

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 013 616**

51 Int. Cl.:

**C07D 471/04** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61K 31/4375** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.05.2020 PCT/GB2020/051195**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.11.2020 WO20229840**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.05.2020 E 20728161 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2025 EP 3969451**

54 Título: **Naftalendiimidias sustituidas y uso de las mismas**

30 Prioridad:

**16.05.2019 GB 201906914**

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

**14.04.2025**

73 Titular/es:

**UCL BUSINESS LTD (100.00%)  
University College London Gower Street  
London WC1E 6BT, GB**

72 Inventor/es:

**NEIDLE, STEPHEN;  
ANGELL, RICHARD y  
OXENFORD, SALLY**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 3 013 616 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

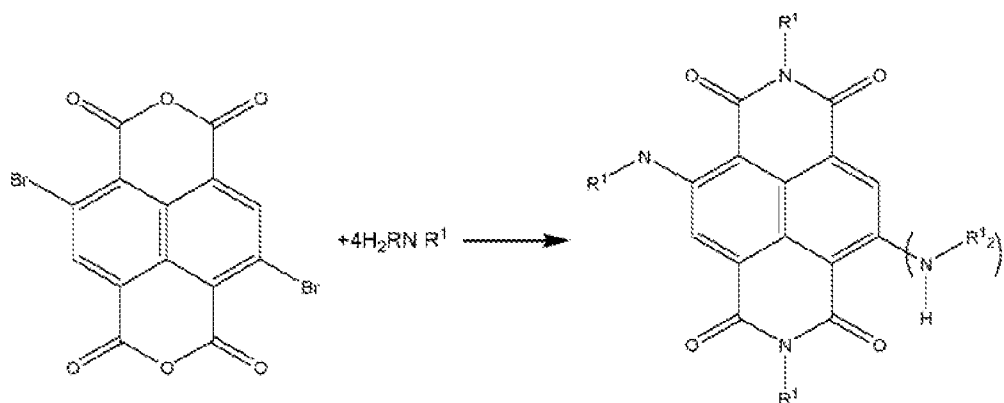
Naftalendiimidas sustituidas y uso de las mismas

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a naftalendiimidas, NDI, y a procedimientos de síntesis de las mismas. Las NDI tienen actividad de unión y estabilización de ADN cuádruplex, y potencial en el tratamiento de cánceres pancreático, de próstata y otros cánceres humanos.

**Antecedentes de la invención**

10 En el documento WO2009/068916 los autores de la invención describieron naftalendiimidas tri-sustituidas y tetra-sustituidas y procesos para producirlas. Ninguno de los productos ilustrados que eran tri-sustituidos tenían ligandos amino-funcionales diferentes en posiciones ecuatoriales y polares en el ligando central. El procedimiento mencionado como adecuado para producir compuestos tri-sustituidos se basó en el siguiente esquema:

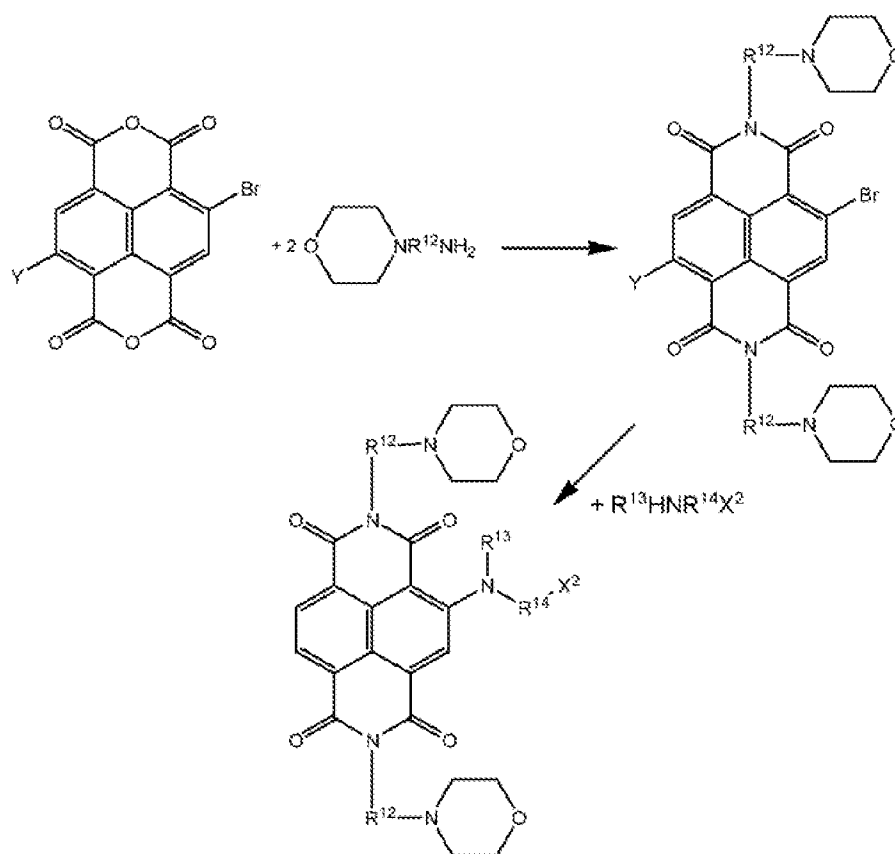


Esquema 1

15 donde R<sup>1</sup> es alquilo o arilo opcionalmente sustituido y n es 0 o 1. En la práctica se produjo una mezcla de los compuestos tetra- (n=1) y tri-sustituidos (n=0). Todos los sustituyentes, es decir, los grupos R<sup>1</sup>, son los mismos.

20 La memoria descriptiva describe procedimientos para producir compuestos tetra-sustituidos a partir del análogo diclorosustituido del compuesto de dibromo utilizado anteriormente. Los procesos se desarrollaron en una etapa, en cuyo caso el mismo reactivo H<sub>2</sub>NR<sup>1</sup> reaccionó en los dos grupos anhídrido y en los dos carbonos sustituidos con cloro para suministrar 4 sustituyentes R<sup>1</sup> idénticos en el producto, o en dos etapas donde en la primera etapa se hace reaccionar un primer reactivo H<sub>2</sub>NR<sup>2</sup> en los dos grupos anhídrido y en una segunda etapa se hace reaccionar un segundo reactivo H<sub>2</sub>NR<sup>3</sup> en los dos átomos de carbono sustituidos por cloro. Los compuestos con sustituyentes básicos en el sustituyente de imida y/o en los anillos aromáticos tienen fuertes propiedades de unión a ADN cuádruplex.

25 En el documento WO2017/103587, los autores de la invención describieron naftalendiimidas tri-sustituidas y procesos para producirlas. El procedimiento mencionado como adecuado para producir compuestos tri-sustituidos se basó en el siguiente esquema:



Esquema 2

donde Y es H o Br, los grupos  $R^{12}$  son el mismo y se seleccionan del grupo que consiste en alqueniido  $C_{1-6}$  de cadena lineal y ramificada,  $R^{13}$  se selecciona del grupo que consiste en H y alquilo  $C_{1-6}$ ,  $R^{14}$  se selecciona del grupo que consiste en alcanodiilo  $C_{1-6}$  y aralcanodiilo  $C_{7-12}$  de cadena lineal o ramificada,  $X^2$  se selecciona del grupo que consiste en halo,  $R^{11}$ ,  $NR^{15}_2$ ,  $CONR^{16}_2$ ,  $COOR^{17}$ , SH y  $COR^{18}$ ,  $R^{11}$  se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo  $C_{1-6}$  opcionalmente sustituido, cicloalquilo  $C_{5-7}$  opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo  $C_{5-7}$  y arilo, cada  $R^{15}$  se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo  $C_{1-6}$ , arilo y aralquilo  $C_{7-12}$ , los grupos  $R^{15}$  junto con el átomo N al que están unidos forman un anillo heterocíclico saturado de 5-7 átomos, cada  $R^{16}$  se selecciona del grupo que consiste en H y grupos alquilo  $C_{1-6}$  o los grupos  $R^{16}$  junto con el átomo N al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 5-7 miembros,  $R^{17}$  se selecciona del grupo que consiste en  $C_{1-6}$  opcionalmente sustituido, aralquilo  $C_{7-12}$  y arilo,  $R^{18}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo  $C_{1-6}$  opcionalmente sustituido, aralquilo  $C_{7-12}$  y arilo, y en el que el átomo de Br o uno del o de cada átomo de Br se sustituye por el nitrógeno de amina nucleófila del reactivo de amina para formar el compuesto de NDI sustituidas.

Los productos tetra-sustituidos, incluidos los productos con grupos  $R^2$  diferentes a los grupos  $R^3$ , se han probado en los documentos WO2009/068916, US2014-0275065A y en Hampel S. M. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2010) 20, 6459-6463, Micco. M., et al., *J. Med. Chem.* (2013) 56, 2959-2974, Collie, G. W., et al., *J.A.C.S.* (2012) 134, 2723-2731, Gunaratnam, M. et al., *J. Med. Chem.* (2009) 52, 3774-3783, Gunaratnam, M. et al., *Bioorg. Med. Chem.* (2011) 19, 7151-7157 y Mitchell, T. et al., *Biochemistry* (2013) 52, 1429-1436 en lo relativo a sus propiedades de unión con elementos cuádruplex de telómeros y también con los encontrados en la región de promotores de algunos genes. Los datos muestran la regulación descendente efectiva de varias proteínas, los promotores de cuyos genes están dirigidos por las diimidias, y con ello producen inhibición del crecimiento de varias líneas celulares de un panel de líneas celulares cancerosas. Los autores han propuesto en estas publicaciones investigar adicionalmente el impacto del cambio en la naturaleza de los grupos sustituyentes y la basicidad de los grupos de aminas terciarias en los sustituyentes catiónicos, en la especificidad y fuerza de la unión, así como investigar el potencial de los compuestos en el tratamiento del cáncer, realizando ensayos en modelos de cánceres que incluyen el cáncer pancreático.

