

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 526 935**

21 Número de solicitud: 201331081

51 Int. Cl.:

C07D 487/14 (2006.01)

A61K 31/5025 (2006.01)

A61P 33/02 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

16.07.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

16.01.2015

71 Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ (100.0%)
Plaza de San Diego, s/n
28801 Alcalá de Henares (Madrid) ES

72 Inventor/es:

JIMÉNEZ RUIZ, Antonio;
GUTIÉRREZ VIÑAS, Kilian;
MORENO MATEOS, David;
SÁNCHEZ ALONSO, Patricia;
ALAJARÍN FERRÁNDEZ, Ramón;
VAQUERO LÓPEZ, Juan José y
ÁLVAREZ-BUILLA GÓMEZ, Julio

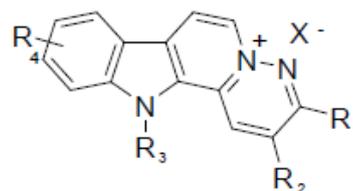
74 Agente/Representante:

GUTIÉRREZ DE MESA, José Antonio

54 Título: **Compuestos para el tratamiento de infecciones por Leishmania**

57 Resumen:

La presente invención se refiere a compuestos de Fórmula I, su uso para el tratamiento de infecciones por Leishmania, además de las composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos.



I

Figura 1

COMPUESTOS PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES POR LEISHMANIA**DESCRIPCIÓN**

5

SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención está relacionada con el campo de la síntesis química de compuestos que tienen estructuras de sales piridazino[1',6':1,2]pirido[3,4-b]indolinio que son bioactivos contra el parásito *Leishmania*.

10

ESTADO DE LA TECNICA

Los parásitos del género *Leishmania* deben su nombre a W.B. Leishman, quién desarrolló las primeras técnicas de detección de los parásitos en 1901. Este parásito es el causante de la leishmaniasis, una enfermedad presente en 22 países de América y 66 naciones del viejo mundo, con especial incidencia en Asia Sur-oriental, África Oriental y Brasil. En Europa es posible encontrar casos de infección en humanos en 16 países, entre los cuales destacan Francia, Italia, Grecia, Malta, España y Portugal. La enfermedad presenta diversas manifestaciones que, en su mayoría, dependen de la especie causante de la infección. La mayor parte de los casos corresponden a la forma cutánea, que afecta a la piel de los pacientes, siendo responsable de severas desfiguraciones. Sin embargo, los casos más relevantes desde el punto de vista de la salud corresponden a la forma visceral de la enfermedad (LV), que causa miles de muertes al año.

20

25

Aproximadamente el 60% de los casos de LV, también conocida como Kala-azar, ocurren en el subcontinente indio (Bangladesh, India y Nepal), principalmente entre la población más pobre de las áreas rurales. El resto de los casos se localizan en África oriental (Etiopía, Kenia y Sudán) y en Brasil. La LV es causada por dos especies diferentes, *L. donovani* y *L. infantum*, cada una de ellas con una distribución geográfica propia. *L. infantum* infecta principalmente a niños e individuos inmuno-suprimidos, mientras que *L. donovani* infecta a individuos de todas las edades. Se estima que cada año se producen

30

unas 50.000 muertes a causa de esta enfermedad y se registran 500.000 nuevos casos. Entre las enfermedades causadas por parásitos, esta tasa de muerte es sólo superada por la malaria.

5 El perro es el principal reservorio de las especies causantes de LV. Existen evidencias que demuestran una disminución de la incidencia de la enfermedad, tanto en perros como en niños, como consecuencia de un amplio análisis serológico de la población de perros y la posterior eliminación de los animales infectados. Sin embargo, esta estrategia de control es considerada como poco aceptable y serían deseables otras medidas
10 conducentes al control de la enfermedad en éstos animales. Datos recientes muestran una incidencia muy elevada de la infección en perros domésticos de los países de la cuenca mediterránea, considerándose de hecho una de las enfermedades más frecuentes y letales entre estos animales (Solano-Gallego, L., P. Morell, et al. 2001. J Clin Microbiol 39: 560-3).

15

El tratamiento de la LV está basado en el empleo de fármacos anti-*Leishmania* y en un agresivo control de cualquier infección bacteriana o parasitaria concomitante, de posibles anemias, hipovolemia y malnutrición. Los antimoniales pentavalentes estibogluconato sódico y antimoniato de meglumina han constituido la primera línea de tratamiento en
20 muchas áreas del planeta durante más de 70 años. Los antimoniales son fármacos tóxicos con frecuentes efectos adversos tales como arritmias cardíacas, y pancreatitis agudas. Los pacientes con edades menores de 2 años o superiores a los 45 con la enfermedad avanzada y/o con malnutrición severa presentan un elevado riesgo de muerte durante la terapia con antimoniales como consecuencia de su elevada
25 citotoxicidad, lentitud de acción y/o complicaciones de la enfermedad (Chappuis, F., S. Sundar, et al. 2007. Nat Rev Microbiol 5(11): 873-82).

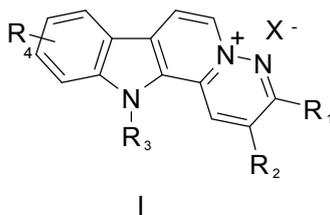
El tratamiento con Anfotericina B convencional ha reemplazado a los antimoniales en el tratamiento de la LV en algunas áreas, en las que la tasa de fallo de los antimoniales
30 supera el 60%. Fiebre, escalofríos y rigor son efectos casi universales del tratamiento con Anfotericina B convencional y no es extraño encontrar efectos adversos con grave riesgo para la vida como la caída de la concentración de potasio en sangre, nefrotoxicidad e incluso choques anafilácticos tras la primera dosis. Además, este fármaco es costoso y

su régimen de administración es complicado (15 infusiones lentas en días alternos) (Chappuis, F., S. Sundar, et al. 2007. Nat Rev Microbiol 5(11): 873-82).

A pesar de la existencia de algunas alternativas a estos tratamientos, como es el caso de la anfotericina B liposomal, la miltefosina (un fármaco originalmente desarrollado como anti-tumoral), la paramomicina (antibiótico aminoglicósido), y la Sitamaquina (8-aminoquinolina), existe todavía una gran necesidad de avanzar en la investigación y desarrollo de nuevos fármacos que mejoren el repertorio de estrategias disponibles para el control de la enfermedad.

