



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 339 152**

51 Int. Cl.:
A61K 31/4745 (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01)
C07K 5/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06763131 .7**
96 Fecha de presentación : **12.05.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1885364**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **13.02.2008**

54

Título: **Dímeros halogenados de quindolina para el tratamiento del cáncer.**

30

Prioridad: **20.05.2005 DE 10 2005 023 978**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.05.2010

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.05.2010

73

Titular/es: **Crystax Pharmaceuticals, S.L.**
Josep Samitier, 1-5
08028 Barcelona, ES

72

Inventor/es: **Aymami Bofarull, Juan y**
Navarro Muñoz, Isabel

74

Agente: **Zea Checa, Bernabé**

ES 2 339 152 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).

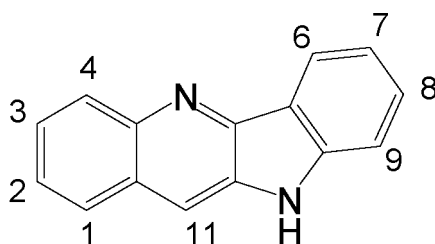
DESCRIPCIÓN

Dímeros halogenados de quindolina para el tratamiento del cáncer.

La presente invención se refiere a nuevos compuestos que comprenden uno o dos fragmentos quindolina halogenados. Tales compuestos pueden utilizarse en el tratamiento del cáncer.

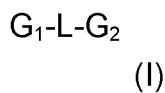
Estado de la técnica anterior

Los agentes intercalantes son moléculas planas policíclicas que se utilizan como medicamentos anticáncer. En el estado de la técnica anterior se conocen muchas de estas moléculas. La Indolo[3,2-b]quinolina es un sistema aromático de anillo de cuatro miembros que se intercala entre los pares de bases de ADN. Se han sintetizado muchos derivados con diferentes patrones de sustitución y se ha ensayado su actividad biológica contra el cáncer (Guyen *et al.*, Org. Biomol. Chem. 2004, 2, 981-988; Onyeibor *et al.*, J. Med. Chem. 2005, 48, 2701-2709). La numeración de la estructura de la quindolina es la siguiente:

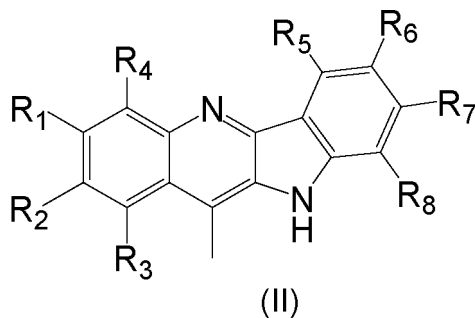


Aymami *et al.* (Solicitud de patente española P200302821;

PCT/EP2004/013106) describe compuestos intercalantes de fórmula general



donde, comprendidos en un espacio químico mayor, G_1 y G_2 pueden ser especies policíclicas de fórmula general



donde $-R_1$ a $-R_{12}$ representan radicales, iguales o diferentes, seleccionados del grupo que consiste en H, (C_1-C_4) -alquilo, (C_1-C_4) -alcoxilo, (C_1-C_4) -alquilamino, fenilo, F, Cl, Br, amino, hidroxilo, y nitro.

Yang *et al.* (J. Nat. Prod. 1999, 62, 976-983) describe derivados monoméricos de quindolina con un grupo sustituyente bromo en la posición 2 en el ámbito de un análisis del potencial citotóxico de dichos compuestos. Los autores de dicha publicación describen una disminución de actividad en los compuestos 2-bromados.

Cheng *et al.* (J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1998, 1, 1619-1625) describe la síntesis de derivados halogenados de criptolepina en un estudio de los mecanismos de reacción sin ninguna investigación de sus propiedades farmacológicas.

Caprio *et al.* (Bioorg & Med. Chem. Lett. 2000, 10, 2063-2066) describe un monómero de quindolina 2-bromado como intermedio.

Wright *et al.* (J. Med. Chem. 2001, 44, 3187-3194) describe un monómero de criptolepina 2-bromado con una actividad aparentemente inferior (comparado con los análogos no sustituidos) en un ensayo antimalaria.

Además de los dímeros quindolina y criptolepina (N5-metil-quindolina) descritos en Aymami *et al.* (cfr. referencia anterior), en el estado de la técnica anterior se conocen los dímeros de quindolinas; entre ellos el compuesto natural criptomisrina (Sharaf *et al.*, J. Heterocyclic Chem. 1996, 33, 789-797).

ES 2 339 152 T3

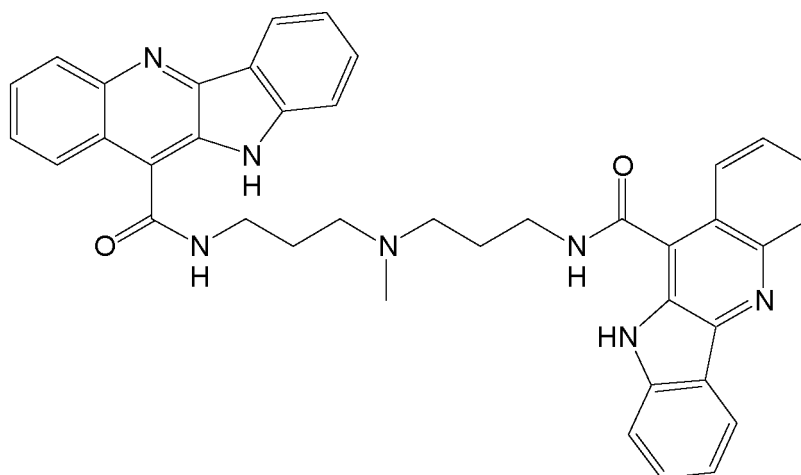
Se han realizado esfuerzos para encontrar nuevas terapias dirigidas a los mecanismos de oncogénesis y malignidad; sin embargo, muchos cánceres todavía se tratan principalmente con agentes citotóxicos o antiproliferativos tales como agentes intercalantes u otros medicamentos, que se enlazan o interfieren con el ADN. A pesar del gran número de medicamentos citotóxicos disponibles como candidatos para medicamentos anticáncer, únicamente un pequeño subgrupo se utiliza en clínica debido a sus efectos secundarios y su toxicidad general.

Una característica general de un compuesto candidato es la comparación entre su citotoxicidad en células malignas y en células no malignas. Esta relación también se denomina ventana terapéutica. Por lo tanto, es muy deseable el encontrar compuestos nuevos y efectivos como agentes citotóxicos con una ventana terapéutica ventajosa.

