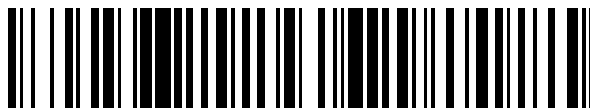


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 450 746**

21 Número de solicitud: 201200269

51 Int. Cl.:

C07D 215/38 (2006.01)

A61K 31/4704 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

14.03.2012

43 Fecha de publicación de la solicitud:

25.03.2014

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
(100.0%)**

**Avda. Séneca 2
28040 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**ALCAIDE ALAÑÓN, Benito;
ARAGONCILLO ABÁNADES, Cristina;
GÓMEZ CAMPILLOS, Gónzalo y
ALMENDROS REQUENA, Pedro**

74 Agente/Representante:

PLUMET ORTEGA, Joaquín

54 Título: **Preparación y citotoxicidad de 2-quinolonas**

57 Resumen:

Preparación y citotoxicidad de 2-quinolonas.

La invención se refiere a nuevos compuestos que contienen un anillo de 2-quinolona, su modo de obtención y su utilidad en la elaboración composiciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades asociadas con alteraciones en las células, más concretamente cáncer como agentes antitumorales de baja citotoxicidad. La estructura de estos compuestos consiste en la presencia de un anillo de 2-quinolona funcionalizada en la posición tres con un heteroátomo (grupo amino o amino sustituido).

DESCRIPCIÓN

Preparación y citotoxicidad de 2-quinolonas

5 Sector de la Técnica

Preparación y citotoxicidad de 2-quinolonas

La presente invención se refiere a los compuestos que contienen un anillo de 2-quinolona y a sus usos como composiciones farmacéuticas para el tratamiento de un conjunto de enfermedades (cáncer) en las cuales el organismo produce un exceso de células malignas. Además, la invención se refiere al procedimiento de obtención de dichos compuestos. Por tanto, la invención se puede englobar en el campo químico y/o farmacéutico.

Estado de la Técnica

15 El cáncer es un crecimiento tisular producido por la proliferación continua de células anormales con capacidad de invasión y destrucción de otros tejidos. El cáncer, que puede originarse a partir de cualquier tipo de célula en cualquier tejido corporal, no es una enfermedad única sino un conjunto de enfermedades que se clasifican en función del tejido y célula de origen.

20 Existen varios cientos de formas distintas, siendo tres los principales subtipos: sarcomas, carcinomas, y linfomas. Entre las medidas terapéuticas tradicionales para el tratamiento del cáncer está incluida la quimioterapia, que consiste en la utilización de fármacos para el tratamiento del cáncer. Puesto que los fármacos se distribuyen en el organismo a través del sistema

25 circulatorio, la quimioterapia es útil para aquellos tumores cuya diseminación los hace inaccesibles a la cirugía o a la radioterapia. Existen multitud de fármacos anticancerosos, la mayor parte de los cuales actúan interfiriendo la síntesis o función del ADN. Por tanto, las células en división son más

sensibles a la quimioterapia. Los dos principales problemas que limitan la utilización de la quimioterapia son la toxicidad y la resistencia.

El cisplatino es uno de los agentes más efectivos usado para tratar varios
 5 tipos de cánceres humanos (tumores de cabeza, vejiga, testículos y ovarios)
 (cfr. D. Wang, *et al.*, *Nat Rev Drug Discov* **2005**, 4, 307), pero su eficacia
 clínica se ha visto mermada por efectos laterales no deseados como
 nefrotoxicidad y neurotoxicidad. Además, el uso de cisplatino se ha visto
 limitado por el desarrollo de resistencia de ciertos tumores frente a esta droga
 10 (cfr. G. Giaccone, *Drugs* **2000**, 59, 9).

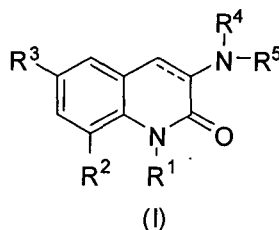
La primera generación de agentes antimitóticos, como taxanos y vinca
 alcaloides, han demostrado gran actividad y son la base de terapias contra el
 cáncer bien establecidas (cfr. E. K. Rowinski, *et al.*, *Semin Oncol* **1992**, 19,
 15 646). Agentes de este tipo exhiben un amplio rango de eficacia clínica,
 paralizando la mitosis y conduciendo a la apoptosis (cfr. M. V. Blagosklonny,
et al., *Int J Cancer* **1999**, 83, 151). A pesar de ser efectivas, estas sustancias
 presentan también problemas de toxicidad (cfr. S. Y. Chan, *et al.*, *J Neurobiol*
1980, 11, 251; M. Sacille, *et al.*, *Lancet* **1995**, 346, 26) y de resistencia (G. A.
 20 Orr, *et al.*, *Oncogene*, **2003**, 22, 7280; M. M. Gottesman, *Annu Rev Med*
2002, 53, 615; M. A. Jordan, *et al.*, *Nat Rev Cancer* **2004**, 4, 253).

Por tanto, existe una oportunidad clínica para el desarrollo de nuevas
 sustancias antitumorales que sean más específicas y menos tóxicas, y que
 25 puedan sobrepasar al mismo tiempo los mecanismos de resistencia de los
 tumores frente a las drogas tradicionalmente utilizadas.

Descripción de la invención

La presente invención proporciona compuestos heterocíclicos con efectos inhibitorios frente a cuatro líneas celulares de cáncer humano. La estructura de estos compuestos consiste en la presencia de un anillo de 2-quinolona funcionalizada en la posición tres por un heteroátomo (normalmente un grupo amino, o amino sustituido).

Un primer aspecto de la invención se refiere a los compuestos de fórmula general (I) o sus isómeros, sus sales y/o solvatos de los mismos (a partir de ahora compuestos de la invención).



donde:

R^1 , R^4 y R^5 son iguales o diferentes entre sí y se seleccionan de la lista que comprende hidrógeno (H), hidroxilo (OH), alcoxilo (OR_a), un grupo alquilo (C_1-C_8), un grupo arilo (C_6-C_{18}) o un heterociclo, sustituido o no sustituido.

