



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 968 559**

⑮ Int. Cl.:

C07D 215/44 (2006.01)
A61K 31/4706 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.01.2019 PCT/EP2019/050175**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **11.07.2019 WO19134975**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.01.2019 E 19700067 (2)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.11.2023 EP 3735408**

④ Título: **Derivados de haloquinolina sustituidos, método de preparación y aplicaciones de los mismos**

⑩ Prioridad:

05.01.2018 EP 18305005

④ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.05.2024

⑦ Titular/es:

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM) (25.0%)
101, rue de Tolbiac
75013 Paris, FR;
UNIVERSITÉ CÔTE D'AZUR (25.0%);
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (25.0%) y
CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE NICE (25.0%)**

⑦ Inventor/es:

**PASSERON, THIERRY;
BENHIDA, RACHID;
DAO, PASCAL;
DE DONATIS, GIAN MARCO y
MARTIN, ANTHONY**

⑦ Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 968 559 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de haloquinolina sustituidos, método de preparación y aplicaciones de los mismos

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a nuevos derivados de haloquinolina sustituidos para su uso en el tratamiento del cáncer.

10 **Antecedentes de la invención**

El melanoma cutáneo derivado de la transformación de los melanocitos es uno de los cánceres más letales entre los adultos jóvenes. Su incidencia ha aumentado a un ritmo espectacular durante las últimas décadas. El melanoma tiene una alta capacidad de invasión y rápida metástasis a otros órganos.

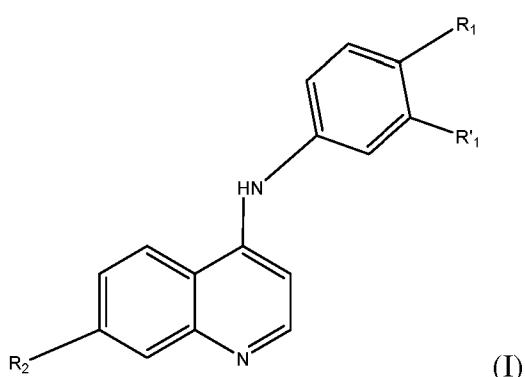
15 Los bloqueos de puntos de control inmunitarios dirigidos a la proteína 4 asociada a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4) y, más recientemente, a la muerte programada 1 (PD1) y al ligando de la muerte programada 1 (PDL-1), son avances recientes e importantes en la terapia contra el cáncer. Desarrollado inicialmente para tratar melanomas metastásicos, los anticuerpos contra esas dianas aumentan significativamente la supervivencia general del paciente y ahora se están evaluando para tratar otros cánceres sólidos tales como los de riñón, próstata, colon y pulmón. Aunque los anticuerpos anti-PD1 han mostrado mejores resultados que los anticuerpos anti-CTLA-4, la tasa de respuesta sigue siendo baja (del 10 % al 57 %), dependiendo del tipo de cáncer y de las combinaciones de tratamientos. La combinación de anti-PD1 y anti-CTLA-4 para tratar el melanoma ha dado la mejor tasa de respuesta completa hasta el momento, el 11,5 %, pero está asociado a una tasa de casi el 70 % de efectos secundarios de grado 3 o 4. Por lo tanto, pocos pacientes se benefician de estos enfoques y aún no se ha identificado ningún factor predictivo de la respuesta. La evidencia acumulada sugiere que el interferón gamma (IFN- γ) desempeña un papel clave en la respuesta al tratamiento anti-PD1 (1-3). Un meta-análisis de todos los enfoques inmunológicos para el tratamiento del melanoma (incluido el anti-PD1) mostró que los pacientes con despigmentación vitíligoide tienen tasas significativamente mejores de supervivencia sin progresión y supervivencia general en comparación con otros pacientes (4). Asimismo, los pacientes con vitílico tienen un riesgo tres veces menor de desarrollar melanoma (5). Un número cada vez mayor de datos indica que la ruta de IFN- γ /CXCL10, que interviene en el proceso de despigmentación del vitíligoide, desempeña un papel clave en la determinación del riesgo de melanoma (6). Por tanto, la respuesta de IFN- γ está implicada como un factor clave que facilita los enfoques de tratamiento por bloqueo de puntos de control. Los inventores de la presente solicitud demostraron recientemente que la inhibición de la ruta no canónica de NF- κ B, así como el de la quinasa inductora de NF- κ B (NIK) aguas arriba, restaura un programa de senescencia en las células de melanoma mediante una disminución de la transcripción de EZH2 y reduce significativamente el crecimiento tumoral (7). Cada vez hay más evidencias de que la senescencia celular puede desencadenar o potenciar la vigilancia inmunitaria de los tumores (8).

El documento US 2008/234267 divulga compuestos de 4-(3-hidroxianilino)quinolina sustituidos específicos y su uso terapéutico.

40 La presente invención proporciona nuevos inhibidores de NIK que disminuyen EZH2 a nivel transcripcional e inducen la producción de una respuesta de IFN- γ por parte de las células tratadas. Estos inhibidores de NIK reducen el tamaño de los tumores subcutáneos sin mostrar ninguna toxicidad específica y, cuando se combinan con el tratamiento anti-PD1, conducen a una reducción espectacular del tamaño del tumor con regresión completa en algunos casos. Esos efectos están asociados a un marcado aumento en el número y la activación de macrófagos tipo M1, células dendríticas, células asesinas naturales y linfocitos T dentro de los tumores tratados.

45 **Sumario de la invención**

50 La invención se refiere a compuestos de fórmula general (I):

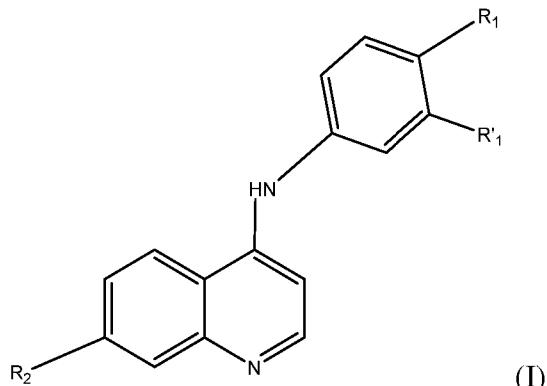


en los que R₁, R'₁ y R₂ tienen los significados que se indican a continuación, y a las composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos, así como a sus usos.

Descripción detallada de la invención

5

La invención se refiere más particularmente a compuestos de fórmula general (I):



10 en donde

R₁ es OCH₂CH₂OCH₃ u OCH₃,

R'₁ es H u OH,

R₂ es un grupo halo seleccionado entre cloro (Cl), flúor (F), bromo (Br) y yodo (I), con la condición de que cuando:

R₁ es OCH₂CH₂OCH₃ entonces R'₁ es H,

15 R₁ es OCH₃ entonces R'₁ es OH,

y sales y/o isómeros ópticos farmacéuticamente aceptables, tautómeros, solvatos o variaciones isotópicas de los mismos.

De acuerdo con una realización ventajosa de la invención, el grupo halo de R₂ es cloro (Cl).

