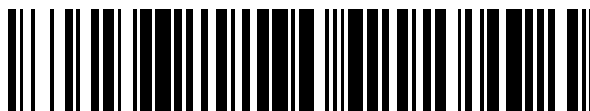


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 460 626**

51 Int. Cl.:

C07D 215/48 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 407/12 (2006.01)

C07D 409/12 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01)

A61P 31/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.12.2010 E 10798129 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.03.2014 EP 2519504**

54 Título: **Nuevos derivados de 8-hidroxiquinolin-7-carboxamida secundaria**

30 Prioridad:

29.12.2009 EP 09180895

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

14.05.2014

73 Titular/es:

POLICHEM SA (100.0%)

50, Val Fleuri

1526 Luxembourg, LU

72 Inventor/es:

GAGLIARDI, STEFANIA;

DEL SORDO, SIMONE;

MAILLAND, FEDERICO y

LEGORA, MICHELA

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 460 626 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).

DESCRIPCION

Nuevos derivados de 8-hidroxiquinolin-7-carboxamida secundaria

5 La presente invención proporciona nuevos derivados de 8-hidroxiquinolin-7-carboxamida secundaria y sus sales farmacéuticamente aceptables, que son útiles como agentes antifungales, y un procedimiento para su preparación. Concretamente, estos compuestos fueron ensayados contra *Tricophyton Rubrum*, *Tricophyton Mentagrophytes*, *Aspergillus Niger* y *Scopulariopsis Brevicaulis*. Muchos de estos compuestos son activos contra especies de *Candida* tales como *Candida Albicans* y *Candida Glabrata*.

Antecedentes de la invención

10 Los hongos patógenos pueden ser divididos en dos categorías: hongos que son capaces de inducir enfermedades en sujetos normales y hongos menos invasivos que son capaces de producir enfermedades solo en huéspedes con enfermedades críticas. En las dos últimas décadas se ha producido un importante incremento en la incidencia de infecciones fúngicas oportunistas invasivas y en la morbilidad y mortalidad asociadas. Esto es debido principalmente a los importantes avances en la medicina moderna que han incrementado la supervivencia de pacientes críticos tales como aquellos en unidades de cuidado intensivo (ICU) con catéteres intravasculares y 15 urinarios, nutrición parenteral total y hemodiálisis y conectados a sistemas ventilatorios.

Las especies de *Candida* causan comúnmente infecciones nosocomiales en la corriente sanguínea entre pacientes que se encuentran en las ICU. La incidencia hospitalizada en UK de candidemia es de alrededor de 3 por 100.000 días en cama y del 40% al 52% de todos los casos se presentan en las ICU (Schelenz S., J. Antimicrob. Chemother. 2008; 61, Suppl 1, 31-34). Este tipo de micosis está asociado frecuentemente con una considerable morbilidad y 20 mortalidad. La tasa de mortalidad atribuible es del 38% aproximadamente, aunque puede variar entre 5% y 71%. Durante los últimos años se ha producido una incidencia en aumento de aspergillosis pulmonar invasiva en pacientes admitidos en ICU. Los porcentajes de incidencia en la enfermedad van desde 0,3% a 5,8% con una tasa de mortalidad global que supera el 80% (Trof R. J. et al, Intensive Care Med., 2007; 33, 1694-1703). Los pacientes con enfermedades críticas están en riesgo de desarrollar perturbaciones en la inmunorregulación durante su estancia en las ICU, lo cual les hace más vulnerables a infecciones fúngicas. Se han descrito factores de riesgo 25 tales como enfermedad pulmonar obstructiva crónica, uso prolongado de esteroides, enfermedad hepática avanzada, terapia de reemplazamiento renal crónico, ahogamiento inminente y diabetes mellitus.

También se ha producido un incremento drástico en el número de pacientes inmunocomprometidos especialmente en los campos de trasplante de órganos sólidos y médula ósea, síndromes autoinmunes, síndrome de 30 inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y oncología.

Aproximadamente el 40% de la población con trasplante de médula ósea desarrolla infección fúngica invasiva (Khan S.A., Wingard J. R., Natl. Cancer Inst. Nonogr. 2001; 29, 31-36). Las especies de *Candida* y *Aspergillus* son los patógenos más comunes responsables de micosis nosocomial superficial e invasiva en malignidades hematológicas y pacientes con trasplante de médula ósea. En estos pacientes, la mortalidad asociada con la candidosis sistémica es muy alta (50-90%). Respecto al trasplante de órganos sólidos, las complicaciones infecciosas son más frecuentes 35 en pacientes con trasplante de pulmón. Además del régimen inmunosupresivo, la susceptibilidad incrementada se debe principalmente a la exposición constante al entorno exterior. Paralelamente a la intensidad del tratamiento inmunosupresivo, puede ocurrir una infección fúngica invasiva durante los primeros días después de la operación quirúrgica, su frecuencia es más alta en los dos primeros meses y disminuye después de los seis meses, pero 40 puede ocurrir también años después del trasplante (Hamacher J. et al, Eur. Respir. J., 1999; 13, 180-186).

Las infecciones fúngicas invasivas son también frecuentes en otro tipo de trasplantes de órganos sólidos tales como trasplantes de riñón e hígado habiéndose registrado en este caso una incidencia de 5 a 50% (Dictar M. O. et al, Med Mycol., 2000; 38 Suppl. 1, 251-258).

45 Las micosis son una de las principales de morbilidad en pacientes con SIDA y la incidencia y severidad de estas infecciones incrementan con la progresión de la enfermedad y el consecuente deterioro de la inmunidad mediada por células T. La incidencia de las diferentes micosis está estrechamente relacionada con el hongo oportunístico endémico presente en la zona de residencia. Hablando en términos generales, las micosis más frecuentes que afectan a pacientes con SIDA son histoplasmosis, blastomicosis, coccidioidomicosis y paracoccidiomicosis (Sarosi G. A., Davies S. F., West J. Med., 1996; 164, 335-340).

50 Las infecciones mucosales por *Candida* son también extremadamente comunes. En pacientes normales todas estas micosis están normalmente auto-limitadas pero en pacientes inmunodeprimidos llegan a ser altamente invasivas dando como resultado una diseminación progresiva y extensiva.

Además, el incremento de micosis causado por organismos resistentes a terapias corrientes ha llegado a ser

evidente durante los últimos años. Este fenómeno es particularmente evidente para infecciones fúngicas causadas por *Candida albicans* y fluconazol y otros azoles (Bastert J. et al, Int. J. Antimicrob. Agents, 2001; 17, 81-91). Los fármacos antimicóticos actualmente disponibles no son del todo satisfactorios debido a su limitado espectro de actividad y a los fuertes efectos secundarios asociados con su uso. El fármaco poliénico Amfotericina B, por ejemplo, es activo contra *Aspergillus*, *Zigomicetos* y otros mohos en general, y debido a su toxicidad, la dosis autorizada para el tratamiento de micosis invasiva es de 3-5 mg/kg por día. En pacientes altamente inmunocomprometidos con aspergillosis invasiva, la Amfotericina B liposomal encapsulada, administrada diariamente a 3 mg/kg, proporciona una respuesta favorable en el 50% de los pacientes y una tasa de supervivencia a las 12 semanas del 72% (Cornely O. A. et al, Clin. Infect. Dis., 2007; 44, 1289-1297). El fármaco indujo nefrotoxicidad e hipocalcemia en el 14-16% de los pacientes.