R^2 y R^3 son iguales o diferentes entre sí y se seleccionan de la lista que comprende hidrógeno (H), grupo alquilo (C_1-C_8), arilo (C_6-C_{18}) o heterociclo, halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo (OH), alcoxilo (OR_a), nitro (NO_2), amino (NR_bR_c), sustituido o no sustituido.

--- representa la existencia o no de un doble enlace.

El término "alcoxilo" se refiere en la presente invención a un grupo de fórmula $-OR_a$ en la que R_a es un alquilo (C_1-C_8) como por ejemplo, y no

limitativamente, metoxilo, etoxilo, propoxilo o benciloxilo. Preferiblemente el alcoxilo es un metoxilo.

El término "alquilo" se refiere en la presente invención en el caso de R¹, R², R³, R⁴ y/o R⁵ a cadenas alifáticas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 8 átomos de carbono; por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *tert*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, ciclohexilo, aunque preferiblemente tienen de 1 a 3 átomos de carbono. Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como nitro, hidroxilo, azida, halógeno, ácido carboxílico o por un grupo, sustituido o no sustituido, seleccionado entre: arilo, hidroxilo, amido, amino, éster, ácido carboxílico, éter, tiol, acilamino, carboxamido o nitro. Cuando el grupo alquilo está sustituido por un arilo se describe como "arilalquilo" como, por ejemplo, pero no limitativamente, en el caso de un grupo bencilo.

El término "arilo" se refiere en la presente invención a una cadena carbocíclica aromática, que tiene de 6 a 18 átomos de carbono, pudiendo ser de anillo único o múltiple, en este último caso con anillos separados y/o condensados. Los grupos arilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como alquilo, alcoxilo, nitro, hidroxilo, azida, halógeno, o ácido carboxílico. Se pueden mencionar como ejemplos de grupo arilo, y no limitativamente, los grupos; fenilo, naftilo, indenilo o antranilo. Preferiblemente el grupo arilo es un fenilo.

El término "cicloalquilo" se refiere en la presente invención a una cadena alifática monocíclica o policíclica de 3 a 12 miembros, que está saturada o parcialmente saturada, y que sólo consiste en átomos de carbono e hidrógeno, tal como ciclopropilo, ciclohexilo o norbornilo.

El término "heterociclo" se refiere en la presente invención a una cadena monocíclica o policíclica de 3 a 12 miembros, que está saturada, parcialmente saturada o insaturada, y que consiste en átomos de carbono y de al menos un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno, azufre o selenio. Preferiblemente el heteroátomo es nitrógeno y el ciclo es un anillo de 5 o 6 eslabones. Se pueden mencionar como ejemplos de heterociclo, pero no limitativamente: pirrol, pirrolidina, piperidina e indol.

En una realización preferida de los compuestos de la invención, R^1 es un grupo alquilo (C_1-C_8).

En otra realización preferida de los compuestos de la invención, R^2 y R^3 son halógenos. Más preferiblemente R^2 es hidrógeno y/o R^3 es halógeno. Más preferiblemente R^3 es cloro.

15

En otra realización preferida de los compuestos de la invención, R^4 y R^5 son grupos alquilo o arilo. Más preferiblemente R^4 es alquilo y/o R^5 es arilo. Más preferiblemente R^4 es metilo y R^5 es un grupo fenilo sustituido.

En una realización más preferida, los compuestos de la invención se seleccionan de la lista que comprende:

- 1-bencil-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]quinolin-2(1H)-ona;
- 3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona;
- 3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-fenilquinolin-2(1H)-ona;
- 3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metil-6-nitroquinolin-2(1H)-ona;
- 8-cloro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona;
- 6-cloro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona;
- 6-bromo-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona;

25

6-fluoro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona; o cualquiera de sus sales, preferiblemente clorhidratos.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula general (I) para su uso en la elaboración de un medicamento o composición farmacéutica, preferiblemente para el tratamiento y/o prevención de cáncer, enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas, y en general, de cualquier enfermedad cuyo tratamiento y/o prevención es susceptible de beneficiarse de las actividades biológicas mostradas por los compuestos descritos en la presente invención, o bien a una sal, derivado o solvato de los mismos, o bien a un profármaco farmacéuticamente aceptable de los mismos.

El término “cáncer” tal y como se utiliza en la presente descripción, se refiere a una alteración de las células tumorales que tienen capacidad de invadir tejidos o de producir metástasis en lugares distantes del tumor primario. Son ejemplos representativos, aunque no limitativamente, de cáncer: cáncer de mama, cánceres ginecológicos, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de piel, cáncer hepatocelular, cáncer de pulmón, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, cáncer de vejiga, cáncer de hígado, cáncer del tracto urinario, cáncer tiroideo, cáncer renal, melanoma, cáncer de cerebro, sarcoma, linfoma o leucemia.

Las enfermedades autoinmunes y/o inflamatorias se pueden seleccionar de la lista que comprende, no limitativamente, lupus eritematoso sistémico, diabetes mellitus de tipo 1, esclerosis múltiple, síndrome de Sjögren, artritis reumatoide, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC, o bien COPD en sus siglas en inglés), colitis crónica o diversas alergias.

Las enfermedades infecciosas causadas por microorganismos patógenos pueden ser infecciones víricas como por ejemplo gripe, SIDA o hepatitis; infecciones bacterianas como por ejemplo clamidiosis, tuberculosis, estreptococosis o pseudomoniasis; o infecciones parasitarias como por
5 ejemplo leishmaniosis, malaria o tripanosomiasis.

Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (I) pueden incluir isómeros, dependiendo de la presencia de enlaces múltiples (por ejemplo Z, E), incluyendo isómeros ópticos o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales. Los isómeros, enantiómeros o
10 diastereómeros individuales o las mezclas de los mismos caen dentro del alcance de la presente invención, es decir, el término isómero también se refiere a cualquier mezcla de isómeros, como diastereómeros, racémicos, etc., incluso a sus isómeros ópticamente activos o las mezclas en distintas proporciones de los mismos. Los enantiómeros o diastereómeros
15 individuales, así como sus mezclas, pueden separarse mediante técnicas convencionales.