20

Los compuestos de fórmula general (I) son más particularmente los siguientes:

- 7-cloro-N-(4-(2-metoxietoxi)fenil)quinolin-4-amina (compuesto 42) y,

- 7-cloro-N-(3-(hidroxi)-4-(metoxi)fenil)quinolin-4-amina (también denominada 5-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-2-metoxifenol) (compuesto 43).

25

Los compuestos de fórmula (I), sus sales farmacéuticamente aceptables y/o formas derivadas (isómeros ópticos, tautómeros, solvatos o variaciones isotópicas de los mismos), son valiosos compuestos farmacéuticamente activos adecuados para la terapia y profilaxis de diversos cánceres.

30 Por tanto, la invención también se refiere a compuestos de fórmula (I) como se ha definido anteriormente y, si se considera apropiado, sus sales farmacéuticamente aceptables y/o isómeros ópticos, tautómeros, solvatos o variaciones isotópicas de los mismos, para su uso en el tratamiento del cáncer, concretamente cáncer de tumor sólido, y preferentemente aquellos seleccionados entre melanoma, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas,

35 cáncer de riñón, carcinoma de células de Merkel, carcinoma de células escamosas, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de vejiga y linfomas.

En una realización particular, el cáncer es melanoma.

40 Los compuestos de fórmula general (I) se pueden administrar solos o en combinación. También se pueden administrar en combinación con uno o más fármacos.

Generalmente, se administrarán como una formulación en asociación con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

45 El término "excipiente" o "vehículo" se usa en el presente documento para describir cualquier ingrediente distinto al(a los) compuesto(s) de la invención. La elección del excipiente depende en gran medida de factores tales como el modo particular de administración, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y la estabilidad, y la naturaleza de la forma farmacéutica.

50 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración de los compuestos de la presente invención y los métodos para su preparación serán fácilmente evidentes para los expertos en la materia. Se pueden encontrar dichas

composiciones y métodos para su preparación, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 19^a Edición (Mack Publishing Company, 1995).

5 Otro aspecto de la invención es, por tanto, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula general (I) como se ha definido anteriormente y opcionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con otra realización ventajosa de la invención, la composición farmacéutica tal como se ha definido anteriormente puede comprender adicionalmente:

10 - al menos un compuesto inmunomodulador, siendo dicho compuesto inmunomodulador preferentemente un anticuerpo inmunomodulador, e incluso más preferentemente un anticuerpo seleccionado de un anticuerpo anti-PD1, un anticuerpo anti-CTLA4, un anticuerpo anti-PD-L1 y una mezcla de dos o más de los mismos, y/o
- al menos otro agente terapéutico.

15 La expresión "compuesto inmunomodulador" se refiere a un compuesto que modula uno o más de los componentes (por ejemplo, células inmunitarias o factores subcelulares, genes que regulan los componentes inmunitarios, citocinas, quimiocinas o moléculas similares) del sistema inmunitario de un hospedador.

20 Preferentemente, el compuesto inmunomodulador es un agente inmunoestimulador. Los agentes inmunomoduladores pueden incluir, por ejemplo, moléculas pequeñas, péptidos, polipéptidos, proteínas de fusión y anticuerpos. Los anticuerpos inmunomoduladores son una clase prometedora de terapias contra el cáncer, debido a su capacidad para promover una respuesta inmunitaria anticancerosa amplia y sostenida en pacientes con cáncer.

Ejemplos adecuados de:

25 - anticuerpos anti-PD1 son nivolumab, pidizilumab, pembrolizumab, tislelizumab y AMP-514,
- los anticuerpos anti-CTLA4 son ipilimumab,
- los anticuerpos anti-PD-L1 son atezolizumab, durvalumab, avelumab, utomilumab y MPDL3280A.

El(los) agente(s) terapéutico(s) adicional(es) también pueden ser (a) compuesto(s) de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable, formas derivadas o composiciones de los mismos, o uno o más compuestos conocidos 30 en la técnica para el tratamiento de las afecciones enumeradas anteriormente.

Por ejemplo, el agente terapéutico adicional se seleccionará de una clase diferente de agentes terapéuticos que los de los compuestos de fórmula (I).

35 Ejemplos adecuados de otros agentes terapéuticos que pueden usarse en combinación con el(los) compuesto(s) de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables o formas derivadas de los mismos, incluyen, por ejemplo:

- Agentes anticancerosos utilizados para terapia de cánceres tales como dacarbazina,
- Agentes alquilantes de nitrosourea, tales como fotemustina,
- Inhibidores de BRAF tales como vemurafenib o dabrafenib,
40 - Inhibidores de MEK tales como trametinib,
- Proteínas de fusión anti PD1 tales como AMP-224,
- otros agentes bloqueadores del punto de control inmunitario o, en general, tratamientos terapéuticos basados en enfoques inmunológicos para el tratamiento del cáncer, es decir, compuestos biológicos o químicos o terapias celulares tales como terapias celulares adoptivas, vacunas terapéuticas contra el cáncer o agentes activadores de 45 linfocitos T/NK.

La invención se refiere más particularmente a una composición farmacéutica como se ha definido anteriormente, como una preparación combinada para su uso simultáneo, por separado o secuencial en el tratamiento de cáncer, concretamente cáncer de tumor sólido, y preferentemente aquellos seleccionados entre melanoma, cáncer de colon, 50 cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de riñón, carcinoma de células de Merkel, carcinoma de células escamosas, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de vejiga y linfomas.

En la medida en que puede ser deseable administrar una combinación de compuestos activos, para su uso en ejemplo, para tratar una enfermedad o condición particular, está dentro de la presente invención que dos o más composiciones farmacéuticas, al menos una de los cuales contiene un compuesto de acuerdo con la invención, pueden combinarse 55 convenientemente en forma de un kit adecuado para la coadministración de las composiciones.

Por tanto, el kit de la invención comprende dos o más composiciones farmacéuticas separadas, al menos una de los cuales contiene un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la invención, y medios para conservar por separado dichas composiciones, tal como un recipiente, botella dividida o paquete de papel de aluminio dividido. Un ejemplo de dicho kit es el conocido blister usado para el envasado de comprimidos, cápsulas y similares.

60 El kit de la invención es particularmente adecuado para administrar diferentes formas farmacéuticas, por ejemplo, parenteral, para administrar las composiciones separadas en diferentes intervalos de dosificación, o para valorar las composiciones separadas entre sí. Para ayudar al cumplimiento, el kit normalmente comprende instrucciones de administración y puede estar provisto de una denominada ayuda memoria.