El objetivo de la presente invención es proporcionar agentes antitumorales efectivos con una ventana terapéutica ventajosa.

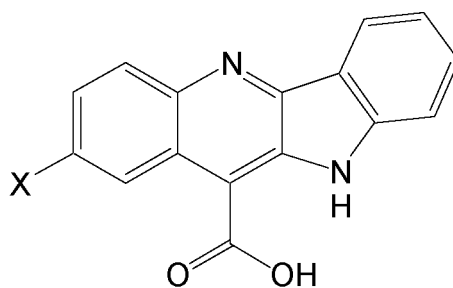
Descripción de la invención

En un estudio anterior, el compuesto bis-quindolina Ia, entre un gran número de compuestos ensayados, mostró una modesta actividad citotóxica: $IC_{50}(\text{Jurkat}) = 0.97 \mu\text{M}$; $IC_{50}(\text{GLC-4}) = 1.45 \mu\text{M}$; $IC_{50}(\text{NIH-3T3}) = 6.77 \mu\text{M}$. IC_{50} es la concentración del compuesto a la que el 50% de las células de un tipo específico mueren en un ensayo estandarizado, y, por lo tanto, es una medida de la citotoxicidad. Jurkat es una línea de células T humanas de leucemia, GLC-4 es una línea de células de carcinoma pulmonar de células pequeñas y NIH-3T3 es una línea de células de rata no cancerosas.



(Ia)

Hemos sintetizado varios derivados 2-halogenados de indolo[3,2-b]quinolina (IIa-c) nuevos o previamente descritos y hemos ensayado su actividad en la viabilidad celular de dos líneas de células cancerosas (Jurkat y GLC4) y en una de células no cancerosas (NIH-3T3). Los compuestos mostraron una actividad moderada, con todas las IC_{50} por encima de $10 \mu\text{M}$ (tabla 1).



(II)

IIa	X=Cl
IIb	X=F
IIc	X=Br

ES 2 339 152 T3

TABLA 1

Actividades biológicas de IIa-c

5

Compuesto	IC ₅₀ (μM) Jurkat	IC ₅₀ (μM) GLC-4	IC ₅₀ (μM) NIH-3T3
IIa	> 25	15.72	n.d.
IIb	13.02	12.04	n.d.
IIc	> 25	n.d.	n.d.

10

15

20

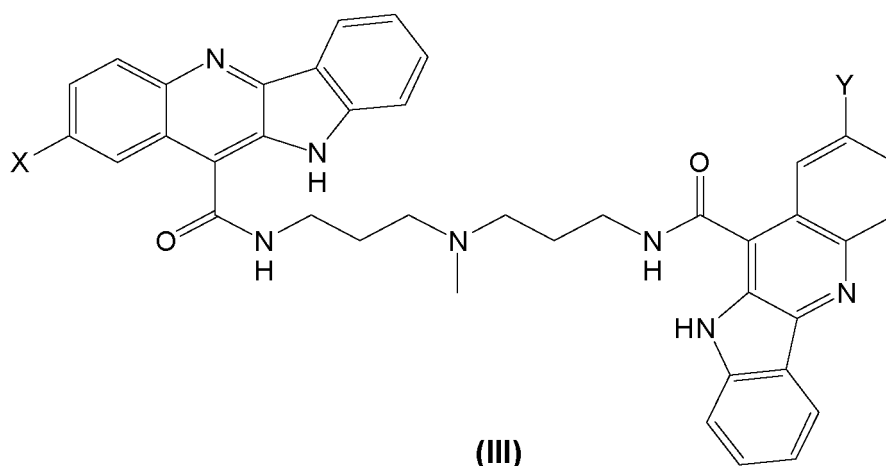
En un intento de elucidar la relación entre la composición estructural y la actividad de varios derivados de la quindolina, hemos sintetizado y evaluado dímeros de derivados 2-halogenados de indolo[3,2-b]quinolina (IIIa-e) y dímeros que contienen un derivado 2-halogenado de indolo[3,2-b]quinolina y uno no halogenado. Sorprendentemente, encontramos que estos compuestos, en particular los dímeros dihalogenados, muestran una actividad muy mejorada respecto a sus análogos monoméricos (tabla 2), y a la vez presentan una ventana terapéutica más amplia cuando se compara con el compuesto Ia (ver arriba). En particular, el compuesto IIIa combina una actividad inhibitoria alta y una ventana terapéutica amplia.

25

30

35

40



45

- IIIa X=Y= Cl
- IIIb X=Y= F
- IIIc X=Y= Br
- IIId X= Br; Y= Cl
- IIIe X= F; Y= Cl
- IIIf X= F; Y= H
- IIIg X= Cl; Y= H

50

55

60

65

Estos compuestos se han ensayado en un mayor número de líneas celulares diferentes. IC₅₀ es la concentración de compuesto a la que el 50% de un tipo concreto de célula muere en un ensayo estandarizado, y es una medida de la citotoxicidad. Jurkat es una línea de células T humanas de leucemia, GLC-4 es una línea de células de carcinoma pulmonar de células pequeñas, NIH-3T3 es una línea de células no cancerosas de rata, K-562 es una línea de células

ES 2 339 152 T3

humanas de leucemia mielógena crónica, A549 es una línea de células humanas de carcinoma pulmonar, RPMI-1788 es una línea de células humanas de leucocitos de sangre periférica de varón sano, MCF-7 es una línea de células humanas de adenocarcinoma de mama, Capan-2 es una línea de células humanas de adenocarcinoma pancreático, Colo320HSR es una línea de células humanas de carcinoma de colon, SW-837 es una línea de células humanas de adenocarcinoma rectal, IM-9 es una línea de células humanas de mieloma de médula ósea, IMR-32 es una línea de células humanas de neuroblastoma y MT-4 es una línea de células T humanas mixta de linfocitos del corazón y de la sangre periférica de pacientes con leucemia.