El término "derivado" tal como aquí se utiliza incluye tanto a compuestos farmacéuticamente aceptables, es decir, derivados de compuestos de fórmula
20 (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como derivados farmacéuticamente no aceptables ya que éstos pueden ser útiles en la preparación de derivados farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del derivado farmacéuticamente aceptable no es crítica, siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable.

25

Asimismo, dentro del alcance de esta invención se encuentran los profármacos de los compuestos de fórmula (I). Tal como aquí se utiliza, el

término "profármaco" incluye a cualquier compuesto derivado de un compuesto de fórmula (I) –por ejemplo y no limitativamente: ésteres (incluyendo ésteres de ácido carboxílico, ésteres de ácidos fosfóricos, ésteres de ácidos sulfónicos, etc.), amidas, uretanos, etc.– que al ser administrado a un individuo puede ser transformado directa o indirectamente en dicho compuesto de fórmula (I) en el mencionado individuo. Ventajosamente, dicho derivado es un compuesto que aumenta la biodisponibilidad del compuesto de fórmula (I) cuando se administra a un individuo o que potencia la liberación del compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico. La naturaleza de dicho derivado no es crítica siempre y cuando pueda ser administrado a un individuo y proporcione el compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico de un individuo. La preparación de dicho profármaco puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

15

Los compuestos de la invención pueden estar en forma cristalina como compuestos libres o como solvatos. Tal como aquí se utiliza, el término "solvato", incluye tanto solvatos farmacéuticamente aceptables, es decir, solvatos de compuestos de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como solvatos farmacéuticamente no aceptables ya que éstos pueden ser útiles en la preparación de solvatos o sales farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del solvato farmacéuticamente aceptable, siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, el solvato es un hidrato. Los solvatos pueden obtenerse por métodos convencionales de solvatación conocidos por los expertos en la materia.

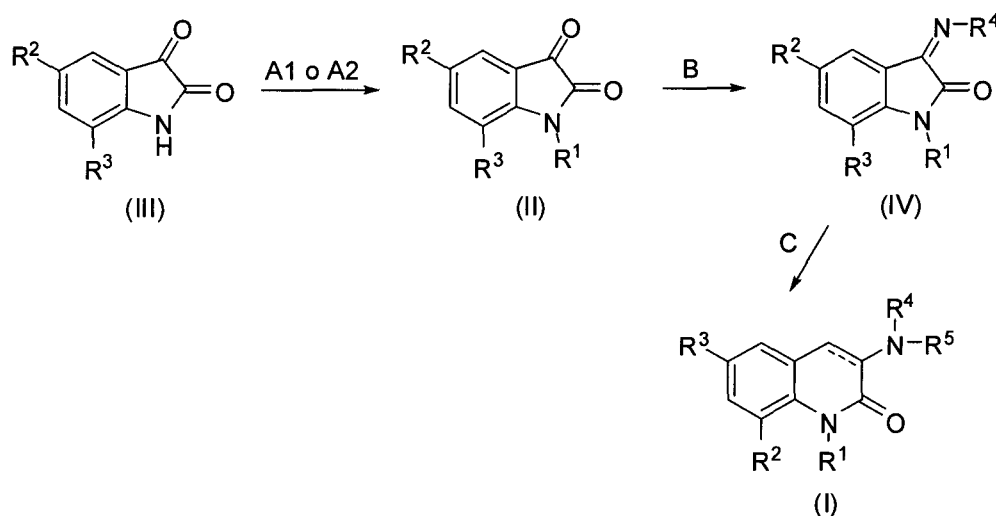
Para su aplicación en terapia, los compuestos de fórmula (I), sus isómeros, derivados, sales, profármacos o solvatos, se encontrarán, preferentemente, en una forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura, es decir, que tiene un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable excluyendo los
5 aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo material considerado tóxico a niveles de dosificación normales.

Los compuestos de la presente invención de fórmula (I) se pueden obtener o producir mediante una síntesis química o generarse a partir de una materia
10 natural de distinto origen.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de los compuestos de la invención de fórmula (I) o un isómero, sus sales y/o solvato del mismo, que comprende los siguientes pasos que se
15 resumen en el Esquema 1:

- A) Preparación de *N*-alquil(o aril) isatinas de fórmula general (II), por:
 - A1) alquilación del nitrógeno oxindólico de isatinas [fórmula general (III)] con un haluro de alquilo, preferiblemente haluros de metilo;
 - A2) arilación del nitrógeno oxindólico de isatinas [fórmula general
20 (III)] con un haluro de arilo, preferiblemente halobencenos;
- B) Formación de iminoisatinas de fórmula general (IV) por reacción de *N*-alquil(o aril) isatinas de fórmula general (II) con arilaminas, preferiblemente anisidina; y
- C) Expansión de anillo de las iminoisatinas de fórmula general (IV) por
25 reacción catalizada por sales metálicas con alquildiazometanos, preferiblemente trimetilsilildiazometano.

Esquema 1



Donde:

R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ están descritos anteriormente.

- 5 Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica útil para el tratamiento y/o prevención de enfermedades cancerosas, en adelante composición farmacéutica de la invención, que comprende un compuesto o mezcla de compuestos de fórmula (I), en cantidad terapéuticamente efectiva, o una sal, profármaco, solvato, derivado o
- 10 estereoisómero de los mismos farmacéuticamente aceptable, junto con un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable, para la administración a un paciente.

Los adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden

15 utilizarse en dichas composiciones son los adyuvantes y vehículos utilizados habitualmente en la elaboración de composiciones terapéuticas y conocidos por los técnicos en la materia.

En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión "cantidad

20 terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del agente o compuesto capaz de desarrollar la acción terapéutica determinada por sus propiedades

farmacológicas, calculada para producir el efecto deseado y, en general, vendrá determinada, entre otras causas, por las características propias de los compuestos, incluyendo la edad, estado del paciente, la severidad de la alteración o trastorno, y de la ruta y frecuencia de administración.

5

Los compuestos de fórmula (I) descritos en la presente invención, sus derivados, sales, profármacos y/o solvatos así como las composiciones farmacéuticas que los contienen se pueden utilizar junto con otros fármacos, o principios activos, adicionales para proporcionar una terapia combinada.