En *Scientific Reports* (2015) 5:11385, Ohnmacht, S.A., et al., describen la actividad de 4,9-bis((3-(4-metilpiperazina-1-il)-propil)amino)-2,7-bis(3-morfolinopropil)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona, también conocida como MM41, *in vivo* en un modelo de ratón de cáncer pancreático humano.

Nadai, M., et al., en *Int. J. Oncol.* (2015) 46, 369-380, describen un compuesto de naftalendiimida tri-sustituida, que tiene grupos 2-dimetilaminoetilo sustituidos en cada átomo de nitrógeno imido y que tiene, como tercer sustituyente, un grupo 2-(4-hidroxi-3-dimetilaminometilfenil)etilamino sustituido en la posición 4 en el núcleo de NDI. Tiene actividad

5 de estabilización del G cuádruplex (GQ) telomérico, lo que provoca disfunción de los telómeros y regulación descendente de la telomerasa. La expresión génica global en un panel de líneas celulares mostró la modulación de genes implicados en la función de los telómeros y en los mecanismos del cáncer. Sin embargo, los autores concluyen que aún no se dispone de evidencias directas de la relevancia biológica de los G-4 en el contexto celular (Marchetti et al., J Med Chem, 2018, 61(6), pp. 2500-2517).

La síntesis del compuesto tri-sustituido referido por Nadai et al. se describe en Doria et al., Org Biomol. Chem, (2012) 10, 2798-2806.

**Compendio de la invención**

10 Los autores de la invención han encontrado sorprendentemente que un grupo particular de cadenas laterales en un compuesto de naftalendiimida tri-sustituida da lugar a una unión mejorada del compuesto de diimida con GQ, lo que se traduce en una mejor actividad anticancerosa.

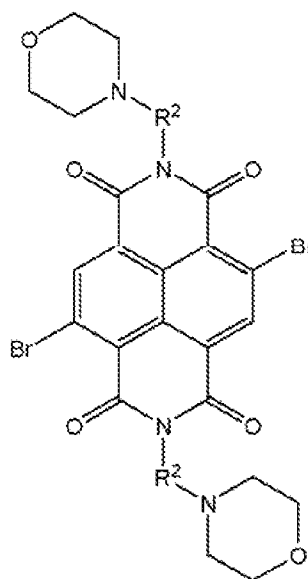
Por consiguiente, en un primer aspecto de la invención se proporciona un nuevo compuesto de Fórmula I como se define en la reivindicación 1.

15 La invención proporciona además los nuevos compuestos para su uso en un procedimiento de tratamiento de un animal para tratar el cáncer o para inhibir el crecimiento de un tumor sólido, o para reducir el tamaño de un tumor sólido, por ejemplo tumores pancreático y de próstata.

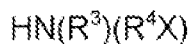
La invención proporciona además composiciones que contienen el nuevo compuesto y un diluyente o vehículo. Las composiciones son preferiblemente composiciones farmacéuticas y el vehículo es entonces farmacéuticamente aceptable.

20 En un segundo aspecto de la invención se proporciona un procedimiento para sintetizar un compuesto de naftalendiimida sustituida según el primer aspecto de la invención, que comprende las etapas de:

- i) reacción de un compuesto de Fórmula III en una reacción de sustitución nucleófila con un compuesto de Fórmula IV:



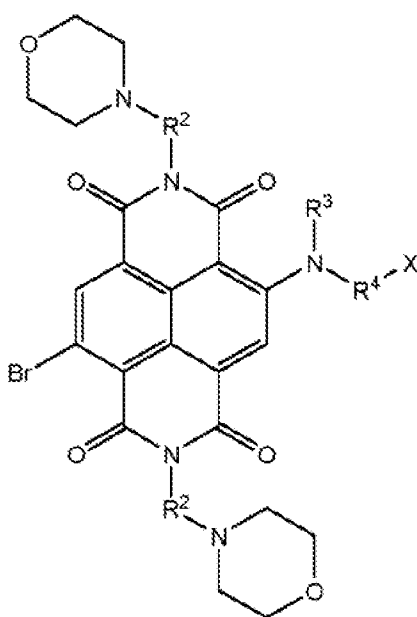
Fórmula III



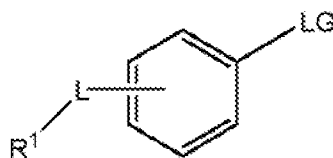
Fórmula IV

en donde al menos un Br en el compuesto de Fórmula III se sustituye por el nitrógeno de amina nucleófila en el compuesto de Fórmula IV;

- 30 ii) reacción de un compuesto de Fórmula V, obtenible a partir del producto resultante de la reacción de sustitución nucleófila de Fórmula III y Fórmula IV, con un compuesto de Fórmula VI:



Fórmula V



Fórmula VI

5 en donde se forma un enlace arilo-arilo entre el fenilo de Fórmula VI y el fenilo con el Br unido al compuesto de Fórmula V, en donde el LG y el Br son grupos lábiles, para formar el compuesto de Fórmula I; y preferiblemente

iii) aislamiento del compuesto de Fórmula I a partir del producto resultante de la reacción de Fórmula V y Fórmula VI;

en donde L, X y R<sup>1</sup> a R<sup>4</sup> son como se define para la Fórmula I del primer aspecto de la invención.

## 10 Figuras

La Figura 1 muestra la regresión tumoral en un tumor de cáncer pancreático en ratones tratados con un compuesto de la invención y compuestos comparativos.

### Descripción detallada de la invención

#### Definiciones

15 Como se emplea en esta memoria, los grupos "alquilo", "cicloalquilo", "heterocicloalquilo", "heterocíclico", "arilo" y "aralquilo" pueden ser monovalentes o divalentes salvo que se especifique lo contrario.

Como se emplea en esta memoria, salvo que se especifique lo contrario, "arilo" significa un radical aromático monovalente o divalente (según resulte apropiado) monocíclico, bicíclico o tricíclico, como fenilo, bifenilo, naftilo, antraceno, que pueden estar opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes.

20 Como se emplea en esta memoria, salvo que se especifique lo contrario, "opcionalmente sustituido" lo es con uno de los sustituyentes seleccionados del grupo de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxil, hidroxialquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, amino, monoalquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, bisalquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, acilamino C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, aminoalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, mono(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alquil)amino C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alquilo, bis(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alquil)amino C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alquilo, acilamino C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, alquilsulfonylamino C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, halo, nitro, ciano, trifluorometilo, carboxi, alcóxycarbonilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, aminocarbonilo, monoalquilaminocarbonilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, bisalquilaminocarbonilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, alquilsulfonylo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, aminosulfonylo, monoalquilaminosulfonylo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> y bisalquilaminosulfonylo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>.

Como se emplea en esta memoria, salvo que se especifique lo contrario, los grupos "heterocicloalquilo" y

“heterocíclico” son radicales carbocíclicos que contienen hasta 4 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre. Pueden ser bicíclicos o monocíclicos. Preferiblemente son saturados. Si el heterociclo es un grupo enlazador divalente, el heterociclo puede estar unido a grupos adyacentes a través de un átomo de carbono, o a través de uno de los heteroátomos, por ejemplo, un átomo de nitrógeno. Algunos ejemplos de heterociclos son pirrolidina, piperazina y morfolina.

Grupos preferidos de la invención

En el primer aspecto de la invención, L es preferiblemente  $(CH_2)_{1-2}$ , más preferiblemente todavía  $(CH_2)$ . Preferiblemente L está en la posición *para* del fenilo. Cuando  $R^1$  es el heterocicloalquilo de 5-7 miembros que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido o el  $NR_9R_{10}$ , es preferible que  $R^1$  esté unido a L por medio del átomo de nitrógeno de  $R^1$ .

Se contempla que L o  $R^1$  comprendan un átomo de nitrógeno básico.  $R^1$  es preferiblemente un heterocicloalquilo de 5-7 miembros que contiene nitrógeno, preferiblemente un heterocicloalquilo de 5-6 miembros que contiene nitrógeno, más preferiblemente un heterocicloalquilo de 5 miembros que contiene nitrógeno. Preferiblemente el nitrógeno del heterocicloalquilo de 5-7 miembros que contiene nitrógeno es el único heteroátomo en el heterocicloalquilo. En otro aspecto, el heterocicloalquilo de 5-7 miembros que contiene nitrógeno comprende un segundo heteroátomo, tal como un átomo de oxígeno.

De manera adecuada, el heterocicloalquilo de 5-7 miembros que contiene nitrógeno se selecciona del grupo que consiste en pirrolidinilo, imidazolidinilo, pirazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, azepanilo, diazepanilo, preferiblemente pirrolidinilo. De manera adecuada, L es  $(CH_2)$  y  $R^1$  es pirrolidinilo.