- Como se ha mencionado previamente, los compuestos de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables, formas derivadas o composiciones de los mismos, también se pueden usar como una combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para ser coadministrados a un paciente para obtener algún resultado terapéutico final particularmente deseado para su uso en el tratamiento de cánceres, concretamente cáncer de tumor sólido, y preferentemente aquellos seleccionados entre melanoma, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de riñón, carcinoma de células de Merkel, carcinoma de células escamosas, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de vejiga y linfomas.
- 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65
- Preferentemente, los compuestos de la invención, ya sea solos o en combinación, se administran a pacientes en fase metastásica que padecen melanoma, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de riñón, carcinoma de células de Merkel, carcinoma de células escamosas, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de vejiga y linfomas.
- Como se usa en el presente documento, las expresiones "coadministración", "coadministrado" y "junto con", refiriéndose a los compuestos de fórmula (I) y uno o más agentes terapéuticos diferentes, pretenden significar, referirse e incluir lo siguiente: administración simultánea de dicha combinación de compuesto(s) de fórmula (I) y agente(s) terapéutico(s) a un paciente que necesita tratamiento, cuando dichos componentes se formulan juntos en una forma farmacéutica única que libera dichos componentes sustancialmente al mismo tiempo a dicho paciente, administración sustancialmente simultánea de dicha combinación de compuesto(s) de fórmula (I) y agente(s) terapéutico(s) a un paciente que necesita el tratamiento, cuando dichos componentes se formulan separados entre sí en formas farmacéuticas separadas que son tomadas sustancialmente al mismo tiempo por dicho paciente, tras lo cual dichos componentes se liberan sustancialmente al mismo tiempo a dicho paciente, administración secuencial de dicha combinación de compuesto(s) de fórmula (I) y agente(s) terapéutico(s) a un paciente que necesita el tratamiento, cuando dichos componentes se formulan separados entre sí en formas farmacéuticas separadas que dicho paciente toma en momentos consecutivos con un intervalo de tiempo significativo entre cada administración, tras lo cual dichos componentes se liberan en momentos sustancialmente diferentes a dicho paciente; y administración secuencial de dicha combinación de compuesto(s) de fórmula (I) y agente(s) terapéutico(s) a un paciente que necesita el tratamiento, cuando dichos componentes se formulan juntos en una forma farmacéutica única que libera dichos componentes de una manera controlada, tras lo cual son concurrentemente, consecutivamente administrados, y/o en el mismo y/o diferentes momentos por dicho paciente, donde cada parte puede administrarse por la misma vía o por una vía diferente.
- Los compuestos de la invención pueden administrarse como productos cristalinos o amorfos. Se pueden obtener, por ejemplo, como tapones sólidos, polvos o películas, mediante métodos tales como precipitación, cristalización, criodesecación, secado por pulverización o secado por evaporación. El secado mediante microondas o radiofrecuencia se puede utilizar con este fin.
- Los compuestos de la invención pueden administrarse mediante cualquier vía adecuada.
- Por tanto, un compuesto de la invención se puede formular como una composición farmacéutica para administración oral, bucal, intranasal, parenteral (por ejemplo, intravenoso, intramuscular o subcutáneo), tópica o rectal, o una forma adecuada para la administración por inhalación o insuflación.
- Para la administración oral, la composición farmacéutica puede adoptar la forma de, por ejemplo, un comprimido o una cápsula preparada por medios convencionales con un excipiente farmacéuticamente aceptable tal como un agente aglutinante (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); carga (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o fosfato de calcio); lubricante (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); disgregante (por ejemplo, almidón de patata o glicolato sódico de almidón); o agente humectante (por ejemplo, lauril sulfato sódico).
- Los comprimidos pueden estar recubiertos por métodos bien conocidos en la técnica. Las preparaciones líquidas para la administración oral pueden adoptar la forma de, por ejemplo, solución, jarabe o suspensión, o pueden presentarse como producto seco para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas pueden prepararse por medios convencionales con un aditivo farmacéuticamente aceptable tal como un agente de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, metilcelulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agente emulsionante (por ejemplo, lecitina o goma arábiga); vehículo no acuoso (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos o alcohol etílico); y conservante (por ejemplo, p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido sórbico).
- Para la administración bucal, la composición puede adoptar la forma de comprimidos o pastillas para chupar formulados de forma convencional. También se puede formular un compuesto de la presente invención para la administración sostenida de acuerdo con los métodos bien conocidos por los expertos en la materia. Se pueden encontrar ejemplos de dichas formulaciones en las patentes de Estados Unidos 3.538, 214, 4.060, 598,4, 173.626, 3.119, 742 y 3.492, 397.
- Un compuesto de la invención puede formularse para la administración parenteral mediante inyección, incluyendo el

uso de técnicas de cateterización convencionales o infusión. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en una forma farmacéutica unitaria, por ejemplo, en ampollas o envases multidosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener un agente de formulación tal como un agente de suspensión, estabilizante y/o dispersante.

5 De manera alternativa, el principio activo puede estar en forma de polvo para su reconstitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril apirógena, antes de su uso, las formulaciones parenterales suelen ser soluciones acuosas que pueden contener excipientes tales como sales, hidratos de carbono y agentes tampón (preferentemente a un pH de 3 a 9) pero, para algunas aplicaciones, pueden formularse de forma más adecuada como una solución no acuosa estéril o como una forma seca para utilizar junto con un vehículo adecuado, tal como agua apirógena, estéril.

10 Para su administración a pacientes humanos, la dosis diaria total de los compuestos de la invención está normalmente en el intervalo de 0,001 mg a 5.000 o en el intervalo de 0,001 mg a 10.000 mg, dependiendo de, por supuesto, del modo de administración. Por ejemplo, una dosis diaria intravenosa puede requerir únicamente de 0,001 mg a 40 mg. La dosis diaria total puede administrarse en una sola dosis o en dosis divididas y puede, según el criterio del médico, desviarse respecto del intervalo habitual proporcionado en el presente documento.

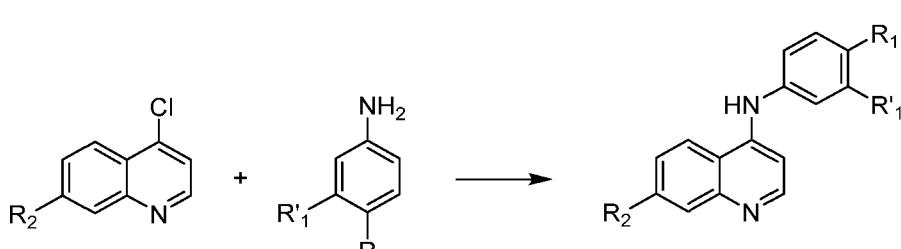
15 Estas dosis se basan en un sujeto humano medio que tiene un peso de aproximadamente 65 kg a 70 kg. El médico podrá determinar fácilmente la dosis para sujetos cuyo peso se desvíe de este intervalo, tales como niños y ancianos.

20 Debe apreciarse que todas las referencias en el presente documento a "tratamiento" incluyen tratamiento curativo, paliativo y profiláctico.

25 La descripción, que sigue, se refiere a las aplicaciones terapéuticas a las que se pueden aplicar los compuestos de fórmula (I).

30 Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar usando procedimientos convencionales tales como mediante los siguientes métodos ilustrativos en los que los diferentes sustituyentes son como se definieron previamente para los compuestos de fórmula (I), a menos que se indique lo contrario.

35 Por tanto, los compuestos de fórmula general (I) se pueden preparar a partir de la correspondiente 4-cloro-7-haloquinolina mediante una sustitución nucleófila aromática con la amina apropiada:



40 Se pueden preparar compuestos de fórmula general (I) en donde R_2 = flúor o bromo a partir de la correspondiente 4-cloro-7-haloquinolina, de acuerdo con los procedimientos informados anteriormente (véanse los ejemplos: *Bioorg. Med. Chem.* 2013, 21 (11), 3147-3153; *J. Med. Chem.*, 2015, 58 (14), 5522-5537).