10 Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, pueden ser proporcionados en forma de una composición separada para su administración simultánea o no a la de la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o un profármaco, solvato, derivado o sus sales.

15

En otra realización particular, dicha composición terapéutica se prepara en forma sólida o suspensión acuosa, en un diluyente farmacéuticamente aceptable. La composición terapéutica proporcionada por esta invención se puede administrar por cualquier vía apropiada, para lo cual dicha composición

20 se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida. En una realización particular, la administración de la composición terapéutica proporcionada por esta invención se efectúa por vía oral, tópica, recta o parenteral (incluyendo subcutánea, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intravenosa, etc.).

25

El uso de los compuestos de la invención es compatible con su uso en protocolos en que los compuestos de fórmula (I), o sus mezclas, se usan por

sí mismos o en combinaciones con otros tratamientos o cualquier procedimiento médico.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y
 5 sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean
 10 limitativos de la presente invención.

Descripción de la figuras

Fig. 1.- Muestra los ensayos de citotoxicidad (gráfica dosis-respuesta) frente a células tumorales de la línea celular HL-60 (leucemia promielocítica humana)
 15 incubadas con diferentes compuestos de fórmula (I) - 6-cloro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-4), 6-fluoro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-5), 6-bromo-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-6) y 3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metil-6-nitroquinolin-2(1H)-ona (GGC-7) - durante
 20 3 días. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado.

Fig. 2.- Muestra los ensayos de citotoxicidad (gráfica dosis-respuesta) frente a células tumorales de la línea celular HT-180 (fibrosarcoma humano) incubadas con diferentes compuestos de fórmula (I) - 6-cloro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-4), 6-fluoro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-5), 6-bromo-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-6) y 3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metil-6-nitroquinolin-2(1H)-ona (GGC-7) - durante
 25 3 días. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado.

Fig. 3.- Muestra los ensayos de citotoxicidad (gráfica dosis-respuesta) frente a células tumorales de la línea celular HT-29 (adenocarcinoma de colon humano) incubadas con diferentes compuestos de fórmula (I) - 6-cloro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-4), 6-fluoro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-5), 6-bromo-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-6) y 3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metil-6-nitroquinolin-2(1H)-ona (GGC-7) - durante 3 días. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado.

10

Fig. 4.- Muestra los ensayos de citotoxicidad (gráfica dosis-respuesta) frente a células tumorales de la línea celular MDA-MB231 (carcinoma de pulmón humano) incubadas con diferentes compuestos de fórmula (I) - 6-cloro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-4), 6-fluoro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-5), 6-bromo-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona (GGC-6) y 3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metil-6-nitroquinolin-2(1H)-ona (GGC-7) - durante 3 días. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado.

15

20 **Modo de realización de la invención**

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que no son, sin embargo, limitativos del alcance de la invención.

25 **Ejemplo 1**

Este ejemplo se refiere al método de preparación de N-aril isatinas

1-Fenilindolin-2,3-diona

30

Sobre una disolución de 221 mg (1,5 mmol) de isatina comercialmente disponible en acetonitrilo anhidro (5 mL) en atmósfera de argon, se añade yodobenceno (337 mg, 1,65 mmol), K₂CO₃ (415 mg, 3 mmol), CuI (191 mg, 0,15 mmoles) y *N,N'*-dimetilciclohexano-1,2-diamina (42,7 mg, 0,30 mmol). La
 5 reacción se calienta en tubo cerrado a 140°C hasta la desaparición del material de partida (c.c.f). Una vez finalizada la reacción, se deja enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente y se añade HCl (1M, 15 mL). El crudo de reacción se extrae con AcOEt (6 x 15 mL), la fase orgánica se seca con MgSO₄ y el disolvente se elimina a presión reducida. El crudo de reacción se
 10 purifica por cromatografía en columna (*n*-hexano/acetato de etilo, 2:1) para dar 211 mg (63%) del producto como un sólido anaranjado.

P.f.: 137-139 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 7.70 (ddd, *J* = 0,5, 1.5, 7.5 Hz, 1 H), 7.51 (m, 6 H), 7.18 (td, *J* = 1.0, 7.5 Hz, 1 H), 6.91 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 183.1, 157.5, 151.9, 138.5,
 15 133.4, 130.2, 129.0, 126.2, 125.8, 124.5, 117.7, 111.5; IR (CH₂Cl₂): ν = 1750 cm⁻¹.

Ejemplo 2

20 *Este ejemplo se refiere a la preparación de iminoisatinas*

(Z)-3-(4-Metoxifenilimino)-1-metil-5-nitroindolin-2-ona

A una disolución de 0,75 g (3,63 mmol) de 1-metil-5-nitroindolin-2,3-diona (K. Zheng *et al. Angew Chem Int Ed* **2011**, 50, 2573) y *p*-anisidina (0,45 g, 3,63
 25 mmol) en benceno (7,5 mL) se calienta a reflujo toda la noche en un aparato Dean-Stark. La mezcla de reacción se enfria a temperatura ambiente y el

disolvente se elimina bajo presión reducida para dar 0,75 g (71%) de la imina en una relación de isómeros *E*:*Z* (70:30) como un sólido anaranjado que se usa directamente en la etapa siguiente sin necesidad de purificación.

- 5 P.f.: 154-156 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 8.38 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, *E*+*Z*), 8.06 (s, 1H, *E*+*Z*), 7.56 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, *E*+*Z*), 7.15 (d, *J* = 8.6 Hz, 1.4H, *E*), 7.06 (d, *J* = 8.9 Hz, 1.4H, *E*), 6.97 (m, 1.2H, *Z*), 3.93 (s, 2.1H, *E*), 3.90 (s, 0.9H, *Z*), 3.43 (s, 2.1H, *E*), 3.33 (s, 0.9H, *Z*); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 163.4 (*E*), 160.0(*Z*), 159.1 (*E*), 157.9 (*Z*), 152.2 (*E*), 150.4
10 (*E*), 149.8 (*Z*), 146.4 (*Z*), 143.0 (*E*), 141.6 (*E*), 140.0 (*Z*), 129.6 (*E*), 128.5 (*Z*), 125.5 (*E*), 123.0 (*Z*), 120.9 (*E*), 120.7 (*Z*), 118.0 (*Z*), 115.5 (*E*), 114.8 (*E*), 114.0 (*Z*), 113.7 (*Z*), 109.0 (*E*), 108.1 (*Z*), 55.6 (*E*), 55.5 (*Z*), 26.8 (*E*), 26.4 (*Z*); IR (CH₂Cl₂): ν = 1738, 1610, 1336, 1293, 1251 cm⁻¹.