DESCRIPCION DE LA INVENCION

Un primer aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula I:



R_1 y R_2 son iguales o diferentes y ambos se seleccionan de la lista que comprende: hidrógeno, alquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_6), arilo, heteroarilo o los diradicales 2,2'-bifenilo, 1,8-naftilo y 1,9-antranilo; donde R_3 es hidrógeno, alquilo (C_1-C_{10}), arilmetilo, heteroarilmetilo, haloalquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_6), alquenilo (C_1-C_{10}), alquinilo (C_1-C_{10}), alcóxicarbonilo ($-COOR_a$) donde R_a es un grupo alquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_6), alquenilo (C_1-C_{10}), alquinilo (C_1-C_{10}), arilo o heteroarilo, alcóxicarbonilalquilo ($-(CH_2)_n-COOR_a$), donde $1 \leq n \leq 10$ y donde R_a se ha definido anteriormente; donde R_4 es hidrógeno; alquilo (C_1-C_{10}); halógeno (flúor, cloro, bromo o yodo); nitro; amino; alquilamino (R_b-NH-) donde R_b es un grupo alquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_6), alquenilo (C_1-C_{10}), alquinilo (C_1-C_{10}), arilmetilo o heteroarilmetilo; arilamino ($Ar-NH-$) donde Ar es un grupo arilo; heteroarilamino ($Het-NH-$) donde Het es un grupo heteroarilo; hidroxilo; alcoxi (R_c-O-) donde R_c es un grupo alquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_6), alquenilo (C_1-C_{10}), alquinilo (C_1-C_{10}), arilmetilo o heteroarilmetilo; ariloxi ($Ar-O-$) donde Ar es un grupo arilo; heteroariloxi ($Het-O-$) donde Het es un grupo heteroarilo; y donde X^- puede ser cualquier

anión orgánico o inorgánico, biológica o farmacéuticamente aceptable, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de la infección causada por el parásito *Leishmania*.

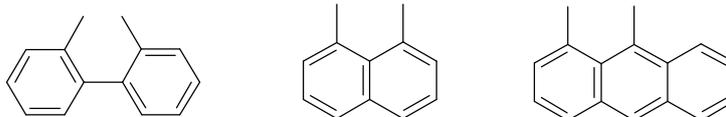
5 El término “alquilo” se refiere, en la presente invención, a cadenas alifáticas, lineales o ramificadas.

El término “cicloalquilo” se refiere, en la presente invención, a cadenas alifáticas cíclicas.

10 El término “arilo” se refiere a un anillo carbocíclico aromático, que puede estar sustituido por un grupo electroattractor o electrodonador en cualquiera de sus posiciones.

El término “heteroarilo” se refiere a un anillo heterocíclico aromático, que puede estar sustituido por un grupo electroattractor o electrodonador en cualquiera de sus posiciones.

15 Los términos “2,2'-bifenilo”, “1,8-naftilo” y “1,9-antranilo” comprenden respectivamente los siguientes diradicales:



20 El término “arilmetilo” se refiere a un anillo carbocíclico aromático, que puede estar sustituido por un grupo electroattractor o electrodonador en cualquiera de sus posiciones, unido a la estructura general I a través de un grupo metileno (-CH₂-).

El término “heteroarilmetilo” se refiere a un anillo heterocíclico aromático, que puede estar sustituido por un grupo electroattractor o electrodonador en cualquiera de sus posiciones, unido a la estructura general I a través de un grupo metileno (-CH₂-).

25

El término “haloalquilo” se refiere a un grupo alquilo (C₁-C₁₀) que posee un átomo de halógeno en cualquier posición.

El término “halógeno” se refiere a un átomo de cloro, bromo, yodo o flúor.

30

El término “alquenilo” se refiere un alqueno unido a la estructura I a través de una cadena alifática lineal o ramificada.

5 El término “alquinilo” se refiere un alquino unido a la estructura I a través de una cadena alifática lineal o ramificada.

10 El término “alcoxicarbonilo” se refiere a un grupo éster (-COOR_a), unido directamente a la estructura I, donde R_a es un grupo alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₆), alquenilo (C₁-C₁₀), alquinilo (C₁-C₁₀), arilo o heteroarilo, tal y como se han definido anteriormente.

15 El término “alcoxicarbonilalquilo” se refiere a un grupo éster (-COOR_a), unido a la estructura I a través de una cadena alifática lineal o ramificada (C₁-C₁₀), donde R_a es un grupo alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₆), alquenilo (C₁-C₁₀), alquinilo (C₁-C₁₀), arilo o heteroarilo, tal y como se han definido anteriormente.

El término “alquilamino” se refiere a una amina secundaria (R_b-NH-) donde R_b es un grupo alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₆), alquenilo (C₁-C₁₀), alquinilo (C₁-C₁₀), arilmetilo, heteroarilmetilo, tal y como se han definido anteriormente.

20 El término “arilamino” se refiere a una amina secundaria (Ar-NH-) donde Ar es un grupo arilo, tal y como se ha definido anteriormente.

25 El término “heteroarilamino” se refiere a una amina secundaria (Het-NH-) donde Het es un grupo heteroarilo, tal y como se ha definido anteriormente.

El término “alquiloxi” o “alcoxi” se refiere a un éter (R_c-O-) donde R_c es un grupo alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₆), alquenilo (C₁-C₁₀), alquinilo (C₁-C₁₀), arilmetilo o heteroarilmetilo, tal y como se han definido anteriormente.

30 El término “ariloxi” se refiere a un éter (Ar-O-) donde Ar es un grupo arilo, tal y como se ha definido anteriormente.

El término "heteroarilo" se refiere a un éter (Het-O-) donde Het es un grupo heteroarilo, tal y como se ha definido anteriormente.

En una realización preferida R_1 y R_2 son iguales.

5

En una realización más preferida R_1 y R_2 son grupos alquilo (C_1 - C_{10}).

En una realización más preferida R_1 y R_2 son metilo o etilo.

10 En otra realización preferida R_3 es alquilo (C_1 - C_{10}) o alcóxicarbonilo (CO_2R_a).

En otra realización más preferida R_3 es metilo.

En otra realización más preferida R_a es alquilo (C_1 - C_{10}).

15

En otra realización más preferida R_a es *terc*-butilo.

En otra realización más preferida R_4 es alcoxi (R_c -O-).

20 En otra realización más preferida R_c es alquilo (C_1 - C_{10}) o arilmetilo.

En otra realización más preferida R_c es metilo o fenilmetilo.

25 En otra realización preferida de los compuestos de Fórmula I, X es haluro o mesitilensulfonato.

En otra realización más preferida X es mesitilensulfonato.

El compuesto de fórmula general se selecciona de la lista que comprende:

- 30 I. Mesitilensulfonato de 2,3-dietil-11-metil-9-metoxi-piridazino[1',6':1,2]pirido[3,4-b]indolinio (compuesto 4)
- II. Mesitilensulfonato de 2,3-dimetil-11-metil-9-metoxi-piridazino[1',6':1,2]pirido[3,4-b]indolinio (compuesto 5)

III. Mesitilensulfonato de 9-benciloxi-11-*terc*-butoxicarbonil-2,3-dietilpiridazino[1',6':1,2] pirido[3,4-b]indolinio (compuesto 10).

5 En un segundo aspecto la invención está también relacionada con el uso de dichos compuestos de Fórmula I para inhibir el crecimiento del parásito *Leishmania*, que constituye una nueva herramienta con importancia tanto desde el punto de vista médico como veterinario.

10 En un tercer aspecto la invención está también relacionada con el uso de dichos compuestos de Fórmula I para el tratamiento de infecciones causadas por el parásito *Leishmania*. La leishmaniasis es una enfermedad que afecta sobre todo a vertebrados, es decir, tanto en humanos o animales vertebrados, como por ejemplo a marsupiales, cánidos, roedores o primates.

