(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 372 854**

(21) Número de solicitud: 201031023

(51) Int. Cl.:

C07D 487/22 (2006.01)

A61K 31/409 (2006.01)

(12) SOLICITUD DE PATENTE A1

(22) Fecha de presentación: **02.07.2010**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **27.01.2012**

(43) Fecha de publicación del folleto de la solicitud: **27.01.2012**

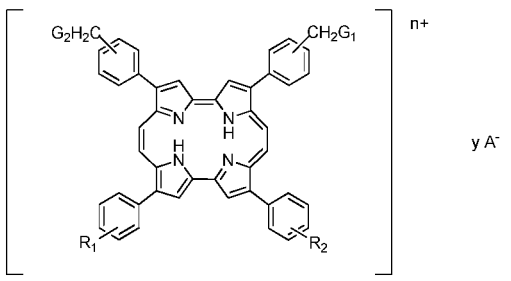
(71) Solicitante/s:
Institut Quimic de Sarria CETS, Fundacio Privada
Vía Augusta, 390
08017 Barcelona, ES

(72) Inventor/es: **Nonell Marrugat, Santiago;**
Sánchez García, David;
Borrell Bilbao, José Ignacio;
Agut Bonsfills, Monserrat y
Ragàs Almalrich, Xavier

(74) Agente: **Carpintero López, Mario**

(54) Título: **Derivados catiónicos de 2,7,12,17-arilporficenos, procedimiento de preparación y uso como fotosensibilizadores en terapia fotodinámica antimicrobiana.**

(57) Resumen:
Derivados catiónicos de 2,7,12,17-arilporficenos, procedimiento de preparación y uso como fotosensibilizadores en terapia fotodinámica antimicrobiana.
La presente invención describe nuevos compuestos 2,7,12,17-arilporficenos de fórmula general 1 y complejos metálicos derivados de éstos. Asimismo se describe un procedimiento para su obtención. La invención describe asimismo el empleo de los nuevos 2,7,12,17-arilporficenos como fotosensibilizadores en Terapia Fotodinámica Antimicrobiana para el tratamiento y/o prevención de enfermedades o condiciones causadas por microorganismos patógenos.



1 n = 1 a 16

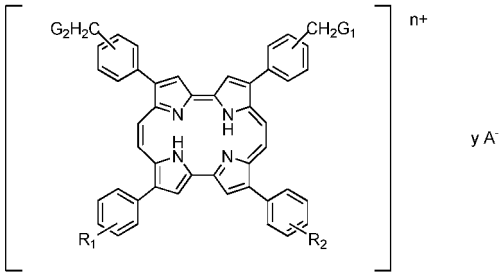
ES 2 372 854 A1

DESCRIPCIÓN

Derivados catiónicos de 2,7,12,17-arilporficenos, procedimiento de preparación y uso como fotosensibilizadores en terapia fotodinámica antimicrobiana.

Campo de la técnica

La presente invención se refiere a 2,7,12,17-arilporficenos de fórmula general 1, y a un procedimiento para su obtención. La invención se refiere asimismo al empleo de los 2,7,12,17-arilporficenos de fórmula general 1, como Fotosensibilizadores en Terapia Fotodinámica Antimicrobiana (TFA).



1 n = 1 a 16

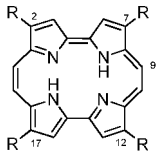
Estado de la técnica

Los antibióticos son fármacos que eliminan selectivamente bacterias patógenas dañinas para el organismo causantes de diversas infecciones que pueden llegar a ser en algunos casos letales para el hombre. Desde principios del siglo XX se han desarrollado antibióticos cada vez más eficaces que han contribuido a un control de las enfermedades infecciosas más comunes. No obstante, ciertas cepas de bacterias han ido desarrollando mecanismos de adaptación que las han hecho resistentes a la acción de los tratamientos quimioterapéuticos clásicos (A. J. Alanis, *Arch. Med. Res*. **2005**, *36*, 697-705).

Por ello, se han propuesto tratamientos alternativos a los que, por su mecanismo de acción, las bacterias no puedan o les sea difícil desarrollar resistencia como la Terapia Fotodinámica (M. R. Hamblin, T. Hasan. *Photochem. Photobiol. Sci*. **2004**, *3*, 436-450). En esta modalidad terapéutica, la combinación de 1) un fármaco fotosensibilizador que se acumula selectivamente en los microorganismos en presencia de las células del organismo, 2) luz y 3) oxígeno genera especies oxidantes tóxicas para el microorganismo que finalmente lo llevan a la muerte. En principio, es difícil que los microorganismos desarrollen resistencia a estas especies oxidantes dado su gran poder oxidante, su carácter inespefícico y su corto tiempo de vida.

Una estrategia similar es aplicable a los hongos que son responsables de enfermedades como la candidiasis (*Candida albicans*) (J. C. Junqueira, J. S. Martins, R. L. Faria, C. E. D. Colombo, A. O. C. Jorge, *Lasers Med. Sci*. **2009**, *24*, 877-884).

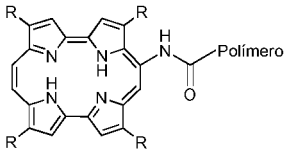
Estructuralmente, los Fármacos Fotosensibilizadores que han mostrado ser eficaces tanto frente a bacterias gram positivas como gram negativas son compuestos que contienen cationes amonio sustituidos (-[N^+RR'R"]). El número y la localización de estas cargas son clave para la selectividad y la capacidad de internalización del fármaco lo cual finalmente determina su actividad antimicrobiana (M. Merchat, G. Bertolini, P. Giacomini, A. Villanueva, G. Jori. *J. Photochem. Photobiol. B*. **1996**, *32*, 153-157). En la actualidad, diversas familias de Fármacos Fotosensibilizadores se han propuesto para su aplicación en la Terapia Fotodinámica Antimicrobiana, entre ellas cabe destacar las fenotiazinas, los fulerenos, las porfirinas, las clorinas, las ftalocianinas y los porficenos.



2

Los porficenos (2, R=H) son macrociclos (E. Vogel, M. Köcher, H. Schmickler, J. Lex, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. **1986**, *25*, 257-259), isómeros estructurales de la porfirina, cuyas propiedades son muy prometedoras en el campo de la Terapia Fotodinámica del Cáncer (PDT) (E. Vogel, C. Richert, T. Benninghaus, M. Müller, A. D. Cross,

Cytopharm, Inc., U.S. 5,409900) así como en la Terapia Fotodinámica Antimicrobiana (G. Jori, Cytopharm, Inc., U.S. 6,107326).