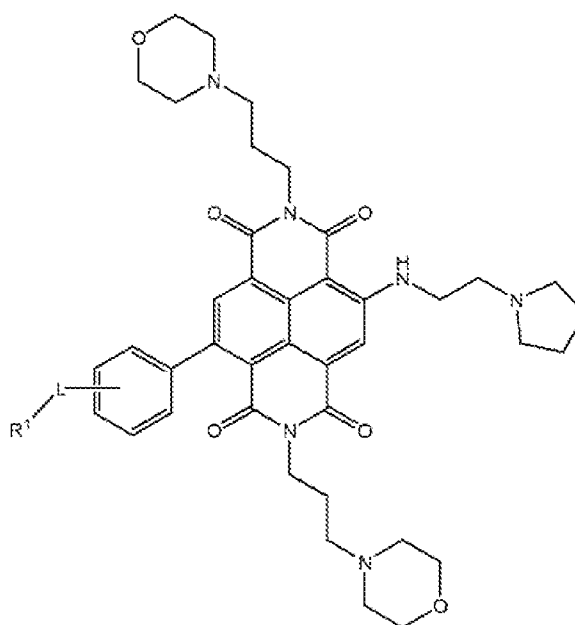
De manera adecuada,  $R^1$  es  $NR_9R_{10}$ .  $R^9$  y  $R^{10}$  son independientemente alquilo  $C_{1-6}$ , más preferiblemente alquilo  $C_{2-4}$ , más preferiblemente todavía alquilo  $C_{2-3}$ . De manera adecuada, el  $NR_9R_{10}$  es dietilamino, dipropilamino o etilpropilamino.

En otra realización, L comprende el átomo de nitrógeno básico. De manera adecuada, L es  $(CH_2)_{1-5}NH$ , preferiblemente  $(CH_2)_{1-3}NH$ , más preferiblemente  $(CH_2)_{1-2}NH$ , más preferiblemente todavía  $(CH_2)NH$  y  $R^1$  es un cicloalquilo  $C_{5-7}$ , preferiblemente un cicloalquilo  $C_5$ . Preferiblemente L está en la posición *para* del fenilo.

Los dos grupos  $R^2$  de la Fórmula I son iguales entre sí.  $R^2$  es un alcanodiilo  $C_{2-4}$  de cadena lineal, más preferiblemente alcanodiilo  $C_3$  de cadena lineal.  $R^4$  puede ser o no el mismo que  $R^2$ , y es un alcanodiilo  $C_{2-4}$  de cadena lineal, más preferiblemente alcanodiilo  $C_2$ .

X es  $NR^6$ . Los grupos  $R^6$  junto con el átomo N al que están unidos forman pirrolidin-1-ilo.

Preferiblemente, la Fórmula I tiene la siguiente estructura de Fórmula II:



Fórmula II

en donde L y  $R^1$  son como se define para la Fórmula I, con cualquiera de los grupos preferidos indicados anteriormente.

De manera adecuada, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

2,7-bis(3-morfolinopropil)-4-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)-9-(4-(pirrolidin-1-ilmetil)fenil)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona;

4-(4-(morfolinometil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona;

5 2,7-bis(3-morfolinopropil)-4-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)-9-(3-(pirrolidin-1-ilmetil)fenil)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona;

2,7-bis(3-morfolinopropil)-4-(4-(piperidin-1-ilmetil)fenil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona;

10 4-(4-((dietilamino)metil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona;

4-(4-((ciclopentilamino)metil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona;

4-(4-(azepan-1-ilmetil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona;

15 4-(4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona; y

sales, hidratos y solvatos de los mismos.

En el segundo aspecto de la invención, L, X y R<sup>1</sup> a R<sup>4</sup> para la Fórmula III a la Fórmula VI son preferiblemente como se define como características preferidas anteriores para L, X y R<sup>1</sup> a R<sup>4</sup> de la Fórmula I del primer aspecto de la invención.

20 El procedimiento de la invención comprende una primera etapa de reacción de una naftalendiimida bromada de Fórmula III con un reactivo de amina de Fórmula IV en una reacción de sustitución nucleófila aromática con la que el átomo de bromo se sustituye por un grupo amino N(R<sup>3</sup>)(R<sup>4</sup>X). La diimida de partida es un compuesto de dibromo, y la reacción de sustitución nucleófila aromática puede dar lugar a la sustitución de los dos átomos de bromo por un grupo amina o solo uno de ellos (es decir, un compuesto de Fórmula V), aunque se prefiere que se sustituya solo uno de los bromos, y debe producirse al menos un compuesto de Fórmula V. Es preferible separar una mezcla de la naftalendiimida sustituida tanto de forma única como doble, por ejemplo utilizando cromatografía en columna.

25 En una segunda etapa, el compuesto de Fórmula V producido en la primera etapa se hace reaccionar con un reactivo de Fórmula VI en una reacción de sustitución por la cual el átomo de bromo se sustituye por el fenilo en la Fórmula VI por medio del átomo de carbono al que el LG (*leaving group*, grupo lábil) está unido inicialmente. En un aspecto, el LG puede ser un grupo de ácido borónico, si bien el experto en la materia apreciará que existen múltiples formas de llevar a cabo la reacción de sustitución y formar el enlace arilo-arilo entre las Fórmulas V y VI. Como consecuencia se produce al menos un compuesto de Fórmula I.

Preferiblemente, en otra etapa, el compuesto de Fórmula I se aísla utilizando cromatografía en columna.

35 Preferiblemente, la forma específica de cromatografía en columna utilizada se selecciona entre cromatografía en columna en gel y de resolución rápida.

40 Los compuestos de la presente invención pueden proporcionarse en forma de composiciones farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de la presente invención, especialmente cuando se presentan en la forma de sales de adición ácida, por ejemplo donde algunos o todos los grupos de amina básica se convierten en forma de sal, son solubles en agua y tienen un pH aproximadamente neutro. Por lo tanto, estas sales son adecuadas para la administración en forma de solución acuosa, que sería apropiada para la administración intravenosa. Las soluciones acuosas farmacéuticas comprenden preferiblemente de 1 a 500 mg/l del compuesto.

45 Los compuestos de la presente invención pueden proporcionarse en una forma adecuada para prepararse en composiciones farmacéuticas, por ejemplo, en forma seca rehidratable, por ejemplo con vehículo o diluyente. Estas formas secas pueden producirse por cristalización y/o evaporación. Alternativamente, los compuestos pueden presentarse como concentrados, por ejemplo en agua o un disolvente orgánico farmacéuticamente aceptable para su dilución antes de la administración.

50 Como se emplea en esta memoria, una sal farmacéuticamente aceptable es una sal con un ácido o base farmacéuticamente aceptables. Los ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen ácidos inorgánicos, como los ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, difosfórico, bromhídrico o nítrico, y ácidos orgánicos, como los ácidos cítrico, fumárico, maleico, málico, ascórbico, succínico, tartárico, benzoico, acético, metanosulfónico, etanosulfónico, salicílico, esteárico, bencenosulfónico o *p*-toluenosulfónico. Las bases farmacéuticamente aceptables incluyen hidróxidos de metales alcalinos (p. ej., sodio o potasio) y de metales alcalinotérreos (p. ej., calcio o magnesio) y bases orgánicas como alquilaminas, arilaminas o aminas heterocíclicas.

Las combinaciones según la presente invención pueden utilizarse también en conjunción con otros agentes para inhibir la proliferación celular indeseable e incontrolada, por ejemplo de anticuerpos. El compuesto puede conjugarse con el anticuerpo y administrarse como dos componentes separados.

5 Los compuestos de la invención y las composiciones que los comprenden pueden administrarse por cualquier vía. En una realización, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención puede formularse en un formato adecuado para administración oral, rectal, parenteral, intranasal o transdérmica o administración por inhalación o por supositorio. Las vías de administración típicas son la administración parenteral, intranasal o transdérmica o la administración por inhalación. Para quimioterapia de tumores, las composiciones se administran de la forma más conveniente por vía intravenosa.

10 Cuando se utilizan como tratamiento para tumores existentes, los compuestos de la presente invención pueden administrarse utilizando regímenes desarrollados para agentes quimioterapéuticos.

15 Los compuestos de la invención y las composiciones tienen utilidad en el tratamiento de sujetos que tienen cáncer. Una clase particular de cánceres se conocen como tumores sólidos, donde puede identificarse una masa sólida de material canceroso. Otra clase comprende cánceres hematológicos, conocidos como cánceres que afectan al sistema sanguíneo.

Los tipos específicos de cánceres que pueden tratarse utilizando los compuestos y composiciones de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, cánceres de próstata, pancreático, microcítico de pulmón o gastrointestinal. En una realización preferida, el cáncer es de próstata o pancreático.

20 Los compuestos de la invención y las composiciones son útiles en el tratamiento para inhibir el crecimiento de un tumor sólido, o para reducir el tamaño de un tumor sólido, por ejemplo en donde el tumor es un tumor pancreático o de próstata.

El sujeto que recibirá tratamiento es de manera adecuada un animal, preferiblemente un ser humano.

La invención se ilustra adicionalmente en los ejemplos adjuntos.

### Ejemplos

25 Se sintetizó y evaluó una serie de naftalendiimidias tetra-sustituidas como ligandos de G cuádruplex, y como agentes anticancerosos potenciales.