15 Existen varios tipos de leishmaniasis dependiendo del tipo de órganos que se ven afectados por esta enfermedad y que son: leishmaniasis visceral (LV), que es principalmente causada por dos especies *L. donovani* y *L. infantum*, leishmaniasis cutánea (LC) o leishmaniasis mucosa o mucocutánea (LMC). Dada la semejanza de las diferentes especies de *Leishmania*, los compuestos de la invención se utilizan para el
20 tratamiento de cualquier tipo de leishmaniasis.

En un cuarto aspecto la invención está también relacionada con el uso de los compuestos de Fórmula I para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por *Leishmania*. La presente invención se refiere a
25 una composición farmacéutica que comprende al menos uno de los compuestos de la invención, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. El uso de dicha composición para el tratamiento de las enfermedades infecciosas será en una cantidad terapéuticamente efectiva.

30 Los adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser utilizados en dichas composiciones son los adyuvantes y vehículos conocidos por los técnicos en la materia y utilizados habitualmente en la elaboración de composiciones terapéuticas.

Los compuestos de la invención, sus sales farmacéuticamente aceptables, profármacos y/o solvatos, así como las composiciones farmacéuticas que los contienen, pueden ser utilizados junto con otros fármacos, o principios activos, adicionales para proporcionar una terapia de combinación. 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 la presente invención o un profármaco, solvato, derivado o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

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

Dicha composición terapéutica se puede preparar en forma de una forma sólida o suspensión acuosa, en un diluyente farmacéuticamente aceptable. La composición terapéutica proporcionada por esta invención puede ser administrada por cualquier vía de administración apropiada, para lo cual dicha composición 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, rectal o parenteral (incluyendo subcutánea, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intravenosa, etc.). Una revisión de las distintas formas farmacéuticas de administración de medicamentos y de los excipientes necesarios para la obtención de las mismas puede encontrarse, por ejemplo, en el "Tratado de Farmacia Galénica", C. Faulí i Trillo, 1993, Luzán 5, S.A. Ediciones, Madrid, o en otros habituales o similares de las Farmacopeas Española y de Estados Unidos.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y 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 se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

5

Figura 1. Vista de la Estructura de nuevos compuestos de Fórmula I.

Figura 2. Porcentaje de inhibición del crecimiento logarítmico de amastigotes de *Leishmania infantum* en medio de cultivo.

10

Figura 3. Comparación de la toxicidad celular de los compuestos **4**, **10** y **5** en células humanas (THP-1) y amastigotes de *Leishmania infantum*.

15

Figura 4. Comparación de la actividad citotóxica de los compuestos **4**, **10**, **5** y miltefosina en amastigotes de *Leishmania infantum* (%IC: porcentaje de inhibición del crecimiento).

MODO DE REALIZACIÓN

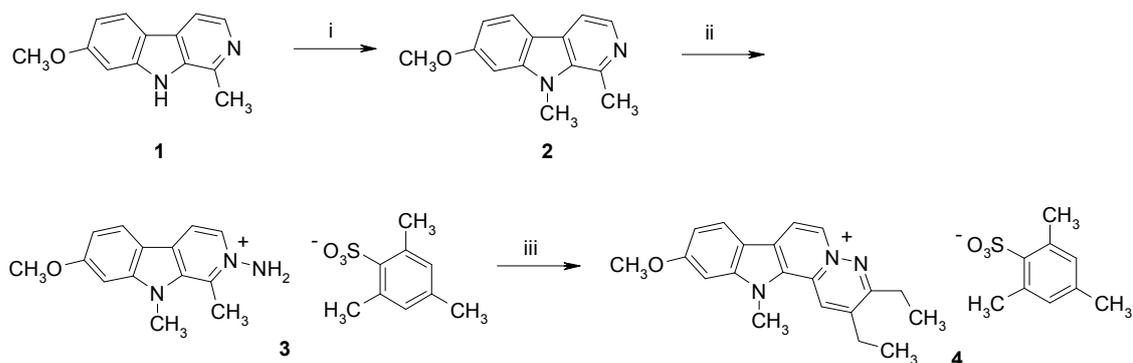
Los compuestos de esta invención se han preparado según procedimientos descritos anteriormente (Fontana, A.; Benito, E. J.; Martín, M. J.; Sánchez, N.; Alajarín, R.; Vaquero, J. J.; Álvarez-Builla, J.; Lambel-Giraudet, S.; Leonce, S.; Pierré, A.; Caignard, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *11*, 2611-2614; Pastor, J.; Siro, J. G.; García-Navío, J. L.; Vaquero, J. J.; Rodrigo, M. M.; Ballesteros, M.; Álvarez-Builla, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 3043-3048; Siro, J. G.; Pastor, J.; García-Navío, J. L.; Vaquero, J. J.; Álvarez-Builla, J.; Gago, F.; de Pascual-Teresa, B.; Pastor, M.; Rodrigo, M. M. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 5476-5483; Siro, J. G.; Pastor, J.; García-Navío, J. L.; Vaquero, J. J.; Álvarez-Builla, J. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 19229-1936; Enrique J. Benito Molinero, Tesis Doctoral, Universidad de Alcalá, 2004).

30 A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que ponen de manifiesto la especificidad y efectividad de los compuestos de la invención.

EJEMPLO 1

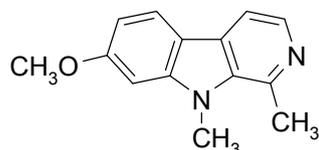
SÍNTESIS DEL COMPUESTO 4

5 Se describe en el siguiente esquema 1:



Esquema 1: donde (i) es K_2CO_3 , KOH, TEBACl, CH_3I , CH_3CN , temperatura ambiente, 72 h. (ii) MSH, CH_2Cl_2 , temperatura ambiente, 1 h. (iii) hexano-3,4-diona, AcONa, EtOH, 10 reflujo, 5 h.

1,9-Dimetil-7-metoxi-pirido[3,4-b]indol (2)

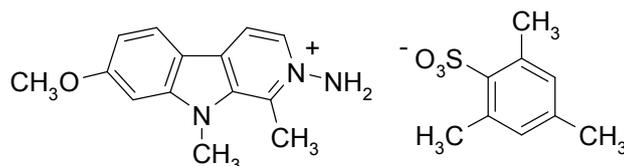


15 A una suspensión de harmina 1 (0,42 g, 2 mmol), hidróxido potásico pulverizado (0,14 g, 2,5 mmol), carbonato potásico pulverizado (0,34 g, 2,5 mmol) y cloruro de trietilbencilamonio (0,023 g, 0,1 mmol) en acetonitrilo seco (50 mL), se adiciona yoduro de metilo (0,35 g, 2,5 mmol) a temperatura ambiente con agitación vigorosa. Después de 72 h se filtra la mezcla de reacción y se lava con acetonitrilo caliente. Las aguas de filtrado 20 se concentran a sequedad y el residuo se cromatografía en columna de gel de sílice utilizando como eluyente acetato de etilo obteniéndose 0,34 g (76%) de un sólido blanco que se recristaliza en AcOEt/éter de petróleo.