Cuando se administró diariamente a 10 mg/kg, la Amfotericina B no aportó ningún beneficio adicional y causó tasas más elevadas de nefrotoxicidad (31%).

Los azoles, introducidos en la segunda mitad de la década de 1970, son bloqueadores de la síntesis de ergosterol. El uso de los fármacos que pertenecen a esta familia está limitado por su estrecho espectro de actividad. El Voriconazol, por ejemplo, es más activo que la Amfotericina B para el tratamiento de aspergillosis invasiva pero no tiene actividad contra *zigomicetos* (Johnson L. B., Kauffman C. A., Clin. Infect. Dis., 2003, 36, 630-637). El empleo de azoles está también limitado por la inducción de varios efectos secundarios. Los azoles interactúan con enzimas p450 de mamíferos dando lugar a la interferencia con el metabolismo de otros fármacos y, en adición, algunos azoles tal como cetoconazol son capaces de bloquear el canal cardiaco de potasio Kv1.5 causando prolongación de QT y "torsade de pointes" (Dumaine R., Roy M. L., Brown A. M., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1998; 286, 727-735).

Las alilaminas tal como Terbinafina se unen a e inhiben epoxidasa de escualeno dando lugar a un bloqueo de la síntesis de ergosterol. Estos fármacos son muy potentes contra *Dermatophytes* mientras que su actividad contra especies de *Candida* es muy pobre. En algunos casos el tratamiento con alilaminas viene seguido por severas reacciones cutáneas adversas. Un reciente estudio de control de casos multinacionales (euroSCAR) (Sidoroff A. et al, Br. J. Dermatol., 2007; 15, 989-996) reveló que el tratamiento sistémico con Terbinafina está fuertemente asociado con el desarrollo de una pustulosis exantemática generalizada aguda (AGEP). Esta enfermedad se caracteriza por la rápida aparición de muchas pústulas no foliculares estériles, acompañado normalmente por leucocitosis y fiebre. La AGEP es generalmente atribuida al tratamiento del paciente con fármacos particulares y parece estar relacionada con una actividad alterada de las células T. El tratamiento con Terbinafina también podría inducir dermatomiositis, una severa enfermedad autoinmune del tejido conectivo caracterizada por eritema, debilidad muscular y fibrosis pulmonar intersticial (Magro C. M. et al, J. Cutan. Pathol., 2008; 35, 74-81). En adición, al igual que una variedad de medicaciones antifúngicas, la Terbinafina podría causar daños hepáticos severos (Pervez Z. et al, Liver Transpl., 2007; 13, 162-164).

La Griseofulvina es un benzofurano introducido en 1960 para el tratamiento de infecciones por dermatofitos. El compuesto induce su actividad fungistática al interferir con la producción de microtúbulos. La Griseofulvina exhibe una actividad limitada en el tratamiento de onicomicosis y frecuentemente causa severos efectos secundarios tales como náusea, diarrea, dolor de cabeza, confusión y fatiga (Korting H. C. et al, Antimicrob. Agents Chemother., 1993; 37, 2064-2068), lo cual puede causar la interrupción del tratamiento.

Las dos N-hidroxi piridonas, Ciclopirox olamina y Octopirox, parecen actuar principalmente por quelación de cationes polivalentes, traduciéndose ello en la inhibición de las enzimas dependientes de metales. Se utilizan contra diferentes infecciones fúngicas pero su uso está limitado al tratamiento tópico.

Las equinocandinas (Caspofungin, Micafungin, Anidulafungin) son lipo-péptidos semisintéticos y son los fármacos antimicóticos más recientemente introducidos. Las mismas actúan mediante la inhibición no competitiva de β -(1-3)-Dglucano sintasa, una enzima esencial para el mantenimiento de la pared celular y se emplean principalmente para el tratamiento intravenoso de candidiasis y aspergillosis invasivas. Las mismas son fungicidas contra levadura pero solo fungistáticas contra hongos filamentosos; en adición, son muy inactivas contra hongos dimórficos tales como *Blastomyces* y *Histoplasma*. Las Equinocandinas son en general bien toleradas pero estudios sobre la reproducción animal han mostrado efectos adversos sobre el feto. Por este motivo, la FDA clasifica las Equinocandinas con la categoría C de riesgo en el embarazo (http://www.fda.gov/medwatch/SAFETY/2004/mar_PI/Candidas_PI.pdf; http://www.fda.gov/medwatch/safety/2007/Aug_PI/Mycamine_PI.pdf).

La EP 1375486 describe una clase genérica y muy amplia de compuestos que tienen actividad inhibidora de integrasa en HIV. Esta amplia clase genérica incluye derivados de 8-hidroxi-quinolina sustituidos por una amplia variedad de sustituyentes, por ejemplo, grupos carboxamida sustituidos en la posición 7. Ninguno de los compuestos específicos descritos en esta referencia son estructuralmente similares a los compuestos de la presente invención.

La EP1541558 describe una clase genérica y muy amplia de compuestos que tienen la actividad inhibidora de

integrasa de HIV. Como una materia de hecho, los compuestos específicos descritos en esta referencia siempre llevan un sustituyente en el anillo piridilo y preferentemente son 3-(4-fluorencil-8-hidroxiquinolinas). Ninguno de los compuestos específicos descritos en esta referencia son estructuralmente similares a los compuestos de la presente invención.

- 5 La WO98/11073 (US6310211) describe una clase genérica de compuestos antivirales que tienen actividad inhibidora de integrasa de HIV. Ninguno de los compuestos específicos descritos en esta referencia son estructuralmente similares a los compuestos de la presente invención.

10 La WO02/30426 describe una clase genérica de compuestos que tienen actividad inhibidora de integrasa de HIV. Como una materia de hecho, la mayor parte de los compuestos específicos descritos en esta referencia portan un residuo naftidivinilo. Ninguno de los compuestos específicos descritos en esta referencia son estructuralmente similares a los compuestos de la presente invención.

La WO02/30930 describe una clase genérica y muy amplia de compuestos que tienen actividad inhibidora de integrasa de HIV. Ninguno de los compuestos específicos descritos en esta referencia son estructuralmente similares a los compuestos de la presente invención.

- 15 En US0326330 y US0326328 se describen composiciones fungicidas que comprenden una combinación de dos fungicidas, uno de los cuales es un compuesto de quinolina o cinolina. Ninguno de los compuestos específicos descritos en esta referencia son estructuralmente similares a los compuestos de la presente invención.

20 La WO96/32015 describe composiciones fungicidas sinérgicas constituidas por derivados de quinolina e inhibidores del complejo III de citocromo. Ninguno de los compuestos específicos descritos en esta referencia son estructuralmente similares a los compuestos de la presente invención.

La EP1669348 describe agentes antifungales definidos por una fórmula muy amplia que incluye ciertas amidas secundarias.

25 A partir de lo descrito anteriormente, es evidente que la necesidad clínica de fármacos antifungales eficaces a incrementado drásticamente en los últimos pocos años. Desafortunadamente, los fármacos actualmente disponibles no son satisfactorios debido a su estrecho espectro de acción, propiedades farmacocinéticas y severos efectos secundarios.