3

Los Fotosensibilizadores descritos para Terapia Fotodinámica Antimicrobiana basados en porficenos son conjugados de tipo porficeno-polímero. Este polímero es de tipo poliamínico como, por ejemplo, la poli-glicina (L. Polo, A. Segalla, G. Bertoloni, G. Jori, K. Schaffner, E. Reddi, *J. Photochem. Photobiol., B* 2000, *59*, 152-158). Estos conjugados se construyen mediante la formación de un único puente amida, éter o éster entre la posición 9 del macrociclo y el polímero (3). Hasta la fecha las posiciones periféricas unidas a los pirroles, notadas como 2, 7, 12, 17, no se han utilizado para la incorporación de aminas (-[N^+RR'R"]) en el macrociclo. La posibilidad de la incorporación, a voluntad, de aminas cuaternizadas (sales de amonio) en estas posiciones en porfirinas (T. Yamashita, T. Uno, Y. Ishikawa, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 2423-2430) ha abierto la puerta a la obtención de derivados con un número de grupos amino cuaternarios predeterminado y con una geometría fijada en sistemas similares a los porficenos que permitirán la modulación de la actividad Antimicrobiana del Fotosensibilizador.

A diferencia de los porficenos previamente descritos para Terapia Fotodinámica Antimicrobiana (cfr. estructura 3), los compuestos de la presente invención presentan en su estructura grupos arílicos en las posiciones 2, 7, 12, 17 lo cual proporciona un desplazamiento del máximo de absorción del fotosensibilizador hacia la zona roja del espectro de UV-vis lo cual es beneficioso para su aplicación práctica en clínica dada la mayor penetración de la luz roja en la piel.

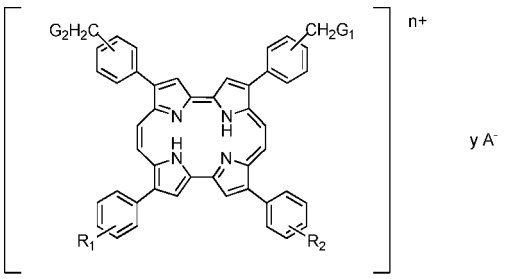
A pesar del número creciente de compuestos útiles para Terapia Fotodinámica Antimicrobiana propuestos hasta la fecha, existe en el estado de la técnica la necesidad de proporcionar nuevos porficenos catiónicos alternativos con un número de cargas determinado para su uso en Terapia Fotodinámica Antimicrobiana.

Descripción de las figuras

La figura 1 presenta el efecto fotodinámico producido por el tribromuro 2,7,12-tris(*α*-piridinio-*p*-tolil)-17-(*p*-(metoximetil)fenil) porficeno sobre una suspensión de 10^7 células/mL de *Candida krusei*.

Descripción de la invención

La presente invención se relaciona en un aspecto con compuestos que presentan la siguiente fórmula general 1,



1 n = 1 a 16

donde

G_1 representa:

(i) $-N^+R_3R_4R_5$ donde R_3, R_4 y R_5 cada uno independientemente se selecciona del grupo formado por alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, aralquilo; o R_3 y R_4 tomados conjuntamente y unidos al N forman un heterociclo cicloalifático y R_5 representa un alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo o araquilo;

o

(ii) $-N^+R_3R_4$ donde R_3 y R_4 tomados conjuntamente y unidos al N forman un heterociclo aromático;

G_2 representa $-OR_6$, donde R_6 es alquilo o tiene el mismo significado que G_1

R_1 representa hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, aralquilo, ciano, halógeno, OH, o $-CH_2G_1$ donde G_1 tiene el mismo significado definido arriba;

R_2 representa:

a) hidrógeno cuando R_1 representa hidrógeno; o

b) un sustituyente seleccionado entre alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, aralquilo, ciano, halógeno, OH, teniendo R_2 y R_1 el mismo significado; o

c) $-CH_2OR_6$ cuando G_2 representa $-OR_6$, y R_1 representa $-CH_2OR_6$, donde R_6 es alquilo; o

d) $-CH_2G_1$ cuando G_2 y G_1 tienen el mismo significado y R_1 representa $-CH_2G_1$, teniendo G_1 el mismo significado definido arriba

y donde

A^- representa un anión con una o dos cargas negativas; e

y representa el número de contraaniones entre 1 y 16 necesario para que el compuesto sea neutro.

Grupos alquilo adecuados según la presente invención son grupos lineales o ramificados, con 1 a 6 átomos de C siempre que no se diga lo contrario. Ejemplos incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*-butilo, etc.

Grupos cicloalquilo adecuados según la presente invención incluyen grupos cicloalquilo de entre 3 a 7 átomos en el anillo, como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo. El grupo cicloalquilo de la presente invención pueden estar además opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por alquilo; alcoxilo, amino, sal de amonio de fórmula $N^+R_3R_4R_5$ donde R_3, R_4, R_5 tienen el mismo significado mencionado anteriormente, éster y ácido carboxílico

Grupos cicloalquilalquilo adecuados según la presente invención incluyen los grupos cicloalquilo definidos arriba unidos a un grupo alquileno C_1-C_6. En el contexto de la presente invención un grupo alquileno C_1-C_6, se refiere a un radical hidrocarbonado divalente saturado.

Grupo arilo adecuado según la presente invención incluye grupos arilo carbocíclicos de 6 a 14 átomos de carbono como por ejemplo fenilo, naftilo, indenilo, fluorenilo, etc., que pueden estar además opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por alquilo, alcoxilo, amino, sal de amonio de fórmula $N^+R_3R_4R_5$ donde R_3, R_4, R_5 tienen el mismo significado mencionado anteriormente éster y ácido carboxílico.

Grupo aralquilo adecuado según la presente invención incluye los grupos arilos definidos arriba unidos a un grupo alquileno C_1-C_6. Ejemplos incluyen bencilo, feniletilo, fenilpropilo, fenilbutilo, etc. La cadena alquílica del grupo aralquilo puede estar susituida con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por alquilo, alcoxilo, amino, sal de amonio de fórmula $N^+R_3R_4R_5$ donde R_3, R_4, R_5 tienen el mismo significado mencionado anteriormente, éster y ácido carboxílico.

Un heterociclo alifático según la presente invención se refiere a un anillo heterocíclico alifático saturado o insaturado de 3-7 miembros que opcionalmente contiene adicionalmente O, NR_7 o S, como miembro del anillo donde R_7 representa un grupo alquilo. Ejemplos incluyen: aziridina, pirrolina, pirrolidina, pirazolina, piridazolidina, imidazolina, imidazolidina, piperidina, piperazina, morfolina, etc. Según la presente invención el heterociclo alifático puede estar además opcionalmente susitutido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por alquilo, alcoxilo, amino, sal de amonio de fórmula $N^+R_3R_4R_5$ donde R_3, R_4, R_5 tienen el mismo significado mencionado anteriormente, éster y ácido carboxílico.

