ₃ O-PhCH ₂	CP	59%	60%	0,3%	80%	101 ± 13	109 ± 3	
39		CP	70%	74%	10,1%	89%	126 ± 9	125 ± 2	
40	PhCH ₂	CP	28%	77%	-3,4%	86%	145 ± 10	147 ± 8	
41	Ph(CH ₂) ₂	CP	52%	91%	-11,6%	84%	154 ± 7	137 ± 4	
42	3,4-Cl ₂ -Ph	cicloheptilo	-4%	-2%	-7,3%	68%	130 ± 2	115 ± 7	
43	3,4-Cl ₂ -Ph		-4%	70%	9,0%	78%	98 ± 3	95 ± 4	
44	3,4-Cl ₂ -Ph	ciclobutilo	-5%	0,4%	-5,5%	52%	116 ± 3	126 ± 3	
45	3,4-Cl ₂ -Ph	ciclohexilo	-2%	-1%	-5,6%	45%	173 ± 5	145 ± 7	
46	3,4-Cl ₂ -Ph	H	1,8%	-0,8%	10,2%	39%	91 ± 7	92 ± 4	
47	3,4-Ch-Ph	n-pentilo	43,9%	-1%	-9,3%	84%	116 ± 5	102 ± 5	

a) Todos los experimentos se llevaron a cabo usando células CHO (A₁ y A₃) y HEK293 (A_{2A}) adherentes transfectadas de manera estable con ADNc que codificaban los RA humanos. La unión a los RA A₁, A_{2A} y A₃ humanos en este estudio se llevó a cabo como se describió en Procedimientos usando [³H]R-PIA (2,0 nM), [³H]CGS 21680 (15 nM) o [¹²⁵I]-AB-MECA (0,5 mM) como radioligando. Los valores del presente estudio están expresados como media ± e.e.m., n = 3-5, el porcentaje de inhibición en los receptores A₁, A_{2A} o A₃ se expresa como el valor medio de 2-4 experimentos separados con resultados similares realizados por duplicado.

b) Receptor A_{2B}: efecto de los compuestos a 10 μM en acumulación de AMP cíclico inducida con MECA (150 nM) de un experimento realizado por triplicado; la inhibición de CGS15943 (10 μM) se expresó como el 100%.

c) disociación: % de disminución de la disociación a los 30 minutos; la unión residual de [¹²⁵I] AB-MECA después de 30 minutos de disociación se expresó como el 100%.

d) aumento de la eficacia: comparado con el efecto máximo por 2-Cl-IB-MECA solo (control = 100%)

En la **Tabla 2** se presentan los efectos de los derivados de imidazoquinolina en los sitios ortostéricos de los cuatro subtipos de receptor de adenosina, junto con sus efectos en el sitio alostérico en el receptor A_3 de adenosina humano. Muchos compuestos muestran poca o ninguna afinidad por los sitios de unión ortostéricos, en particular en los receptores A_1 , A_{2A} y A_{2B} de adenosina, especialmente cuando $R_1 = 3,4\text{-Cl}_2\text{-fenilo}$. También el sitio de unión ortostérico en el receptor A_3 de adenosina se adapta bastante mal a los derivados de imidazoquinolina. La mejor separación entre reconocimiento ortostérico y alostérico se encontró con el compuesto **45**. Por consiguiente, este compuesto fue seleccionado para otros ensayos in vivo.

*Evaluación in vivo de la potencia del derivado de imidazoquinolina **45** como MAA_3 :*

A. Actividad inhibidora del derivado de imidazoquinolina **45 sobre el sistema mieloide:**

Se preparó una disolución madre del derivado de imidazoquinolina **45** disolviendo el mismo en DMSO. Las otras diluciones para el tratamiento se realizaron en PBS. Como control, se utilizó una cantidad equivalente de DMSO en PBS.

Para probar el efecto del derivado de imidazoquinolina **45** en el sistema mieloide, se administró el compuesto por vía oral en una dosis de 100 µg/kg, tres veces al día a ratones ICR, durante dos días consecutivos. Se extrajeron muestras de sangre 24 y 48 horas después de la última administración del fármaco. En las muestras de sangre se realizó un recuento celular diferencial.