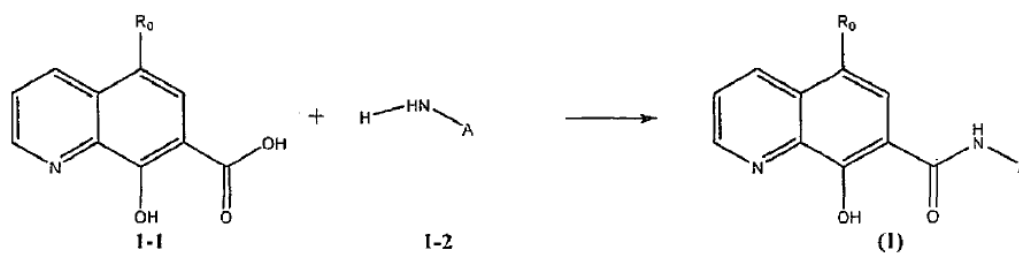
Descripción de la invención.

La presente invención proporciona en particular compuestos dotados de una potente actividad antifungal sseleccionados del grupo consistente en:

- 30 8-Hidroxi-N-(1,1-dioxidotetrahidrotien-3-il)quinolina-7-carboxamida (Ej. 3);
 8-Hidroxi-N-(tetrahidro-2H-piran-4-il)quinolina-7-carboxamida (Ej. 5);
 8-Hidroxi-N-(4-morfolinofenil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 6);
 8-Hidroxi-N-(tiazol-2-il)quinolina-7-carboxamida (Ej. 8);
 8-Hidroxi-N-(isoxazol-3-il)quinolina-7-carboxamida (Ej. 13);
 35 8-Hidroxi-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 15);
 8-Hidroxi-N-((1-metil-1H-imidazol-2-il)metil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 16);
 8-Hidroxi-N-((4-feniltiazol-2-il)metil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 17);
 8-Hidroxi-N-(piridin-4-ilmetil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 18);
 40 8-Hidroxi-N-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)quinolina-7-carboxamida (Ej. 9);
 8-Hidroxi-N-(4-(dimetilamino)encil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 4);
 8-Hidroxi-N-(4-bromencil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 2);
 8-Hidroxi-N-(benzo[d]tiazol-2-ilmetil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 14);
 8-Hidroxi-N-(4-morfolinobencil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 10);
 8-Hidroxi-N-((4-metil-tiazol-2-il)metil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 12);
 45 8-Hidroxi-N-(piridin-2-ilmetil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 1)
 8-Hidroxi-N-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 7);
 8-Hidroxi-N-((5-metilisoxazol-3-il)metil)quinolina-7-carboxamida (Ej. 11).

50 Los compuestos de la presente invención se pueden preparar mediante el acoplamiento de ácidos 8-hidroxiquinolin-7-carboxílicos **1-1** adecuados (o derivados de ácido tales como haluros o ésteres de ácidos) con las aminas **1-2** adecuadas, tal como se representa en el siguiente Esquema general 1:

ESQUEMA 1



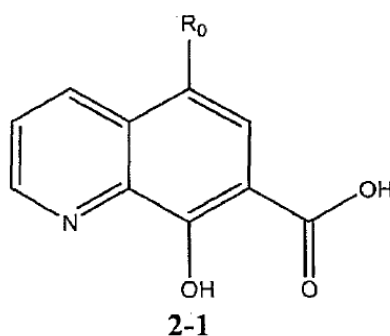
- 5 Alternativamente el grupo hidroxilo del ácido carboxílico puede ser protegido (como se describe en *Bioorg.Med.Chem.*, 14, 2006, 5742-5755 or *Synthesis*, 12, 1997, 1425-1428 o DE540842) antes de llevar a cabo el acoplamiento con la amina y desprotegerse en la etapa final.

Los métodos para acoplar ácidos carboxílicos con aminas para formar carboxamidas son bien conocidos en la técnica. Métodos adecuados se describen, por ejemplo, en Jerry March, *Advanced Organic Chemistry*, 4th edition, John Wiley & Sons, 1992, pp. 417-425.

- 10 Los métodos para proteger y desproteger grupos hidroxilo aromáticos son bien conocidos en la técnica. Los grupos protectores son manipulados de acuerdo con métodos convencionales de síntesis orgánica (Green T.W. y Wuts P.G.M. (1991) *Protecting Groups in Organic Synthesis*, John Wiley et Sons).

El siguiente Esquema 2 ilustra y amplía sobre la química mostrada en el Esquema 1.

ESQUEMA 2



- 15 Cuando R_1 es Br, el ácido carboxílico **2-1** se obtiene por reacción de ácido 8-hidroxiquinolin-7-carboxílico comercialmente disponible con un equivalente de bromo en ácido acético (publicación internacional WO98/11073, publicada el 19 de marzo de 1998).
- 20 Cuando R_1 es F o Cl, los ácidos carboxílicos **2-1** pueden ser preparados a partir de los correspondientes materiales de partida comercialmente disponibles de 5-halo-8-hidroxiquinolinas empleando los métodos descritos en la Publicación Internacional WO98/11073, publicada el 19 de marzo de 1998.
- Cuando R_1 es NO_2 , el ácido carboxílico **2-1** fue preparado por reacción del correspondiente éster de etilo con una mezcla de HNO_3 y H_2SO_4 seguido por hidrólisis alcalina. Alternativamente, el ácido carboxílico **2-1** con $R_1=\text{NO}_2$ se preparó por reacción de ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico con propenal en 6N HCl.
- 25 Será evidente para los expertos en la materia que los procedimientos de síntesis descritos son meramente de naturaleza representativa y que los expertos en química orgánica conocerán procedimientos de síntesis alternativos.

Los siguientes ejemplos sirven solo para ilustrar la invención y su puesta en práctica. Los ejemplos no han de ser considerados como limitativos del alcance o espíritu de la invención.

SECCION EXPERIMENTAL

1. Síntesis química

5 Salvo que se indique lo contrario, todos los reactivos de partida resultaron ser comercialmente disponibles y se utilizaron sin purificación previa. Los compuestos de la presente invención pueden ser preparados fácilmente empleando procedimientos de síntesis convencionales. En estas reacciones, también es posible hacer uso de variantes que por sí mismas son ya conocidas para el experto normal en esta materia, pero no se mencionan con mayor detalle. Además otros métodos para preparar los compuestos de esta invención serán fácilmente evidentes para el experto en la materia a la luz de los siguientes esquemas de reacción y ejemplos. Salvo que se indique lo contrario, todas las variables son como se han definido anteriormente. Cuando se hace referencia al uso de un procedimiento "análogo", como podrá ser apreciado por los expertos en la materia, dicho procedimiento puede involucrar pequeñas variaciones, por ejemplo en la temperatura de reacción, cantidad de reactivo/disolvente, tiempo de reacción, condiciones de elaboración o condiciones de purificación cromatográfica. Las abreviaturas empleadas en la presente descripción, particularmente en las tablas y en los ejemplos, se resumen en la tabla 1.