Un heterociclo aromático según la presente invención se refiere a un anillo heterocíclico aromático de 5 a 6 miembros que opcionalmente contiene adicionalmente O, N o S como miembro del anillo. Ejemplos incluyen: pirrol, isotiazol, isoxazol, tiazol, pirazol, imidazol, piridina, pirimidina, quinoleína, isoquinoleína, etc. Según la presente invención el heterociclo aromático puede estar además opcionalmente susitutido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo formado por alquilo, alcoxilo, amino, sal de amonio de fórmula $N^+R_3R_4R_5$ donde R_3, R_4, R_5 tienen el mismo significado mencionado anteriormente, éster y ácido carboxílico.

Según la presente invención un alcoxilo es un grupo $-OR_6$, donde R_6 representa un grupo alquilo. Según la presente invención un grupo amino es un grupo $-NR_8R_9$ donde R_8 y R_9 iguales o diferentes entre sí pueden ser H o alquilo. Según la presente invención un éster es un grupo $-COOR_6$, donde R_6 representa un grupo alquilo. Según la presente invención un ácido carboxílico es un grupo -COOH.

El anión A^- puede ser en principio cualquier anión con una o dos cargas negativas en función del número de grupos de amonio cuaternario presentes. Preferiblemente el anión es un anión farmacéuticamente aceptable tal como por ejemplo cloruro, clorato, perclorato, sulfato, fosfato, bifosfato, bromato, bromuro, ioduro, nitrato, y aniones orgánicos tales como acetato, benzoato, succinato, bicarbonato, malato, maleato, fumarato, tartrato, citrato, lactato, metanosulfonato, *p*-tolucnsulfonato, salicilato, estearato etc.

Los compuestos de la invención se caracterizan por estar simétricamente sustituidos en el sentido de que R_1 y R_2 tienen el mismo significado. En algunos compuestos de la invención además de que R_1 y R_2 tengan el mismo significado, G_1 y G_2 también tienen el mismo significado entre ellos y opcionalmente el mismo a su vez que R_1 y R_2.

En una realización particular del compuesto de la invención:

G_2 tiene el mismo significado que G_1;

R_1 y R_2, iguales entre sí, representan hidrógeno, $-CH_2-G_1$ o un grupo $-CH_2-OR_6$ donde R_6 es un grupo alquilo; y

G_1 representa un heterociclo aromático (de fórmula $-N^+R_3R_4$), opcionalmente sustituido con un grupo alquilo.

En otra realización particular en el compuesto de la invención los sustituyentes R_1, R_2, $-CH_2G_1$, $-CH_2G_2$ están respectivamente sobre la posición, *orto*, *meta* o *para*, preferiblemente *para*, en el radical fenileno en las posiciones 2,7,12,17-del porficeno.

En otra realización particular el número n^+ está comprendido entre 2 y 6.

En otra realización particular del compuesto de la invención

G_2 tiene el mismo significado que G_1;

R_1 y R_2, iguales entre sí, representan hidrógeno, $-CH_2-G_1$ o un grupo $-CH_2-OR_6$ donde R_6 es un grupo alquilo; y

G_1 representa un heterociclo aromático (de fórmula $-N^+R_3R_4$), opcionalmente sustituido con un grupo alquilo;

los sustituyentes R_1, R_2, $-CH_2G_1$, $-CH_2G_2$ están respectivamente sobre la posición *para* en el radical fenileno en las posiciones 2,7,12,17-del porficeno y el número n^+ está comprendido entre 2 y 6.

En una realización preferida el compuesto de fórmula 1 se selecciona del grupo formado por:

[1] Tetrabromuro de 2,7,12,17-tetrakis (α-piridinio-*p*-tolil) porficeno

[2] Tribromuro de 2,7,12-tris(α-piridinio-*p*-tolil)-17-(*p*-(metoximetil)fenil) porficeno

[3] Dibromuro de 2,7-bis (α-piridinio-*p*-tolil)-12,17-difenil porficeno.

En otro aspecto la invención se refiere a un procedimiento de obtención de los compuestos porficenos de la invención. Dicho procedimiento, en adelante procedimiento de la invención, comprende las siguientes dos etapas:

(i) desprotección del alcohol bencílico y tratamiento con un agente activante; y

(ii) tratamiento del compuesto obtenido en (i) con una amina terciaria de fórmula general $NR_3R_4R_5$,

donde R_3, R_4 y R_5 tienen el mismo significado definido para el compuesto de la invención de fórmula general 1.

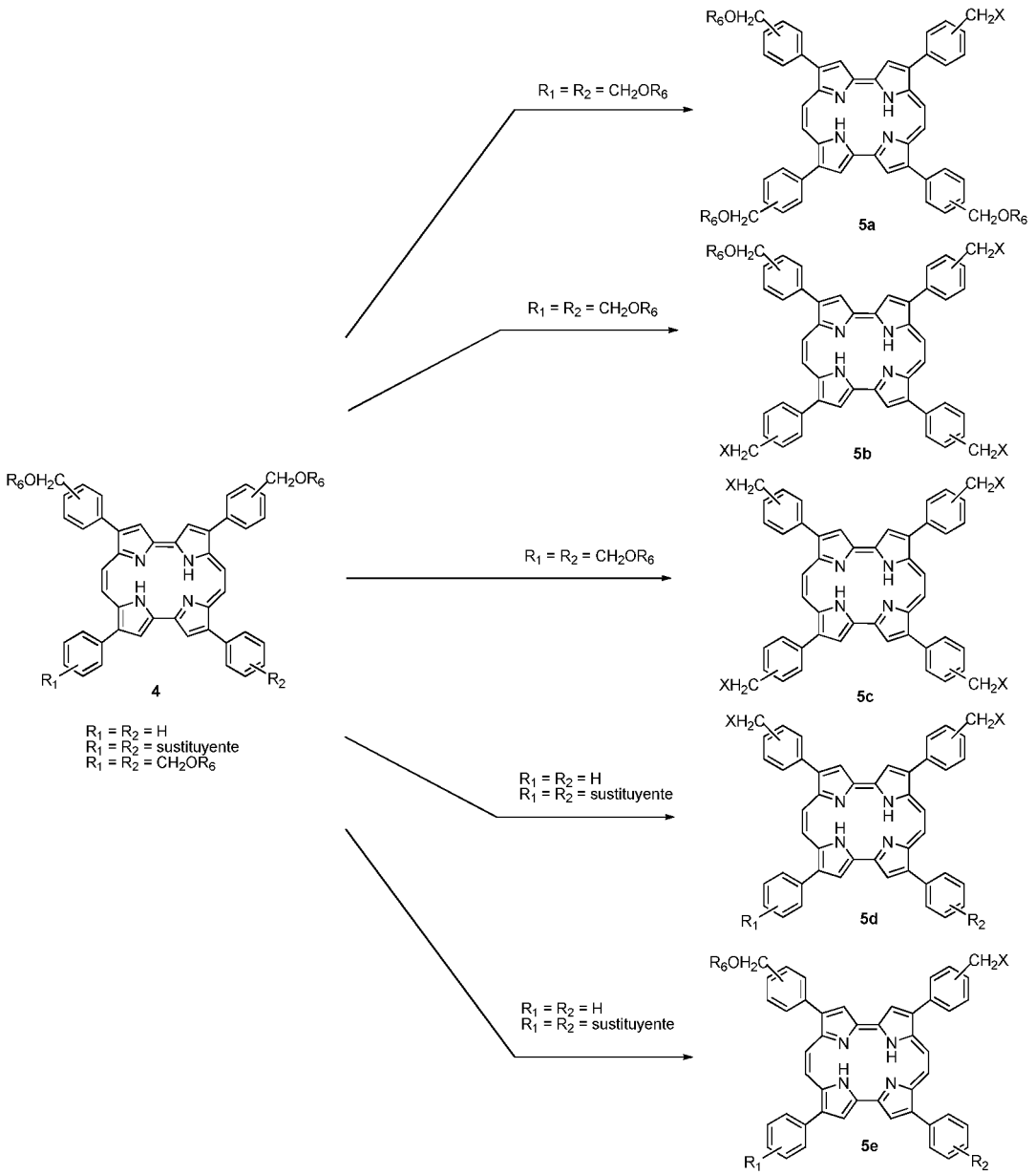
La primera etapa (i) comprende, de forma simultánea o consecutiva, a) el tratamiento de un compuesto de partida de fórmula general 4 con un reactivo de desprotección del alcohol de las posiciones bencílicas y b) el tratamiento con un agente activante que introduce un grupo saliente X en reacciones de sustitución nucleófila por ejemplo un halógeno como el Br. El compuesto resultante de la etapa (i) es un compuesto porficeno de fórmula general 5.