Los resultados presentados en las **Figuras 2A-2B** muestran que el derivado de imidazoquinolina **45** potenció el sistema mieloide de los ratones que no habían recibido estímulos inmunológicos, lo que se evidenció por el número aumentado de leucocitos (GBL) y neutrófilos después del tratamiento con el mismo.

B. Efecto del derivado de imidazoquinolina **45 sobre el desarrollo de la artritis inducida por adyuvante AIA:**

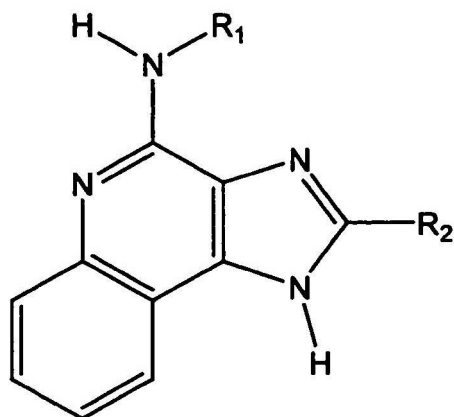
Se estableció el modelo de artritis inducida por adyuvante (modelo para la artritis reumatoide (AR)) en ratas inmunizando los animales con una emulsión de *Mycobacterium tuberculosis* en adyuvante de Freund (Animal Models for Autoimmune and Inflammatory disease: Adjuvant Arthritis in the Rat. Current Protocols in Immunology, Suplemento 19, página 15.4.2.). El tratamiento con el derivado de imidazoquinolina **45** se inició tras la aparición de la enfermedad. El derivado de imidazoquinolina **45** se administró por vía oral dos veces al día en una dosis de 100 µg/kg.

La evaluación del desarrollo de la enfermedad se llevó a cabo diariamente, comenzando tras la aparición de la enfermedad hasta el final del estudio. Se asignó cada día una puntuación a la intensidad de artritis clasificando cada pata de 0-4 en eritema, hinchazón y deformidad de las articulaciones: **0** = sin eritema o hinchazón; **1** = ligera hinchazón o eritema de un dedo de la pata o dedo; **2** = eritema e hinchazón de más de un dedo de la pata o dedo; **3** = hinchazón y eritema en el tobillo o muñeca; **4** = eritema completo e inflamación de dedos de las patas o dedos y del tobillo o muñeca e incapacidad para doblar el tobillo o la muñeca. Se sumaron todos los resultados de las cuatro patas de cada rata obteniéndose una puntuación máxima artrítica de hasta 16. Los resultados se presentan en la **Figura 3**, que muestra la reducción en la puntuación clínica después del tratamiento con el derivado de imidazoquinolina **45**.

Los resultados presentados anteriormente sugieren que el derivado de imidazoquinolina, y en el ejemplo concreto del derivado de imidazoquinolina **45**, puede tener un doble efecto, por una parte potenciar el sistema mieloide y por otro lado como remedio para afecciones como la AR.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la siguiente fórmula general (I):



Fórmula I

en la que:

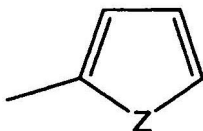
– **R₁** representa un arilo o alcarilo, que opcionalmente está sustituido una o más veces en el anillo aromático con un sustituyente seleccionado de alquilo C₁-C₁₀, halo, alcohol C₁-C₁₀, hidroxilo; acilo C₁-C₁₀, alcoxilo C₁-C₁₀; alcoxi C₁-C₁₀ carbonilo, alcoxi C₁-C₁₀ alquilo; tioalcoxi C₁-C₁₀; alquiléter C₁-C₁₀, amino, hidrazido, alquil C₁-C₁₀ amino, piridiltio, alquenilo C₂-C₁₀; alquinilo C₂-C₁₀, tio y alquil C₁-C₁₀ tio, acetoamido, ácido sulfónico; o dichos sustituyentes pueden formar juntos un cicloalquilo o cicloalquenilo condensado a dicho arilo, comprendiendo el cicloalquilo o el cicloalquenilo opcionalmente uno o más heteroátomos; con la condición de que dicho arilo no sea un grupo fenilo insustituido;