15

TABLA 1

LC-MS (Cromatografía líquida-espectro de masas)	ESI (ionización por electropulverización)
UPLC (Cromatografía líquida de ultra-resolución)	R _t (tiempo de retención en minutos)
TFA (ácido trifluoroacético)	min (minutos)
µm (micrómetros)	h (horas)
mmol (milimoles)	RT (temperatura ambiente)
µl (microlitros)	CH ₃ CN (acetonitrilo)
THF (tetrahidrofurano)	DCM (diclorometano)
DMSO (dimetilsulfóxido)	Na ₂ SO ₄ (sulfato sódico)
SPE-SI (extracción en fase sólida con gel de sílice)	CFU (unidad formadora de colonias)

Salvo que se indique lo contrario, todas las temperaturas se expresan en ° C (grados centígrados) o K (Kelvin).

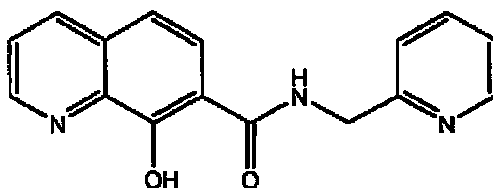
20 Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (¹H-NMR) fueron registrados en un aparato Bruker 300MHz. Los cambios químicos se expresan en partes por millón (ppm, unidades δ). Los modelos de división describen multiplicidades aparentes y se designan como s (singlete), d (doblete), t (triplete), q (cuartete), quint (quintete), sxt (sextete), m (multiplete), br.s (singlete ancho).

Se registraron LC-MS bajo las siguientes condiciones:

25 UPLC con Manipulador de Muestras y Detector 2996 PDA (Waters) interconectados con un Mass Spectrometer Single Quadrupole ZQ (Waters). Interfaz ZQ: modo positivo ESI. Escaneado completo desde 102 a 900 amu. Capilar 3,2V, cono 25V, extractor 3V, RF 0,3V, temperatura de la fuente 115° C, temperatura de desolvatación 350° C, flujo de gas 800 l/h, cono 100 Uh.

30 • Método A: Columna Aquity UPLC-BEH C18 (50x2,1 mm, 1,7 mm). Velocidad de flujo 0,6 ml/min, columna a 40° C, inyección 2 µl. Fases móviles: fase A = agua/CH₃CN 95/5 + 0,1% TFA, B fase = agua/CH₃CN = 5/95 + 0,1 % TFA, Gradiente: 0-0,25 min (A: 95%, B: 5%), 3,30 min (A: 0%, B: 100%), 3,30-4,00 (A: 0%, B: 100%), 4,10 min (A: 95%, B: 5%), 4,10-5,00 min (A: 95%, B: 5%).

• Método B: columna Atlantis dC18 (100x2,1 mm, 3,0 mm). Velocidad de flujo 0,3 ml/min, columna a 40° C, inyección 2 µl. Fases móviles: Fase A = agua/CH₃CN 95/5 + 0,1% TFA, B fase = agua/CH₃CN = 5/95 + 0,1% TFA, Gradiente: 0-0,20 min (A: 95%, B: 5%), 5,00 min (A: 0%, B: 100%), 5,00-6,00 (A: 0%, B: 100%), 6,10 min (A: 95%, B: 5%), 6,10-7,00 min (A: 95%, B: 5%).

35 **Ejemplo 1:**

8-Hidroxi-N-(piridin-2-ilmetil)quinolina-7-carboxamida

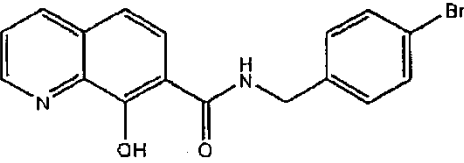
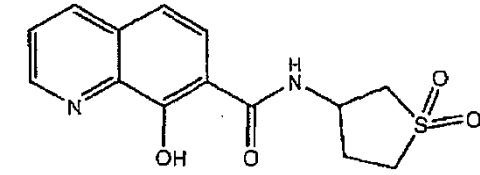
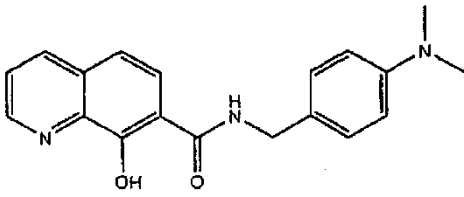
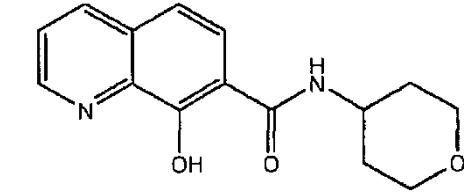
Se calentó a 60° C durante 3 horas, bajo nitrógeno, una mezcla de ácido 8-hidroxiquinolina-7-carboxílico (100 mg, 0,53 mmol) y di(1H-imidazol-1-il)metanona (86 mg, 0,53 mmol) en THF (5 ml). La mezcla de reacción se dejó enfriar a TA y se añadió piridin-2-ilmetanamina (46 mg, 0,424 mmol). La mezcla resultante se calentó a 40° C durante 2 horas y luego se agitó a TA. La mezcla de reacción se enfrió rápidamente con H₂O y una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y se extrajo dos veces con DCM. Las fases orgánicas separadas se secaron sobre Na₂SO₄ y luego se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo fue purificado mediante un cartucho SPE-SI (2 g, DCM a DCM:MeOH 99:1) proporcionando el compuesto del título (73 mg, 0,26 mmol) como un sólido blanquecino.

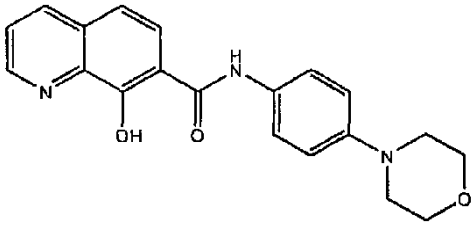
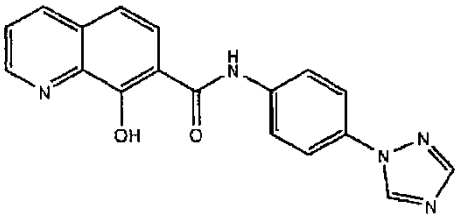
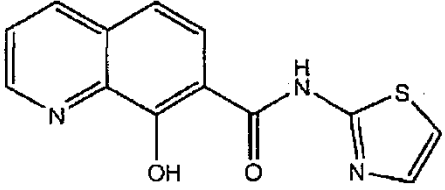
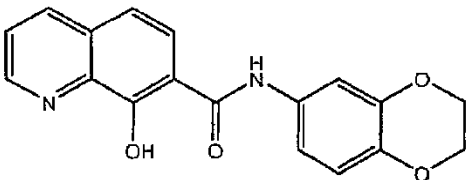
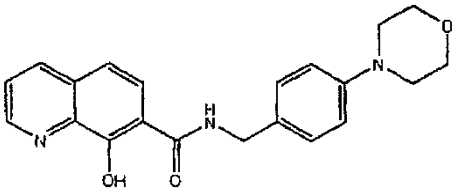
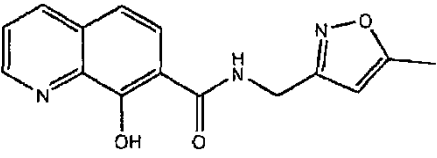
LC-MS m/z (ESI⁺): 280.14 (MH⁺), R_t=0.57 min (Método A).