TABLA 2

Actividades biológicas de IIIa-IIIg

IC50 (μM)							
	IIIa	IIIb	IIIc	IIId	IIIe	IIIf	IIIg
Jurkat	0.09	0.5	0.8	0.6	0.5	0.2	0.7
GLC-4	0.16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
NIH-3T3	11.22	64.29	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
K-562	0.65	1.1	n.d.	5.3	6.1	2.8	5.8
A549	12.2	10.0	n.d.	12.9	11.6	1.6	6.2
RPMI-1788	3.0	5.3	9.1	3.5	2.9	1.7	3.2
MCF-7	3.4	4.8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Capan-2	20.1	25.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Colo-320HSR	0.45	3.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SW-837	6.2	17.9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IM-9	4.6	7.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IMR-32	0.9	0.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
MT-4	4.5	9.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Sorprendentemente, los inventores de la presente invención han encontrado que al unir dos especies indolo[3,2-b]quinolina 2-halogenadas mediante un conector, o un fragmento indolo[3,2-b]quinolina 2-halogenado y uno no halogenado, el compuesto resultante es más activo que los monómeros en los ensayos relevantes.

Descripción de las figuras

La Fig. 1 es un diagrama de flujo que describe un procedimiento de preparación general de dímeros de quindolina de fórmula general Va.

La Fig. 2 es un diagrama de flujo que describe un procedimiento de preparación general de dímeros de fórmula general Vb.

Resumen de la invención

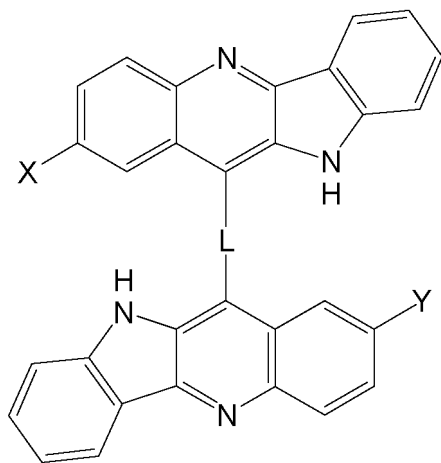
Se describen dímeros halogenados de quindolina de fórmula general (IV):

5

10

15

20



(IV)

25

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde:

30

-X e -Y representan átomos iguales o diferentes, seleccionados del grupo que consiste en -F, -Cl, -Br, y -H, con la condición de que cuando X es -H, entonces Y es diferente de -H; y

-L- es un conector que enlaza covalentemente las dos especies quindolina, que puede ser ramificado o no ramificado, que puede contener uno o más grupos éter, amino o amido y que opcionalmente puede estar sustituido con uno o más grupos alcohol, alcoxilo o amino, sustituidos o no sustituidos.

35

Se describen dímeros halogenados de quindolina de fórmula general (V):

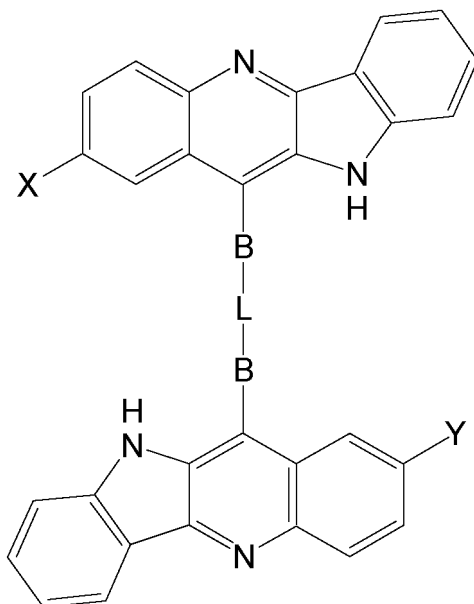
40

45

50

55

60



(V)

65

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde

-X e -Y representan átomos iguales o diferentes, seleccionados del grupo que consiste en -F, -Cl, -Br, y -H, con la condición de que cuando X es -H, entonces Y es diferente de -H;

ES 2 339 152 T3

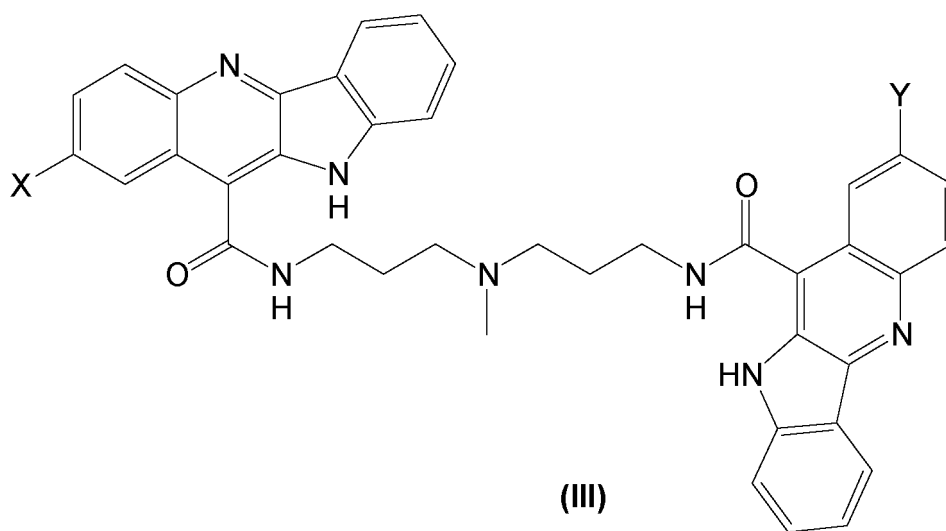
-B- es una especie seleccionada del grupo que consiste en -CONH- y -NR'-, donde -R' se selecciona del grupo que consiste en H, (C₁-C₄)-alquilo, (C₁-C₄)-alcoxilo y (C₁-C₄)-alquilamino; y

-L- es un conector seleccionado entre los siguientes:



-R'' y -R''' son grupos químicos, iguales o diferentes, seleccionados del grupo que consiste en H y (C₁-C₃)-alquilo; r es un entero entre 1 y 3; s es un entero entre 1 y 3; t es un entero entre 1 y 3.

En una realización preferida de la invención, se proporciona un dímero halogenado de quindolina de fórmula general:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde:

-X e -Y representan átomos iguales o diferentes, seleccionados del grupo que consiste en -F, -Cl, -Br, y -H, con la condición de que cuando X es -H, entonces Y es diferente de -H;

Preferiblemente X e -Y representan átomos iguales o diferentes, seleccionados del grupo que consiste en -F, -Cl y -Br.

En un segundo aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de fórmula III-V junto con portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables apropiados.

Un aspecto adicional de la presente invención proporciona un método de tratamiento de cualquier tipo de cáncer, que comprende la etapa de administrar una dosis efectiva anti-tumoral de un compuesto de la presente invención a un mamífero que precisa de dicho tratamiento. El compuesto de la invención puede administrarse simultáneamente o secuencialmente con uno o más agentes anti-neoplásicos.