P.f.: 114-116 °C (AcOEt/éter de petróleo). IR (KBr): ν 2979, 2930, 1610, 1558, 1247, 1164, 818 cm^{-1} . $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3): δ 8.27 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz); 7.98 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz); 7.73 (d, 1H, $J = 5.1$ Hz); 6.89 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz); 6.86 (s, 1H); 4.10 (s, 3H); 3.96 (s, 3H); 3.70 (s, 3H).

5

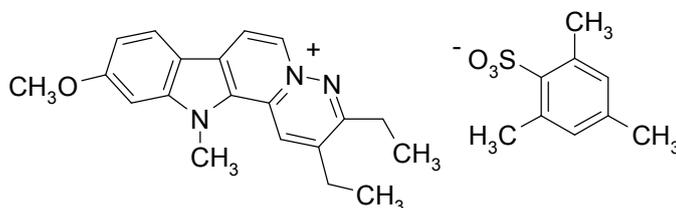
Mesitilensulfonato de 2-amino-1,9-dimetil-7-metoxi-pirido[3,4-b]indolinio (3)



10 Sobre una disolución de **2** (0,22 g; 1 mmol) en diclorometano (10 mL) se añade gota a gota una disolución de MSH (0,30 g; 1,4 mmol) en diclorometano (5 mL), agitando vigorosamente a temperatura ambiente. Después de 1 hora se añade éter dietílico y el precipitado formado se filtra y lava sucesivamente con diclorometano y acetona. Finalmente se recristaliza en etanol para dar 0,39 g (90%) un sólido blanco.

15 Pf: 167-169 °C (EtOH). IR (KBr): ν 3420, 3132, 2944, 1626, 1469, 1348, 1255, 1189, 1140, 1095, 1038, 1023, 845, 682 cm^{-1} . $^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD): δ 8.37 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz); 8.22-8.09 (m, 2H); 7.16 (s, 1H); 7.05 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz); 6.78 (s, 2H); 4.22 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 3.24 (s, 3H); 2.53 (s, 6H); 2.16 (s, 3H).

20 **Mesitilensulfonato de 2,3-dietil-11-metil-9-metoxi-piridazino[1',6':1,2]pirido[3,4-b]indolinio (4)**



25 Sobre una suspensión de **3** (0,17 g, 0,4 mmol) en etanol (20 mL) se añade hexano-3,4-diona (0,05 g, 0,5 mmol) y acetato sódico anhidro (0,04 g, 0,5 mmol) y la mezcla se calienta a reflujo durante 5 h. La mezcla de reacción se concentra a sequedad y el

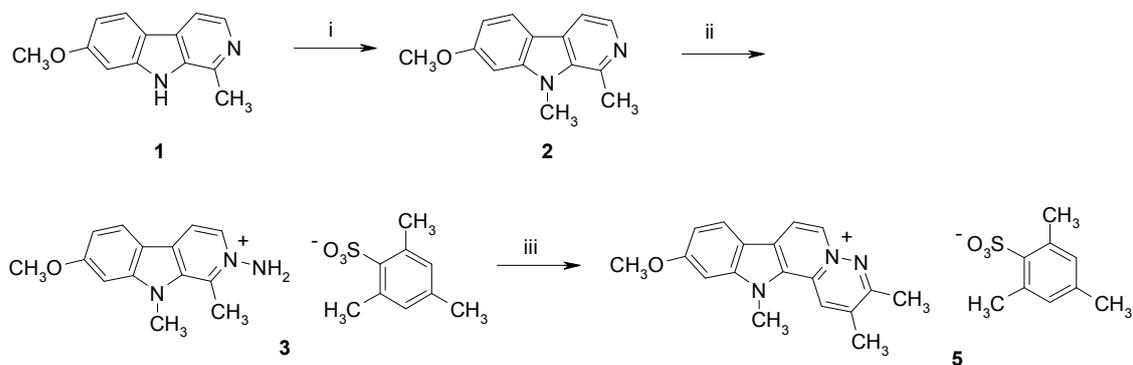
residuo obtenido se cromatografía en columna de gel de sílice empleando como eluyente una mezcla de diclorometano:metanol 10:1, obteniéndose 0,12 g (62%) de un sólido amarillo.

- 5 P. f.: > 300 °C. IR (KBr): ν 2938, 1621, 1569, 1408, 1235, 1186, 1014, 823, 679 cm^{-1} . ^1H -RMN (DMSO- d_6): δ 9.22 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz); 9.00 (s, 1H); 8.85 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz); 8.43 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz); 7.52 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz); 7.13 (dd, 1H, $J = 8.8$ Hz, $J = 2.0$ Hz); 6.70 (s, 2H); 4.51 (s, 3H); 3.98 (s, 3H); 3.16 (c, 2H, $J = 7.3$ Hz); 3.02 (c, 2H, $J = 7.3$ Hz); 2.50 (s, 6H); 2.16 (s, 3H); 1.40 (t, 6H, $J = 7.3$ Hz). ^{13}C -RMN (DMSO- d_6): δ 162.1; 159.4; 142.7; 10
- 138.2; 137.1; 136.9; 130.2; 129.4; 129.2; 128.0; 127.9; 126.3; 122.5; 116.3; 113.5; 113.2; 94.0; 55.4; 31.6; 22.9; 20.2; 19.8; 17.9. Análisis elemental para $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_4\text{S} \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ (537.29 g/mol): Calculado C (64.77%); H (6.56%); N (7.82%); Encontrado C (64.43%); H (6.50%); N (7.91%).

15 EJEMPLO 2

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 5

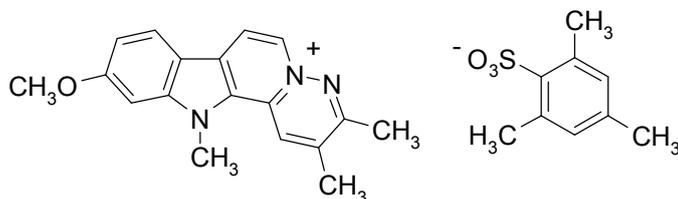
Se describe en el siguiente esquema 2:



Esquema 2: donde (i) es K_2CO_3 , KOH, TEBACl, CH_3I , CH_3CN , temperatura ambiente, 72 h. (ii) MSH, CH_2Cl_2 , temperatura ambiente, 1 h. (iii) butano-2,3-diona, AcONa, EtOH, reflujo, 5 h.

25

Mesitilensulfonato de 2,3-dimetil-11-metil-9-metoxi-piridazino[1',6':1,2]pirido[3,4-b]indolinio (5)



- 5 Sobre una suspensión de **3** (0,22 g, 0,5 mmol) en etanol (20 mL) se añade butano-2,3-diona (0,05 g, 0,6 mmol) y acetato sódico anhidro (0,05 g, 0,6 mmol) y la mezcla se calienta a reflujo durante 6 h. La mezcla de reacción se concentra a sequedad y el residuo obtenido se cromatografía en columna de gel de sílice empleando como eluyente una mezcla de diclorometano:metanol 10:1, obteniéndose 0,08 g (35%) de un sólido
- 10 pardo-anaranjado.