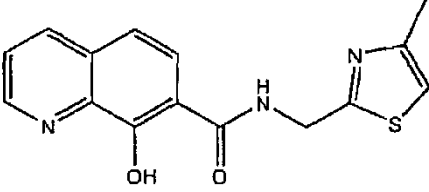
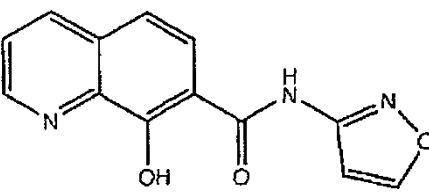
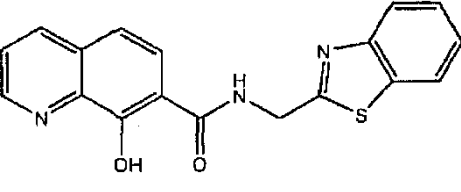
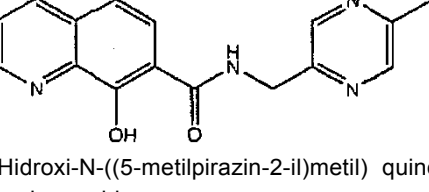
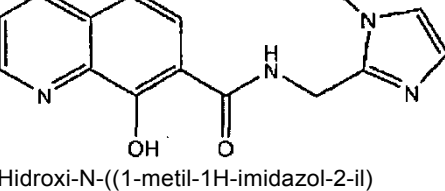
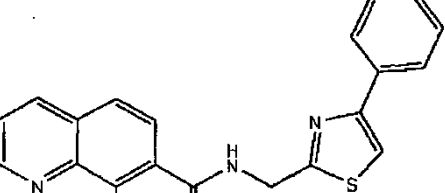
¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 9,46 (t, 1 H); 8,93 (dd, 1 H); 8,54 (ddd, 1 H); 8,37 (dd, 1 H); 8,06 (d, 1 H); 7,78 (td, 1 H); 7,66 (dd, 1 H); 7,45 (d, 1 H); 7,41 (d, 1 H); 7,29 (ddd, 1 H); 4,70 (d, 2 H).

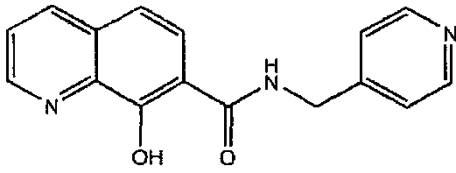
Si siguiendo procedimientos análogos al descrito anteriormente, se prepararon los compuestos adicionales de la presente invención (Tabla 2).

TABLA 2

Ej.	Nombre químico	¹ H NMR (DMSO-d ₆)	Método LC-MS	R _t ; [MH ⁺]
2	 8-Hidroxi-N-(4-bromobencil)quinolina-7-carboxamida	δ: 9,35 (t, 1H); 8,92 (dd, 1H); 8,36 (dd, 1H); 8,00 (d, 1H); 7,66 (dd, 1H); 7,49-7,60 (m, 2H); 7,44 (d, 1H); 7,29-7,40 (m, 2H); 4,43-4,70 (m, 2H),	A	1,74; 357,0
3	 8-Hidroxi-N-(1,1-dioxidotetrahidrotien-3-il)quinolina-7-carboxamida	δ: 9,09 (d, 1H); 8,92 (dd, 1H); 8,37 (dd, 1H); 7,97 (d, 1H); 7,66 (dd, 1H); 7,43 (d, 1H); 4,58-4,93 (m, 1H); 3,56 (dd, 1H); 3,37 (ddd, 1H); 3,09-3,30 (m, 2H); 2,55-2,61 (m, 1H); 2,14-2,40 (m, 1H),	A	0,77; 307,1
4	 8-Hidroxi-N-(4-(dimetilamino)bencil) quinolina-7-carboxamida	δ: 9,20 (t, 1H); 8,91 (dd, 1H); 8,34 (dd, 1H); 8,02 (d, 1H); 7,64 (dd, 1H); 7,41 (d, 1H); 7,21 (m, 2H); 6,71 (m, 2H); 4,46 (d, 2H); 2,86 (s, 6H),	A	0,79; 322,1
5	 8-Hidroxi-N-(tetrahidro-2H-piran-4-il) quinolina-7-carboxamida	δ: 8,91 (dd, 1H); 8,70 (d, 1H); 8,35 (dd, 1H); 8,01 (d, 1H); 7,64 (dd, 1H); 7,42 (d, 1H); 4,01-4,28 (m, 1H); 3,78-4,01 (m, 2H); 3,44 (td, 2H); 1,76-2,01 (m, 2H); 1,53-1,72 (m, 2H),	A	0,92; 273,1

Ej.	Nombre químico	¹ H NMR (DMSO-d ₆)	Método LC-MS	R _t [MH ⁺]
6	 <p>8-Hidroxi-N-(4-morfolinofenil)quinolina-7-carboxamida</p>	<p>δ: 10,63 (br, s, 1H); 8,93 (dd, 1H); 8,43 (dd, 1H); 8,07 (d, 1H); 7,69 (dd, 1H); 7,52-7,65 (m, 2H); 7,44 (d, 1H); 6,86-7,11 (m, 2H); 3,61-3,89 (m, 4H); 2,95-3,27 (m, 4H),</p>	A	1,05; 350,2
7	 <p>8-Hidroxi-N-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenil)quinolina-7-carboxamida</p>	<p>δ: 11,28 (br, s, 1H); 9,25 (s, 1H); 8,94 (dd, 1H); 8,50 (dd, 1H); 8,22 (s, 1H); 8,05 (d, 1H); 7,90 (m, 4H); 7,74 (dd, 1H); 7,42 (d, 1H),</p>	A	1,16; 332,1
8	 <p>8-Hidroxi-N-(tiazol-2-il)quinolina-7-carboxamida</p>	<p>(353K) δ: 8,90 (dd, 1H); 8,50 (dd, 1H); 8,13 (d, 1H); 7,74 (dd, 1H); 7,51 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,19 (d, 1H),</p>	A	1,11; 272,0
9	 <p>8-Hidroxi-N-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)quinolina-7-carboxamida</p>	<p>δ: 10,72 (br, s, 1H); 8,93 (dd, 1H); 8,45 (dd, 1H); 8,03 (d, 1H); 7,70 (dd, 1H); 7,43 (d, 1H); 7,40 (d, 1H); 7,11 (dd, 1H); 6,86 (d, 1H); 4,12-4,37 (m, 4H),</p>	A	1,43; 323,2
10	 <p>8-Hidroxi-N-(4-morfolinobencil)quinolina-7-carboxamida</p>	<p>δ: 9,22 (t, 1H); 8,91 (dd, 1H); 8,35 (dd, 1H); 8,02 (d, 1H); 7,64 (dd, 1H); 7,42 (d, 1H); 7,25 (m, 2H); 6,92 (m, 2H); 4,49 (d, 2H); 3,60-3,90 (m, 4H); 2,93-3,18 (m, 4H),</p>	A	1,10; 364,1
11	 <p>8-Hidroxi-N-((5-metilisoxazol-3-il)metil)quinolina-7-carboxamida</p>	<p>δ: 9,38 (t, 1H); 8,92 (dd, 1H); 8,36 (dd, 1H); 7,99 (d, 1H); 7,66 (dd, 1H); 7,42 (d, 1H); 6,22 (s, 1H); 4,59 (d, 2H); 2,38 (s, 3H),</p>	A	1,10; 284,2