Compuestos de fórmula V donde

-B- es -CONH- (Va) puede prepararse según el procedimiento de la Fig. 1.

-B- es -NR'- (Vb) puede prepararse según el procedimiento de la Fig. 2.

Los compuestos de fórmula (V) pueden convertirse en sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables, y las sales pueden convertirse en compuestos libres mediante métodos convencionales. Por ejemplo, las sales de adición ácida pueden prepararse poniendo en contacto de manera convencional la base libre con una cantidad apropiada del ácido deseado.

ES 2 339 152 T3

Como se muestra en los resultados biológicos del ejemplo 8, los compuestos de fórmula (III) son activos en el tratamiento del cáncer.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (III) tal como se define arriba para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un paciente que lo necesite.

Preferiblemente, el cáncer se selecciona entre leucemia Jurkat, leucemia mielógena crónica, carcinoma pulmonar, adenocarcinoma de mama, adenocarcinoma pancreático, carcinoma de colon, adenocarcinoma rectal, mieloma de médula ósea o neuroblastoma.

Ejemplos

Ejemplo 1

Preparación de N,N'-(4-metil-4-azaheptameten)-di-(-2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina)-11,11'-carboxamida (IIIa)

Se preparó ácido 2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxílico (0.5 g, 1.8 mmol) (Ablordeppey *et al.*, Bioorg. Med. Chem. 2002, 5, 1337-1346) y se disolvió en 20 ml de SOCl₂ a reflujo. Se obtuvo una solución clara después de 6 horas, y todos los componentes volátiles se eliminaron mediante vacío. El crudo de cloruro de ácido se suspendió en 20 ml de CH₂Cl₂. Se añadió a temperatura ambiente una solución de terc-butil éster de ácido [3-[(3-aminopropil)metilamino]propil]carbámico preparado previamente (0.6 g, 2.4 mmol) (Spicer *et al.*, Bioorg. Med. Chem. 2002, 10, 19-29) y trietilamina (1.2 ml) en 20 ml de CH₂Cl₂, y la mezcla se agitó durante 14 horas. La fase orgánica se lavó (NaHCO₃, solución salina) y se secó (MgSO₄). Después de eliminar el disolvente y de purificar mediante cromatografía sobre alúmina (CH₂Cl₂/MeOH, 90:10) se obtuvo el terc-butil éster del ácido [2-[[2-[(2-cloro-10H-Indolo[3,2-b]quinolina-11-carbonil)amino]etil]metilamino]etil]carbámico (0.7 g, 71%) en forma de aceite viscoso. ¹H-RMN [MeOD, δ, ppm]: 8.45 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.22 (m, 2H), 7.68 (m, 4H), 7.35 (dd, J = 8.0 Hz, 1H), 3.70 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH₂NO), 3.05 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH₂NHBOC), 2.65 (m, 2H, CH₂N(CH₃)), 2.50 (m, 2H, CH₂N(CH₃)), 2.33 (s, 3H, N(CH₃)), 1.69 (m, 4H, 2CH₂CN(CH₃)), 1.40 (s, 9H, C(CH₃)₃).

Se añadió ácido trifluoroacético (16 ml) a una solución del terc-butil éster del ácido [2-[[2-[(2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carbonil)amino]etil]metilamino]etil]carbámico (0.7 g, 1.3 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, punto en el cual se comprobó mediante TLC que la reacción había completado. Todos los disolventes se eliminaron mediante presión reducida para obtener 2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-[3-[(3-aminopropil)metilamino]propil]-11-carboxamida (0.54 g, 96%) en forma de aceite, que se utilizó directamente en la siguiente reacción. ¹H-RMN [MeOD, δ, ppm]: 8.46 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.28 (m, 2H), 7.90 (m, 1H), 7.82 (m, 2H), 7.66 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.44 (m, 1H), 3.79 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH₂NO), 3.09 (m, 2H, CH₂NH₂), 2.98 (s, 3H, N(CH₃)), 2.28 (m, 4H, CH₂N(CH₃)), 2.16 (m, 4H, 2CH₂CN(CH₃)). El ácido 2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxílico (0.3 g, 0.97 mmol) (Ablordeppey *et al.*, ver arriba) se disolvió en 14 ml de SOCl₂ a reflujo. Se obtuvo una solución clara después de 6 horas, y todos los componentes volátiles se eliminaron mediante vacío. El crudo de cloruro de ácido se suspendió en 15 ml de CH₂Cl₂. Se añadió a temperatura ambiente una solución de 2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-[3-[(3-aminopropil)metil-amino]propil]-11-carboxamida (0.54 g, 1.27 mmol) y trietilamina (1.5 ml) en 15 ml de CH₂Cl₂ y la mezcla de reacción se agitó durante 14 horas. La fase orgánica se lavó (NaHCO₃, solución salina) y se secó (MgSO₄). Después de eliminar el disolvente y de purificar mediante cromatografía sobre alúmina (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5) se obtuvo el compuesto deseado (0.12 g, 13%) en forma de sólido. P.f. >300°C. ¹H-RMN [CDCl₃, δ, ppm]: 8.36 (m, 1H), 8.09 (m, 7H), 7.59 (m, 7H), 7.28 (m, 1H), 3.67 (m, 4H, 2CH₂NO), 2.58 (m, 4H, 2CH₂NO), 2.30 (s, 3H, N(CH₃)), 1.96 (m, 4H, 2CH₂CN(CH₃)); MS (EI, m/z) 703 (M⁺+1).