45 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen sus sales de adición de ácido y de base.

50 Las sales de adición de ácido adecuadas se forman a partir de ácidos, que forman sales no tóxicas.

55 Algunos ejemplos incluyen las sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, citrato, edisilato, esilato, formiato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, orotato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrogenofosfato/dihidrogenofosfato, sacarato, estearato, succinato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato y xinafoato.

50 Las sales básicas adecuadas se forman a partir de bases, que forman sales no tóxicas.

55 Algunos ejemplos incluyen las sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y cinc. También pueden formarse semisales de ácidos y bases, por ejemplo, sales de hemisulfato y hemicalcico.

Para una revisión de las sales adecuadas, véase *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*

de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse a partir de uno o más de tres métodos:

- 5 (i) haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (I) con el ácido o la base deseada;
 (ii) retirando un grupo protector lábil a ácido o base a partir de un precursor adecuado del compuesto de fórmula (I) o abriendo el anillo de un precursor cíclico adecuado, por ejemplo, una lactona o lactama, usando el ácido o la base deseada; o
 10 (iii) convirtiendo una sal del compuesto de fórmula (I) en otro por reacción con un ácido o una base adecuada o mediante una columna de intercambio iónico adecuada.

Las otras tres reacciones se llevan a cabo normalmente en solución. La sal resultante puede precipitarse y recogerse por filtración o puede recuperarse por evaporación del disolvente. El grado de ionización de la sal resultante puede variar de completamente ionizado a prácticamente no ionizado.

- 15 15 Los compuestos de la invención pueden existir en las formas tanto no solvatadas como solvatadas.

El término "solvato" se usa en el presente documento para describir un complejo molecular que comprende el compuesto de la invención y una cantidad estequiométrica de una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, etanol.

El término "hidrato" se emplea cuando dicho disolvente es agua.

- 25 25 Dentro de la invención se incluyen complejos tales como clatratos, complejos de inclusión de fármaco-hospedador en donde, a diferencia de los solvatos anteriormente mencionados, el fármaco y el hospedador están presentes en cantidades estequiométricas o no estequiométricas. También se incluyen complejos del fármaco que contienen dos o más componentes orgánicos y/o inorgánicos, los cuales pueden estar en cantidades estequiométricas y no estequiométricas. Los complejos resultantes pueden estar ionizados, parcialmente ionizados o no ionizados. Para una revisión de dichos complejos, véase *J. Pharm. Sci.*, 64 (8), 1269-1288 de Halebian (agosto de 1975).

30 30 En lo sucesivo en el presente documento, todas las referencias a los compuestos de fórmula (I) incluyen referencias a sales, solvatos y complejos de los mismos y a solvatos y complejos de sales de los mismos.

35 35 Los compuestos de la invención incluyen los compuestos de fórmula (I) como se han definido anteriormente en el presente documento, incluyendo todos los polimorfos y hábitos cristalinos de los mismos e isómeros de los mismos (incluidos los isómeros ópticos, geométricos y tautoméricos), como se define más adelante en el presente documento y compuestos marcados isotópicamente de fórmula (I).

40 40 Los compuestos de fórmula (I) que contienen uno o más átomos de carbono asimétricos pueden existir como dos o más estereoisómeros. Dentro del ámbito de la invención se incluyen todos los estereoisómeros, isómeros geométricos, y formas tautoméricas de los compuestos de fórmula (I), incluidos compuestos que presentan más de un tipo de isomerismo, y mezclas de uno o más de los mismos.

45 45 También se incluyen las sales de adición de ácido o base en las que el contraión es ópticamente activo, por ejemplo, D-lactato o L-lisina o racémico, por ejemplo, DL-tartrato o DL-arginina.

50 50 Las técnicas convencionales para la preparación/aislamiento de enantiómeros individuales incluyen síntesis quiral a partir de un precursor ópticamente puro adecuado o resolución del racemato (o el racemato de una sal o derivado) usando, por ejemplo, cromatografía líquida a alta presión quiral (HPLC).

55 55 De manera alternativa, el racemato (o un precursor racémico) puede hacerse reaccionar con un compuesto adecuado ópticamente activo, por ejemplo, un alcohol, o, en el caso en que el compuesto de fórmula (I) contiene un resto ácido o básico, un ácido o base tal como ácido tartárico o 1-feniletilamina. La mezcla diastereomérica resultante se puede separar mediante cromatografía y/o cristalización fraccionada, y uno o ambos de los diastereoisómeros convertirse en el(s) correspondiente(s) enantiómero(s) puro(s) por medios bien conocidos por el experto en la materia.

60 60 Pueden obtenerse compuestos quirales de la invención (y precursores quirales de los mismos) en forma enantioméricamente enriquecida usando cromatografía, normalmente HPLC (columnas quirales), en una resina asimétrica con una fase móvil que consiste en un hidrocarburo, normalmente heptano o hexano, que contengan del 0 al 50 % en volumen de isopropanol, normalmente del 2 % al 20 % y del 0 al 5 % en volumen de una alquilamina, normalmente el 0,1 % de dietilamina. Para HPLC inversa se usan CH₃CN y H₂O, MeOH o iPrOH y H₂O como disolventes. La concentración del eluato produce la mezcla enriquecida.

65 65 Los conglomerados estereoisoméricos se pueden separar mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia (véase, por ejemplo, *Stereochemistry of Organic Compounds* de E. L. Eliel, Nueva York, 1994). *Chiral Separation Techniques*, de G. Subramanian. John Wiley & Sons, 2008. Cromatografía enantioselectiva

preparativa de G. B. Cox. Wiley, 2005.

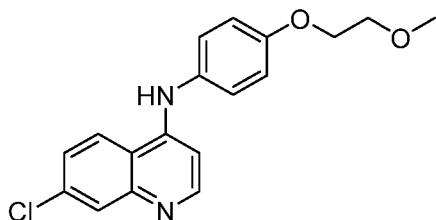
Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquellos en los que el disolvente de cristalización puede estar sustituido isotópicamente, por ejemplo, D₂O.

- 5 Los siguientes ejemplos ilustran la preparación de los compuestos de fórmula (I) y sus propiedades farmacológicas.
- 10 **Figura 1:** niveles de ARNm de EZH2 detectados por qPCR en células cancerosas A375 incubadas con el compuesto 42, 43 (10 µM) o DMSO (control) durante 96 h.
- 15 **Figura 2:** niveles de ARNm de p21 detectados por qPCR en células cancerosas A375 incubadas con el compuesto 42, 43 (10 µM) o DMSO (control) durante 96 h.
- Figura 3:** niveles de IFN-γ detectados por ELISA en el sobrenadante de células cancerosas A375 tratadas con el compuesto 42, 43 (10 µM) o DMSO (control) durante 96 h.
- Figura 4:** estudio de respuesta a la dosis *in vitro* con los compuestos 42 y 43.
- Figura 5:** efecto *in vivo* del compuesto 42 solo o junto con un anticuerpo anti-PD-1.