Ej.	Nombre químico	¹ H NMR (DMSO-d ₆)	Método LC-MS	R _t [MH ⁺]
12	 <p>8-hidroxi-N-((4-metilthiazol-2-il)metil)quinolina-7-carboxamida</p>	<p>δ: 9,59 (t, 1 H), 8,93 (dd, 1 H), 8,38 (dd, 1H), 8,01 (d, 1 H), 7,67 (dd, 1H), 7,44 (d, 1H), 7,16 (q, 1 H), 4,83 (d, 2 H), 2,35 (s, 3H)</p>	A	1,08; 300,2
13	 <p>8-Hidroxi-N-(isoxazol-3-il)quinolina-7-carboxamida</p>	<p>δ: 12,50 (br, s, 1H); 8,91 (dd, 1H); 8,85 (d, 1H); 8,61 (dd, 1H); 8,09 (d, 1H); 7,81 (dd, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,13 (d, 1H),</p>	A	1,11; 256,1
14	 <p>8-Hidroxi-N-(benzo[d]thiazol-2-ilmetil) quinolina-7-carboxamida</p>	<p>5: 9,73 (t, 1H); 8,95 (dd, 1H); 8,39 (dd, 1H); 8,03-8,11 (m, 1H); 8,04 (d, 1H); 7,91-8,01 (m, 1H); 7,69 (dd, 1H); 7,35-7,58 (m, 3H); 5,02 (d, 2H),</p>	A	1,50; 336,1
15	 <p>8-Hidroxi-N-((5-metilpirazin-2-il)metil) quinolina-7-carboxamida</p>	<p>δ: 9,46 (t, 1H); 8,93 (dd, 1H); 8,57 (d, 1H); 8,50 (d, 1H); 8,37 (dd, 1H); 8,02 (d, 1H); 7,66 (dd, 1H); 7,44 (d, 1H); 4,70 (d, 2H); 2,49 (br, s, 3H),</p>	A	0,98; 295,2
16	 <p>8-Hidroxi-N-((1-metil-1H-imidazol-2-il)metil)quinolina-7-carboxamida</p>	<p>δ: 9,28 (t, 1H); 8,92 (dd, 1H); 8,36 (dd, 1H); 8,05 (d, 1H); 7,66 (dd, 1H); 7,43 (d, 1H); 7,11 (d, 1H); 6,83 (d, 1H); 4,64 (d, 2H); 3,69 (s, 3H),</p>	B	2,39; 283,2
17	 <p>8-Hidroxi-N-((4-feniltiazol-2-il)metil) quinolina-7-carboxamida</p>	<p>δ: 9,75 (t, 1H); 8,94 (dd, 1H); 8,38 (dd, 1H); 8,01-8,07 (m, 2H); 7,93-8,00 (m, 2H); 7,67 (dd, 1H); 7,40-7,52 (m, 3H); 7,27-7,39 (m, 1H); 4,94 (d, 2H),</p>	A	1,74; 362,1

Ej.	Nombre químico	¹ H NMR (DMSO-d ₆)	Método LC-MS	R _t [MH ⁺]
18	 8-hidroxi-N-(piridin-4-ilmetil)-quinolina-7-carboxamida	δ : 9,40 (t, 1H); 8,93 (dd, 1H); 8,44-8,61 (m, 2H); 8,37 (dd, 1H); 8,02 (d, 1H); 7,66 (dd, 1H); 7,45 (d, 1H); 7,28-7,41 (m, 2H); 4,63 (d, 2H),	B	2,04; 280,1

2. Ensayo de la actividad: Métodos y resultados

Organismos usados para ensayar la actividad antifungal

- 5 *Trichophyton Rubrum* (ATCC 28188, PBI International); *Trichophyton Mentagrophytes* (ATCC 9533, PBI International); *Aspergillus Niger* (ATCC 16404, PBI International); *Scopulariopsis Brevicaulis* (ATCC 36840, DSMZ); *Candida Albicans* (ATCC 90028, PBI International); *Candida Glabrata* (ATCC 90030, DSMZ).

Preparación y conservación

Las cepas fueron preparadas a partir de ampollas liofilizadas o pellets liofilizados.

- 10 Se preparó un aislado de las suspensiones sobre Agar de Dextrosa de Patata (PDA) para ensayar la pureza de las cepas. Se realizó un crecimiento masivo de las cepas mediante el rallado de suspensiones microbiales sobre placas PDA.

La incubación fue a 30° C durante 48-72 h (levaduras de *Candida*) y durante 7-10 días (hongos filamentosos).

Las colonias de levaduras y los conidios de hongos filamentosos se recogieron con 3,5 ml de RPMI 1640 + 50% de glicerol y las partes alícuotas se congelaron a -80° C.

- 15 Ensayo de la susceptibilidad antifungal

- 20 Se determinó la concentración de inhibición mínima (MIC) de los compuestos a través de un ensayo de susceptibilidad de micro-dilución del caldo empleando un método desarrollado de acuerdo con el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved standard-Second Edition M27-A2. 2002; Vol. 22, No. 15) (National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved standard M38-A. 2002; Vol. 22, No. 16).

- 25 Los ensayos fueron realizados en RPMI 1640 con medio de L-glutamina tamponado a pH 7 con 0,165 M ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico (MOPS) y 10M NaOH y suplementado con 18 g de glucosa/l. los ensayos fueron realizados empleando placas estériles de 96 pocillos (tamaño del inóculo de 1×10^5 CFU/ml). Se prepararon soluciones madre de los compuestos a 12,8 mg/ml en DMSO al 100%. Se preparó una serie de diluciones dobles en la placa empleando RPMI 1640. Las concentraciones finales oscilaron desde 0,125 a 128 mg/ml en DMSO al 1%.

- 30 La MIC se define como la concentración más baja de agente antifungal que previene cualquier crecimiento visible y fue determinada después de 48 h de incubación para levaduras (35° C) y después de 5 días de incubación para hongos filamentosos (35° C).

Resultados

Los valores MIC para los compuestos sumamente preferidos calculados como la media geométrica de los valores obtenidos en dos experimentos individuales, se ofrecen en la tabla 3.