Los reactivos de desprotección de alcoholes bencílicos son ácidos de Brönsted o Lewis convencionales y por tanto bien conocidos para un experto en la materia como por ejemplo ácido trifluoroacético o BBr_3. En el contexto de la presente invención un agente activante es un reactivo capaz de introducir en la posición bencílica un grupo saliente X. Ejemplos de agentes activantes son entre otros PBr_3, $SOCl_2$, $(PhO)_3PCH_3I$ y haluros de tosilo.

Los grupos salientes X según la presente invención son buenos grupos salientes convencionales y bien conocidos para un experto en la materia que se utilizan típicamente en reacciones de sustitución nucleófila (March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure. M. Smith, J. March. Wiley 6th edition. 2007. ISBN: 0471720917). Ejemplos ilustrativos son halógenos, preferiblemente Br y I y tosilatos, entre otros. Estos grupos son necesarios para la introducción de las aminas terciarias en la etapa siguiente.

Esta etapa (i) de desprotección-activación se representa en el Esquema 1, donde R_1, R_2 y R_6 tienen los significados anteriormente definidos.

Esquema 1

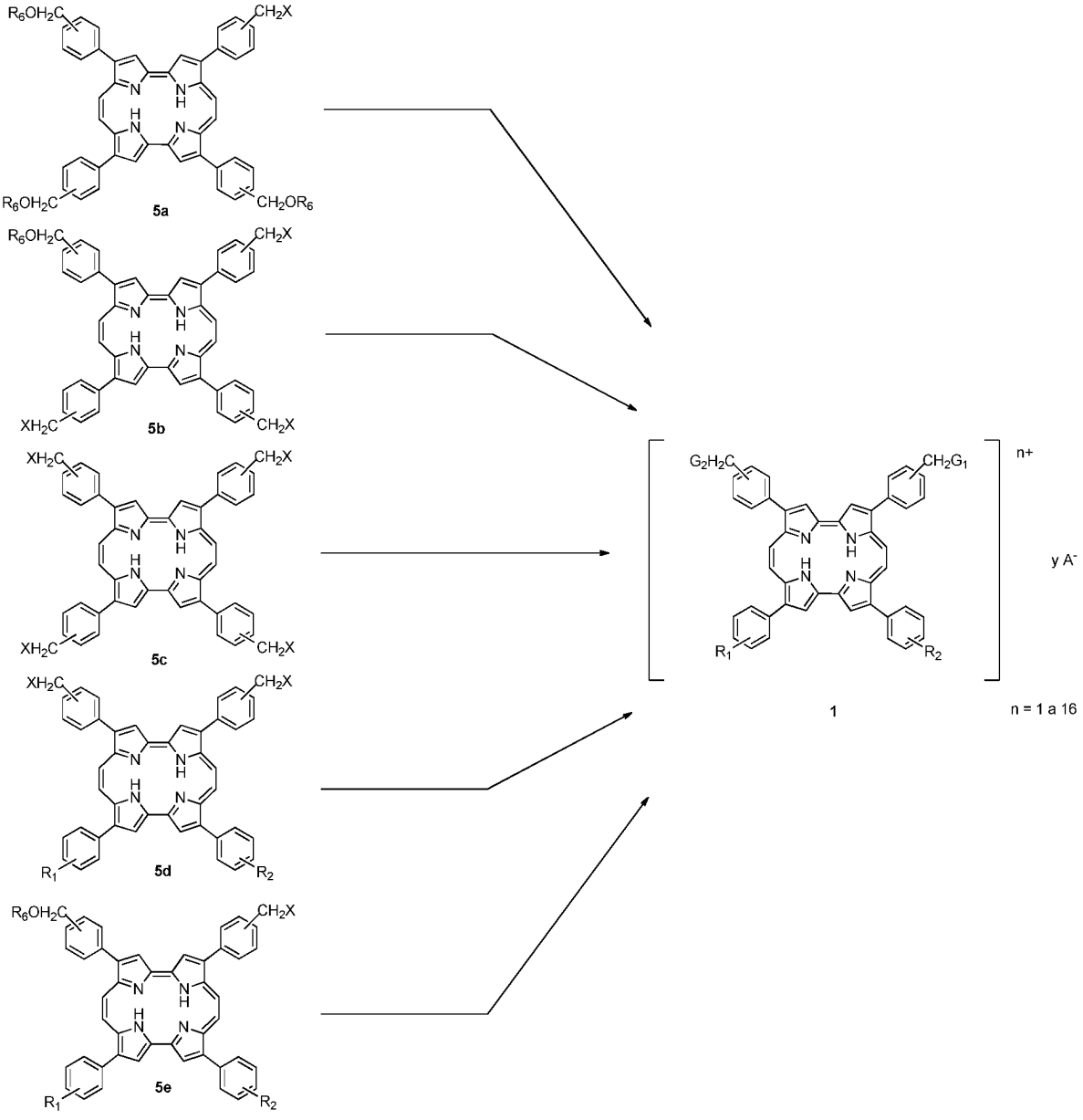


Los compuestos de partida de fórmula general 4 se obtienen por métodos convencionales descritos en la literatura (D. Sánchez-García, J. I. Borrell, S. Nonell, *Org Lett*, **2009**, *11*, 77-79). Estos compuestos pueden ser: simétricamente sustituidos ($R_1 = R_2 = -CH_2OR_6$) o asimétricamante sustituidos ($R_1 = R_2$ = hidrógeno y $R_1 = R_2$ = un sustituyente, que se selecciona de entre alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, aralquilo, ciano, halógeno, OH y -OR donde R representa un grupo alquilo).