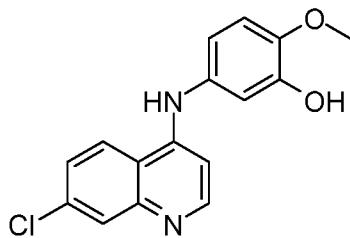
EJEMPLO 1: PREPARACIÓN DE COMPUESTOS (I) DE LA INVENCIÓN

Los compuestos 42 y 43 se prepararon de acuerdo con el siguiente procedimiento.

- 20 • **7-cloro-N-(4-(2-metoxietoxi)fenil)quinolin-4-amina (compuesto 42)**
- 25 Una mezcla de 4,7-dicloroquinolina (1 mmol, leq) y 4-(2-metoxietoxi)anilina (1 mmol, leq) en etanol se sometió a irradiación con microondas a 80 °C durante 1 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente antes de la adición de acetato de etilo, el precipitado resultante se recogió, se lavó con acetato de etilo y éter dietílico para dar el producto puro sin ninguna purificación adicional.



- 30 7-cloro-N-(4-(2-metoxietoxi)fenil)quinolin-4-amina
 Fórmula química: C₁₈H₁₇ClN₂O₂
 Masa exacta: 328,0979
 Peso molecular: 328,7960
- 35 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14,79 (s, 1H), 11,13 (s, 1H), 8,87 (d, *J* = 7 = 9,1 Hz, 1H), 8,49 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 8,18 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 7,86 (dd, *J* = 9,1, 2,1 Hz, 1H), 7,40 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,14 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 6,65 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,21-4,13 (m, 2H), 3,75-3,67 (m, 2H), 3,34 (s, 3H).
¹³C RMN (101 MHz, DMSO) δ 157,2, 154,8, 142,6, 138,5, 137,76, 128,9, 126,7, 126,6, 125,6, 118,6, 115,2, 115,12, 99,5, 69,8, 66,7, 57,7.
- 40 EM: ESI (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₈H₁₇ClN₂O₂ 329,09 encontrado 329,32 HPLC: Pureza λ₂₅₄: 99,4 %, tR: 3,54
- **7-cloro-2V-(3-(hidroxi)-4-(metoxi)fenil)quinolin-4-amina (compuesto 43)** (también llamado 5-((7-chloroquinolin-4-il)amino)-2-metoxifenol)
- 45 Una mezcla de 4,7-dicloroquinolina (1 mmol, leq) y 5-amino-2-metoxifenol (1 mmol, leq) en etanol se sometió a irradiación con microondas a 80 °C durante 1 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente antes de la adición de acetato de etilo, el precipitado resultante se recogió, se lavó con acetato de etilo y éter dietílico para dar el producto puro sin ninguna purificación adicional.



5 ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14,41 (s, 1H), 10,88 (s, 1H), 9,56 (s, 1H), 8,76 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 8,49 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 8,10 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 7,86 (dd, *J* = 9,1, 2,1 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,91-6,81 (m, 2H), 6,72 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H).

10 ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO) δ 154,7, 147,1, 146,7, 142,5, 138,5, 137,7, 129,0, 126,6, 125,5, 118,6, 115,7, 115,2, 112,4, 112,3, 99,6, 55,3.

EM: ESI (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₁₆H₁₃CIN₂O₂ 301,06 encontrado 301,14

HPLC: Pureza λ₂₅₄: 99,0 %, tR: 3,21

15 **EJEMPLO 2: ACTIVIDAD *IN VITRO* DE LOS COMPUESTOS 42 Y 43 DE LA INVENCIÓN**

MATERIAL Y MÉTODOS

20 **Ensayo de proliferación de células cancerosas (A375, A549, PC3, HT-29, MiaPaca-2 y MCF-7)**

Las células cancerosas analizadas son las siguientes: células de melanoma humano (A375), células de carcinoma de pulmón (A549), células de cáncer de próstata (PC3), adenocarcinoma de colon (HT29), carcinoma de páncreas (MiaPaca 2) y carcinoma de mama (MCF-7).

25 Las células se contaron utilizando una cámara de Malassez. El promedio y la desviación estándar se calcularon a partir de experimentos por triplicado. Los efectos antiproliferativos se evaluaron mediante ensayo de exclusión de azul tripán. Brevemente, las células se sembraron en placas de 12 pocillos y se cultivaron en medio suplementado con el compuesto indicado a 1 o 10 μM durante 48 h o 96 h. Las monocapas se lavaron con PBS y se separaron mediante tripsinización, se recogieron y tiñeron con azul tripán.

30 Se contaron las células vivas y muertas y se calculó la proliferación de la siguiente manera: Proliferación (%) = [(número de células tratadas/número de células no tratadas)* 100].

35 Como comparación, la viabilidad celular también se determinó y calculó de la siguiente manera: Viabilidad (%) = 100 - [(número de células muertas/células totales) *100].

40 Los resultados obtenidos se resumen en las **Tablas 1a** (viabilidad) y **1b** (proliferación).

45 Ensayo de viabilidad de melanocitos (MHN)

Los efectos de la viabilidad celular se evaluaron mediante un ensayo de exclusión con azul tripán. Brevemente, las células se sembraron en placas de 12 pocillos y se cultivaron en medio suplementado con el compuesto indicado a 10 μM durante 96 h. Las monocapas se lavaron con PBS y se separaron mediante tripsinización, se recogieron y tiñeron con azul tripán. Se contaron las células vivas y muertas y se calculó la viabilidad celular de la siguiente manera: Viabilidad (%) = 100 - [(número de células muertas/células totales)* 100].

45 Los resultados obtenidos se resumen en la **Tabla 2**.

50 **55 Análisis cuantitativo por RT-PCR de la expresión de los genes EZH2 y p21**

El ARN total se aisló de las células utilizando el minikit RNAeasy (Qiagen) de acuerdo con el procedimiento del fabricante. La transcripción inversa se realizó utilizando el sistema de transcripción inversa AMV (Promega) y la PCR cuantitativa se realizó con Power Sybr green (Applied Biosystems, Life Technologies, Grand Island, NY) siguiendo las instrucciones del fabricante. La PCR se llevó a cabo en un sistema de PCR en tiempo real Step One plus (Applied Biosystems). Todos los análisis se realizaron por triplicado y se realizó un análisis de la curva de fusión para controlar la calidad y especificidad del producto. Los niveles de expresión se calcularon utilizando el método comparativo de

cuantificación relativa, con SB34 como normalizador. Los datos se analizaron para determinar su significancia estadística mediante la prueba t de Student. Los resultados se presentan como la media \pm SEM en relación con el control.

- 5 Los cebadores de PCR para EZH2 (número de acceso NM004456.4) y p21 (CDKN1A) (número de acceso NM078467.2) se obtuvieron del banco de cebadores o del depósito de cebadores (<http://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/>, <https://primerdepot.nci.nih.gov>), y su especificidad se verificó mediante blast de cebador (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>).
- 10 Los resultados obtenidos se resumen en la **Tabla 3** y las **figuras 1** (EZH2) y **2** (p21).

Medición de ELISA

- 15 Se analizó el contenido de IFN-γ humano o de ratón en el sobrenadante de las células tratadas durante 96 h mediante el kit ELISA (peprotech, cat 900-k27 y 900-k98) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Los resultados obtenidos se resumen en la **Tabla 4** y la **figura 3**.