#### Química

30 Todos los productos químicos, reactivos y disolventes se compraron en fuentes comerciales y se utilizaron tal como se recibieron salvo que se indique lo contrario. Los disolventes fueron de calidad HPLC comercial a menos que se especifique un disolvente en seco, en cuyo caso se utilizaron disolventes en seco 'Sure Seal' de Aldrich. La cromatografía en columna se realizó sobre cartuchos de sílice preempaquetada (malla 230-400, 40-63  $\mu\text{m}$ ) utilizando el eluyente indicado.

Se adquirió RMN  $^1\text{H}$  Spectra en un espectrómetro Bruker Avance III a 400 MHz usando disolvente no deuterado residual como referencia.

35 La LCMS analítica se llevó a cabo utilizando procedimientos ácidos o básicos del modo siguiente:

40 **Ácido, HPLC:** Columna Waters X-Select CSH C18, 2,5  $\mu\text{m}$ , 4,6x30 mm eluyendo con un gradiente de ácido fórmico al 0,1% en MeCN en ácido fórmico al 0,1% en agua. El gradiente del 5-95% de ácido fórmico al 0,1% en MeCN tiene lugar entre 0,00-3,00 minutos a 2,5 ml/min con un lavado de 3,01-3,5 minutos a 4,5 ml/min. Un reequilibrado de columna al 5% de MeCN es de 3,60-4,00 minutos a 2,5 ml/min. Los espectros UV de los picos de eluyente se midieron utilizando Agilent 1260 Infinity o Agilent 1200 VWD a 254 nm. Los espectros de masa se midieron utilizando Agilent 6120 o Agilent 1956 MSD actuando con cambio positivo/negativo o Agilent 6100 MSD actuando en modo positivo o negativo.

45 **Básico, HPLC:** Columna Waters X-Select BEH C18, 2,5  $\mu\text{m}$ , 4,6x30 mm eluyendo con un gradiente de MeCN en bicarbonato de amonio 10 mM acuoso. El gradiente del 5-95% de MeCN tiene lugar entre 0,00-3,00 minutos a 2,5 ml/min con un lavado de 3,01-3,5 minutos a 4,5 ml/min. Un reequilibrado de columna al 5% de MeCN es de 3,60-4,00 minutos a 2,5 ml/min. Los espectros UV de los picos de eluyente se midieron utilizando Agilent 1260 Infinity o Agilent 1200 VWD a 254 nm. Los espectros de masa se midieron utilizando Agilent 6120 o Agilent 1956 MSD actuando con cambio positivo/negativo o Agilent 6100 MSD actuando en modo positivo o negativo.

Alternativamente, la UPLC/MS analítica se realizó utilizando procedimientos ácidos o básicos del modo siguiente:

50 **Ácido, UPLC:** Columna Waters Acquity CSH C18, 1,7  $\mu\text{m}$ , 2,1x30 mm eluyendo con un gradiente de ácido fórmico al 0,1% en MeCN en ácido fórmico al 1% en agua. El gradiente se estructura con un punto de partida del 5% de MeCN mantenido de 0,0-0,11 minutos. El gradiente del 5-95% tiene lugar entre 0,11-2,15 minutos con un lavado de 2,15-2,56 minutos. Un reequilibrado de columna al 5% de MeCN es de 2,56-2,83 minutos. Los espectros UV de los picos

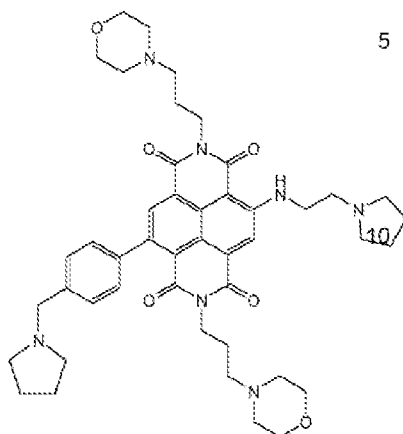
## ES 3 013 616 T3

de eluyente se midieron utilizando Acquity PDA y los espectros de masa se registraron utilizando un detector Acquity QDa con cambio ESI positivo/negativo.

5 Básico, UPLC: Columna Waters Acquity BEH C18, 1,7  $\mu\text{m}$ , 2,1x30 mm eluyendo con un gradiente de MeCN en bicarbonato de amonio 10 mM acuoso. El gradiente se estructura con un punto de partida del 5% de MeCN mantenido de 0,0-0,11 minutos. El gradiente del 5-95% tiene lugar entre 0,11-2,15 minutos con un lavado de 2,15-2,56 minutos. Un reequilibrado de columna al 5% de MeCN es de 2,56-2,83 minutos. Los espectros UV de los picos de eluyente se midieron utilizando Acquity PDA y los espectros de masa se registraron utilizando un detector Acquity QDa con cambio ESI positivo/negativo.

10 La HPLC preparatoria se realizó utilizando una columna Waters Xselect CSH C18, 5  $\mu\text{m}$ , 19x50 mm utilizando un gradiente de ácido fórmico al 0,1% en MeCN en ácido fórmico acuoso al 0,1% o un gradiente de MeCN en bicarbonato de amonio 10 mM acuoso; o una columna Waters Xbridge BEH C18, 5  $\mu\text{m}$ , 19x50 mm utilizando un gradiente MeCN en bicarbonato de amonio 10 mM acuoso. Las fracciones se recogieron después de la detección por UV para una única longitud de onda medida por un detector de longitudes de onda variables en una HPLC preparatoria Gilson 215 o una HPLC preparatoria Varian PrepStar; por masa y UV para una única longitud de onda medida con un espectrómetro de masas de cuadrupolo único ZQ, con electropulverización iónica positiva y negativa, y un detector de longitudes de onda dobles en una LCMS Waters FractionLynx.

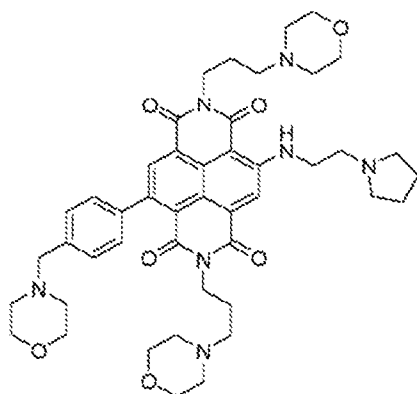
Ejemplo 1: 2,7-bis(3-morfolinopropil)-4-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)-9-(4-(pirrolidin-1-ilmetil)fenil)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona



20 Se disolvió 4-bromo-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona (100 mg, 0,141 mmol), ácido (3,5-dimetoxifenil)borónico (77 mg, 0,422 mmol) o 1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil)pirrolidina (121 mg, 0,422 mmol) y Pd(Ph3P)4 (8,12 mg, 7,03  $\mu\text{mol}$ ) en THF/2M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3:1, 2 mL) y se desgasificó, volviéndose a llenar con nitrógeno tres veces. Se calentó la mezcla (temperatura de bloque 70°C) con agitación durante 3 h. Se enfrió la reacción, se diluyó con DCM (15 mL), se lavó con agua (15 mL), se pasó a través de una frita hidrófoba y se concentró al vacío. Se purificó el producto en bruto por HPLC preparatoria, Basic, 20-50 MeCN en agua para producir el compuesto del título (7,1 mg, 8,34  $\mu\text{mol}$ , rendimiento del 6%) como un sólido negro oscuro.

30 RMN 1H (400 MHz, Cloroformo-*d*)  $\delta$  10,24 (t, *J* = 5,3 Hz, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,38 - 7,29 (m, 2H), 4,34 - 4,25 (m, 2H), 4,21 - 4,07 (m, 2H), 3,87 (s, 2H), 3,75 (q, *J* = 6,2 Hz, 2H), 3,62 (dt, *J* = 16,8, 4,7 Hz, 8H), 2,95 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H), 2,78 (s, 4H), 2,71 - 2,64 (m, 4H), 2,53 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,50 - 2,35 (m, 10H), 2,02 - 1,78 (m, 12H). RMN 1H en CDCl<sub>3</sub> 1863-70-prep2 fue consistente con la estructura del producto al 93% de pureza. LCMS, Basic, 1863-70B-prep, m/z 792,4 [M+H]<sup>+</sup> a 4 min, 96% de pureza @ 254 nm. Contiene el 4% de CMO<sub>3</sub> por LC @ 254 nm.