15 Ejemplo 3

Preparación de compuestos de fórmula general (I) por expansión de anillo de iminoisatinas de fórmula general (IV)

20 3-[(4-Metoxifenil)(metil)amino]-1-metil-6-nitroquinolin-2(1H)-ona

- Sobre una disolución de 79 mg (0,25 mmol) de (*Z*)-3-(4-metoxifenilimino)-1-metil-5-nitroindolin-2-ona y Sc(OTf)₃ (541 mg, 11 mol%) en diclorometano anhidro (2 mL) enfriada a 0 °C, se añade trimetilsilildiazometano (63 mg, 0,55
25 mmol). La mezcla de reacción se agita a dicha temperatura hasta la completa desaparición del material de partida (c.c.f). Una vez finalizada la reacción, el disolvente se elimina a presión reducida y el crudo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando como eluyente *n*-

hexano/acetato de etilo (1:1) para dar 51 mg (60%) del producto como un sólido anaranjado.

P.f.: 196-198 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 8.36 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.21 (dd, J = 9.2, 2.6 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.02 y 6.87 (d, J = 9.1 Hz, 2H cada uno), 3.81 y 3.74 (s, 3H cada uno), 3.35 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 159.0, 156.4, 142.5, 142.1, 141.4, 139.9, 123.7, 122.3, 121.5, 121.3, 118.5, 114.5, 114.1, 55.4, 42.1, 30.6; IR (CH_2Cl_2): ν = 1659, 1609, 1510, 1338, 1243; HRMS (ES): calculado (%) para $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ [$M + \text{H}$] $^+$: 340.1297; encontrado: 340.1296.

Ejemplo 4

Ensayos biológicos de los compuestos de fórmula (I)

15

Valoración del perfil de citotoxicidad

La citotoxicidad de los compuestos de fórmula (I) se examina en cuatro líneas celulares, a saber HL-60 (leucemia promielocítica humana), HT-180 (fibrosarcoma humano), HT-29 (adenocarcinoma de colon humano) y MDA-MB231 (carcinoma de pulmón humano) mediante experimentos de cultivo *in vitro*.

Para el caso de la familia de compuestos de fórmula (I), los mejores resultados se obtienen con un compuesto que fue el más activo en todos los tipos de células ensayadas, con valores de IC_{50} por debajo de un microgramo por mililitro. La sustitución del grupo nitro en este tipo de moléculas por halógenos, disminuye la toxicidad, exhibiendo el derivado clorado la actividad

más alta entre los diferentes sustituyentes halogenados. Los compuestos de fórmula (I) muestran unas curvas dosis-respuesta típicas para líneas celulares de leucemia o fibrosarcoma, con una pronunciada disminución de la supervivencia celular a concentraciones cercanas al valor de IC_{50} . A pesar de
5 esto, las curvas dosis-respuesta muestran un efecto bifásico en el crecimiento de células humanas tumorales de colon y pulmón. En la primera fase de la curva (a las concentraciones más bajas de los compuestos), se observa una disminución aguda en la supervivencia celular, debida probablemente a un efecto de la droga en las células tumorales proliferantes. Un segundo cambio
10 de dirección en la curva sugiere un efecto citotóxico ejercido por altas concentraciones de la droga en células tumorales no desarrolladas.

Hay que destacar que algunos de los compuestos de fórmula (I) ensayados exhiben efectos inhibitorios muy notables contra las cuatro líneas celulares
15 tumorales humanas, mostrando valores de IC_{50} que son similares, e incluso inferiores, a los descritos previamente para compuestos de uso generalizado como el etoposido o el cisplatino.

Cultivos celulares

20

Todas las líneas celulares tumorales usadas en esta invención se obtienen de la "Type Culture Collection (ATCC)." Las células de fibrosarcoma humano HT-1080 se mantienen en un medio de Dulbecco/Eagle modificado (DMEM), que contiene glucosa (4,5 g/L), glutamina (2mM), penicilina (50 IU/mL),
25 estreptomicina (50 µg/mL), y anfotericina (1.25 µg/mL) suplementada con 10% FBS. Las células de adenocarcinoma humano de colon HT-29 se mantienen en un medio McCoy's 5A que contiene glutamina (2mM), penicilina (50 IU/mL), estreptomicina (50 µg/mL), y anfotericina (1,25 µg/mL)

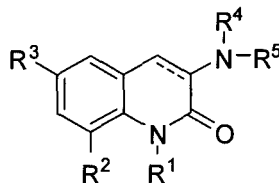
suplementada con 10% FBS. Las células de carcinoma humano de pulmón MDA-MB231 y leucemia promielocítica humana HL-60 se mantienen en un medio RPMI1640 que contiene glutamina (2mM), penicilina (50 IU/mL), estreptomicina (50 µg/mL), y anfotericina (1.25 µg/mL) suplementada con 10
5 y 20 % FBS, respectivamente.

Ensayos de citotoxicidad

El ensayo de reducción por tinción del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-
10 2,5-difeniltetrazolio se lleva a cabo en una microplaca de 96 pocillos utilizando el método de Mosmann (cfr. T. Mosmann, *J Immunol Methods* **1983**, 65, 55). 2×10^3 células tumorales en un volumen total de 100 µL de sus respectivos caldos de cultivo se incuban con diluciones seriadas de los compuestos de fórmula (I). Después de 3 días de incubación (37°C, 5% CO₂ e una atmósfera
15 húmeda) se adicionan 10 µl de MTT (5 mg/ml in PBS) a cada pocillo y la placa se incuba durante cuatro horas más a 37°C. El formazán resultante se disuelve en 150 µL de HCl 0,04 N en 2-propanol y su concentración se determinó por espectrofotometría a 550 nm. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado. Los valores de IC₅₀ se calculan en zonas
20 semilogarítmicas dosis-respuesta en las que la concentración del compuesto produce un 50% de supervivencia celular.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula general (I):



1.