Los compuestos 5a, 5b y 5c se obtienen después de la etapa (i) cuando se parte de un compuesto de fórmula general 4 simétricamente sustituido donde $R_1 = R_2 = -CH_2OR_6$. Esta etapa (i) conduce en general a una mezcla más o menos enriquecida en cada uno de los compuestos 5a-c lo cual depende, entre otros factores, del tiempo de reacción del tratamiento con el reactivo de desprotección. En general, los compuestos 5a-c se pueden aislar y purificar por procedimientos convencionales por ejemplo, métodos cromatográficos para obtenerlos a escala preparativa.

Por otra parte cuando el producto de partida es un compuesto asimétrico de fórmula general 4 cuyos sustituyentes R_1 y R_2 son insensibles al tratamiento de la etapa (i), es decir, cuando R_1 y R_2 iguales entre sí, son hidrógeno o un sustituyente como se ha definido arriba ($R_1 = R_2$ = hidrógeno y $R_1 = R_2$ = un sustituyente, que se selecciona de entre alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, aralquilo, ciano, halógeno, OH y -OR donde R representa un grupo alquilo), se obtiene en general una mezcla de compuestos 5d y 5e más o menos enriquecida en cada uno de ellos. A continuación, los compuestos 5d y 5e se separan por métodos convencionales de aislamiento y purificación tales como los métodos cromatográficos preparativos.

Esquema 2



La segunda etapa (ii) del procedimiento de la invención comprende tratar un porficeno de fórmula general 5 con una amina terciaria. El tratamiento puede hacerse directamente utilizando la propia amina terciaria como disolvente,

por ejemplo la piridina, o con la amina terciaria en presencia de un disolvente inerte para rendir la sal de amonio cuaternaria correspondiente (Esquema 2).

La amina terciaria utilizada presenta la fórmula general $N^+R_3R_4R_5$ donde los sutituyentes tienen el significado anteriormente definido.

En una realización particular los tratamientos a) y b) de la etapa (i) se llevan a cabo simultáneamente con ácido bromhídrico en disolución de ácido acético en un disolvente inerte. El disolvente inerte es un disolvente que no interfiere en la reacción y puede seleccionarse de un amplio grupo de disolventes orgánicos convencionales. En una realización particular de la etapa (i) se utiliza un disolvente de tipo clorado, preferentemente diclorometano. El procedimiento se lleva a cabo preferiblemente a temperatura ambiente bajo agitación.

Si los compuestos de fórmula general 1 se obtienen en forma de una mezcla de estereoisómeros, particularmente enantiómeros o diastereómeros, dichas mezclas puede separarse mediante procedimientos convencionales que los expertos en la técnica conocen, por ejemplo procedimientos cromatográficos o cristalización con reactivos quirales.

Los porficenos, en general, pueden formar fácilmente complejos con metales divalentes, tales como Zn, Mg, Pd, Ni, Pt, Cu o Sn, por tratamiento con las sales metálicas correspondientes por ejemplo los acetatos o cloruros en un disolvente como ácido acético glacial o dimetilformamida, generalmente en caliente. En este sentido la invención se relaciona asimismo con un complejo formado por reacción entre un compuesto de la invención y una sal de un metal divalente seleccionado del grupo formado por Zn, Mg, Pd, Ni, Pt, Cu y Sn, preferentemente con Pd.

Los compuestos de fórmula general 1 de la presente invención pueden ser convenientemente formulados como formulaciones terapéuticas para la administración a pacientes que tienen la necesidad de una terapia fotodinámica para el tratamiento de enfermedades o condiciones causadas por microorganismos patógenos.

Por tanto en un aspecto la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula general 1 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de estas composiciones incluyen composiciones que comprenden liposomas o microvesículas, los cuales incorporan el compuesto y pueden presentarse como dispersiones, soluciones, lociones, geles, entre otras, para su aplicación tópica. Todas estas composiciones farmacéuticas pueden ser preparadas por el experto en la materia mediante procedimientos de galénica bien conocidos.

En otro aspecto la invención se relaciona con un compuesto de fórmula general 1 para su uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedades o condiciones causadas por microorganismos patógenos mediante Terapia Fotodinámica (FTA). Dichas enfermedades causadas por microorganismos patógenos son entre otras, las causadas por bacterias patógenas (gram positivas o gram negativas), hongos y protozoos por ejemplo: acné, infecciones dentales como periodontitis o caries, candidiasis o leishmaniasis entre otras.

Después de la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más porficenos de la presente invención en una composición farmacéutica o preparación, a un paciente en necesidad de tratamiento que presenta una condición o enfermedad tratable, el área del cuerpo del paciente afectada se expone a una cantidad terapéuticamente eficaz de luz que presente la longitud de onda adecuada para ser absorbida por el porficeno correspondiente. El establecimiento de la misma es algo obvio para un experto en la materia. En general la luz presenta una longitud de onda comprendida entre 400-800 nm. La irradiación del porficeno genera especies reactivas de oxígeno, entre ellas oxígeno singlete, que se consideran las especies activas responsables de la destrucción del microorganismo patógeno.

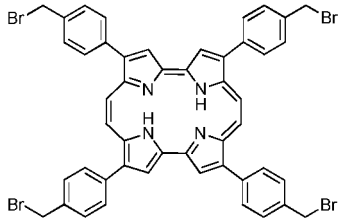
La terapia fotodinámica utilizando un compuesto de la invención presenta la ventaja de que resulta selectiva y mínimamente nociva para los tejidos sanos.

En otro aspecto la invención se relaciona con un método para destruir o prevenir poblaciones de un microorganismo patógeno que comprende aplicar un compuesto de la presente invención sobre un objeto e irradiar el mismo de forma secuencial o simultánea con una luz en el rango de 400-800 nm. En una realización particular el objeto a esterilizar o desinfectar se puede sumergir en una composición líquida que comprende el compuesto de la invención e irradiar con una fuente de luz adecuada como una lámpara de sodio o halógena o un tubo fluorescente. La inmersión y la aplicación de radicación se llevan a cabo durante un tiempo que puede ser variable hasta conseguir la esterilización; el ajuste de los parámetros puede ser fácilmente determinado en cada caso por el experto en la materia. Dicho objeto puede ser cualquiera en principio, por ejemplo una prótesis o un instrumento quirúrgico.

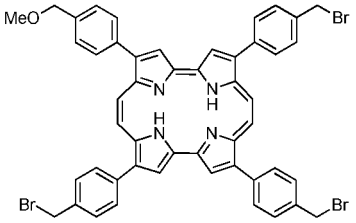
A continuación, para una mejor comprensión de la presente invención, sin que deban ser interpretados como limitaciones del alcance de la misma, se exponen los siguientes ejemplos.