Ensayo cuantitativo de beta-galactosidasa asociada a la senescencia

- 20 La actividad de la β-galactosidasa asociada a la senescencia (SA-β-Gal) en extractos celulares se cuantificó midiendo la escisión de 4-metilumbeliferil-β-D-galactopiranósido (4-MUG), que no emite fluorescencia hasta que la enzima lo escinde para generar el fluoróforo 4-metilumbeliferona. La producción del fluoróforo se controló a una longitud de onda de emisión/excitación de 365/460 nm, según lo informado (Gary y Kindell, 2005)

- 25 Los resultados obtenidos se resumen en la **Tabla 5**.

Estabilidad microsomal (microsomas de hígado de ratón)

- 30 La estabilidad microsomal se evaluó con microsomas de hígado de ratón (0,5 mg/ml) y cofactor NADPH (1 mM) a 37 °C. El porcentaje del compuesto restante se determina a los 5 min mediante LC-MS midiendo el área bajo el pico del compuesto en el cromatograma.

- 35 Los resultados obtenidos se resumen en la **Tabla 6**.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos se resumen en las Tablas 1a, 1b, 2 a 6.

- 40 **Tabla 1a:** viabilidad

Compuestos ensayados	Viabilidad de las células cancerosas (% a 10 µM)*					
	A375	A549	PC3	HT29	MiaPaca-2	MCF-7
Compuesto 42	99,3	99,7	98,9	97,3	100,0	97,2
Compuesto 43	95,8	99,8	94,6	85,8	97,6	99,6

*Viabilidad normalizada con respecto al control tratado con DMSO

Tabla 1b: proliferación

Compuestos ensayados	Proliferación de las células cancerosas (% a 10 µM)*					
	A375	A549	PC3	HT29	MiaPaca-2	MCF-7
Compuesto 42	6,9	19,5	14,1	3,5	7,8	11,9
Compuesto 43	30,5	51,1	55,0	15,6	32,4	29,5

* Proliferación normalizada respecto al control tratado con DMSO

- 45 La Tabla 1a muestra que los compuestos 42 y 43 no afectan significativamente a la viabilidad de las células cancerosas tratadas en comparación con las no tratadas.

Por otro lado, la Tabla 1b muestra que los compuestos 42 y 43, y más particularmente el compuesto 42, reducen

fuertemente la proliferación de todas las células cancerosas analizadas (células de melanoma humano (A375), células de carcinoma de pulmón (A549), células de cáncer de próstata (PC3), adenocarcinoma de colon (HT29), carcinoma de páncreas (MiaPaca 2) y carcinoma de mama (MCF-7).

- 5 No se observa ninguna disminución en la viabilidad en los primeros momentos (hasta las 96 h). Los compuestos proporcionan una inhibición no competitiva de NIK que conduce a una fuerte selectividad sin efectos inespecíficos que se observa con inhibidores competitivos de NIK (7, 9). Por su acción sobre EZH2, la inhibición de NIK conduce a la desmetilación de varios genes clave implicados en el ciclo celular, tal como p21 y, por tanto, aumenta su expresión. Como consecuencia, la proliferación de todas las células tratadas analizadas hasta el momento se reduce considerablemente (del 55 % al 3,5 % dependiendo del compuesto y la línea celular).
- 10

Tabla 2: viabilidad de los melanocitos

Compuestos ensayados	Viabilidad de célula sana (% a 10 µM)*	
	MHN	
Compuesto 42		99,0
Compuesto 43		95,8

*Viabilidad normalizada con respecto al control tratado con DMSO

- 15 La Tabla 2 muestra que los compuestos 42 y 43 no afectan significativamente a la viabilidad de los melanocitos humanos.

- 20 EZH2 no se expresan o se expresan en un nivel muy bajo en las células normales. Por tanto, la inhibición selectiva de NIK por los compuestos de la invención no altera las células normales y no modifica la viabilidad de las células normales tales como los melanocitos.

Tabla 3: Análisis de RT-PCR cuantitativa

Compuestos ensayados	qPCR*	
	EZH2	p21
A375		A375
Compuesto 42	0,23	6,79
Compuesto 43	0,62	3,08

*ARNm (veces en relación con el control tratado con DMSO)

- 25 La Tabla 3 muestra que la incubación de células con el compuesto 42 conduce a una disminución drástica de la expresión de ARNm de EZH2 en comparación con la incubación con un compuesto de control (DMSO) (figura 1). Por consiguiente, el tratamiento con el compuesto 42 conduce a un aumento importante de la expresión del ARNm de p21 (figura 2).

- 30 Se observó una disminución más modesta de la expresión del ARNm de EZH2 cuando las células se trataron con el compuesto 43, junto con un aumento significativo de la expresión del ARNm de p21.

Los compuestos 42 y 43 actúan inhibiendo NIK que regula la ruta no canónica de NF- κ B que a su vez inhibe transcripcionalmente EZH2.

- 35 EZH2 es la diana central ya que disminuye p21 al promover su metilación e inhibe la transcripción de IFN- γ mediante interacción directa con su promotor.

- 40 Al disminuir la transcripción de EZH2, los compuestos de la invención aumentan p21 y promueven la senescencia. Por tanto, induce una disminución de la proliferación de las células tratadas. La activación inmunitaria se debe a la secreción inducida de IFN- γ por las células tratadas.

Tabla 4: Mediciones de ELISA

Compuestos ensayados	ELISA IFN- γ (A375)*
Control DMSO	0,17
Compuesto 42	1,73
Compuesto 43	0,41

* Concentración de IFN- γ (ng/mF)/millones de células

- 45 La Tabla 4 demuestra que las células A375 tratadas con los compuestos 42 y 43, y particularmente el compuesto 42, producen y secretan IFN- γ , mientras que casi no se puede detectar IFN- γ en células no tratadas (figura 3).

EZH2 inhibe la producción de IFN-γ al interferir directamente en su sitio promotor. Al regular negativamente EZH2 en su nivel transcripcional, los compuestos inducen la transcripción de IFN-γ y su producción por parte de las células cancerosas tratadas. La Tabla 4 muestra un marcado aumento de la secreción de IFN-γ en el medio por parte de las células cancerosas tratadas en comparación con el control. Esta producción local de IFN-γ es crucial para atraer y activar las células inmunitarias que participarán *in vivo* en la eliminación de las células cancerosas.

5 **Tabla 5:** Ensayo cuantitativo de beta-galactosidasa asociada a la senescencia

Compuestos ensayados	% Senescencia*
Compuesto 42	645,9
Compuesto 43	1875,1

35 *tasa de conversión (veces en relación con el control tratado con DMSO)

10 Se ha demostrado que la inhibición de la ruta no canónica de NFkB disminuye EZH2 y restablece un programa de senescencia disminuyendo la metilación de p21 y, por tanto, aumentando su expresión (9). La Tabla 5 muestra que los compuestos de la invención (que inhiben la ruta no canónica de NFkB mediante la inhibición selectiva de NIK) inducen un marcado aumento de la senescencia en las células tratadas en comparación con el control. Este aumento de senescencia es de acuerdo con el aumento de la expresión de p21 mostrado en la tabla 3.