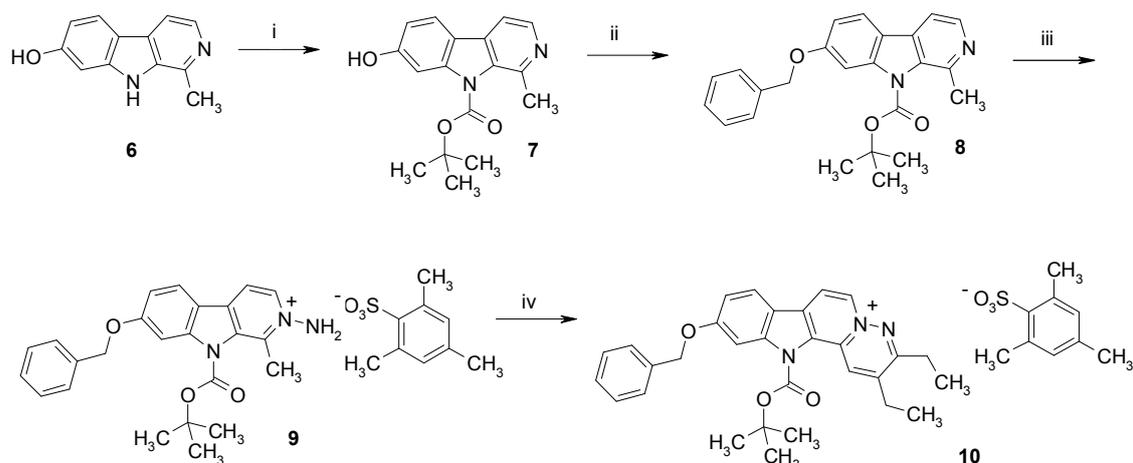
P. f.: 266-268 °C. IR (KBr): ν 3408, 2983, 2938, 1620, 1565, 1412, 1235, 1186, 1014, 822, 679 cm^{-1} . $^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 9.45 (s, 1H); 8.71 (d, 1H, $J = 7.0 \text{ Hz}$); 8.38 (d, 1H, $J = 6.98 \text{ Hz}$); 7.97 (d, 1H, $J = 8.8 \text{ Hz}$); 7.23 (d, 1H, $J = 1.8 \text{ Hz}$); 6.88 (s, 1H); 6.87 (dd, 1H, $J = 8.8 \text{ Hz}$, $J = 1.9 \text{ Hz}$); 4.41 (s, 3H); 3.92 (s, 3H); 2.67 (s, 3H); 2.64 (s, 3H); 2.48 (s, 6H); 2.13 (s, 3H). $^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 162.1; 159.4; 142.7; 138.2; 137.1; 136.9; 130.2; 129.4; 129.2; 128.0; 127.9; 126.3; 122.5; 116.3; 113.5; 113.2; 94.0; 55.4; 34.6; 22.9; 20.2; 19.8; 17.9. Análisis elemental para $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_4\text{S} \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ (509.20 g/mol): Calculado C (63.62%); H (6.13%); N (8.25%); Encontrado C (63.45%); H (5.98%); N (8.29%).

20

EJEMPLO 3

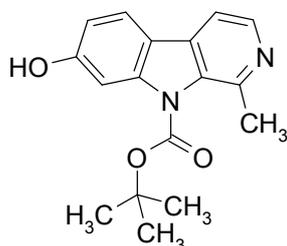
SÍNTESIS DEL COMPUESTO 10

- 25 Se describe en el siguiente esquema 3:



Esquema 3: donde (i) es Et₃N, carbonato de di-*tert*-butilo, DMAP, CH₂Cl₂, temperatura ambiente, 24 h. (ii) K₂CO₃, KOH, TEBACl, bromuro de bencilo, CH₃CN, temperatura ambiente, 24 h. (iii) MSH, Et₂O, CH₂Cl₂, temperatura ambiente, 1 h. (iii) hexano-3,4-diona, AcONa, EtOH, reflujo, 5 h.

9-*tert*-butoxicarbonil-7-hidroxi-1-metil-pirido[3,4-*b*]indol (7)



10

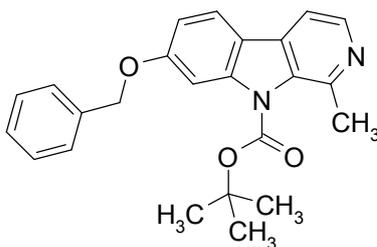
Sobre una disolución de harmol **6** (1,00 g, 5 mmol) en diclorometano (50 mL), se adiciona sucesivamente carbonato de di-*tert*-butilo (2,18 g, 10 mmol), trietilamina (0,50 g, 5 mmol) y DMAP (0,61 g, 5 mmol) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 24 h. Se concentra el disolvente hasta 20 mL y la mezcla de reacción se lava con agua (3 x 10 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y evapora, y el residuo se cromatografía en columna de gel de sílice utilizando como eluyente diclorometano:metanol 20:1, obteniéndose 1,14 g (77%) de un sólido blanco.

P.f.: 167-169 °C; IR (KBr): ν 3135, 3066, 2982, 2884, 1755, 1637, 1671, 1450, 1373, 1323, 1282, 1251, 1233, 1146, 949, 897, 749 cm⁻¹. ¹H-RMN (CDCl₃): δ 9.16 (s, 1H); 8.29

20

(d, 1H, $J = 5.3$ Hz); 7.70 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz); 7.51 (d, 1H, $J = 5.2$ Hz); 7.18 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz); 6.97 (dd, 1H, $J = 8.5$ Hz, $J = 2.0$ Hz); 2.73 (s, 3H); 1.63 (s, 9H). ^{13}C -RMN (CDCl_3): δ 153.0; 150.7; 141.7; 140.8; 138.0; 135.4; 127.3; 122.0; 119.4; 113.3; 112.6; 104.5; 84.7; 27.6; 20.4. Análisis elemental para $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$ (298.33 g/mol): Calculado C (68.43%); H (6.08%); N (9.39%); Encontrado C (67.99%); H (6.11%); N (8.92%).

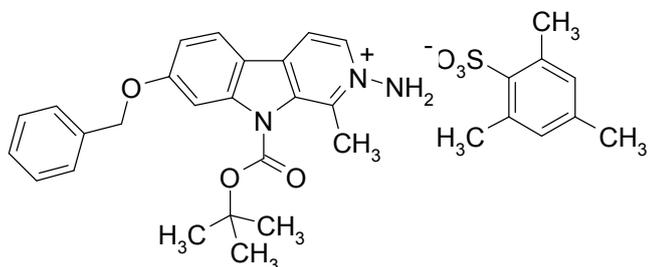
7-Benciloxi-9-*terc*-butoxicarbonil-1-metil-pirido[3,4-*b*]indol (8)



10 A una suspensión de **7** (0,30 g, 1 mmol), hidróxido potásico pulverizado (0,07 g, 1,2 mmol), carbonato potásico anhidro (0,17 g, 1,2 mmol) y cloruro de trietilbencilamonio (0,11 g, 0,05 mmol) en acetonitrilo seco (50 mL) se añade bromuro de bencilo (0,20 g, 1,2 mmol) y la mezcla se agita vigorosamente a temperatura ambiente durante 24 h. La mezcla de reacción se filtra y el sólido se lava con acetonitrilo. Las aguas de filtrado y
15 lavado se evaporan y el residuo se cromatografía en columna de gel de sílice utilizando como eluyente diclorometano:metanol 10:1. Se obtienen 0,30 g (77%) de un sólido amarillo.