Ejemplo 2

Preparación de N,N'-(4-metil-4-azaheptameten)-di-(-2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina)-11,11'-carboxamida (IIIb)

El ácido 2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxílico (0.5 g, 1.8 mmol) (Ablordeppey *et al.*, ver arriba) se disolvió en 20 ml de SOCl₂ a reflujo. Se obtuvo una solución clara después de 6 horas, y todos los componentes volátiles se eliminaron mediante vacío. El crudo de cloruro de ácido se suspendió en 20 ml de CH₂Cl₂. Se añadió a temperatura ambiente una solución del terc-butil éster del ácido [3-[(3-aminopropil)metilamino]propil]carbámico preparado previamente (0.6 g, 2.4 mmol) (Spicer *et al.*, ver arriba) y trietilamina (1.2 ml) en 20 ml de CH₂Cl₂, y la mezcla se agitó durante 14 horas. La fase orgánica se lavó (NaHCO₃, solución salina) y se secó (MgSO₄). Después de eliminar el disolvente y de purificar mediante cromatografía sobre alúmina (CH₂Cl₂/MeOH, 90:20) se obtuvo el terc-butil éster del ácido [2-[[2-[(2-fluoro-10H-Indolo[3,2-b]quinolina-11-carbonil)amino]etil]metilamino]etil]carbámico (0.6 g, 71%) en forma de aceite viscoso. ¹H-RMN [MeOD, δ, ppm]: 8.34 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.14 (m, 2H), 7.74 (m, 4H), 7.28 (dd, J = 8.0 Hz, 1H), 3.66 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH₂NO), 3.05 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH₂NHBOC), 2.59 (m, 2H, CH₂N(CH₃)), 2.48 (m, 2H, CH₂N(CH₃)), 2.31 (s, 3H, N(CH₃)), 1.67 (m, 4H, 2CH₂CN(CH₃)), 1.40 (s, 9H, C(CH₃)₃).

ES 2 339 152 T3

Se añadió ácido trifluoroacético (16 ml) a una solución del terc-butil éster del ácido [2-[[2-[(2-fluoro-10H-indolo [3,2-b]quinolina-11-carbonil)amino]-etil]metilamino)etil]-carbámico (0.7 g, 1.3 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, punto en el cual se comprobó mediante TLC que la reacción había completado. Todos los disolventes se eliminaron mediante presión reducida para dar 2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-[3-[(3-aminopropil)metilamino]propil]-11-carboxamida (0.5 g, 99%) en forma de aceite, que se utilizó directamente en la siguiente reacción. ¹H-RMN [MeOD, δ, ppm]: 8.41 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.23 (m, 2H), 7.96 (m, 1H), 7.74 (m, 2H), 7.71 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.49 (m, 1H), 3.77 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH₂NO), 3.06 (m, 2H, CH₂NH₂), 2.98 (s, 3H, N(CH₃)), 2.28 (m, 4H, CH₂N(CH₃)), 2.18 (m, 4H, 2CH₂CN(CH₃)). El ácido 2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxílico (0.3 g, 0.93 mmol) (Ablordeppey *et al.*, ver arriba) se disolvió en 14 ml de SOCl₂ a reflujo. Se obtuvo una solución clara después de 6 horas, y todos los componentes volátiles se eliminaron mediante vacío. El crudo de cloruro de ácido se suspendió en 15 ml de CH₂Cl₂. Se añadió a temperatura ambiente una solución de 2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-[3-[(3-aminopropil)metil-amino]propil]-11-carboxamida (0.5 g, 1.2 mmol) y trietilamina (1.5 ml) en 15 ml de CH₂Cl₂, y la mezcla de reacción se agitó durante 14 horas. La fase orgánica se lavó (NaHCO₃, solución salina) y se secó (MgSO₄). Después de eliminar el disolvente y de purificar mediante cromatografía sobre alúmina (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5) se obtuvo el compuesto deseado (0.13 g, 16%) en forma de sólido. P.f. 170 -172°C. ¹H-RMN [CDCl₃, δ, ppm]: 8.36 (m, 1H), 8.23 (m, 7H), 8.01 (m, 7H), 7.63 (m, 1H), 3.69 (m, 4H, 2CH₂NO), 2.81 (m, 4H, 2CH₂NO), 2.37 (s, 3H, N(CH₃)), 2.06 (m, 4H, 2CH₂CN(CH₃)); MS (EI, m/z) 670 (M⁺+1).

Ejemplo 3

Preparación de *N,N'*-(4-metil-4-azaheptameten)-di-(2-bromo-10H-indolo[3,3-*b*]quinolina)-11,11'-carboxamida (IIIc)

El ácido 2-bromo-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxílico (0.5 g, 1.4 mmol) (Caprio *et al.*, ver arriba) se disolvió en 20 ml de SOCl₂ a reflujo. Se obtuvo una solución clara después de 6 horas, y todos los componentes volátiles se eliminaron mediante vacío. El crudo de cloruro de ácido se suspendió en 20 ml de CH₂Cl₂. Se añadió a temperatura ambiente una solución del terc-butil éster del ácido [3-[(3-aminopropil)metilamino]propil]carbámico preparado previamente (0.4 g, 1.8 mmol) (Spicer *et al.*, ver arriba) y trietilamina (1.2 ml) en 20 ml de CH₂Cl₂, y la mezcla se agitó durante 14 horas. La fase orgánica se lavó (NaHCO₃, solución salina) y se secó (MgSO₄). Después de eliminar el disolvente y de purificar mediante cromatografía sobre alúmina (CH₂Cl₂/MeOH, 90:20) se obtuvo el terc-butil éster del ácido [2-[[2-[(2-bromo-10H-Indolo[3,2-b]quinolina-11-carbonil)amino]etil]metilamino)etil]carbámico (0.5 g, 66%) en forma de aceite viscoso. ¹H-RMN [MeOD, δ, ppm]: 8.47 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.15 (m, 2H), 7.81 (m, 4H), 7.36 (dd, J = 8.0 Hz, 1H), 3.71 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH₂NO), 3.05 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH₂NHBOC), 2.52 (m, 2H, CH₂N(CH₃)), 2.51 (m, 2H, CH₂N(CH₃)), 2.35 (s, 3H, N(CH₃)), 1.71 (m, 4H, 2CH₂CN(CH₃)), 1.40 (s, 9H, C(CH₃)₃).

