

03-107462

386
386

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTA 8, COLOMBIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Teléfono: (57-1) 347 3611



No. 03-107462- -00008-0000

Fecha 2008-04-14 17:08:33 Dep 2020 NUECREACIONE
Gra 11 PATENTELIYI Eve 379 FASENACIONALI
Act 444 RESPUESTA RQUE Folios 80

Señora Jefe de la
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Trámite : 011 Evento : 379 Actuación : 444

Referencia : Expediente No. 03107462
Asunto : PATENTE PCT DERIVADOS DE AMINOQUINOLINA
Y SU USO COMO LIGANDOS A3 DE ADENOSINA
Solicitante : SANOFI-AVENTIS
Clase : A61K 031/4706, A61K 31/4706, A61P 43/00
Fecha de Solicitud: 05 de diciembre de 2003.

1. Yo, Emilio FERRERO, obrando como apoderado del solicitante en el asunto antes identificado, me refiero al Oficio No. 722 notificado por fijación en lista del 18 de enero de 2008.

2. Mediante el Oficio No. 722 se puso en conocimiento del solicitante el informe que contiene las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente.

2.1 En forma resumida su Despacho afirma lo siguiente:

Descripción

No se muestran las formulas estructurales de los compuestos de formulas I, IA, II, III, IV.

Claridad de las Reivindicaciones:

No se muestran las formulas estructurales de los compuestos de formulas I, IA, II, III, IV.

Reivindicaciones relativas a un uso:

Las reivindicaciones 10 a 17 se refieren al uso de compuestos de formula (I) en la manufactura de medicamentos para el tratamiento de enfermedades, lo cual no se considera como invención y por lo tanto no es patentable.

Atiendo las observaciones hechas por su Despacho de la siguiente forma:

3. Modificación a una solicitud en trámite:

Con el objeto de atender las anteriores observaciones y de conformidad con lo establecido en el artículo 34 de la Decisión 486, que permite al solicitante en cualquier momento del trámite efectuar modificaciones, sin ampliar el objeto de la invención inicialmente solicitada, me permito presentar un nuevo capítulo reivindicatorio, que comprende 13 reivindicaciones.

En la nueva memoria descriptiva se presentan las formulas estructurales de compuestos de formulas I, IA, II, III, IV.

En la reivindicación 1 se adjuntó la formula estructural I, en la reivindicación 2 se adjuntó la formula estructural Ia, en la reivindicación 5 se adjuntó la formula estructural II, en la reivindicación 9 se adjunto la formula estructural IV, y

finalmente en la nueva reivindicación 12 se adjuntó la formula estructural III.

Las reivindicaciones de uso (anteriormente numeradas 10-17) fueron eliminadas del capítulo reivindicatorio.

3. CONCLUSIÓN

Teniendo en cuenta las modificaciones a la memoria descriptiva y al capítulo reivindicatorio arriba citadas se concluye que la presente solicitud cumple con el requisito de claridad y sustento descriptivo de acuerdo con las disposiciones de los artículos 28 y 30 de la Decisión 486.

4. Puesto que se han atendido a cabalidad las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente, atentamente solicito que se continúe su tramitación.

Señora Jefe,



EMILIO FERRERO

T.P.A. No. 31.929

COLO 12555-841-002-8

COLO-14775-845-001-8

AMG\AMG\ID-123383\WPC14775

No. M-2008-123383\AMG

**Industria y Comercio**
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

FORMULARIO UNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES

1	SOLICITUD DE: ☐ Corrección de Error Material ☒ Modificación a una solicitud	
2	SOLICITANTE Nombre: SANOFI-AVENTIS Sociedad constituida y existente bajo las leyes de Francia. Dirección: 174 avenue de France, Paris 75013, Francia Domicilio: Paris, Francia Teléfono: 546 09 70 Fax: 249 40 70 E-mail: clientes@cavelier.com	IDENTIFICACION C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Número: _____
3	REPRESENTANTE O APODERADO Nombre: Emilio FERRERO Dirección: Carrera 4ª No. 72-35 Teléfono: 347 36 11 Fax: 217 92 11 E-mail: cavelier@cavelier.com	IDENTIFICACION C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Número: <u>438.019</u> TP <u>31.929</u>
4	Número de expediente: <u>03.107.462</u>	
5	Descripción de la corrección o modificación solicitada: Presento nueva memoria descriptiva y nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por 13 reivindicaciones para subsanar las observaciones hechas por su Despacho en el examen de fondo.	
6	Comprobante de pago No. <u>08-28.112</u> Fecha: <u>07 de abril de 2008</u>	
7	Anexos ☒ Comprobante de pago de la tasa por valor de \$103.000.00 ☐ Poderes, si fuere el caso ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal de las partes, cuando sean personas jurídicas.	
8	NOMBRE: EMILIO FERRERO FIRMA: C.C. 438.019 de Usaquén T.P.A. 31.929	
AMG		

340
30

DERIVADOS DE AMINOQUINOLINA Y SU USO COMO LIGANDOS A₃ DE

ADENOSINA

La presente invención se relaciona con ligandos del recepto A₃ de adenosina de la fórmula general (I), dentro de aquellos preferiblemente antagonistas, así como también su sales, solvatos e isómeros, y las composiciones farmacéuticas que los contienen, con el uso de los compuestos de la fórmula general (I), así como también sus sales, solvatos e isómeros, con la preparación de los compuestos de la fórmula general (I) y sus sales, solvatos e isómeros, adicionalmente con intermedios nuevos de las fórmulas generales (II) (III) y (IV) y con la preparación de estos.