15

Tabla 6: Estabilidad microsomal

Compuestos ensayados	Estabilidad microsomal, hígado de ratón (5 min)*
Compuesto 42	21 % ± 3
Compuesto 43	41 % ± 3

30 * Porcentaje del compuesto restante después de 5 min de incubación con microsomas

20 La Tabla 6 muestra que el compuesto 43 presenta una alta estabilidad microsomal en comparación con el 42 (41 % frente al 21 %). La estabilidad microsomal sirve como una evaluación *in vitro* de la metabolización de la primera ruta de los fármacos y, por tanto, es representativa de un aclaramiento hepático *in vitro* y un indicador inicial de la estabilidad *in vivo*.

EJEMPLO 3: ACTIVIDAD *IN VITRO* DE LOS COMPUESTOS 42 Y 43 DE LA INVENCIÓN

25

La línea celular de melanoma A375 se trató durante 96 h con concentraciones graduadas de los compuestos 42 y 43. Al final del periodo de cultivo, se determinó la concentración celular.

30 Los resultados demuestran una inhibición de la proliferación de A375 a partir de alrededor de 5 mM de los compuestos 42 y 43 (véase la Figura 4).

35 El compuesto 42 tiene una CI50 de 0,42 µM y el compuesto 43 de 1,83 µM.

EJEMPLO 4: ACTIVIDAD *IN VIVO* DE LOS COMPUESTOS 42 DE LA INVENCIÓN

40

Las células de melanoma B9 se administraron por vía subcutánea.

45 El compuesto 42 se administró IP una vez al día a 50 mg/kg. El compuesto anti-PD1 (BE0146-clon RMP1-14) se administró IP una vez al día a 10 mg/kg.

50

La administración del tratamiento se realizó cuando el tumor era visible (entre 50 y 100 mm³).

55 Los resultados se muestran en la Figura 5.

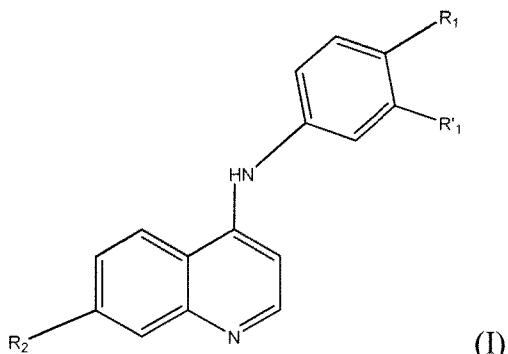
45 REFERENCIAS:

1. J. Fu, I. J. Malm, D. K. Kadavakkara, H. Levitsky, D. Pardoll, Y. J. Kim, Preclinical evidence that PD1 blockade cooperates with cancer vaccine TEGVAX to elicit regression of established tumors. *Cancer research* 74, 4042-4052 (2014).
2. T. Bald, J. Landsberg, D. Lopez-Ramos, M. Renn, N. Glodde, P. Jansen, E. Gaffal, J. Steitz, R. Tolba, U. Kalinke, A. Limmer, G. Jonsson, M. Holzel, T. Tuting, Immune cell-poor melanomas benefit from PD-1 blockade after targeted type I IFN activation. *Cancer discovery* 4, 674-687 (2014).
3. Z. Guo, H. Wang, F. Meng, J. Li, S. Zhang, Combined Trabectedin and anti-PD1 antibody produces a synergistic

- antitumor effect in a murine model of ovarian cancer. *J. Transl. Med.* **13**, 247 (2015).
4. H. E. Teulings, J. Limpens, S. N. Jansen, A. H. Zwinderman, J. B. Reitsma, P. I. Spuls, R. M. Luiten, Vitiligo-like depigmentation in patients with stage III-IV melanoma receiving immunotherapy and its association with survival: a systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Oncol.* **33**, 773-781 (2015).
5. H. E. Teulings, M. Overkamp, E. Ceylan, L. Nieuweboer-Krobotova, J. D. Bos, T. Nijsten, A. W. Wolkerstorfer, R. M. Luiten, J. P. van der Veen, Decreased risk of melanoma and nonmelanoma skin cancer in patients with vitiligo: a survey among 1307 patients and their partners. *Br. J. Dermatol.* **168**, 162-171 (2013).
10. M. Rashighi, P. Agarwal, J. M. Richmond, T. H. Harris, K. Dresser, M. W. Su, Y. Zhou, A. Deng, C. A. Hunter, A. D. Luster, J. E. Harris, CXCL10 is critical for the progression and maintenance of depigmentation in a mouse model of vitiligo. *Sci. Transl. Med.* **6**, 223ra223 (2014).
15. G. M. De Donatis, E. L. Pape, A. Pierron, Y. Cheli, V. Hofman, P. Hofman, M. Allegra, K. Zahaf, P. Bahadoran, S. Rocchi, C. Bertolotto, R. Ballotti, T. Passeron, NF- κ B2 induces senescence bypass in melanoma via a direct transcriptional activation of EZH2. *Oncogene*, (2015).
20. T. W. Kang, T. Yevsa, N. Woller, L. Hoenicke, T. Wuestefeld, D. Dauch, A. Hohmeyer, M. Gereke, R. Rudalska, A. Potapova, M. Iken, M. Vucur, S. Weiss, M. Heikenwalder, S. Khan, J. Gil, D. Bruder, M. Manns, P. Schumacher, F. Tacke, M. Ott, T. Luedde, T. Longerich, S. Kubicka, L. Zender, Senescence surveillance of pre-malignant hepatocytes limits liver cancer development. *Nature* **479**, 547-551 (2011).
9. De Donatis GM, Le Pape E, Pierron A, Cheli Y, Hofman V, Hofman P, Allegra M, Zahaf K, Bahadoran P, Rocchi S, Bertolotto C, Ballotti R, Passeron T. NF- κ B2 induces senescence bypass in melanoma via a direct transcriptional activation of EZH2. *Oncogene* **35** (21): 2813 (mayo de 2016).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general (I):



5

en donde

R₁ es OCH₂CH₂OCH₃ u OCH₃,

R'₁ es H u OH,

10 R₂ es Cl, F, Br o I, con la condición de que cuando:

R₁ es OCH₂CH₂OCH₃ entonces R'₁ es H,

R₁ es OCH₃ entonces R'₁ es OH,

o una sal farmacéuticamente aceptable y/o isómero óptico, tautómero, solvato o variación isotópica del mismo.

15 2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R₂ es Cl.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que es: 7-cloro-N-(4-(2-metoxietoxi)fenil)quinolin-4-amina.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que es: 7-cloro-N-(3-(hidroxi)-4-(metoxi)fenil)quinolin-4-amina.

20 5. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para su uso en el tratamiento del cáncer.

6. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicho cáncer es un cáncer de tumor sólido.

25 7. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, en donde dicho cáncer se selecciona entre melanoma, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de riñón, carcinoma de células de Merkel, carcinoma de células escamosas, cáncer de próstata, cáncer de mama y cáncer de vejiga.