Se añadió ácido trifluoroacético (16 ml) a una solución del terc-butil éster del ácido [2-[[2-[(2-bromo-10H-indolo [3,2-b]quinolina-11-carbonil)amino]-etil]metilamino)etil]-carbámico (0.5 g, 0.9 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, punto en el cual se comprobó mediante TLC que la reacción había completado. Todos los disolventes se eliminaron mediante presión reducida para dar 2-bromo-10H-indolo[3,2-b]quinolina-[3-[(3-aminopropil)metilamino]propil]-11-carboxamida (0.4 g, 97%) en forma de aceite, que se utilizó directamente en la siguiente reacción. ¹H-RMN [MeOD, δ, ppm]: 8.42 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.16 (m, 2H), 7.97 (m, 1H), 7.80 (m, 2H), 7.64 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.40 (m, 1H), 3.78 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH₂NO), 3.06 (m, 2H, CH₂NH₂), 2.92 (s, 3H, N(CH₃)), 2.28 (m, 4H, CH₂N(CH₃)), 2.18 (m, 4H, 2CH₂CN(CH₃)). El ácido 2-bromo-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxílico preparado previamente (0.24 g, 0.73 mmol) (Caprio *et al.*, ver arriba) se disolvió en 14 ml de SOCl₂ a reflujo. Se obtuvo una solución clara después de 6 horas, y todos los componentes volátiles se eliminaron mediante vacío. El crudo de cloruro de ácido se suspendió en 15 ml de CH₂Cl₂. Se añadió a temperatura ambiente una solución de 2-bromo-10H-indolo[3,2-b]quinolina-[3-[(3-aminopropil)metil-amino]propil]-11-carboxamida (0.4 g, 0.94 mmol) y trietilamina (1.5 ml) en 15 ml de CH₂Cl₂, y la mezcla de reacción se agitó durante 14 horas. La fase orgánica se lavó (NaHCO₃, salmuera) y se secó (MgSO₄). Después de eliminar el disolvente y de purificar mediante cromatografía sobre alúmina (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5) se obtuvo el compuesto deseado (0.12 g, 16%) en forma de sólido. P.f. 110 -112°C. ¹H-RMN [CDCl₃, δ, ppm]: 8.25 (m, 1H), 8.15 (m, 7H), 8.03 (m, 7H), 7.35 (m, 1H), 3.71 (m, 4H, 2CH₂NO), 2.81 (m, 4H, 2CH₂NO), 2.48 (s, 3H, N(CH₃)), 2.06 (m, 4H, 2CH₂CN(CH₃)); EM (EI, m/z) 792 (M⁺+1).

Ejemplo 4

Preparación de *N*-[3-[[3-[11-((2-bromo-10H-indolo[3,2-*b*]quinolina)carbonil)amino]-propil]-metilamino]propil]-2-cloro-10H-indolo[3,2-*b*]quinolina-11-carboxamida (IIIId)

El ácido 2-bromo-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxílico preparado previamente (39 g, 0.23 mmol) (ver Ejemplo 3) se disolvió en 15 ml de SOCl₂ a reflujo. Se obtuvo una solución clara después de 6 horas, y todos los componentes volátiles se eliminaron mediante vacío. El crudo de cloruro de ácido se suspendió en 15 ml de CH₂Cl₂. Se añadió a temperatura ambiente una solución de 2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-[3-[(3-aminopropil)metil-amino]propil]-11-carboxamida (0.13 g, 0.3 mmol) preparada previamente (ver Ejemplo 1) y trietilamina (1.5 ml) en 15 ml

ES 2 339 152 T3

de CH₂Cl₂, y la mezcla de reacción se agitó durante 14 horas. La fase orgánica se lavó (NaHCO₃, salmuera) y se secó (MgSO₄). Después de eliminar el disolvente y de purificar mediante cromatografía sobre alúmina (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5) se obtuvo el compuesto deseado (0.16 g, 94%) en forma de sólido amarillo. P.f. 110-115°C. ¹H-RMN [CDCl₃, δ, ppm]: 8.42 (m, 2H), 8.24 (m, 4H), 7.69-7.30 (m, 8H), 7.20 (m, 2H) 3.74 (m, 4H, 2CH₂NO), 2.73-2.62 (m, 4H, 2CH₂NH), 2.43 (s, 3H, CH₃), 2.04 (m, 4H, 4CH₂). EM (EI, m/z) 748 (M⁺+1).

Ejemplo 5

10 *Preparación de N-[3-[[3-[11-((2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina)carbonil)amino]-propil]-metilamino]propil]-2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxamida (IIIe)*

El ácido 2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxílico preparado previamente (69 mg, 0.25 mmol) (ver Ejemplo 2) se disolvió en 15 ml de SOCl₂ a reflujo. Se obtuvo una solución clara después de 6 horas, y todos los componentes volátiles se eliminaron mediante vacío. El crudo de cloruro de ácido se suspendió en 15 ml de CH₂Cl₂. Se añadió a temperatura ambiente una solución de 2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-[3-[(3-aminopropil)metilamino]propil]-11-carboxamida (0.14 g, 0.33 mmol) preparada previamente (ver Ejemplo 1) y trietilamina (1.5 ml) en 15 ml de CH₂Cl₂, y la mezcla de reacción se agitó durante 14 horas. La fase orgánica se lavó (NaHCO₃, salmuera) y se secó (MgSO₄). Después de eliminar el disolvente y de purificar mediante cromatografía sobre alúmina (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5) se obtuvo el compuesto deseado (11 mg, 7%) en forma de espuma. ¹H-RMN [CDCl₃, δ, ppm]: 8.46 (m, 2H), 8.23 (m, 4H), 8.01-7.36 (m, 8H), 7.24 (m, 2H) 3.71 (m, 4H, 2CH₂NO), 2.71-2.60 (m, 4H, 2CH₂NH), 2.40 (s, 3H, CH₃), 2.06 (m, 4H, 4CH₂). EM (EI, m/z) 687 (M⁺+1).

25 Ejemplo 6

Preparación de N-[3-[[3-[11-((2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina)carbonil)amino]-propil]-metilamino]propil]-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxamida (IIIf)

30 El ácido 2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxílico preparado previamente (37 mg, 0.13 mmol) (ver Ejemplo 2) se disolvió en 15 ml de SOCl₂ a reflujo. Se obtuvo una solución clara después de 6 horas, y todos los componentes volátiles se eliminaron mediante vacío. El crudo de cloruro de ácido se suspendió en 15 ml de CH₂Cl₂. Se añadió a temperatura ambiente una solución de 10H-indolo[3,2-b]quinolina-[3-[(3-aminopropil)metilamino]propil]-11-carboxamida preparada previamente (68 mg, 0.17 mmol) (Aymami *et al.* solicitud de patente española P200302821; PCT/EP2004/013106) y trietilamina (1.5 ml) en 15 ml de CH₂Cl₂, y la mezcla de reacción se agitó durante 14 horas. La fase orgánica se lavó (NaHCO₃, salmuera) y se secó (MgSO₄). Después de eliminar el disolvente y de purificar mediante cromatografía sobre alúmina (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5) se obtuvo el compuesto deseado (32 mg, 86%) en forma de sólido amarillo, p.f. > 200°C. ¹H-RMN [CDCl₃, δ, ppm]: 8.43 (m, 2H), 8.10 (m, 4H), 7.66-7.23 (m, 8H), 7.22 (m, 2H) 3.67 (m, 4H, 2CH₂NO), 2.71 (m, 4H, 2CH₂NH), 2.40 (s, 3H, CH₃), 2.01 (m, 4H, 4CH₂). EM (EI, m/z) 652 (M⁺+1).