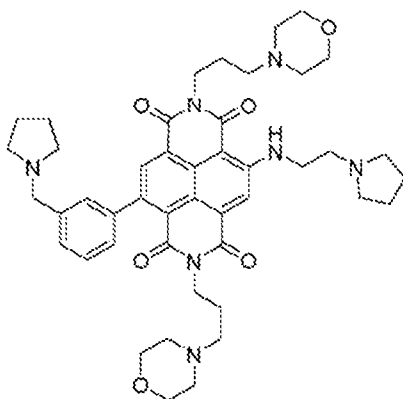
35 Ejemplo 2: 4-(4-(morfolinometyl)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona



Se trató una mezcla agitada de 4-bromo-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona (202 mg, 0,284 mmol) y ácido (4-(morfolinometil)fenil)borónico (188 mg, 0,852 mmol) en dioxano (4 mL) con carbonato de potasio (568  $\mu$ L de una solución acuosa 2 M, 1,135 mmol) y se desgasificó. Se añadió S-Phos Pd G3 (6,64 mg, 8,52  $\mu$ mol) y se desgasificó de nuevo la mezcla y a continuación se calentó el conjunto a 80°C (temp bloque, precalentada). Después de 18 h, se dejó enfriar la mezcla y a continuación se diluyó con agua (10 mL) y NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (10 mL) y se extrajo con DCM (2 x 20 mL). Se secó el material orgánico combinado sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó. La cromatografía en columna (12 g Buchi FlashPure, preadsorción, 10-70% [(THF:DCM 1:1): NH<sub>3</sub> 7 M 9:1 en MeOH] en (THF:DCM 1:1)) produjo dos cortes de producto moderadamente puro. Se evaporó el centro de la banda de producto y se recogió en MeCN (2 mL). Después de ~48 h, se filtró y se descartó el sólido. Mientras tanto, se evaporó el material del borde de la banda de producto y se resuspendió a partir de *iso*-hexanos. Se combinó este material con los licores de MeCN a partir del lote anterior y se purificó el producto resultante por cromatografía en columna (12 g RediSep Gold, 30-70% (DCM: NH<sub>3</sub> 0,7 M 9:1 en MeOH) en DCM, con carga en DCM). Se evaporó el corte central de esta banda para dar lugar al producto como un sólido vítreo rojo brillante (50 mg, 22%).

LCMS: Encontrado  $m/z$  808,3 (C<sub>45</sub>H<sub>58</sub>N<sub>7</sub>O<sub>7</sub> (MH<sup>+</sup>) requiere 808,4) @ 6,68 min. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Cloroformo-*d*)  $\delta$  10,24 (t,  $J$  = 5,3 Hz, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 7,45 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 2H), 7,32 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 2H), 4,30 (t,  $J$  = 7,4 Hz, 2H), 4,15 (t,  $J$  = 7,4 Hz, 2H), 3,83 - 3,71 (m, 6H), 3,65 - 3,59 (m, 10H), 2,95 (t,  $J$  = 6,4 Hz, 2H), 2,70 - 2,67 (m, 4H), 2,58 - 2,50 (m, 6H), 2,47 - 2,40 (m, 10H), 1,96 (app p,  $J$  = 7,1 Hz, 2H), 1,90-1,84 (m, 6H).

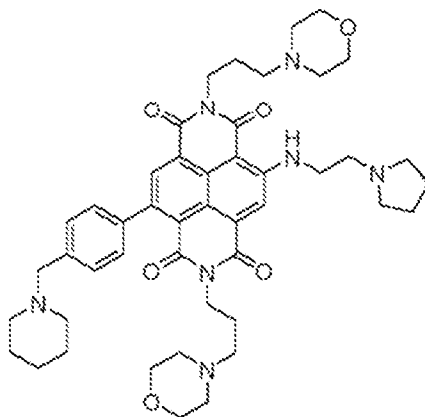
Ejemplo 3: 2,7-bis(3-morfolinopropil)-4-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)-9-(3-(pirrolidin-1-il)metil)feil)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona



Se trató una mezcla agitada de 4-bromo-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona (149 mg, 0,209 mmol) y 1-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil)pirrolidina (180 mg, 0,628 mmol) en dioxano (4 mL) con carbonato de potasio (419  $\mu$ L de una solución acuosa 2 M, 0,837 mmol) y se desgasificó. Se cargó S-Phos Pd G3 (4,90 mg, 6,28  $\mu$ mol), se desgasificó de nuevo la mezcla y se calentó el conjunto a 80°C. Después de 16 h, se dejó enfriar la mezcla y a continuación se diluyó con agua (10 mL) y NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (10 mL) y se extrajo con DCM (2 x 20 mL). Se secó el material orgánico combinado sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó. La cromatografía en columna (12 g RediSep Gold, 30-60% (DCM: NH<sub>3</sub> 0,7 M 9:1 en MeOH) en DCM, con carga en DCM) dio como resultado el producto con pureza moderada. Se purificó el residuo por cromatografía de fase inversa en columna (12 g Reveleris C-18, 75-100% (NH<sub>3</sub> 70 mM en MeOH) en agua, con carga en DMSO) para dar lugar al producto en pureza mejor pero todavía insatisfactoria. Se volvió a purificar el residuo por cromatografía de fase inversa en columna (12 g Reveleris C-18, 75-100% (NH<sub>3</sub> 70 mM en MeOH) en agua, con carga en DMSO) para dar lugar al producto como un sólido vítreo rojo brillante (16 mg, 10%).

LCMS: Encontrado  $m/z$  792,4: ( $C_{45}H_{58}N_7O_6$  ( $MH^+$ ) requiere 792,4) @ 6,42 min. RMN  $^1H$  (500 MHz, Cloruro de metileno- $d_2$ )  $\delta$  10,26 (t,  $J = 5,5$  Hz, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,47 - 7,37 (m, 2H), 7,35 (br s, 1H), 7,26 (dt,  $J = 7,2, 1,7$  Hz, 1H), 4,30 (t,  $J = 7,4$ , 2H), 4,13 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H), 3,82 - 3,65 (m, 4H), 3,52 - 3,58 (m, 8H), 2,95 (t,  $J = 6,2$  Hz, 2H), 2,69 - 2,66 (m, 4H), 2,61 - 2,30 (m, 16H), 1,93 (p,  $J = 6,9$  Hz, 2H), 1,89 - 1,75 (m, 10H).

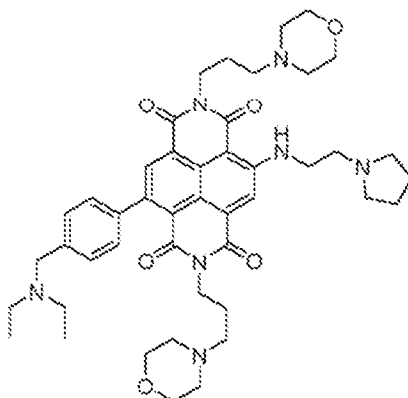
5 Ejemplo 4: 2,7-bis(3-morfolinopropil)-4-(4-(piperidin-1-ilmetil)fenil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[*l*mn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona



Se trató una mezcla agitada de 4-bromo-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[*l*mn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona (155 mg, 0,218 mmol) y 1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)encil)piperidina (197 mg, 0,653 mmol) en dioxano (4 mL) con carbonato de potasio (436  $\mu$ L de una solución acuosa 2 M, 0,871 mmol) y se desgasificó. Se cargó S-PhosPd G3 (5,10 mg, 6,53  $\mu$ mol), se desgasificó de nuevo la mezcla y se calentó el conjunto a 80°C. Después de 16 h, se dejó enfriar la mezcla y a continuación se diluyó con agua (10 mL) y  $NaHCO_3$  acuoso saturado (10 mL) y se extrajo con DCM (2 x 20 mL). Se secó el material orgánico combinado sobre  $Na_2SO_4$  y se evaporó. La cromatografía en columna (12 g RediSep Gold, 30-60% (DCM:  $NH_3$  0,7 M 9:1 en MeOH) en DCM, con carga en DCM) dio como resultado el producto con pureza moderada. Se purificó el residuo por cromatografía de fase inversa en columna (12 g Reveleris C-18, 75-100% ( $NH_3$  70 mM en MeOH) en agua, con carga en DMSO) para dar lugar al producto como un sólido vítreo rojo brillante (61 mg, 35%).

LCMS: Encontrado  $m/z$  806,3: ( $C_{46}H_{60}N_7O_6$  ( $MH^+$ ) requiere 805,5) @ 7,38 min. RMN  $^1H$  (500 MHz, Cloruro de metileno- $d_2$ )  $\delta$  10,25 (t,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 7,43 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 7,33 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 4,29 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H), 4,14 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H), 3,75 (q,  $J = 5,9$  Hz, 2H), 3,64 - 3,50 (m, 10H), 2,95 (t,  $J = 6,2$  Hz, 2H), 2,69 - 2,66 (m, 4H), 2,56 - 2,29 (m, 16H), 1,93 (p,  $J = 7,0$  Hz, 2H), 1,89 - 1,82 (m, 6H), 1,68 - 1,62 (m, 4H), 1,53 - 1,49 (m, 2H).

Ejemplo 5: 4-4-((dietilamino)metil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[*l*mn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona

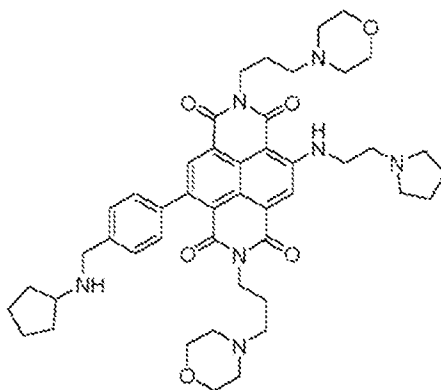


Se trató una mezcla agitada de 4-bromo-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[*l*mn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona (155 mg, 0,218 mmol) y N-etil-N-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)encil)etanamina (189 mg, 0,653 mmol) en dioxano (4 mL) con carbonato de potasio (436  $\mu$ L de una solución acuosa 2 M, 0,871 mmol) y se desgasificó. Se cargó S-Phos Pd G3 (5,10 mg, 6,53  $\mu$ mol), se desgasificó de nuevo la mezcla y se calentó el conjunto a 80°C. Después de 16 h, se dejó enfriar la mezcla y a continuación se diluyó con agua (10 mL) y  $NaHCO_3$  acuoso saturado (10 mL) y se extrajo con DCM (2 x 20 mL). Se secó el material orgánico combinado sobre  $Na_2SO_4$  y se evaporó. La cromatografía en columna (12 g BuchiFlashPure, 30-60%

(DCM: NH<sub>3</sub> 1,4 M 9:1 en MeOH) en DCM, con carga en DCM) dio como resultado el producto con pureza moderada. Se purificó el residuo por cromatografía de fase inversa en columna (12 g Reveleris C-18, 75-100% (NH<sub>3</sub> 70 mM en MeOH) en agua, con carga en DMSO) para dar lugar al producto como un sólido vítreo rojo brillante (81 mg, 47%).