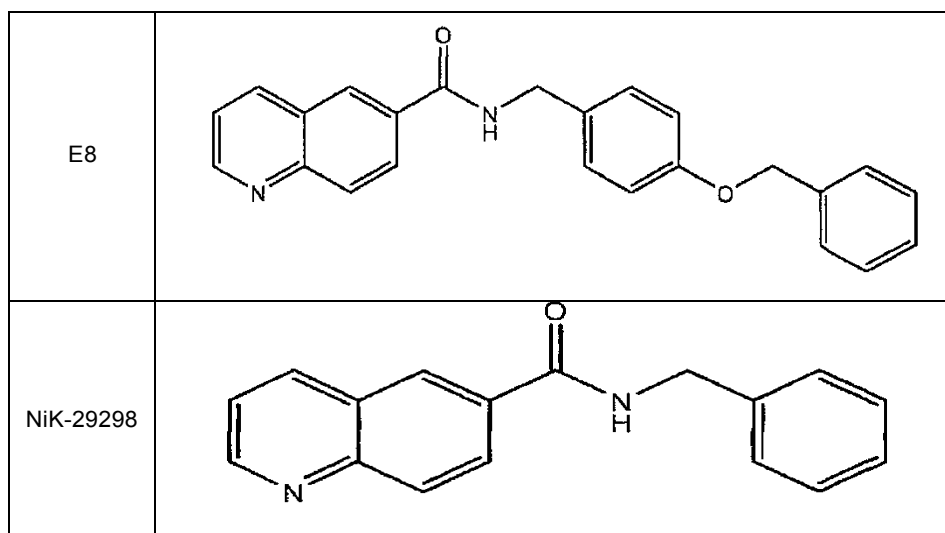
35

TABLA 3

Ej.	Trycophylon Rubrum ATCC 28188	Tricophyton Mentagrophytes ATCC 9533	Aspergillus Niger ATCC 16404	Scopulariopsis Brevicaulls ATCC 36840	Candida Albicans ATCC 90028	Candida Glabrata ATCC 90030
9	0,25	0,50	1,00	1,00	2,00	2,00
4	1,00	0,71	0,50	1,00	2,83	1,41
2	1,41	1,00	0,71	1,41	1,41	1,41
14	2,00	1,00	0,50	1,00	2,00	2,83
10	1,00	0,50	0,50	4,00	4,00	2,00
12	1,41	2,83	1,00	1,00	2,00	2,00
1	2,00	2,00	0,50	1,00	4,00	4,00
7	2,52	2,00	1,00	1,26	2,00	2,83
11	1,00	4,00	1,00	2,83	2,00	2,00

- 5 Por otro lado, el compuesto codificado como E8 en EP1669348A1 fue sintetizado junto con un nuevo compuesto (codificado como NiK-2928), no incluido entre aquellos descritos en EP1669348A1 ni en la presente invención, que puede ser utilizado como un enlace entre la clase de compuestos descritos en la presente solicitud y aquellos descritos en EP1669348A1 (Tabla 4).

TABLA 4



- 10 Los valores MIC para estos compuestos, ensayados sobre los mismos organismos empleados para evaluar la potencia de los derivados descritos en la presente solicitud, se ofrecen en la tabla 5.

TABLA 5

Ej.	Trycophyton Rubrum ATCC 28188	Tricophyton Mentagrophytes ATCC 9533	Aspergillus Niger ATCC 16404	Scopulariopsis Brevicaulis ATCC 36840	Candida Albicans ATCC 90028	Candida Glabrata ATCC 90030
E8	>128	75	2-128	>128	1,41	1,00
NiK- 2928	>128	128	64-128	>128	2,00	5,65

- 15 Como puede ser apreciado, todos los compuestos indicados en la tabla 3 son activos sobre la totalidad de las 6 cepas ensayadas, incluyendo levaduras, dermatofitos y mohos. Este amplio espectro de los compuestos de la presente invención ha de tenerse en cuenta respecto a una eficacia pronosticada sobre todos los tipos de infecciones fungales en humanos o en animales, incluyendo infecciones en la piel, cuero cabelludo y uñas, causadas en su mayoría por dermatocitos; infecciones vaginales, bucales e intestinales, causadas en su mayor parte por

levaduras; infecciones en orejas, pulmones, ojos y otras infecciones sistémicas, causadas en su mayor parte por mohos.

5 Por el contrario, el compuesto E8, descrito en EP1669348A1, y el compuesto NiK-29298, caracterizado por el mismo endamiaje de quinolina descrito en EP1669348A1, solo son activos en levaduras y no exhiben ninguna actividad apreciable contra las otras cepas, incluyendo dermatofitos y mohos.

Mecanismo de acción

10 Es sabido en la técnica que ciclopirox, uno de los agentes antifungales más potentes y de amplio espectro, destruye las células fungales por quelación de Fe^{3+} , es decir, sustrayendo los iones hierro de las células fungales, y su acción in vitro es inhibida únicamente por la adición de una cantidad adecuada de iones Fe^{3+} al medio. El compuesto ciclopirox es también conocido en la técnica por ser el único agente antifungal que, debido a su peculiar mecanismo de acción, no induce resistencias en cepas fungales.

Método para la evaluación del mecanismo de acción

15 Para verificar si el mecanismo de acción de los compuestos es la quelación de iones hierro, se realizó la determinación de MIC con la cepa *Candida glabrata* (ATCC 90030) mediante la adición de iones hierro en exceso (100 mM FeCl_3) en el medio de ensayo. La viabilidad de las células expuestas a los fármacos, con o sin el ión metálico Fe^{3+} , fue evaluada mediante la medición de OD a 540 nm.

Los compuestos descritos en el ejemplo 2, E8 y NiK-29298 fueron evaluados en presencia y en ausencia de 100 mM (100 micromoles) de Fe^{3+} .

Los resultados se ofrecen en las siguientes figuras 1, 2 y 3.

20 En todas las figuras, las líneas y puntos representan el porcentaje de inhibición del crecimiento fungal (en ordenadas) por adición de diferentes concentraciones de agentes antifungales (en abscisas). Las líneas y puntos de color azul son los experimentos efectuados sin la suplementación de hierro, mientras que las líneas y puntos de color rojo representan los resultados de los experimentos realizados en presencia de 100 mM de Fe^{3+} . Como es conocido en la técnica, el efecto del ciclopirox es inhibido por completo mediante la presencia de Fe^{3+} y *Candida glabrata* es capaz de crecer normalmente (figura 1). Por el contrario, el Fe^{3+} no tiene efecto sobre anfotericina, un agente antifungal conocido en la técnica por tener un mecanismo de acción diferente de aquel de ciclopirox.

Todos los compuestos de la presente invención tienen un comportamiento similar al ciclopirox, es decir, su actividad antifungal es inhibida por completo mediante la presencia de Fe^{3+} (figura 2).

30 Por el contrario, el compuesto E8, descrito en EP1669348A1 y el compuesto NiK-29298 con el andamiaje de quinolona descrito en EP1669348A1, al contrario que ciclopirox y al contrario que los compuestos de la presente invención, no fueron inhibidos por la presencia de iones Fe^{3+} en el medio de cultivo.

En conclusión, los compuestos descritos en EP1669348A1 tienen un estrecho espectro de acción, limitado a levaduras, al tiempo que los mismos no exhiben actividad antifungal contra dermatofitos o mohos. Además, su mecanismo de acción es independiente de la quelación de hierro.

35 Por el contrario, los compuestos de la presente invención son superiores a los descritos en EP1669348A1, ya que tienen una potente actividad antifungal con un amplio espectro de acción, extendido a levaduras, dermatofitos y mohos. Esta característica hace que su eficacia sea pronosticable en una variedad de infecciones fungales, incluyendo infecciones de la piel, cuero cabelludo, uñas, además de infecciones vaginales, bucales e intestinales y por último infecciones de oreja, pulmonares, oculares y otras infecciones sistémicas. Por otro lado, los compuestos de la presente invención son superiores a los descritos en EP1669348A1, ya que su mecanismos de acción es la quelación de hierro, un mecanismo conocido en la técnica para evitar desarrollo de resistencia en las células fungales.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado del grupo consistente en:

- 8-Hidroxi-N-(1,1-dioxidotetrahidrotien-3-il)quinolina-7-carboxamida;
- 5 8-Hidroxi-N-(tetrahydro-2H-piran-4-il)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-(4-morfolinofenil)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-(tiazol-2-il)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-(isoxazol-3-il)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-((5-metilpirazin-2-il)metil)quinolina-7-carboxamida;
- 10 8-Hidroxi-N-((1-metil-1H-imidazol-2-il)metil)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-((4-feniltiazol-2-il)metil)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-(piridin-4-ilmetil)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-(4-(dimetilamino)bencil)quinolina-7-carboxamida;
- 15 8-Hidroxi-N-(4-bromobencil)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-(benzo[d]tiazol-2-ilmetil)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-(4-morfolinobencil)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-((4-metiltiazol-2-il)metil)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-(piridin-2-ilmetil)quinolina-7-carboxamida;
- 20 8-Hidroxi-N-(4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenil)quinolina-7-carboxamida;
- 8-Hidroxi-N-((5-metilisoxazol-3-il)metil)quinolina-7-carboxamida.