Ejemplo 7

45 *Preparación de N-[3-[[3-[11-((2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina)carbonil)amino]-propil]-metilamino]propil]-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxamida (IIIg)*

50 El ácido 2-cloro-10H-indolo[3,1-b]quinolina-11-carboxílico preparado previamente (0.23 mg, 0.76 mmol) (ver Ejemplo 1) se disolvió en 15 ml de SOCl₂ a reflujo. Se obtuvo una solución clara después de 6 horas, y todos los componentes volátiles se eliminaron mediante vacío. El crudo de cloruro de ácido se suspendió en 15 ml de CH₂Cl₂. Se añadió a temperatura ambiente una solución de 10H-indolo[3,2-b]quinolina-[3-[(3-aminopropil)metilamino]propil]-11-carboxamida preparada previamente (0.39 mg, 1 mmol) (Aymami *et al.* solicitud de patente española P200302821; PCT/EP2004/013106) y trietilamina (1.5 ml) en 15 ml de CH₂Cl₂, y la mezcla de reacción se agitó durante 14 horas. La fase orgánica se lavó (NaHCO₃, salmuera) y se secó (MgSO₄). Después de eliminar el disolvente y de purificar mediante cromatografía sobre alúmina (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5) se obtuvo el compuesto deseado en forma de sólido amarillo, (0.3 mg, 56%, p.f. 105-110°C). ¹H-RMN [CDCl₃, δ, ppm]: 8.45 (m, 2H), 8.14 (m, 4H), 7.69-7.30 (m, 8H), 7.22 (m, 2H) 3.67 (m, 4H, 2CH₂NO), 2.74-2.63 (m, 4H, 2CH₂NH), 2.34 (s, 3H, CH₃), 2.03 (m, 4H, 4CH₂). EM (EI, m/z) 669 (M⁺+1).

60 Ejemplo 8

Ensayo biológico in vitro

65 Se evaluó la citotoxicidad de los compuestos de la presente invención mediante ensayos colorimétricos con sales de tetrazol (MTT) en líneas celulares de clones Jurkat E6-1 de leucemia, en clones GLC-4 de carcinoma, en K-562 de leucemia mielógena crónica, en A549 de carcinoma pulmonar, en RPMI-1788 de leucocitos de sangre periférica de varón adulto sano, en MCF-7 de adenocarcinoma de mama, en Capan-2 de adenocarcinoma pancreático, en Co-

ES 2 339 152 T3

lo320HSR de carcinoma de colon, en SW-837 de adenocarcinoma rectal, en IM-9 de mieloma de médula ósea, en IMR-32 de neuroblastoma y en MT-4 de una mezcla de linfocitos de sangre auricular y periférica de pacientes humanos con leucemia de células T, según el protocolo descrito por Mosmann *et al.* (J. Immunol. Methods, 1983, 65, 55-63) que se incorpora en la presente descripción por referencia. En todos los casos las concentraciones utilizadas fueron de hasta 100 μM y los tiempos de incubación hasta 72 h. La Tabla 3 muestra la actividad biológica (IC_{50}) de esos compuestos.

TABLA 3

Actividades biológicas

IC₅₀ (μM)							
	IIIa	IIIb	IIIc	IIId	IIIe	IIIf	IIIg
Jurkat	0.09	0.5	0.8	0.6	0.5	0.2	0.7
GLC-4	0.16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
NIH-3T3	11.22	64.29	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
K-562	0.65	1.1	n.d.	5.3	6.1	2.8	5.8
A549	12.2	10.0	n.d.	12.9	11.6	1.6	6.2
RPMI-1788	3.0	5.3	9.1	3.5	2.9	1.7	3.2
MCF-7	3.4	4.8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Capan-2	20.1	25.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Colo-320HSR	0.45	3.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SW-837	6.2	17.9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IM-9	4.6	7.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IMR-32	0.9	0.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
MT-4	4.5	9.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Referencias citadas en la descripción

Esta lista de referencias citadas por el solicitante únicamente es para comodidad del lector. Dicha lista no forma parte del documento de patente europea. Aunque se ha tenido gran cuidado en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO rechaza toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

- EP 2004013106 W [0002] [0036] [0037]
- ES P200302821 [0036] [0037]

Bibliografía no relativa a patentes citada en la descripción

- **Guyen** *et al.* *Org. Biomol. Chem.*, 2004, vol. 2, 981-988 [0002].
- **Onyeibor** *et al.* *J. Med. Chem.*, 2005, vol. 48, 2701-2709 [0002].
- **Yang** *et al.* *J. Nat. Prod.*, 1999, vol. 62, 976-983 [0003].
- **Cheng** *et al.* *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1998, vol. 1, 1619-1625 [0004].
- **Caprio** *et al.* *Bioorg & Med. Chem. Lett.*, 2000, vol. 10, 2063-2066 [0005].
- **Wright** *et al.* *J. Med. Chem.*, 2001, vol. 44, 3187-3194 [0006].

ES 2 339 152 T3

- **Sharaf** *et al. J. Heterocyclic Chem.*, 1996, vol. 33, 789-797 [0007].
- **Ablordeppey** *et al. Bioorg. Med. Chem.*, 2002, vol. 5, 1337-1346 [0028]
- 5 • **Spicer**. *Bioorg. Med. Chem.*, 2002, vol. 10, 19-29 [0028]
- **Mosmann** *et al. J. Immunol. Methods*, 1983, vol. 65, 55-63 [0038]

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (III)