(I)

donde:

- 5 R^1 , R^4 y R^5 son iguales o diferentes entre sí y se seleccionan de la lista que comprende hidrógeno (H), hidroxilo (OH), alcoxilo (OR_a), un grupo alquilo (C_1-C_8), un grupo arilo (C_6-C_{18}) o un heterociclo, sustituido o no sustituido.

- 10 R^2 y R^3 son iguales o diferentes entre sí y se seleccionan de la lista que comprende hidrógeno (H), grupo alquilo (C_1-C_8), arilo (C_6-C_{18}) o heterociclo, halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo (OH), alcoxilo (OR_a), nitro (NO_2), amino (NR_bR_c), sustituido o no sustituido.

--- representa la existencia o no de un doble enlace.

- 15 2. Compuesto según reivindicación 1 donde R^1 es un grupo alquilo (C_1-C_3).

3. Compuesto según reivindicación 1 donde R^2 es un halógeno.

4. Compuesto según reivindicación 1 donde R^3 es un halógeno.

20

5. Compuesto según la reivindicación 1 donde R^2 es un grupo nitro y R^3 es un halógeno.

6. Compuesto según reivindicación 1 donde R^2 es un halógeno y R^3 es un grupo nitro.

25

7. Compuesto según reivindicación 1 donde R^4 es un grupo alquilo (C_1-C_3).
8. Compuesto según reivindicación 1 donde R^1 y/o R^5 son un grupo arilo
5 (C_6-C_{10}).
9. Compuesto según reivindicación 1 donde R^5 es un heterociclo.
10. Compuesto según reivindicaciones 1 y 8 donde R^4 es metilo y R^5 es 4-
10 metoxifenilo.
11. Compuesto según reivindicaciones 1, 8 y 10 donde R^1 es bencilo o metilo.
- 15 12. Compuesto según reivindicaciones 1 y 8 donde R^1 es metilo.
13. Compuesto según reivindicaciones 1, 8 y 12 donde R^2 es un halógeno.
14. Compuesto según reivindicaciones 1, 8 y 12 donde R^3 es un halógeno.
20
15. Compuesto según la reivindicación 1, de fórmula:
1-bencil-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]quinolin-2(1H)-ona;
3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona;
3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-fenilquinolin-2(1H)-ona;
25 3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metil-6-nitroquinolin-2(1H)-ona;
8-cloro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona;
6-cloro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona;
6-bromo-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona; ó

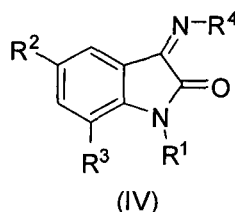
6-fluoro-3-[(4-metoxifenil)(metil)amino]-1-metilquinolin-2(1H)-ona.

16. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, donde dicho compuesto es una sal de un clorhidrato sus isómeros, sus sales y/o solvatos de los mismos.

17. Compuesto según la reivindicación 16, donde dicho compuesto es una sal de un clorhidrato.

18. Procedimiento de obtención del compuesto de fórmula general (I) que comprende:

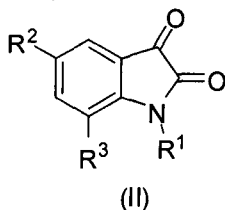
la reacción catalizada por sales metálicas de una iminoisatina de fórmula general (IV)



con un alquildiazometano de fórmula general $RCHN_2$, donde R es un alquilo o hidrógeno, mediante ataque nucleófilo,

19. Procedimiento según la reivindicación 18, donde la iminoisatina de fórmula general (IV) se obtiene:

por reacción de *N*-alquil(o aril) isatinas de fórmula general (II)



con arilaminas, donde: R^1 , R^2 y R^3 están descritos en la reivindicación 1.

20. Compuesto de fórmula general (I) para la elaboración de una composición farmacéutica
21. Compuesto de fórmula general (I), para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento o prevención de cáncer, enfermedades autoinmunes, y enfermedades infecciosas.
22. Compuesto de fórmula general (I) según reivindicación 21 donde los tipos de cáncer se seleccionan de la lista que comprende cáncer de mama, cánceres ginecológicos, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de piel, cáncer hepatocelular, cáncer de pulmón, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, cáncer de vejiga, cáncer de hígado, cáncer del tracto urinario, cáncer tiroideo, cáncer renal, melanoma, cáncer de cerebro, sarcoma, linfoma o leucemia.
23. Compuesto de fórmula general (I) según reivindicación 21, donde las enfermedades autoinmunes y/o inflamatorias se seleccionan de la lista que comprende lupus eritematoso sistémico, diabetes mellitus de tipo 1, esclerosis múltiple, síndrome de Sjögren, artritis reumatoide, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC, o bien COPD en sus siglas en inglés), colitis crónica o diversas alergias.
24. Compuesto de fórmula general (I) según reivindicación 21, donde las enfermedades infecciosas causadas por microorganismos patógenos se seleccionan de la lista que comprende gripe, SIDA, hepatitis, clamidiosis, tuberculosis, estreptococosis, pseudomoniasis, leishmaniosis, malaria o tripanosomiasis.

25. Composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula general (I) y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
26. Composición farmacéutica según la reivindicación 25 que además
5 comprende otro principio activo.