2. Una formulación farmacéutica que contiene al menos un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, junto con al menos un vehículo, excipiente y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

FIGURA 1

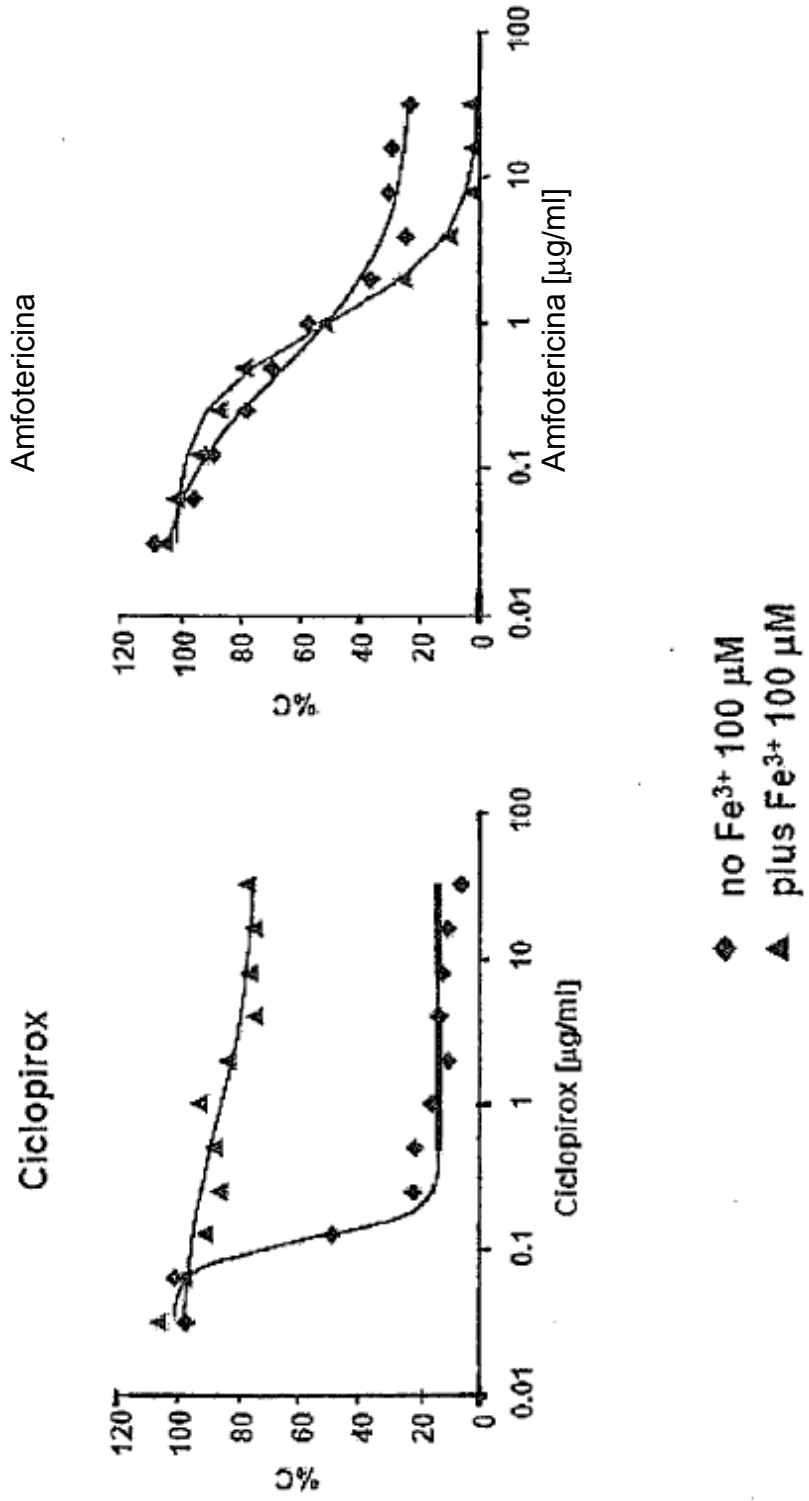


FIGURA 2

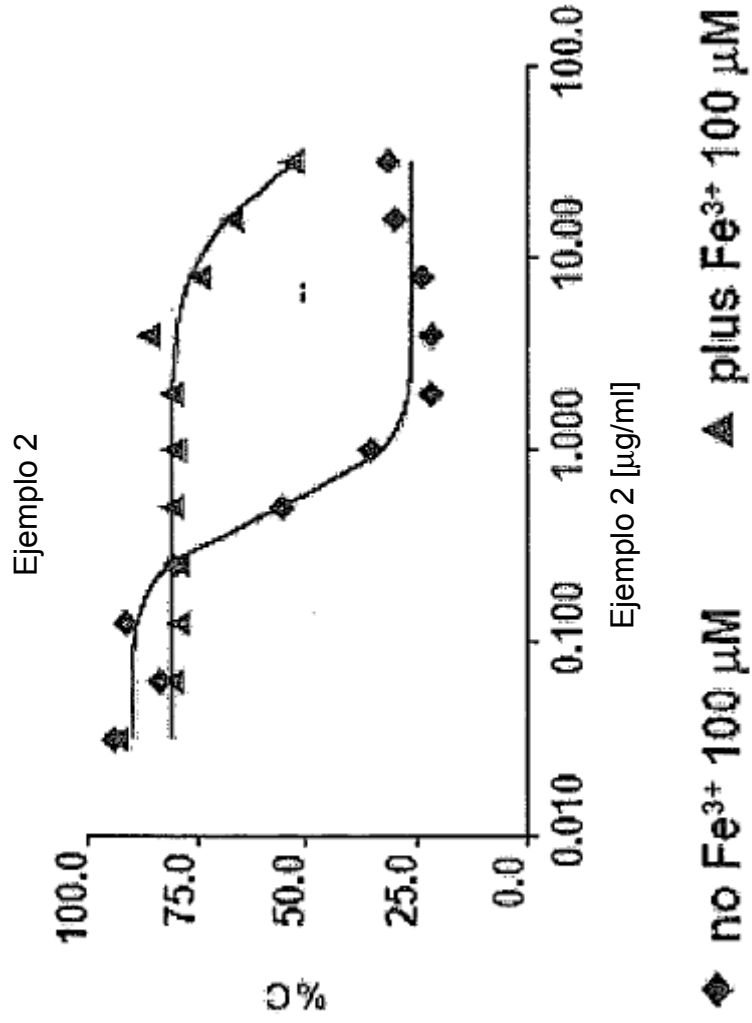


FIGURA 3