8. Una composición farmacéutica que comprende:

30 - un compuesto como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4,
- opcionalmente, al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

9. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, en donde dicho compuesto es 7-cloro-N-(4-(2-metoxietoxi)fenil)quinolin-4-amina.

35 10. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, en donde dicho compuesto es 7-cloro-N-(3-(hidroxi)-4-(metoxi)fenil)quinolin-4-amina.

11. Una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, que comprende adicionalmente:

40 - al menos un compuesto inmunomodulador, siendo dicho compuesto inmunomodulador preferentemente un anticuerpo inmunomodulador, e incluso más preferentemente un anticuerpo seleccionado de un anticuerpo anti-PD1, un anticuerpo anti-CTLA4, un anticuerpo anti-PD-L1 y una mezcla de dos o más de los mismos, y/o
- al menos otro agente terapéutico.

45 12. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el agente terapéutico se elige entre agentes anticancerosos, agentes alquilantes de nitrosourea, Inhibidores de BRAF, Inhibidores de MEK, proteína de fusión anti PD1, terapias celulares adoptivas, vacunas terapéuticas contra el cáncer y agentes activadores de linfocitos T/NK.

50 13. Una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12, como una preparación combinada para su uso simultáneo, por separado o secuencial para el tratamiento de cáncer.

14. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde dicho cáncer es un cáncer de tumor sólido.

5 15. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13 o 14, en donde dicho cáncer se selecciona entre melanoma, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de riñón, carcinoma de células de Merkel, carcinoma de células escamosas, cáncer de próstata, cáncer de mama y cáncer de vejiga.

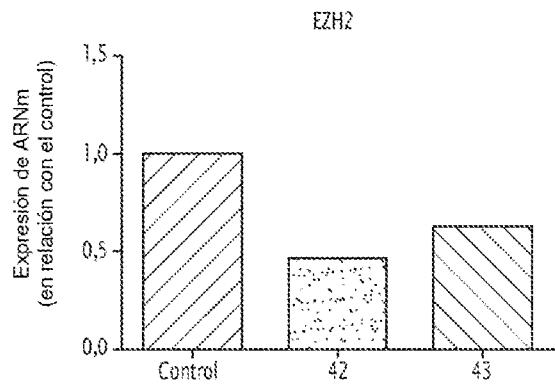


FIG.1

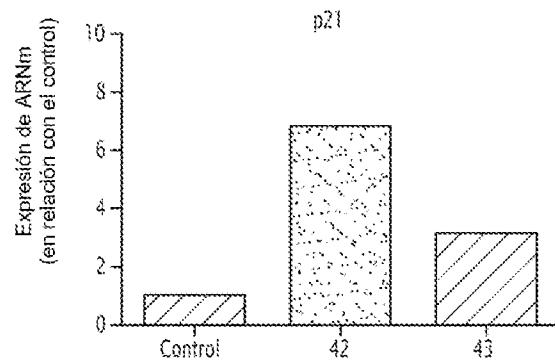


FIG.2

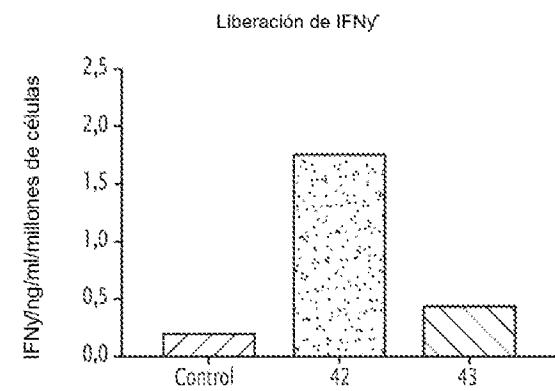


FIG.3

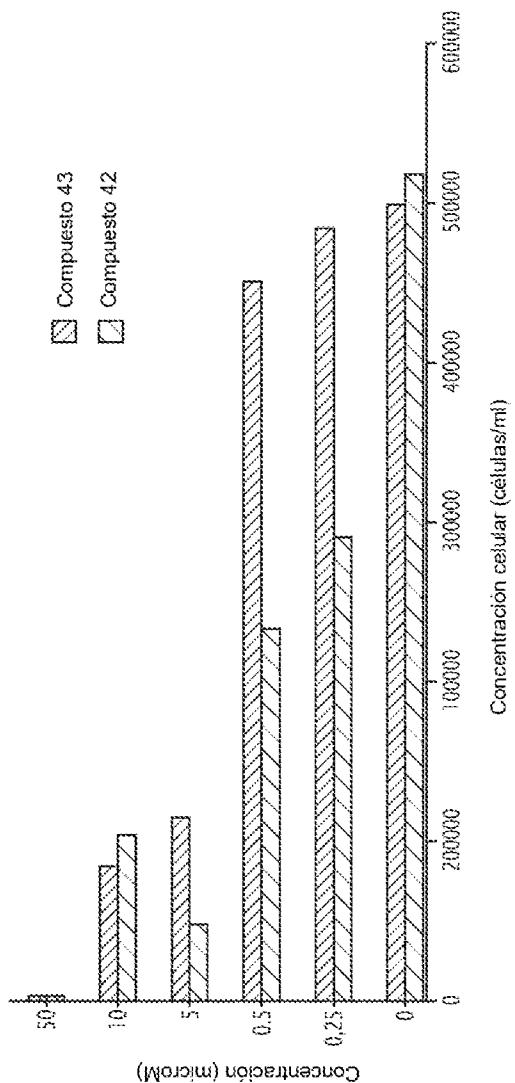


FIG. 4

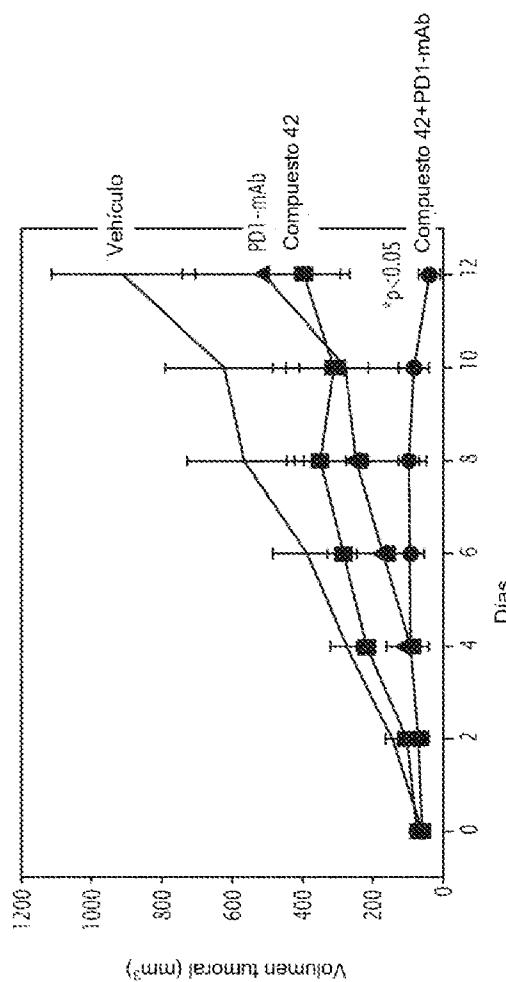


FIG. 5