– **R₂** representa hidrógeno o un sustituyente seleccionado de alquilo C₁-C₁₀, alquenilo C₂-C₁₀; alquinilo C₂-C₁₀, cicloalquilo C₄-C₁₀, cicloalquenilo C₄-C₁₀, o un anillo aromático heterocíclico de cinco a siete miembros, cicloalquilo C₅-C₁₅ condensado, anillos aromáticos o heteroaromáticos bicíclicos; o alquiléter C₁-C₁₀, amino, hidrazido, alquil C₁-C₁₀ amino, alcoxi C₁-C₁₀, alcoxi C₁-C₁₀ carbonilo, alcohol C₁-C₁₀, acilo C₁-C₁₀, tioalcoxi C₁-C₁₀, piridiltio, tio y alquiltio C₁-C₁₀, acetoamido y ácido sulfónico;

y sus sales farmacéuticamente aceptables; para su uso en el tratamiento de una afección seleccionada del grupo que consiste en trastornos hiperproliferativos, trastornos proliferativos de la piel, trastornos hiperplásicos benignos, enfermedades inflamatorias y afecciones isquémicas.

2. El compuesto según se reivindica en la Reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de una afección seleccionada de artritis reumatoide, un tumor sólido, psoriasis e isquemia miocárdica y renal.

3. El compuesto según se reivindica en la Reivindicación 1 o 2 para su uso en el tratamiento de dichas afecciones, en el que dicho R₂ se selecciona de H, n-pentilo o un anillo aromático heterocíclico de cinco miembros que tiene la siguiente fórmula (IV):



(IV)

en la que Z se selecciona de O, S o NH, de preferencia O.

4. El compuesto según se reivindica en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento de dichas afecciones, en el que dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

- N-(4-Metil-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
- N-(4-Metoxi-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
- N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
- N-(4-Cloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
- N-(3-Metanol-fenil)-2-cianopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;

- N-([3,4-c]Indan)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(1H-indazol-6-il)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(4-Metoxi-bencil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(1H-Indol-6-il)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 5 N-(Bencil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(Feniletil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-cicloheptil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-furil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 10 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclohexil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina; y
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-pentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina.
- 5.** El compuesto según se reivindica en la Reivindicación 4 para su uso en el tratamiento de dichas afecciones, en el que dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en:
- 15 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-cicloheptil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina; y
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclohexil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina.
- 6.** El compuesto según se reivindica en la Reivindicación 5 para su uso en el tratamiento de dichas afecciones, en el que dicho compuesto es N-(3,4-dicloro-fenil)-2-ciclohexil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina.
- 7.** Uso de un compuesto según se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 o 3 a 6, para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de una afección seleccionada del grupo que consiste en trastornos hiperproliferativos, trastornos proliferativos de la piel, trastornos hiperplásicos benignos, enfermedades inflamatorias y afecciones isquémicas.
- 25 **8.** Uso según se reivindica en la Reivindicación 7, en el que dicha afección se selecciona de artritis reumatoide, un tumor sólido, psoriasis e isquemia miocárdica y renal.
- 9.** Uso según se reivindica en las Reivindicaciones 7 u 8, en el que dicha composición está en una forma adecuada para administración oral.
- 10.** Uso según se reivindica en una cualquiera de las Reivindicaciones 7 a 9 o un compuesto para su uso como en las reivindicaciones 1-6, en el que dicho compuesto se combina con un ligando para el sitio de unión ortostérico del receptor A₃ (RA₃) de adenosina, siendo dicho ligando un agonista de RA₃ y siendo dicho compuesto un activador alostérico del receptor A₃ de adenosina.
- 30 **11.** Un derivado de imidazoquinolina seleccionado del grupo que consiste en:
- N-(4-Metil-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 35 N-(4-Metoxi-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(4-Cloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3-Metanol-fenil)-2-cianopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-([3,4-c]Indan)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 40 N-(1H-indazol-6-il)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(4-Metoxi-bencil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;

- N-(1H-Indol-6-il)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(Bencil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(Feniletil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-cicloheptil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 5 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-furil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclohexil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina; y
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-pentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina.
- 10 **12.** Un derivado de imidazoquinolina seleccionado de:
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclopentil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-cicloheptil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina;
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclobutil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina; y
 N-(3,4-Dicloro-fenil)-2-ciclohexil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina.
- 15 **13.** Una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo el derivado de imidazoquinolina según se reivindica en la Reivindicación 11 o 12.