P. f.: 180-182 °C; IR (KBr): ν 3416; 2981; 1752; 1625; 1442; 1407; 1371; 1320; 1284;
20 1248; 1154; 1136; 817; 721; 649 cm^{-1} . ^1H -RMN (CDCl_3): δ 8.33 (d, 1H, $J = 5.5$ Hz); 8.10 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz); 7.82 (d, 1H, $J = 5.1$ Hz); 7.29-7.22 (m, 3H); 7.16 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz); 7.11 (dd, 1H, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.0$ Hz); 6.99-6.95 (m, 2H); 5.73 (s, 2H); 2.84 (s, 3H); 1.60 (s, 9H). ^{13}C -RMN (CDCl_3): δ 151.7; 151.5; 142.2; 141.5; 138.6; 137.5; 136.0; 128.9; 128.7; 127.4; 125.2; 122.0; 118.9; 114.1; 112.7; 102.2; 83.4; 48.2; 27.6; 23.0. Análisis elemental
25 para $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$ (388.42 g/mol): Calculado C (74.21%); H (6.23%); N (7.21%); Encontrado: C (73.85%); H (6.17%); N (7.44%).

Mesitilensulfonato de 2-amino-7-benciloxi-9-*terc*-butoxicarbonil-1-metil-pirido[3,4-*b*]indolinio (9)



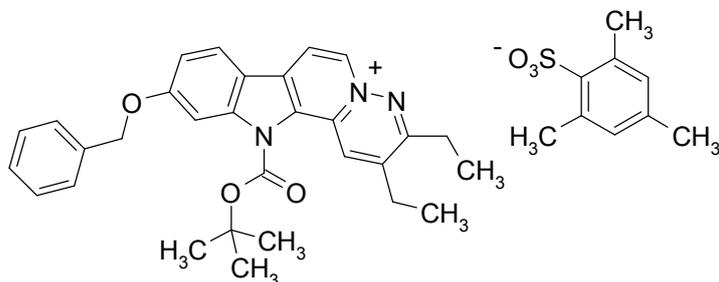
- 5 Sobre una disolución de **8** (0,38 g, 1 mmol) en éter dietílico (10 mL) se añade lentamente una disolución de MSH (0,30 g, 1,4 mmol) en diclorometano (5 mL) y la mezcla se agita vigorosamente a temperatura ambiente durante 1 h. El precipitado se filtra y lava con diclorometano (2 x 5 mL) y acetona (2 x 5 mL) y se recrystaliza en etanol obteniéndose 0,50 g (84%) de un sólido blanco.

10

P.f.: 166-168 °C (descomp.) (EtOH). IR (KBr): ν 3420; 3285; 3157; 3064; 2978; 1758; 1630; 1449; 1370; 1324; 1276; 1252; 1209; 1180; 1156; 1135; 1085; 1015; 849; 678 cm^{-1} . $^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD): δ 8.53 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz); 8.44 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz); 8.41 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz); 7.54 (d, 1H, $J = 1.5$ Hz); 7.33-7.28 (m, 4H); 7.02 (d, 2H, $J = 6.6$ Hz); 6.79 (s, 2H); 5.92 (s, 2H); 3.03 (s, 3H); 2,57 (s, 6H); 2.18 (s, 3H); 1.52 (s, 9H).

15

Mesitilensulfonato de 9-benciloxi-11-*terc*-butoxicarbonil-2,3-dietil-piridazino[1',6':1,2]pirido [3,4-*b*]indolinio (10)



20

A una disolución de **9** (0,30 g; 0,5 mmol) en etanol (20 mL) se añade hexano-3,4-diona (0,07 g, 0,6 mmol) y acetato sódico anhidro (0,05 g, 0,6 mmol) y la mezcla se agita a reflujo durante 30 min. Se adiciona la misma cantidad de hexano-3,4-diona (0,07 g, 0,6

mmol) y acetato sódico anhidro (0,05 g, 0.6 mmol) y la mezcla se agita a reflujo durante 2 h. Se vapora el disolvente y el residuo se cromatografía en columna de gel de sílice utilizando como eluyente diclorometano:metanol 10:1, obteniéndose 0,23 g (63%) de un sólido amarillo.

5

P. f.: 183-185 °C; IR (KBr): ν 3408; 2978; 2934; 1758; 1622; 1574; 1451; 1411; 1337; 1139; 1086; 1014; 809; 678 cm^{-1} . ^1H -RMN ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$): δ 8.82 (d, 1H, $J = 7.0 \text{ Hz}$); 8.69 (s, 1H); 8.67 (d, 1H, $J = 7.1 \text{ Hz}$); 8.35 (d, 1H, $J = 8.1 \text{ Hz}$); 7.51 (s, 1H); 7.26-7.13 (m, 6H); 6.57 (s, 2H); 6.42 (s, 2H); 2.97 (c, 2H, $J = 7.3 \text{ Hz}$); 2.84 (c, 2H, $J = 7.3 \text{ Hz}$); 2.47 (s, 6H); 2.11 (s, 3H); 1.59 (s, 9H); 1.40 (t, 3H, $J = 7.2 \text{ Hz}$); 1.09 (t, 3H, $J = 7.0 \text{ Hz}$). ^{13}C -RMN ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$): δ 163.1; 153.6; 151.1; 145.2; 142.7; 139.2; 138.2; 136.6; 134.6; 131.6; 130.2; 130.0; 129.4; 123.3; 127.6; 125.2; 125.1; 123.2; 117.6; 117.1; 116.1; 112.7; 103.3; 84.2; 49.1; 27.4; 26.1; 24.2; 22.4; 20.4; 11.0; 10.2. Análisis elemental para $\text{C}_{39}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_6\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (735.88 g/mol): Calculado C (63.651%); H (6.71%); N (5.71%); Encontrado C 10 (63.76%); H (6.47%); N (5.84%).

EJEMPLO 4

Capacidad inhibitoria del crecimiento de amastigotes en fase logarítmica de crecimiento por compuestos (4, 10, 5)

El tratamiento de amastigotes de *Leishmania infantum* con fármacos se llevó a cabo durante la fase de crecimiento logarítmico a una concentración de 1×10^6 parásitos/mL a 37°C durante 24 horas. A los controles positivos de crecimiento se les añadió un volumen de 1 μL de dimetilsulfóxido (DMSO). Cada uno de los compuestos **4**, **10** y **5** se añadió a los cultivos a una concentración de 1 μM en un volumen de 1 μL de DMSO. El porcentaje de células vivas fue evaluado mediante citometría de flujo por el método de exclusión de yoduro de propidio.

Los resultados obtenidos muestran una fuerte capacidad inhibitoria del crecimiento de los parásitos en el caso de los compuestos **4**, **10** y **5** (Figura 2).