Ejemplos

Obtención del 2,7,12,17-tetrakis(p-(bromometil)fenil) porficeno (5c) y 2,7,12-tris(p-(bromometil)fenil)-17-(p-(metoximetil)fenil)porficeno (5b, $R_6 = CH_3$)



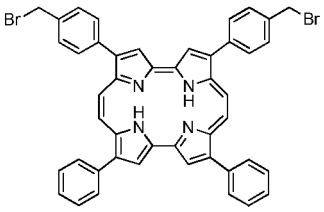
5c



5b (R_6=CH_3)

204 mg (0,26 mmol) de 2,7,12,17-tetrakis(*p*-(metoximetil)fenil) porficeno (preparado según se describe en: D. Sánchez-García, J. I. Borrell, S. Nonell, Org Lett, **2009**, *11*, 77-79) se disuelven en 200 mL de diclorometano anhidro. A continuación, se adicionan gota a gota 43 mL (425 mmol) de solución de bromuro de hidrógeno (33 wt. % en ácido acético) manteniendo la temperatura a 4ºC mediante un baño agua-hielo. Al cabo de 3 horas se añaden a la mezcla de reacción 200 mL de agua a 4ºC. Se separan las fases en un embudo de decantación y la fase orgánica se lava con disolución saturada de $NaHCO_3$. El extracto orgánico se seca sobre $MgSO_4$ y el disolvente se elimina a presión reducida. Los compuestos 5c y 5b se aíslan por cromatografía de columna de gel de sílice utilizando como eluyente una mezcla de ciclohexano/diclorometano (1:1 v/v). Compuesto 5c: 20 mg, (Rto = 8%). ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 9.91 (s, 4H), 9.69 (s, 4H), 9.70 (s, 4H), 8.32 (d, *J*= 8.0 Hz, 8H), 7.85 (d, *J*= 8.0 Hz, 8H), 7.80 (d, 2H), 4.79 (s, 8H), 3.60 (s, 2H). Compuesto 5b: 25 mg, (Rto = 10%), ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 9.93 (s, 1H), 9.92 (s, 3H), 9.70 (s, 4H), 8.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 8H), 7.85 (d, *J* = 8.0 Hz, 8H), 7.80 (d, 2H), 4.79 (s, 6H), 4.75 (s, 2H); 3.58 (s, 3H). ^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$3): δ = 137.6, 136.8, 132.1, 132.0, 131.6, 131.5, 129.9, 129.4, 128.6, 74.8, 33.7, 29.9. UV/Vis (tolueno): 666 (46060), 631 (47100), 588 (34630), 396 (82680), 380 (102100). HRMS (ESI-TOF) *m/z* $C_{49}H_{37}Br_3N_4O$ calculado, 937.0550; experimental, 937.0578.

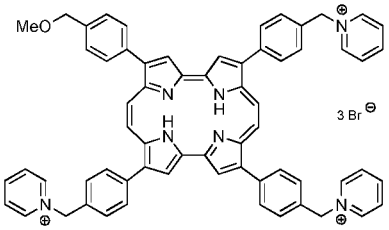
Obtención del 2,7-bis(p-(bromometil)fenil)-12,17-difenil porficeno (5d, $R_1 = R_2 = H$)



5d (R_1 = R_2 = H)

25 mg (0,036 mmol) de 2,7-bis(*p*-(metoximetil)fenil)-12,17-difenil porficeno (preparado de forma análoga al 2,7,12,17-tetrakis(*p*-(metoximetil)fenil) porficeno utilizando una mezcla equimolar de los dialdehídos correspondientes según se describe en: D. Sánchez-García, J. I. Borrell, S. Nonell, *Org Lett*, **2009**, *11*, 77-79 y S. Nonell, N. Bou, J. I. Borrell, J. Teixidó, A. Villanueva, A. Juarranz and M. Cañete, *Tetrahedron Lett*., **1995**, *36*, 3405) se disuelven en 25 mL de diclorometano anhidro. A continuación, se adicionan gota a gota 5 mL de solución de bromuro de hidrógeno (33 wt. % en ácido acético) manteniendo la temperatura a 4ºC mediante un baño agua-hielo. Al cabo de 3 horas se añaden a la mezcla de reacción 50 mL de agua a 4ºC. Se separan las fases en un embudo de decantación y la fase orgánica se lava con disolución saturada de $NaHCO_3$. El extracto orgánico se seca sobre $MgSO_4$ y el disolvente se elimina a presión reducida. El compuesto 5d se aísla por utilizando cromatografía de columna de gel de sílice utilizando como eluyente una mezcla de ciclohexano/diclorometano (1:1 v/v). Se obtienen 27 mg del porficeno 5d. (Rto = 95%). ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 9.90 (d, *J* = 4.0 Hz, 4H), 9.67 (d, *J* = 4.0 Hz, 4H), 8.32 (m, 8H), 7.83 (m, 8H), 7.69 (m, 2H), 4.79 (s, 4H), 3.73 (s, 2H).

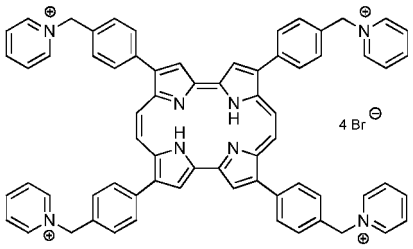
Obtención del tribromuro 2,7,12-tris(α-piridinio-p-tolil)-17-(p-(metoximetil)fenil) porficeno (1b, G_1 = -NC_5H_5, G_2 = OMe, R_1 = R_2 = -CH_2-NC_5H_5)



1b

25 mg de 2,7,12-tris(*p*-(bromometil)fenil)-17-(*p*-(metoximetil)fenil) porficeno se disuelve en la mínima cantidad de piridina anhidra (aprox. 2 mL). La solución se calienta a 80ºC durante 2 h. Al cabo de las cuales aparece un sólido que se separa por centrifugación. El producto crudo se lava con éter *ter*-butílico (3x 5 mL) y se seca a vacío. Se obtienen 25 mg del porficeno tricationico 1b como un polvo verde oscuro (Rto. = 85%). ^{1}H-NMR (400 MHz/ppm, d_6-DMSO): 10.19 (sa, 4H), 10.05 (sa, 4H), 9.47 (d, *J* = 9.2 Hz, 6H), 8.76 (t, 3H), 8.50 (d, 6H), 8.40 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 8.34 (t, 6H), 8.06 (d, *J* = 9.2 Hz, 6H), 7.84 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.83 (t, 2H), 8.06 (d, *J* = 9.2 Hz, 12H); 6.18 (s, 6H), 4.72 (s, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.49 (s, 3H). ^{13}C-NMR (100 MHz/ppm, d_6-DMSO): 146.7, 145.5, 144.7, 144.1, 143.8, 143.5, 142.7, 142.4, 142.0, 138.9, 137.0, 135.0, 134.8, 134.5, 134.1, 132.4, 131.6, 130.3, 129.1, 128.9, 125.9, 115.3, 73.9, 63.6, 58.3. UV/Vis (MeOH): 656 (112200), 624 (99890), 582 (80850), 391 (190700), 375 (232400). HRMS (ESI-TOF) *m/z* $C_{52}H_{47}N_4O_4^{2+}$ calculado, 466.7072; experimental, 466.7066.