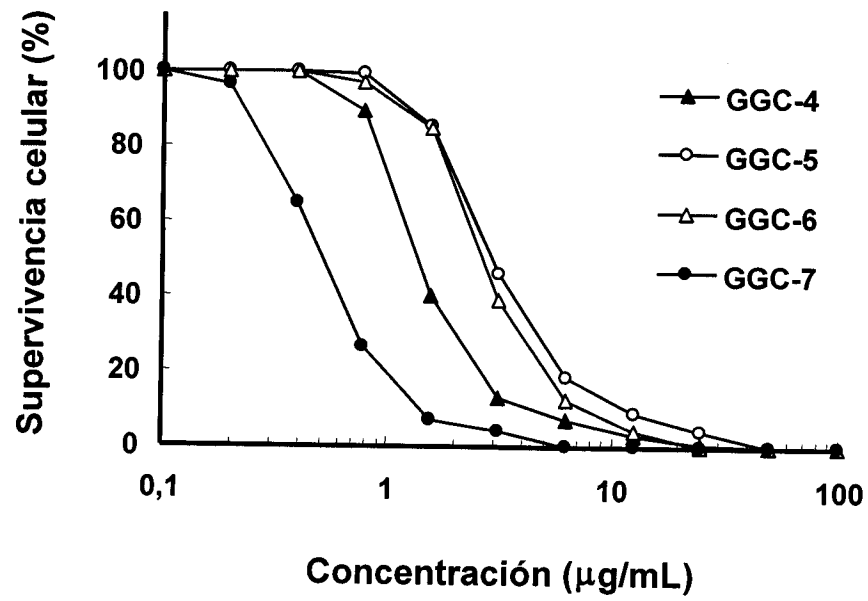


Figura 1

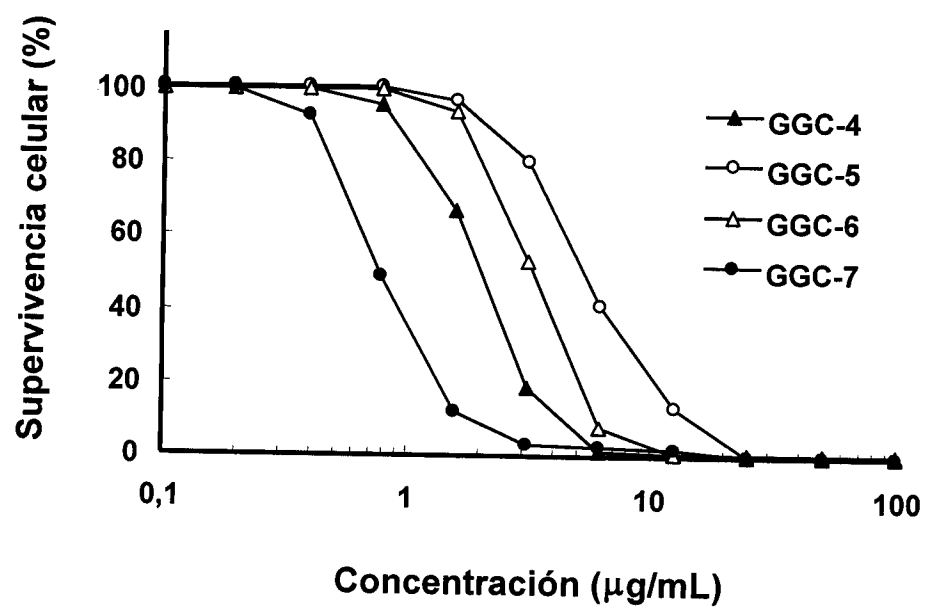


Figura 2

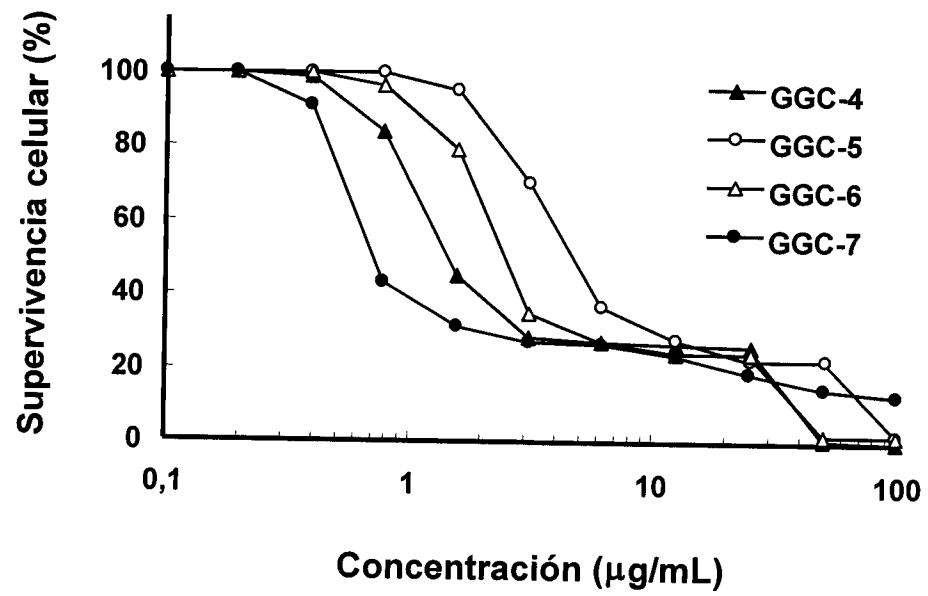


Figura 3

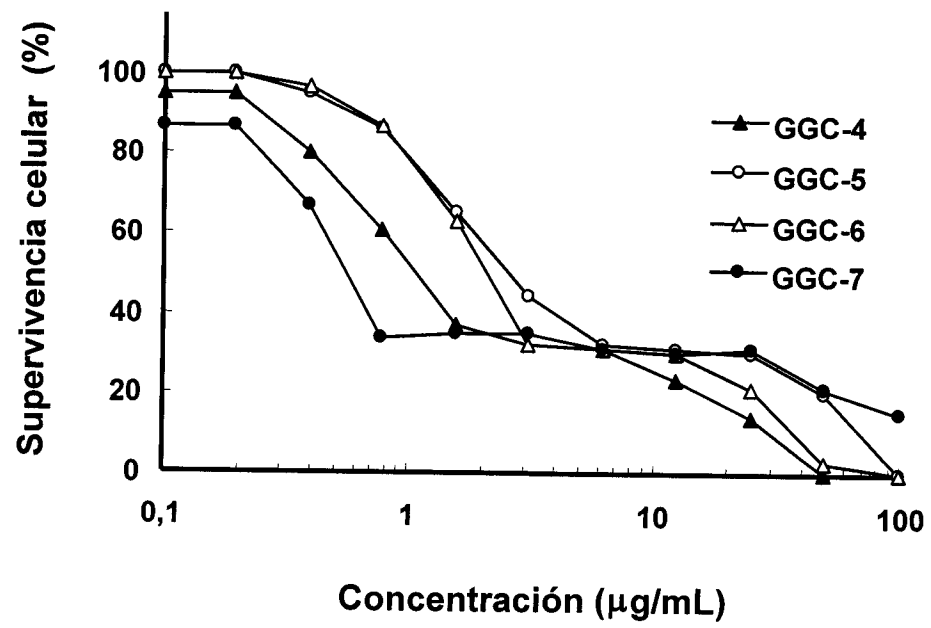


Figura 4



- ②① N.º solicitud: 201200269
②② Fecha de presentación de la solicitud: 14.03.2012
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **C07D215/38** (2006.01)
A61K31/4704 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 2005007111 A2 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 27.01.2005, página 32, compuesto 3A; página 39, compuesto 6C; reivindicación 6.	1-17,20-26
X	S MESSAOUDI et al., Tetrahedron 2007, vol 63, págs 10202-10210. "Rapid acces to 3-(N-substituted)-aminoquinolin-2(1H)-ones using palladium catalyzed C-N bond coupling reaction", tablas 2 y 3.	1-17
A		18,19
X	Base de Datos Registry en CAS (STN), Chemical Abstracts Service. Entre otros, ver por ejemplo compuestos con RN 1199257-19-6, 954416-79-6, 954416-76-3, 805192-35-2, 804445-44-1, 804443-95-6, 802253-76-5, 888-41-5, 801972-63-4, 770675-36-0766474-39-9, 764613-99-2, 756438-42-3.	1-17
X	WO 2009147217 (CNRS) 10.12.2009, página 73, compuesto X-2; página 76, compuesto I-43; reivindicaciones 10,15.	1-17,20-26
X	R E BOWMAN et al. Journal Chemical Society 1964, págs 3350-3353. "The synthesis of some dialkylamino-2-quinolones", tabla 2.	1-17

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
14.01.2013

Examinador
M. P. Fernández Fernández

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07D, A61K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, CAS, REGISTRY

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 14.01.2013

Declaración**Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)**

Reivindicaciones 18,19
Reivindicaciones 1-17,20-26

SI
NO

Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)

Reivindicaciones 18,19
Reivindicaciones 1-17,20-26

SI
NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 2005007111 A2 (BRISTOL MYERS SQUIBB COMPANY)	27.01.2005
D02	S MESSAOUDI et al., Tetrahedron 2007, vol 63, págs. 10202-10210. "Rapid acces to 3-(N-substituted)-aminoquinolin-2(1H)-ones using palladium catalyzed C-N bond coupling reaction", tablas 2 y 3.	2007
D03	Base de Datos Registry en STN, Chemical Abstracts Service. Entre otros, ver por ejemplo compuestos con RN 1199257-19-6, 954416-79-6, 954416-76-3, 805192-35-2, 804445-44-1, 804443-95-6, 802253-76-5, 888-41-5, 801972-63-4, 770675-36-0766474-39-9, 764613-99-2, 756438-42-3.	varias fechas
D04	WO 2009147217 (CNRS)	10.12.2009
D05	R E BOWMAN et al. Journal Chemical Society 1964, págs 3350-3353. "The synthesis of some dialkylamino-2-quinolones", tabla 2.	1964