EJEMPLO 5

Comparación del efecto citotóxico de los compuestos 4, 10 y 5 en células humanas (THP-1) y amastigotes de *Leishmania infantum*.

5 El tratamiento con fármacos de las células THP-1 se llevó a cabo durante la fase de crecimiento logarítmico a una concentración de 4×10^5 células/mL a 37°C y 5% CO₂ durante 24 horas. A los controles positivos de crecimiento se les añadió un volumen de 1 µL de dimetilsulfóxido (DMSO). Cada uno de los compuestos **4**, **10h** y **5** se añadió a los cultivos a unas concentraciones de 1 y 5 µM en un volumen de 1 µL de DMSO. El porcentaje de células vivas fue evaluado mediante citometría de flujo por el método de
10 exclusión de yoduro de propicio (Figura 3).

EJEMPLO 6

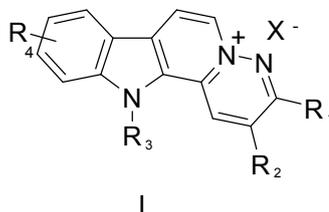
**Comparación del efecto citotóxico de los compuestos 4, 10, 5 y miltefosina en
15 amastigotes de *Leishmania infantum*.**

La comparación del efecto citotóxico de los siete compuestos frente a amastigotes logarítmicos de *Leishmania infantum* se llevó a cabo por citometría de flujo por el método de exclusión de yoduro de propicio.
20

Los resultados indican una actividad leishmanicida claramente superior a la del fármaco de referencia miltefosina para los compuestos **4**, **5** y **10** a la concentración de 1 µM (Figura 4).

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de fórmula general (I):



5 donde:

R_1 y R_2 son iguales o diferentes y ambos se seleccionan de la lista que comprende: hidrógeno, alquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_6), arilo, heteroarilo o los diradicales 2,2'-bifenilo, 1,8-naftilo y 1,9-antranilo.

10 donde R_3 es hidrógeno; alquilo (C_1-C_{10}); arilmetilo; heteroarilmetilo; haloalquilo (C_1-C_{10}); cicloalquilo (C_3-C_6); alquenido (C_1-C_{10}); alquinilo (C_1-C_{10}); alcocarbonilo ($-COOR_a$) donde R_a es un grupo alquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_6), alquenido (C_1-C_{10}), alquinilo (C_1-C_{10}), arilo o heteroarilo; alcocarbonilalquilo ($-(CH_2)_n-COOR_a$), donde $n = C_1-C_{10}$) y donde R_a se ha definido anteriormente;

15 donde R_4 es hidrógeno; alquilo (C_1-C_{10}); halógeno (flúor, cloro, bromo o yodo); nitro; amino; alquilamino (R_b-NH-) donde R_b es un grupo alquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_6), alquenido (C_1-C_{10}), alquinilo (C_1-C_{10}), arilmetilo o heteroarilmetilo; arilamino ($Ar-NH-$) donde Ar es un grupo arilo; heteroarilamino ($Het-NH-$) donde Het es un grupo heteroarilo; hidroxilo; alcoxi (R_c-O-) donde R_c es un grupo alquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_6), alquenido (C_1-C_{10}), alquinilo (C_1-C_{10}), arilmetilo o heteroarilmetilo; ariloxi ($Ar-O-$)
 20 donde Ar es un grupo arilo; heteroariloxi ($Het-O-$) donde Het es un grupo heteroarilo; y donde X^- puede ser cualquier anión orgánico o inorgánico biológica o farmacéuticamente aceptable, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de las infecciones causadas por cualquier parásito *Leishmania*.

25 2. Uso según la reivindicación 1, donde R_1 y R_2 son iguales y comprenden hidrógeno, alquilo (C_1-C_{10}), cicloalquilo (C_3-C_6), arilo, heteroarilo o los diradicales 2,2'-bifenilo, 1,8-naftilo y 1,9-antranilo.

30 3. Uso según la reivindicación anterior, donde R_1 y R_2 son iguales y comprenden metilo y etilo.

4. Uso según la reivindicación 1, donde R_3 es alquilo (C_1-C_{10}) o alcóxicarbonilo ($-COOR_a$).
5. Uso según la reivindicación anterior, donde R_3 es metilo.
- 5 6. Uso según la reivindicación, 4 donde R_a es *terc*-butilo.
7. Uso según la reivindicación 1, donde R_4 es alcoxi (R_c-O-).
8. Uso según la reivindicación anterior, donde R_c es metilo o bencilo.
- 10 9. Uso según la reivindicación 1, donde el compuesto se selecciona entre:
- i. Mesitylsulfonato de 2,3-dietil-11-metil-9-metoxi-piridazino[1',6':1,2]pirido[3,4-b]indolinio (compuesto 4).
 - ii. Mesitylsulfonato de 2,3-dimetil-11-metil-9-metoxi-
15 piridazino[1',6':1,2]pirido[3,4-b] indolinio (compuesto 5).
 - iii. Mesitylsulfonato de 9-benciloxi-11-*terc*-butoxicarbonil-2,3-dietil-
piridazino[1',6':1,2]pirido [3,4-b]indolinio (compuesto 10).
10. Composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en la reivindicación
20 9 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

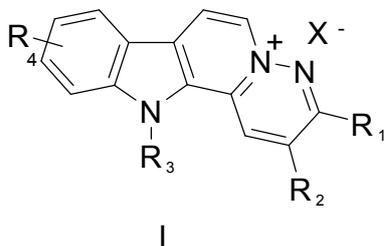


Figura 1

Compuesto	% inhibición crecimiento \pm DE [compuesto]=1 μ M Tiempo ensayo: 24h
4	68.3 \pm 0.2
10	62.0 \pm 2.8
5	67.5 \pm 0.5

Figura 2

	<i>L. infantum</i> % Células vivas	Células THP-1 % Células vivas
Compuesto 4 (1 μ M)	31.7	100.0
Compuesto 4 (5 μ M)	4.8	72.3
Compuesto 10 (1 μ M)	38.0	80.8
Compuesto 10 (5 μ M)	28.2	77.1
Compuesto 5 (1 μ M)	22.5	100.0
Compuesto 5 (5 μ M)	4.6	91.6

Figura 3

Concentración del compuesto	%IC compuesto 4	%IC compuesto 10	%IC compuesto 5	%IC miltefosina
1 μ M	68.3	62.0	67.5	19.8
5 μ M	95.2	71.8	95.4	88.9