Obtención del tetrabromuro de 2,7,12,17-tetrakis(α-piridinio-p-tolil) porficeno (1a, G_1 = G_2 = -NC_5H_5, R_1 = R_2 = -CH_2-NC_5H_5)



1a

25 mg de 2,7,12-tris(*p*-(bromometil)fenil)-17-(*p*-(metoximetil)fenil) porficeno se disuelve en la mínima cantidad de piridina anhidra (aprox. 2 mL). La solución se calienta a 80ºC durante 2 h. Al cabo de las cuales aparece un sólido que se separa por centrifugación. El producto crudo se lava con éter *ter*-butílico (3 x 5 mL) y se seca a vacío. Se obtienen 26 mg del porficeno tetracationico 1a como un polvo verde oscuro (Rto. = 80%). ^{1}H-NMR (400 MHz/d_6-DMSO): 10.19 (s, 4H), 10.05 (s, 4H), 9.44 (d, *J* = 9.2 Hz, 8H), 8.76 (t, 4H), 8.50 (d, *J* = 9.2, 8H), 8.40 (t, 8H), 8.06 (d, *J* = 9.2 Hz, 8H), 6.16 (s, 8H). IR (KBr/cm^{-1}): 3432, 2924, 2854, 1733, 131, 1483, 1452, 1384, 1110, 965.

Actividad Fototóxica del tribromohidrato 2,7,12-tris(α-piridinio-p-tolil)-17-(p-(metoximetil)fenil) porficeno contra hongos del tipo Candida krusei ATCC 6258

Protocolo experimental

Concentración del porficeno: 10 μm.

Incubación oscura (tiempo anterior a la incubación): 30 min.

Cantidad de células microbianas: 10^7 células/ml.

Medio de irradiación: tampon fosfato salino (phosphate-buffered saline), pH 7,4.

Fuente de luz: Sorisa Photocare, irradiación con LEDs de luz roja de 635±10 nm.

Fluencia de irradiación: 35 mW/cm.

Tiempo de irradiación: 10 min.

La figura 1 presenta el efecto fotodinámico producido por el porficeno sobre una suspensión de 10^7 células/mL de *Candida krusei*. El contaje celular se realizó mediante diluciones decimales seriadas de las suspensiones celulares tratadas.

Se presentan en la figura 1 el control sin tratar, control con porficeno sin irradiación, control sin porficeno e irradiación y, por último, el resultado de la irradiación con porficeno. Mientras que ningún efecto es observado al introducir porficeno o luz individualmente, la combinación de ambos factores a una concentración de 10 μM y una dosis de 15 J/cm^2 resultó suficiente para reducir la población de *Candida krusei* más de 5 unidades logarítmicas, eliminando pues > 99,999% de la población. Estos resultados se resumen en la siguiente Tabla 1:

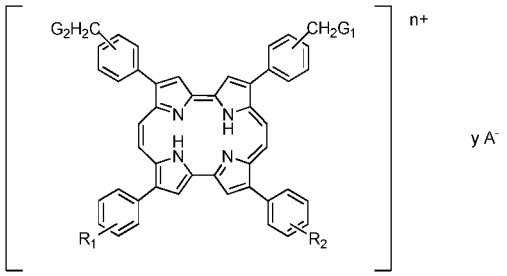
TABLA 1

Unidades formadoras de colonias (log (CFU/mL)) y fracción superviviente de Candida krusei incubada durante 30 min a oscuras con 10 mM porficeno e irradiada con luz roja a una fluencia de 35 mW/cm^2

Condiciones	log CFU/mL (Fracción superviviente)
0 μM y 0 J/cm^2	7,16 (1,00)
10 μM y 0 J/cm^2	7,09 (0,84)
0 μM y 15 J/cm^2	7,23 (1,17)
10 μM y 15 J/cm^2	< 2,00 (< 0,000007)

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general 1,



1 n = 1 a 16

donde

G_1 representa:

(i) $-N^+R_3R_4R_5$ donde R_3, R_4 y R_5 cada uno independientemente se selecciona del grupo formado por alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, aralquilo; o R_3 y R_4 tomados conjuntamente y unidos al N forman un heterociclo cicloalifático y R_5 representa un alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo o araquilo;

o

(ii) $-N^+R_3R_4$ donde R_3 y R_4 tomados conjuntamente y unidos al N forman un heterociclo aromático;

G_2 representa $-OR_6$ donde R_6 es alquilo o tiene el mismo significado que G_1

R_1 representa hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, aralquilo, ciano, halógeno, OH, o $-CH_2G_1$ donde G_1 tiene el mismo significado definido arriba;

R_2 representa:

a) hidrógeno cuando R_1 representa hidrógeno; o

b) un sustituyente seleccionado entre alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, aralquilo, ciano, halógeno, OH, teniendo R_2 y R_1 el mismo significado; o

c) $-CH_2OR_6$ cuando G_2 representa $-OR_6$, y R_1 representa $-CH_2OR_6$, donde R_6 es alquilo; o

d) $-CH_2G_1$ cuando G_2 y G_1 tienen el mismo significado y R_1 representa $-CH_2G_1$, teniendo G_1 el mismo significado definido arriba

y donde

A^- representa un anión con una o dos cargas negativas; e

y representa el número de contraaniones entre 1 y 16 necesario para que el compuesto sea neutro.

2. Compuesto según la reivindicación 1 donde:

G_2 tiene el mismo significado que G_1;

R_1 y R_2, iguales entre sí, representan hidrógeno, $-CH_2-G_1$ o un grupo $-CH_2-OR_6$ donde R_6 es un grupo alquilo; y

G_1 representa un heterociclo aromático, opcionalmente sustituido con un grupo alquilo.

3. Compuesto según la reivindicación 1 o 2 donde los sustituyentes R_1, R_2, $-CH_2G_1$, $-CH_2G_2$ están respectivamente sobre la posición, *orto, meta* o *para*, preferiblemente *para*, en el radical fenileno en las posiciones 2,7,12,17-del porficeno.

4. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el número n^+ está comprendido entre 2 y 6.

5. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 seleccionado entre:

[1] Tetrabromuro de 2,7,12,17-tetrakis(α-piridinio-*p*-tolil) porficeno

[2] Tribromuro 2,7,12-tris(α-piridinio-*p*-tolil)-17-(*p*-(metoximetil)fenil) porficeno

[3] Dibromuro del 2,7-bis(α-piridinio-*p*-tolil)-12,17-difenil porficeno.