5 LCMS: Encontrado  $m/z$  794,2: (C<sub>45</sub>H<sub>60</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub> (MH<sup>+</sup>) requiere 794,5) @ 6,93 min. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Cloruro de metileno-*d*<sub>2</sub>) δ 10,24 (t, *J* = 5,2 Hz, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,46 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,33 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 4,28 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 4,13 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 3,79 - 3,71 (m, 2H), 3,69 (s, 2H), 3,58 - 3,53 (m, 8H), 2,94 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H), 2,69 - 2,66 (m, 4H), 2,61 (q, *J* = 7,1 Hz, 4H), 2,50 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 2,47 - 2,30 (m, 10H), 1,93 (p, *J* = 6,9 Hz, 2H), 1,88 - 1,82 (m, 6H), 1,12 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H).

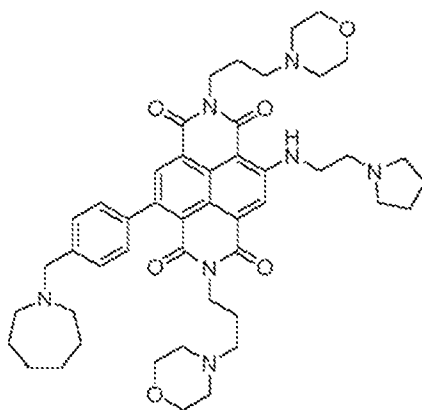
10 Ejemplo 6: 4-(4-((ciclopentilamino)metil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona



15 Se trató una mezcla agitada de 4-bromo-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona (153 mg, 0,215 mmol) y N-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencil)ciclopentanamina (194 mg, 0,645 mmol) en dioxano (4 mL) con carbonato de potasio (430 μL de una solución acuosa 2 N, 0,860 mmol) y se desgasificó. Se cargó S-Phos Pd G3 (5,03 mg, 6,45 μmol), se desgasificó de nuevo la mezcla y se calentó el conjunto a 80°C. Después de 16 h, se dejó enfriar la mezcla y a continuación se diluyó con agua (10 mL) y NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (10 mL) y se extrajo con DCM (2 x 20 mL). Se secó el material orgánico combinado sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó. La cromatografía en columna (12 g BuchiFlashPure, 30-60% (DCM: NH<sub>3</sub> 1,4 M 9:1 en MeOH) en DCM, con carga en DCM) dio como resultado el producto con pureza moderada. Se purificó el residuo por cromatografía de fase inversa en columna (12 g Reveleris C-18, 75-100% (NH<sub>3</sub> 70 mM en MeOH) en agua, con carga en DMSO) para dar lugar al producto como un sólido vítreo rojo brillante (29 mg, 17%).

20 LCMS: Encontrado  $m/z$  806,4: (C<sub>46</sub>H<sub>60</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub> (MH<sup>+</sup>) requiere 805,5) @ 6,57 min. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Cloruro de metileno-*d*<sub>2</sub>) δ 10,25 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 7,45 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,33 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 4,29 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 4,13 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 3,88 (s, 2H), 3,75 (q, *J* = 5,9 Hz, 2H), 3,58 - 3,53 (m, 8H), 3,23 (p, *J* = 6,4 Hz, 1H), 2,95 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H), 2,69 - 2,66 (m, 4H), 2,50 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 2,47 - 2,30 (m, 10H), 1,96 - 1,89 (m, 4H), 1,88 - 1,80 (m, 6H), 1,79 - 1,72 (m, 2H), 1,65 - 1,58 (m, 2H), 1,51 - 1,42 (m, 2H), no se observó CH<sub>2</sub>NHCH.

25 Ejemplo 7: 4-(4-(azepan-1-ilmetil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona



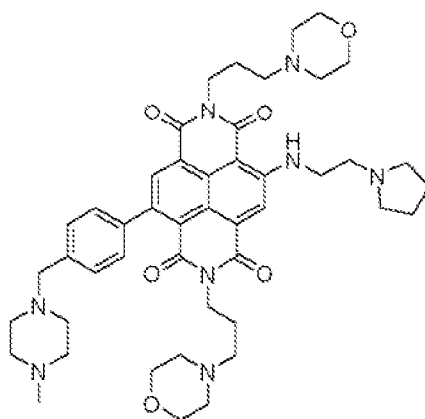
30 Se trató una mezcla agitada de 4-bromo-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona (223 mg, 0,313 mmol) y 1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-

## ES 3 013 616 T3

dioxaborolan-2-il)encil)azepano (296 mg, 0,940 mmol) en dioxano (4 mL) con carbonato de potasio (627  $\mu$ L de una solución acuosa 2 M, 1,253 mmol) y se desgasificó. Se cargó S-Phos Pd G3 (7,33 mg, 9,40  $\mu$ mol), se desgasificó de nuevo la mezcla y se calentó el conjunto a 80°C. Después de 16 h, se dejó enfriar la mezcla y a continuación se diluyó con agua (10 mL) y NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (10 mL) y se extrajo con DCM (2 x 20 mL). Se secó el material orgánico combinado sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó. La cromatografía en columna (12 g Buchi FlashPure, 30-60% (DCM: NH<sub>3</sub> 1,4 M 9:1 en MeOH) en DCM, con carga en DCM) dio como resultado el producto con pureza moderada. Se purificó el residuo por cromatografía de fase inversa en columna (12 g Reveleris C-18, 75-100% (NH<sub>3</sub> 70 mM en MeOH) en agua, con carga en DMSO) para dar lugar al producto como un sólido vítreo rojo brillante (130 mg, 51%).

LCMS: Encontrado  $m/z$  820,3: (C<sub>47</sub>H<sub>62</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub> (MH<sup>+</sup>) requiere 820,5) @ 7,69 min. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Cloruro de metileno-d<sub>2</sub>)  $\delta$  10,25 (t,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 7,47 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2H), 7,33 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2H), 4,29 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H), 4,14 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H), 3,82 - 3,70 (m, 4H), 3,57 - 3,53 (m, 8H), 2,95 (t,  $J = 6,2$  Hz, 2H), 2,78 - 2,61 (m, 8H), 2,50 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H), 2,47 - 2,30 (m, 10H), 1,93 (p,  $J = 7,0$  Hz, 2H), 1,88 - 1,82 (m, 6H), 1,73 - 1,68 (m, 8H).

Ejemplo 8: 4-(4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[*lmn*][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona



Se trató una mezcla agitada de 4-bromo-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[*lmn*][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona (213 mg, 0,299 mmol) y 1-metil-4-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)encil)piperazina (284 mg, 0,898 mmol) en dioxano (4 mL) con carbonato de potasio (599  $\mu$ L de una solución acuosa 2 M, 1,197 mmol) y se desgasificó. Se cargó S-Phos Pd G3 (7,01 mg, 8,98  $\mu$ mol), se desgasificó de nuevo la mezcla y se calentó el conjunto a 80°C. Después de 16 h, se dejó enfriar la mezcla y a continuación se diluyó con agua (10 mL) y NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (10 mL) y se extrajo con DCM (2 x 20 mL). Se secó el material orgánico combinado sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó. La cromatografía en columna (12 g BuchiFlashPure, 30-60% (DCM: NH<sub>3</sub> 3,5 M 9:1 en MeOH) en DCM, con carga en DCM) dio como resultado el producto con pureza moderada. Se purificó el residuo por cromatografía de fase inversa en columna (12 g Reveleris C-18, 75-100% (NH<sub>3</sub> 70 mM en MeOH) en agua, con carga en DMSO) para dar lugar al producto como un sólido vítreo rojo brillante (111 mg, 45%).

LCMS: Encontrado  $m/z$  821,2: (C<sub>4</sub>H<sub>61</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub> (MH<sup>+</sup>) requiere 821,5) @ 6,06 min. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, Cloruro de metileno-d<sub>2</sub>)  $\delta$  10,25 (t,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 7,43 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 7,33 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 4,29 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H), 4,13 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H), 3,75 (q,  $J = 5,9$  Hz, 2H), 3,62 (s, 2H), 3,57 - 3,53 (m, 8H), 2,95 (t,  $J = 6,2$  Hz, 2H), 2,77 - 2,20 (m, 27H), 1,94 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H), 1,89 - 1,80 (m, 6H).