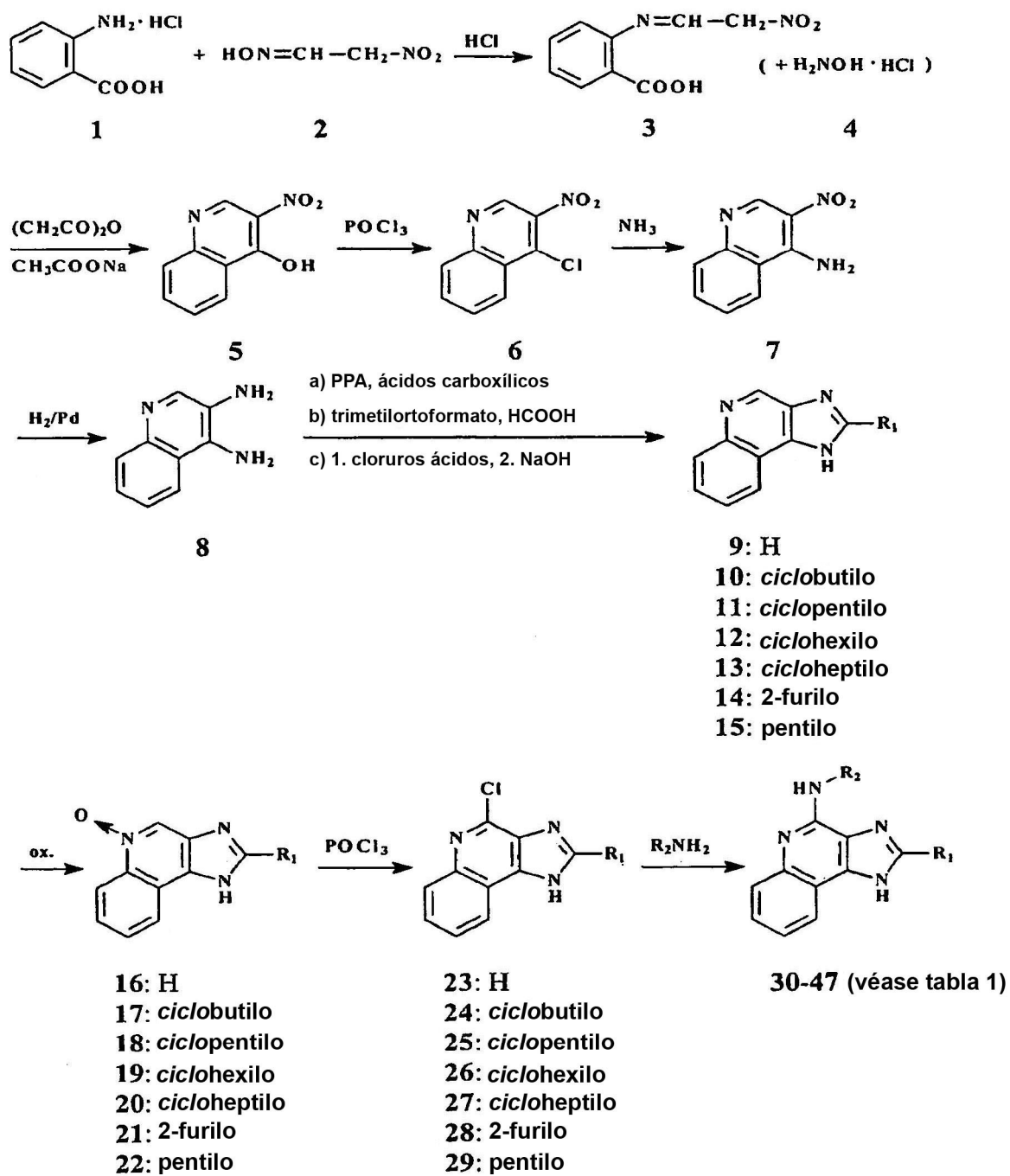


FIGURA 1

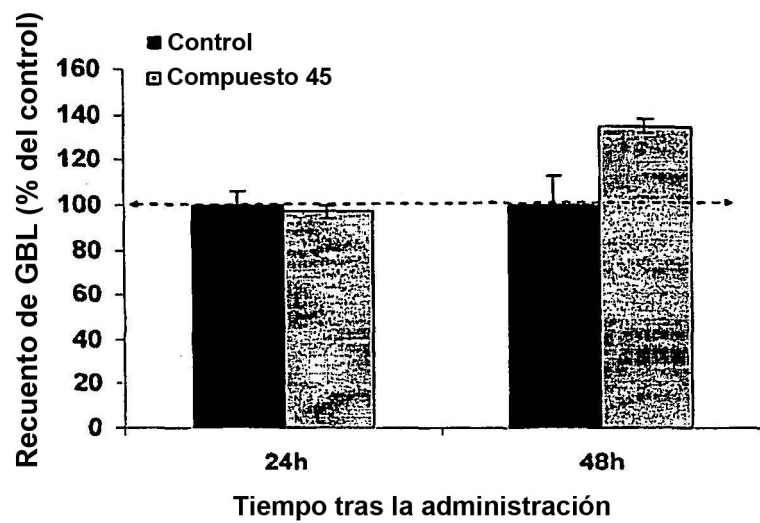


FIGURA 2A