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La solicitud se refiere a las 2-quinolonas 3-aminosustituídas de fórmula (I) de la reivindicación 1, más concretamente a las 3-amino-2-quinolonas (reivindicaciones 2-14) que se citan en las reivindicaciones 15-17, al procedimiento para su obtención a partir de una iminoisatina de fórmula (IV) (reivindicaciones 18 y 19) y a la composición farmacéutica (reivindicaciones 25 y 26) que comprende un compuesto de fórmula general (I) (reivindicaciones 20-24) para el tratamiento del cáncer, enfermedades autoinmunes/inflamatorias y enfermedades infecciosas.

El documento D1 divulga derivados 3-amino de 2-tetrahydroquinolonas, los compuestos 3A (página 32) y 6C (página 39) se incluyen en la fórmula general (I) de la reivindicación 1 de la solicitud, la actividad farmacéutica como agentes antitumorales y antiinflamatorios de este tipo de compuestos está también anticipada, ver reivindicación 6 de D1.

El documento D2 divulga la síntesis de 3-(N-sustituídas)-amino-2-quinolinonas, en la tabla 2 (página 1024) y la tabla 3 (página 1026) se describen compuestos con estructuras incluidas en la fórmula (I) de la reivindicación 1 de la solicitud.

El documento D3 divulga varias estructuras del estado de la técnica que, entre otras, han sido recogidas por Chemical Abstracts con anterioridad a la fecha de presentación de la solicitud. Todas están incluidas en el alcance de la fórmula (I) de la reivindicación 1 de la solicitud.

El documento D4 divulga compuestos con estructuras que se corresponden con la fórmula (I) de la reivindicación 1 de la solicitud, ver página 73 compuesto X-2 y página 76 compuesto I-43, además las reivindicaciones 10 y 15 de D4 divulgan la actividad farmacéutica de estos compuestos para el tratamiento de enfermedades como el cáncer, enfermedades inflamatorias, etc

El documento D5 divulga 3-dialquilamino-2-quinolonas, los compuestos de la tabla 2 (página 3352) anticipan varios de los incluidos en la fórmula (I) de la solicitud.

En consecuencia, los documentos D1 a D5 anulan la novedad de los compuestos a los que se refiere la solicitud, así como su actividad farmacéutica y su uso para el tratamiento de diversas enfermedades descritas en la solicitud y la composición farmacéutica que comprende estos compuestos. No se ha encontrado divulgado el procedimiento de síntesis de las reivindicaciones 18 y 19 para la obtención de estos compuestos, por lo que se considera nuevo e inventivo, puesto que es un procedimiento alternativo a los descritos en la técnica, no siendo evidente para un técnico en la materia ya que para obtener dichos productos pueden plantearse numerosas vías de síntesis y no es posible prever los resultados sin la correspondiente experimentación.

En conclusión, las reivindicaciones 1-17 y 20-26 de la solicitud carecen de novedad y actividad inventiva y se reconoce novedad y actividad inventiva a las reivindicaciones 18 y 19, tal como se establece en los Art. 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes 11/1986.