Datos biofísicos y de biología celular

Ensayo de proliferación celular

El ensayo de proliferación celular CellTiter 96® AQueous One Solution (Invitrogen) es un procedimiento colorimétrico para determinar el número de células viables en ensayos de proliferación o citotoxicidad. El reactivo CellTiter 96® AQueous One Solution contiene un nuevo compuesto de tetrazolio [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio, sal interna; MTS] y reactivo de acoplamiento electrónico (fenazina etosulfato; PES). El PES tiene una estabilidad química mejorada, que permite que se combine con MTS para formar una solución estable. El compuesto de tetrazolio MTS (reactivo de Owen) es biorreducido por células en un producto de formazano coloreado que es soluble en medio de cultivo tisular. Los ensayos se realizan añadiendo una pequeña cantidad del reactivo CellTiter 96® AQueous One Solution directamente en pocillos de cultivo, incubando durante 1-4 horas y después registrando la absorbancia a 490 nm con un lector de placas de 96 pocillos. La cantidad de producto de formazano medida por absorbancia a 490 nm es directamente proporcional al número de células vivas en cultivo. El kit se utilizó según las instrucciones del fabricante. Después de una incubación de 96 horas con cada compuesto de ejemplo en células MIA-PACA2, se midió la proliferación celular de cada muestra utilizando el ensayo de proliferación celular MTS Cell Titre 96 Aqueous One Solution (Promega Ltd). El porcentaje de inhibición se calculó con respecto a la media de las muestras de control tratadas con DMSO.

**Tabla 1 – Datos de inhibición del crecimiento celular para panel de línea celular de cáncer pancreático de los Ejemplos 1 a 8; valores de  $CI_{50}$  (nM) tomados de ensayos de MTS de 96 h. Los datos muestran que los Ejemplos 1 a 8 muestran una capacidad variable para inhibir el crecimiento de las células cancerosas. En particular, el compuesto de ejemplo 1 es el más activo del grupo.**

Compuesto de ejemplo	$CI_{50}$ Rel	$CI_{50}$ ABS
1	0,035	0,056
2	0,188	0,292
3	0,282	0,284
4	0,132	0,175
5	0,239	0,180
6	0,099	0,102
7	0,117	0,182
8	0,174	0,277

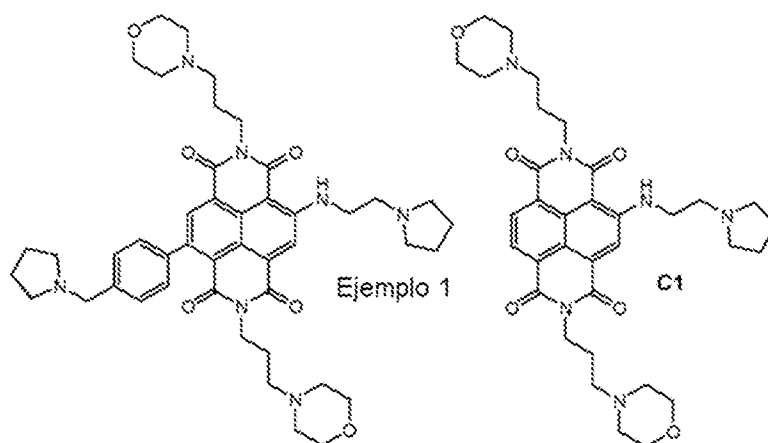
5

#### Estudios de eficacia de xenoinjertos in vivo

Para el estudio se realizaron implantes en ratones de 5-7 semanas de vida que pesaban aproximadamente 25-32 g y que se adquirieron de Charles River. El procedimiento de implantación de células de tumor pancreático implicó la implantación de células MIA-PACA2 ( $1 \times 10^7$  en Matrigel) de forma subcutánea utilizando una aguja de calibre 22 en el flanco trasero de los ratones. Los parámetros evaluados incluyen: tamaño del tumor y peso corporal del animal. El volumen del tumor se midió tres veces por semana y el peso corporal al menos 3 veces por semana. La asignación a los grupos de tratamiento se realizó de forma aleatoria cuando los tumores alcanzaron aproximadamente  $50 \text{ mm}^3$  para los animales en el estudio de eficacia. Se aplicaron dosis i.v. a los animales (ratones sin pelo atímicos hembra portadores de tumores MIA-PACA2) durante 28 días, dos veces por semana, en dosis de 10 y 15 mg/kg para C1, y en dosis de 0,5 y 1,0 mg/kg para el Ejemplo 1, teniendo en cuenta su potencia celular 10 veces superior. Cada grupo estuvo formado por 8 animales. Todos los protocolos utilizados en este estudio fueron aprobados por el Comité de Bienestar Animal y Revisión Ética pertinente, y todos los procedimientos se realizaron según las directrices de la Ley de Animales (Procedimientos Científicos) del Reino Unido de 1986. Los resultados se muestran en las tablas ofrecidas a continuación y en la Figura 1.

10

15



20

**Tabla 2 – Propiedades básicas y datos de unión a GQ *in vitro* del Ejemplo 1 en comparación con el compuesto C1 de la técnica anterior (con referencia al documento WO2017/103587A1)**

	Ejemplo 1	C1
Peso molecular	791,99	632,33
clogP	5,65	3,72
Excitación de fluorescencia y emisión máx., en nm	510, 612 (em) 510 (ex)	510, 590 (em) 510 (ex)
Formulación de base libre, para estudios celulares e <i>in vivo</i> , hasta dosis máxima tolerada	Solución salina con tampón de fosfato (PBS) acidificada	Solución salina con tampón de fosfato (PBS) acidificada
Solubilidad salina y acuosa	No realizado	HCl/sal de formiato: > 5 mg/ml
Estabilidad en solución salina a 0°C	> 1 mes	> 1 mes
t <sub>1/2</sub> estabilidad microsómica de ratón, min	268	>480
% unión a proteína plasmática <i>in vitro</i>	66,1	35
División sangre/plasma <i>in vitro</i>	6,1	10,9
FRET $\Delta T_m$ , °C con GQ	23,1	17,6

5 **Tabla 3 – Datos de inhibición del crecimiento celular para panel de línea celular de cáncer pancreático para el Ejemplo 1 en comparación con el compuesto C1 de la técnica anterior (con referencia al documento WO2017/103587A1); valores de CI<sub>50</sub>(nM) a partir de ensayos SRB de 96 h, como se detalla en nuestras publicaciones y descripciones previas. Los datos muestran que el Ejemplo 1 es un compuesto significativamente más potente en términos de capacidad para inhibir el crecimiento de las células cancerosas, y que sus propiedades farmacológicas son al menos comparables.**

	Ejemplo 1	C1
MIA-PACA2	1,3	13,0
PANC-1	1,4	15,6
CAPAN-1	5,9	26,5
BX-PC3	2,6	15,5
MIA-PACA2 <sup>gemR</sup>	3,8	14,9

10 El gráfico de la Figura 1 muestra los datos de xenoinjerto en el modelo MIA-PACA2, después de 28 días de administración i.v., seguidos por 28 días de medición (realizada por AXIS BioServices). Los datos mostrados son la media  $\pm$  DT de n=8 hasta el día 23 y n=4 hasta el final del estudio. Los datos muestran que el compuesto del Ejemplo 1 inhibió el crecimiento del tumor pancreático y redujo el tamaño del tumor considerablemente más que el compuesto C1 comparativo o que el conocido fármaco anticanceroso, Gemcitabina, incluso con un régimen posológico de una vez por semana. Además, el Ejemplo 1 y los calendarios de dosificación fueron mejor tolerados sin que se mostraran signos de efectos adversos. Los volúmenes de partida de los tumores fueron de 0,4 mm<sup>3</sup>. El Ejemplo 1 estuvo activo en los dos regímenes posológicos examinados, 1 x por semana y 2 x por semana, ambos con una dosis de 1 mg/kg. Los dos mostraron una regresión completa de 5/8 en el volumen del tumor al final del periodo de dosificación. En las cohortes con regresión completa, los tumores habían desaparecido totalmente y no se observó reaparición del crecimiento después de los 28 días posteriores a la dosificación. Una minoría de los tumores en los grupos de C1 y del Ejemplo 1 no mostraron regresión completa, pero mostraron reducciones en el crecimiento del tumor, lo que condujo de forma consistente a volúmenes inferiores a los grupos de control de vehículo.

## Ensayo XTT

5 El ensayo de viabilidad celular CyQUANT XTT (Invitrogen) es un ensayo completo y optimizado que genera una detección colorimétrica consistente de células de mamífero viables. El kit de ensayo consiste en dos reactivos, reactivo XTT (2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolio-5-carboxanilida) y reactivo de acoplamiento electrónico. El reactivo XTT se utiliza para valorar la viabilidad celular según el potencial redox celular, y el reactivo de acoplamiento electrónico mejora el rango dinámico del ensayo. El kit se utilizó según las instrucciones del fabricante.