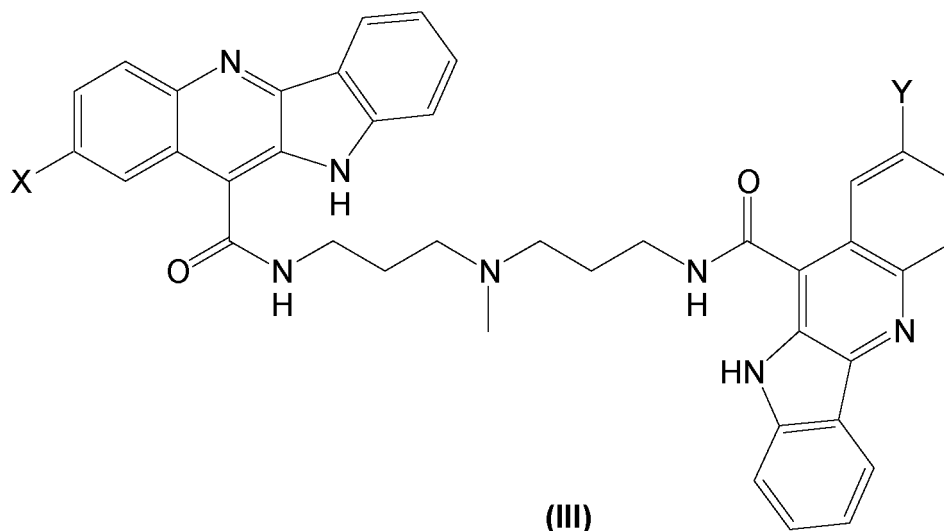
5

10

15

20

25



30

o un sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:

-X e -Y representan átomos iguales o diferentes, seleccionados del grupo que consiste en -F, -Cl, -Br, y -H, con la condición que cuando X es -H, entonces Y es diferente de -H.

35

2. Compuesto de fórmula (III) de acuerdo con la reivindicación 1 donde -X e -Y representan átomos iguales o diferentes, seleccionados del grupo que consiste en -F, -Cl y -Br.

40

3. El compuesto de fórmula (III) de acuerdo con la reivindicación 1 que se selecciona del grupo que consiste en:

N-[3-[[3-[11-((2-bromo-10H-indolo[3,2-b]quinolina)carbonil)amino]-propil]-metilamino]propil]-2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxamida;

45

N-[3-[[3-[11-((2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina)carbonil)amino]-propil]-metilamino]propil]-2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxamida;

N-[3-[[3-[11-((2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina)carbonil)amino]-propil]-metilamino]propil]-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxamida; y

50

N-[3-[[3-[11-((2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina)carbonil)amino]-propil]-metilamino]propil]-10H-indolo[3,2-b]quinolina-11-carboxamida.

55

4. El compuesto de fórmula (III) de acuerdo con la reivindicación 2 que se selecciona del grupo que consiste en:

N,N'-(4-metil-4-azaheptametilen)-di-(-2-cloro-10H-indolo[3,2-b]quinolina)-11,11'-carboxamida;

N,N'-(4-metil-4-azaheptametilen)-di-(-2-fluoro-10H-indolo[3,2-b]quinolina)-11,11'-carboxamida; y

60

N,N'-(4-metil-4-azaheptametilen)-di-(-2-bromo-10H-indolo[3,2-b]quinolina)-11,11'-carboxamida.

65

5. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-4, junto con cantidades apropiadas de excipientes o portadores farmacéuticos.

6. Compuesto de fórmula (III) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso como medicamento.

ES 2 339 152 T3

7. Uso de un compuesto de fórmula (III) como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

5 8. Uso de acuerdo con la reivindicación 7 donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en: leucemia, carcinoma pulmonar, adenocarcinoma de mama, adenocarcinoma pancreático, carcinoma de colon, adenocarcinoma rectal, mieloma de médula ósea y neuroblastoma.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

FIG. 1

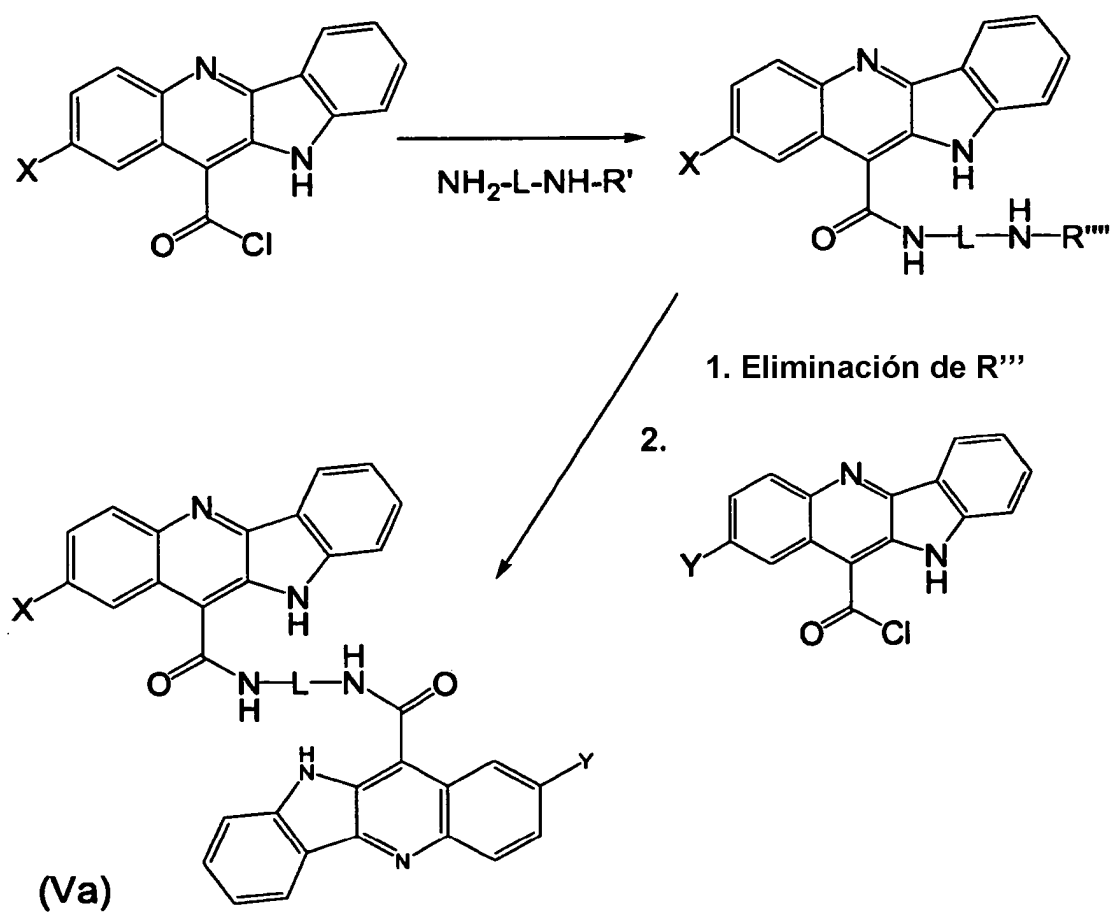


FIG. 2