6. Procedimiento para la preparación de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende:

(i) desprotección del alcohol bencílico y tratamiento con un agente activante; y

(ii) tratamiento del compuesto obtenido en (i) con una amina terciaria de fórmula general $NR_3R_4R_5$,

donde R_3, R_4 y R_5 tienen el mismo significado definido en la reivindicación 1.

7. Procedimiento según la reivindicación 6, en el que el reactivo de desprotección de alcohol bencílico es un ácido de Brönsted o Lewis.

8. Procedimiento según la reivindicación 6 o 7, en el que el agente activante es PBr_3, $SOCl_2$, $(PhO)_3PCH_3I$ o un haluro de tosilo.

9. Procedimiento según la reivindicación 6 en el que la etapa (i) se lleva a cabo por tratamiento con ácido bromhídrico en disolución de ácido acético en un disolvente inerte.

10. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en el que amina terciaria de fórmula general $NR_3R_4R_5$ se utiliza en la etapa (ii) simultáneamente como disolvente de reacción o se utiliza en presencia de un disolvente inerte.

11. Procedimiento según la reivindicación 10, en el que la amina terciaria es el disolvente piridina.

12. Composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula general 1 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

13. Composición farmacéutica según la reivindicación 12, en la que el compuesto está incorporado en liposomas o micro vesículas.

14. Composición farmacéutica según la reivindicación 12 o 13, para su administración tópica.

15. Compuesto de fórmula general 1 para su uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedades o condiciones causadas por microorganismos patógenos mediante Terapia Fotodinámica.

16. Compuesto de fórmula general 1 según la reivindicación 15, para su uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedades o condiciones causadas por bacterias patógenas gram positivas o gram negativas, hongos y protozoos.

17. Un método para destruir o prevenir poblaciones de un microbio patógeno que comprende aplicar un compuesto de de fórmula general 1 sobre un objeto e irradiar de forma secuencial o simultánea con una luz que presenta una longitud de onda comprendida entre 400-800 nm.

18. Complejo formado por reacción entre un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y una sal de un metal divalente seleccionado del grupo formado por Zn, Mg, Pd, Ni, Pt, Cu y Sn.

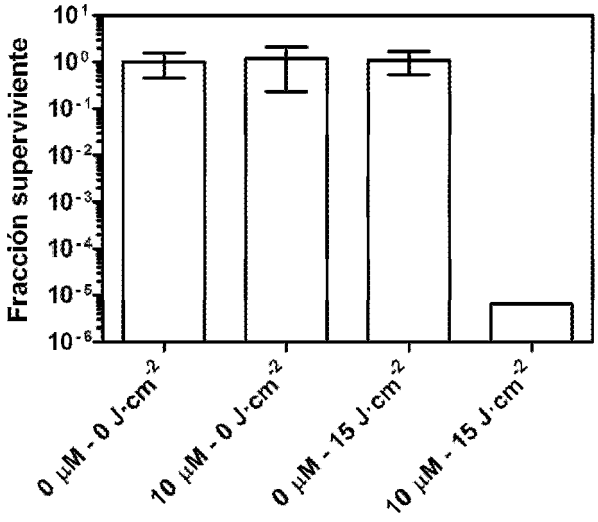

Fracción superviviente
10^1
10^0
10^-1
10^-2
10^-3
10^-4
10^-5
10^-6
0 μM - 0 J·cm^-2
10 μM - 0 J·cm^-2
0 μM - 15 J·cm^-2
10 μM - 15 J·cm^-2

Figura 1

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 201031023

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 02.07.2010

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl. :** ***C07D487/22*** (2006.01)
A61K31/409 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	D SÁNCHEZ-GARCÍA et al., Organic Letters 2009, vol 11, número 1, pags 77-79. "One-pot synthesis of substituted 2,2'-bipyrroles. A straightforward route to aryl porphycenes", página 78 esquema 1 y tabla 1.	1-18
A	ES 2146213 T3 (CYTOPHARM) 01.08.2000, reivindicación 1.	1-18
A	ES 2319008 B1 (INSTITUT QUIMIC DE SARRIA CETS) 15.02.2010, reivindicaciones 1,4.	1-18

Categoría de los documentos citados
X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
25.05.2011	M. Fernández Fernández	1/4

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

C07D, A61K

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

INVENES, EPODOC, WPI, CAS, REGISTRY

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 25.05.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-18	**SI**
	Reivindicaciones		**NO**
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	1-18	**SI**
	Reivindicaciones		**NO**

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

Base de la Opinión.-

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

1. Documentos considerados.-

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

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	D SÁNCHEZ-GARCÍA et al, Organic Letters 2009, vol 11, número 1, pags 77-79. "One-pot synthesis of substituted 2,2'-bipyrroles. A straightforward route to aryl porphycenes", página 78 esquema 1 y tabla 1.	01.2009
D02	ES 2146213 T3 (CYTOPHARM)	01.08.2000
D03	ES 2319008 B1 (INSTITUT QUIMIC DE SARRIA CETS)	15.02.2010

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

La solicitud se refiere a los arilporficenos de fórmula general 1 (reivindicación 1), el procedimiento para su preparación (reivindicación 6), su uso como fotosensibilizadores en terapia fotodinámica antimicrobiana y la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula 1 (reivindicaciones 12-17). También se reivindica (reivindicación 18) un complejo formado por el compuesto de fórmula general 1 y una sal de un metal divalente.

El documento D1 divulga la síntesis de porficenos 2,7,12,17-tetrasustituídos por radicales arilo directamente unidos a la estructura de porficeno (ver página 78 esquema 1 y tabla 1), el documento D2 divulga derivados de porficeno (ver reivindicación 1) en los que los sustituyentes en posiciones 2,7,12 y 17 no son restos aromáticos. El documento D3 divulga el uso de porficenos y sus sales metálicas (reivindicaciones 1 y 4) en terapia fotodinámica.

Ninguno de los documentos citados divulga los porficenos descritos en la solicitud, que llevan dos, tres o cuatro de las posiciones 2,7,12 y 17 sustituídas por p-tolil - alfa - piridinio; además, no se ha encontrado divulgado el procedimiento de síntesis que se describe en la solicitud, pues en los documentos citados se sintetizan los porficenos partiendo de bipirroles que ya llevan los sustituyentes deseados y en la solicitud se introduce un derivado halogenado en la/s posición/es bencílica/s para reaccionar con piridina o, en general, con una amina terciaria. Por otra parte, se considera que la invención posee actividad inventiva pues la introducción de sustituyentes aromáticos adicionales influirá en las propiedades de los arilporficenos en lo relativo a su uso como fotosensibilizadores en terapia fotodinámica.

En consecuencia se considera que las reivindicaciones 1-18 de la solicitud cumplen las condiciones de novedad y actividad inventiva previstas en los Art. 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes 11/1986.