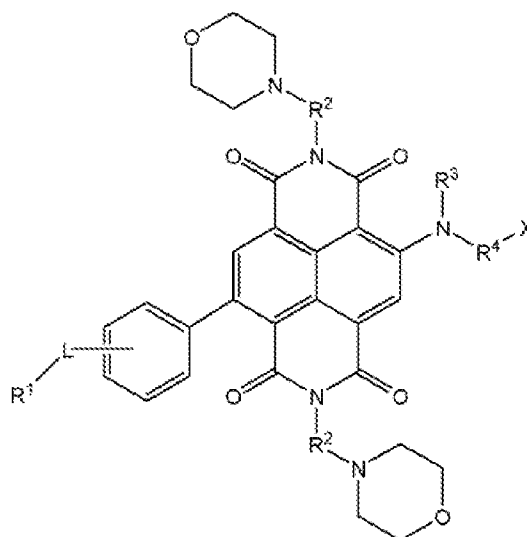
10 **Tabla 4 – Datos de inhibición del crecimiento celular para panel de línea celular de cáncer de próstata para el Ejemplo 1 en comparación con el compuesto C1 de la técnica anterior (con referencia al documento WO2017/103587A1) y con los agentes terapéuticos hormonales contra el cáncer de próstata aprobados clínicamente Abiraterona y Enzalutamida; valores de  $CI_{50}$  (nM) de ensayos XTT de 72 h. Los datos muestran que el compuesto del ejemplo 1 es muy activo en un panel de líneas celulares de cáncer de próstata, notablemente en la línea PC-3 metastásica e independiente de andrógenos, cuando se compara con el C1 y más incluso cuando se compara con los dos fármacos utilizados clínicamente.**

	Ejemplo 1	C1	Abiraterona	Enzalutamida
PC-3	3	94	4.820	5.350
DU145	32	113	N/A	N/A
LNCaP	247	394	3.860	4.820
VCaP	68	135	N/A	N/A
22RV1	90	90	N/A	N/A

15 En resumen, los compuestos de la invención muestran actividad antitumoral en una serie de líneas de células cancerosas.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I:



Fórmula I

- 5 L está en la posición *meta* o *para* del anillo de fenilo;
- L es  $(\text{CH}_2)_{1-2}$  y  $\text{R}^1$  se selecciona del grupo que consiste en heterocicloalquilo de 5-7 miembros que contiene nitrógeno y  $\text{NR}_9\text{R}_{10}$ , o L es  $(\text{CH}_2)_{1-5}\text{NH}$  y  $\text{R}^1$  es un cicloalquilo  $\text{C}_{5-7}$ ; en donde el heterocicloalquilo de 5-7 miembros que contiene nitrógeno está sustituido opcionalmente por un grupo alquilo  $\text{C}_{1-6}$ ;
- $\text{R}^2$  es un alcanodiilo  $\text{C}_{2-4}$  de cadena lineal;
- 10  $\text{R}^3$  es H;
- $\text{R}^4$  es un alcanodiilo  $\text{C}_{2-4}$  de cadena lineal;
- $\text{R}^9$  y  $\text{R}^{10}$  son independientemente alquilo  $\text{C}_{1-6}$ ;
- X es  $\text{NR}^6$ , en donde los grupos  $\text{R}^6$  junto con el átomo N al que están unidos forman pirrolidin-1-ilo; y sales, hidratos y solvatos de los mismos.
- 15 2. El compuesto según la reivindicación 1, en donde L es  $(\text{CH}_2)_{1-2}$  y  $\text{R}^1$  es un heterocicloalquilo de 5-7 miembros que contiene nitrógeno.
3. El compuesto según la reivindicación 1 o 2, en donde el heterocicloalquilo de 5-7 miembros que contiene nitrógeno se selecciona del grupo que consiste en pirrolidinilo, imidazolidinilo, pirazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, azepanilo, diazepanilo, preferiblemente pirrolidinilo.
- 20 4. El compuesto según la reivindicación 1 en donde L es  $(\text{CH}_2)_{1-5}\text{NH}$  y  $\text{R}^1$  es un cicloalquilo  $\text{C}_{5-7}$ .
5. El compuesto según cualquier reivindicación anterior en donde L está en la posición *para*.
6. El compuesto según la reivindicación 1 en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:
- 2,7-bis(3-morfolinopropil)-4-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)-9-(4-(pirrolidin-1-ilmetil)fenil)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona;
- 25 4-(4-(morfolinometil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona;
- 2,7-bis(3-morfolinopropil)-4-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)-9-(3-(pirrolidin-1-ilmetil)fenil)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona;
- 30 2,7-bis(3-morfolinopropil)-4-(4-(piperidin-1-ilmetil)fenil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona; 4-(4-((dietilamino)metil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[Imn][3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona; 4-(4-

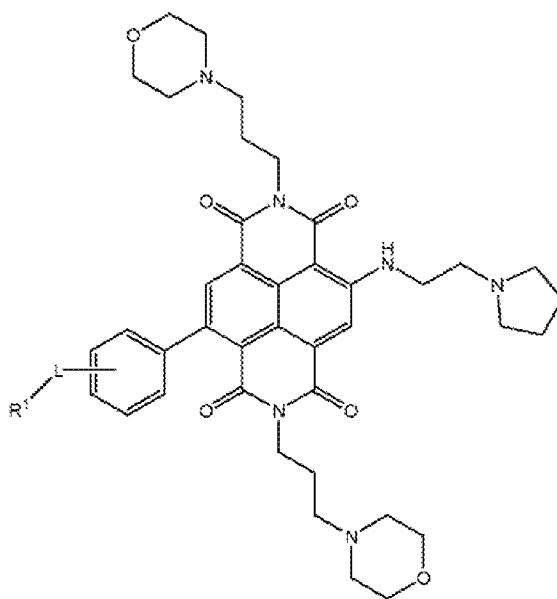
((ciclopentilamino)metil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[1,2,3,4-cd]imidazo[1,3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona;

5 4-(4-(azepan-1-ilmetil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[1,2,3,4-cd]imidazo[1,3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona; 4-(4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)fenil)-2,7-bis(3-morfolinopropil)-9-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)benzo[1,2,3,4-cd]imidazo[1,3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona; y

sales, hidratos y solvatos de los mismos.

7. El compuesto según la reivindicación 1 en donde el compuesto es 2,7-bis(3-morfolinopropil)-4-((2-(pirrolidin-1-il)etil)amino)-9-(4-(pirrolidin-1-ilmetil)fenil)benzo[1,2,3,4-cd]imidazo[1,3,8]fenantrolina-1,3,6,8(2H,7H)-tetraona.

10 8. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la Fórmula I tiene la siguiente estructura de Fórmula II:



Fórmula II

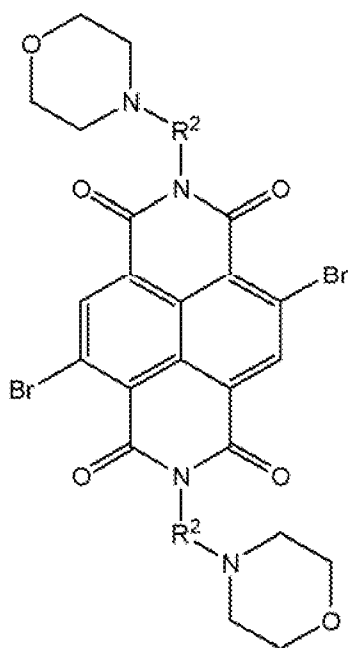
en donde L y R<sup>1</sup> son como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

15 9. Una composición que comprende el compuesto según cualquier reivindicación anterior en combinación con un diluyente, en donde la composición es una composición farmacéutica y el diluyente es un diluyente farmacéuticamente aceptable.

10. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o la composición según la reivindicación 9, para su uso en un procedimiento de tratamiento de un sujeto para tratar el cáncer o para inhibir el crecimiento de un tumor sólido, o para reducir el tamaño de un tumor sólido.

20 11. Un procedimiento de síntesis de un compuesto de naftalendiimida sustituida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, comprendiendo las etapas de:

i) reacción de un compuesto de Fórmula III en una reacción de sustitución nucleófila con un compuesto de Fórmula IV:



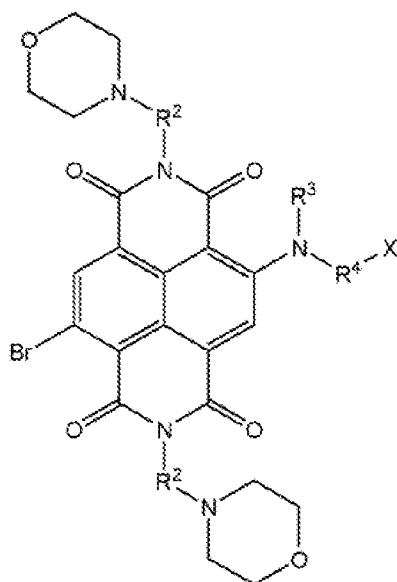
Fórmula III



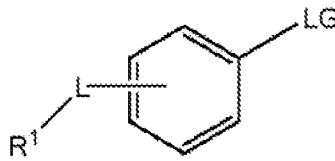
Fórmula IV

5 en donde al menos un Br en el compuesto de Fórmula III se sustituye por el nitrógeno de amina nucleófila en el compuesto de Fórmula IV;

ii) reacción de un compuesto de Fórmula V, obtenible a partir del producto resultante de la reacción de sustitución nucleófila de Fórmula III y Fórmula IV, con un compuesto de Fórmula VI:



Fórmula V



Fórmula VI

en donde se forma un enlace arilo-arilo entre el fenilo de Fórmula VI y el fenilo con el Br unido al compuesto de Fórmula V, en donde el GL y el Br son grupos lábiles, para formar el compuesto de Fórmula I; y preferiblemente

- 5 iii) aislamiento del compuesto de Fórmula I a partir del producto resultante de la reacción de Fórmula V y Fórmula VI;

en donde L, X y R<sup>1</sup> a R<sup>4</sup> son como se define para la Fórmula I en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

Figura 1