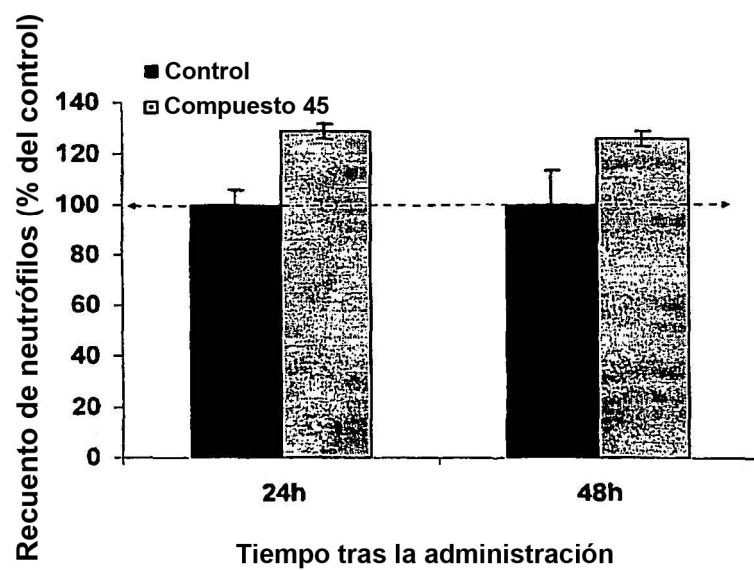
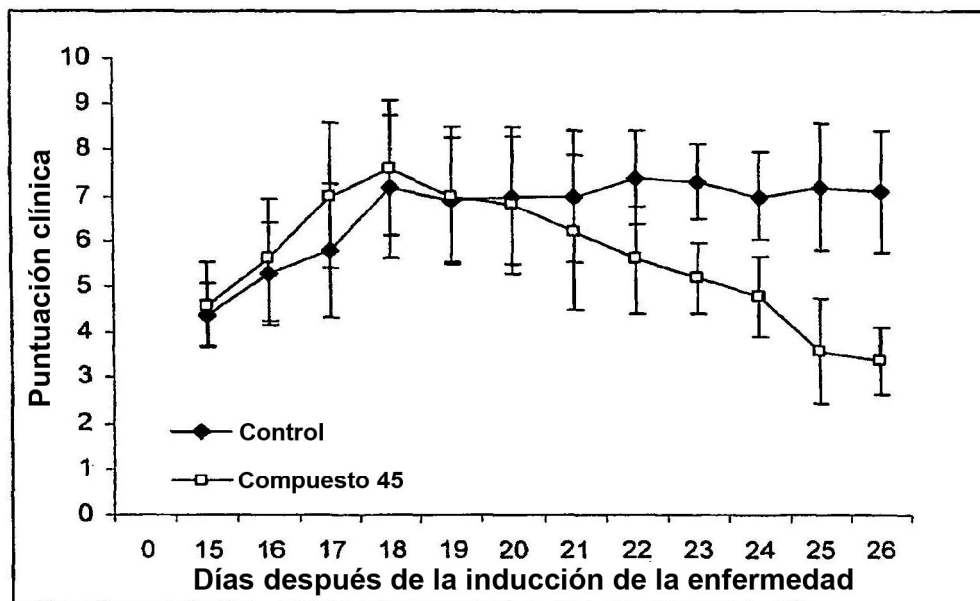


FIGURA 2B

**FIGURA 3**