Figura 4



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②¹ N.º solicitud: 201331081

②² Fecha de presentación de la solicitud: 16.07.2013

③² Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤¹ Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤ ⁶ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	RIEDL, Z. et al. "Synthesis of novel 1-methyl-1 <i>H</i> -pyridazino[3,4- <i>b</i>]indoles". Tetrahedron 2006, Volumen 62, páginas 121-129. [Disponible en línea el 26.10.2005]. Ver página 121, resumen, introducción y figura 1; página 124, columna 2, párrafo 3 y tabla 1.	1-10
A	GUPTA, L. et al. "Synthesis and biological evaluation of new [1,2,4]triazino[5,6- <i>b</i>]indol-3-ylthio-1,3,5-triazines and [1,2,4]triazino[5,6- <i>b</i>]indol-3-ylthio-1,3,5-pyrimidines against <i>Leishmania donovani</i> ". European Journal of Medicinal Chemistry 2010, Volumen 45, páginas 2359-2365. [Disponible en línea el 12.02.2010]. Ver página 2359, resumen; página 2360, esquema 1).	1-10
A	FONTANA, A. et al. "Synthesis and Cytotoxic Activity of Pyridazino[1',6':1,2]pyrido[3,4- <i>b</i>]indol-5-inium Derivatives as Anti-Cancer Agents". Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2002, Volumen 12, páginas 2611-2614. Ver página 2611, resumen y figura 2; página 2612, esquemas 1-3; página 2613, tabla 1.	1-10
A	DÍAZ, A. et al. "Regioselectivity in the Westphal Condensation". Journal of Organic Chemistry 1994, Volumen 59, páginas 8294-8296. Ver página 8295, tabla 1; página 8296, columna 2.	1-10
A	LORENCE, A. & NESSLER, C.L. "Molecules of interest. Camptothecin, over four decades of surprising findings". Phytochemistry 2004, Volumen 65, páginas 2735-2749. Ver página 2735, resumen; página 2736, figura 1; página 2741, columna 1, párrafo 2.	1-10
A	GALARRETA, B.C. et al. "The use of natural product scaffolds as leads in the search for trypanothione reductase inhibitors". Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2008, Volumen 16, páginas 6689-6695. [Disponible en línea el 02.06.2008]. Ver página 6689, resumen; página 6690, figura 3.	1-10

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

04.02.2014

Examinador

G. Esteban García

Página

1/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07D487/14 (2006.01)

A61K31/5025 (2006.01)

A61P33/02 (2006.01)

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

C07D, A61K, A61P

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, TXTE, REGISTRY, HCAPLUS, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, XPESP, XPESP2, PUBMED

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 04.02.2014

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-10	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-10	SI
	Reivindicaciones	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	RIEDL, Z. et al. Tetrahedron 2006, Vol. 62, pp. 121-129.	26.10.2005
D02	GUPTA, L. et al. European Journal of Medicinal Chemistry 2010, Vol. 45, pp. 2359-2365	12.02.2010
D03	FONTANA, A. et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2002, Vol. 12, pp. 2111-2614	2002
D04	DÍAZ, A. et al. Journal of Organic Chemistry 1994, Vol. 59, pp. 8294-8296	1994
D05	LORENCE, A. & NESSLER, C.L. Phytochemistry 2004, Vol. 65, pp. 2735-2749.	2004
D06	GALARRETA, B.C. et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2008, Vol. 16, pp. 6689-6695	02.06.2008

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

El objeto de la invención es el uso de un compuesto de fórmula general (I) que posee un núcleo heterocíclico condensado para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de las infecciones causadas por cualquier parásito *Leishmania* y una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto (I).

El documento D01 divulga una serie de compuestos que poseen un esqueleto de 1-metil-1*H*-piridazino[3,4-*b*]indol, algunos de los cuales muestran actividad biológica como agentes contra tripanosomas (ver página 121, resumen). Estos compuestos presentan una gran similitud estructural con **neocriptolepina** (5-metilquinindolina), un alcaloide natural tetracíclico con actividad antitripanosoma y antiplasmodium (ver página 121, introducción y figura 1). Los compuestos sintetizados se sometieron a diversos tests para ensayar su actividad antiprotozoaria, entre otros frente a *Leishmania donovani* (ver página 124, columna 2, párrafo 3 y tabla 1).

Los compuestos divulgados presentan cierta semejanza estructural con los compuestos de la invención, al poseer un esqueleto formado por heterociclos nitrogenados condensados, entre los que se encuentran indol y piridazina (en los derivados de 1-metil-1*H*-piridazino[3,4-*b*]indol) e indol y piridina (en la neocriptolepina). Sin embargo, ninguno de ellos posee los tres heterociclos condensados (indol, piridina y piridazina).

El documento D02 divulga una serie de compuestos tricíclicos derivados de [1,2,4]triazino[5,6-*b*]indol-3-iltio-1,3,5-triazina y [1,2,4]triazino[5,6-*b*]indol-3-iltio-1,3,5-pirimidina, así como los ensayos de los mismos para determinar su actividad antileishmania *in vitro* contra *Leishmania donovani* (página 2359, resumen). Estos compuestos, al igual que los compuestos de la invención, presentan un grupo indol en su esqueleto, pero se diferencia de éste en que se encuentra condensado con un anillo de triazina sustituido por otra triazina a través de un átomo de azufre (ver página 2360, esquema 1).

El documento D03 divulga compuestos derivados de piridazino[1',6':1,2]pirido[3,4-*b*]indol-5-inio, así como su actividad citotóxica y el efecto que provocan en el ciclo celular de células cancerígenas L1210 (ver página 2611, resumen; página 2613, tabla 1). Los compuestos divulgados de fórmulas generales 4-6 se engloban dentro de la fórmula general (I) de la invención (ver página 2611, figura 2; página 2612, esquemas 1-3). Aunque el documento divulga los compuestos de la invención, no se recoge la actividad antileishmania de los mismos.

De igual forma, el documentos D04 divulga también compuestos heterocíclicos que se engloban dentro de la fórmula general (I) de la invención, así como un procedimiento para su síntesis mediante una condensación de Westphal (ver página 8295, tabla 1). Entre estos compuestos se hallan los compuestos **45**, **46**, **49** y **50** (ver página 8296, columna 2).

Por otro lado, los documentos D05 y D06 divulgan diversos compuestos heterocíclicos con potencial actividad contra el protozoo *Leishmania*. Así, el documento D05 divulga el alcaloide monoterpénico indólico modificado **camptotecina** (ver página 2735, resumen; página 2736, figura 1), que mostró actividad antiparasitaria contra *Leishmania* (ver página 2741, columna 1, párrafo 2), y sus derivados, algunos de los cuales se utilizan para el tratamiento de diversos tipos de cáncer.

El documento D06 divulga igualmente una extensa serie de compuestos heterocíclicos y los ensayos de toxicidad de los mismos contra promastigotes de *Leishmania amazonensis* (ver página 6689, resumen), alguno de los cuales presenta ciertos elementos estructurales comunes con los compuestos de la invención, como por ejemplo la *N,N*-dimetil-*N*-[3-(7-metoxi-1-metil-3,4-dihidro-9*H*- β -carbolin-9-il)propil]amina (15) (ver página 6690, figura 3).

Los documentos citados muestran sólo el estado de la técnica del campo al que pertenece la invención. Ninguno de ellos, tomado solo o en combinación con los otros divulga ni contiene sugerencia alguna que pudiera dirigir al experto en la materia hacia el uso de un compuesto de fórmula general (I) para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de las infecciones causadas por cualquier parásito *Leishmania* (reivindicación independiente 1), así como tampoco hacia una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto (I) (reivindicación independiente 10).

En consecuencia, se considera que el objeto de las reivindicaciones **1-10** reúne los requisitos de novedad y actividad inventiva exigidos por los Artículos 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes 11/1986.