La adenosina es un componente bien conocido de varias moléculas endógenas (ATP, NAD⁺, ácido nucleico). Además, esta juega un papel regulatorio importante en muchos procesos fisiológicos. El efecto de la adenosina sobre la función cardíaca fue descubierto alrededor de 1929. (Dury y Szentgyörgyi, J Physiol 68:213, 1929). La identificación de un número creciente de funciones fisiológicas mediadas por adenosina y el descubrimiento

de nuevos subtipos receptores de adenosina dan posibilidades para aplicación terapéutica de ligandos específicos (Poulse, S:A: y Quinn, R.J. Bioorganic and Medicinal Chemistry 6:619, 1998).

A la fecha, los receptores para adenosina se han clasificado en tres clases importantes: A_1 , A_2 y A_3 . el subtipo A_1 es parcialmente responsable de inhibir la adelinata ciclase al acoplar una proteína de membrana G_i , influencia parcialmente otros segundos sistemas de mensajeros. El subtipo receptor A_2 se puede subdividir en dos subtipos adicionales - A_{2a} y A_{2b} -, cuyos receptores estimulan la actividad de adenilato ciclase. Las secuencias de los receptores de A_3 adenosina han sido recientemente identificados en biblioteca cDNA de testículo de rata. Posteriormente se probó que este corresponde a un receptor de adenosina funcional nuevo. La activación de los receptores A_3 está conectada también con varios sistemas mensajeros segundos: inhibición del adenilato ciclase, estimulación de la fosfolipasa C y D.

Los receptores de adenosina son encontrados en varios órganos y regulan sus funciones. Tanto los receptores A_1 como A_{2a} juegan papeles importantes n el

sistema nervioso central y sistema cardiovascular. En el CNS, la adenosina inhíbe la liberación de transmisores sinápticos cuyo efecto es mediado por receptores A_1 . en el corazón, también los receptores A_1 median los efectos inotrópicos, cronotrópicos y dromotrópicos negativos de la adenosina. Los receptores A_2 de adenosina localizados relativamente en cantidades más altas en el striatum, muestran interacción funcional con receptores de dopamina en la regulación de transmisión sinóptica. Los receptores de adenosina A_{2a} sobre las células musculares endoteliales y suaves son responsables de la vasodilatación inducida por adenosina.

Sobre la base de identificación de mRNA, los receptores de adenosina A_{2b} son ampliamente distribuidos en diferentes tejidos. Ellos se han identificado casi en cada tipo de célula, pero su expresión es la más alta del intestino y en la vejiga. Es subtipo probablemente tiene también importante función regulatoria en la regulación del tono vascular y juega un papel importante en la función de las células más til.

Contrario a los receptores A_1 y A_{2a} , donde la distribución de tejidos se detectó sobre el nivel de

proteína, la presencia de los receptores A_{2b} y A_3 se detectó sobre la base de su nivel mRNA. Los niveles de expresión para receptores de adenosina A_3 son por el contrario bajos comparados con otros subtipos y altamente dependientes de las especies. Los receptores de adenosina A_3 son expresados primariamente en el sistema nervioso central, los testículos, el sistema inmune y parecen estar involucrados en la modulación de la liberación mediadora de células mástil en la reacción hipersensitiva inmediata.

Los antagonistas A_3 publicados hasta ahora en la literatura pertenecen a los grupos de flavonoides, derivados de 1,4-dihidropiridina, trizoloquinazolinás, tiazolonaftiridinas y tiazolopirimidinas. La presente invención se relaciona con un tipo novedoso de antagonista A_3 efectivo, que tiene la estructura aminoquilonina.

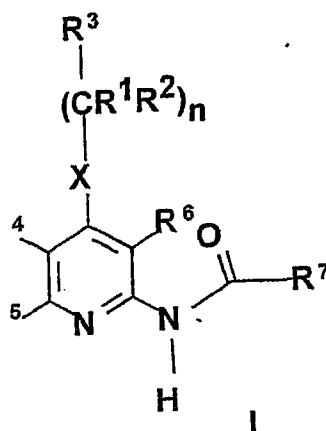
Para uso terapéutico es esencial asegurar que la molécula no se una, o se una solamente en el caso de una concentración muy alta a los subtipos A_1 , A_{2a} y A_{2b} del receptor de adenosina. Nuestra presente invención se relaciona con los compuestos de la fórmula general (I)

394
394

así como también sus sales, solvatos e isómeros que tienen gran selectividad para el subtipo A₃ del receptor de adenosina.

Nuestro objetivo fue preparar ligandos A₃ primero que todo con la estructura quinolína, y dentro de aquellos preferiblemente antagonistas, que tienen un fuerte efecto antagonista y muestran alta selectividad para el receptor A₃, es decir, ellos inhiben el receptor A₃ en mucha menor concentración que lo que ellos inhiben los receptores A₁, A_{2a} y A_{2b}. Objetivos adicionales fueron tener estabilidad, biodisponibilidad, índice terapéutico y datos de toxicidad que hagan posible el desarrollo de nuevos compuestos en sustancias de droga y que debido a su absorción enteral favorable los compuestos se pueden aplicar oralmente.

Hemos encontrado que los compuestos de la fórmula general (I) -



en donde

R¹ representa átomo de hidrogeno o grupo alquilo C₁₋₄ recto o ramificado;

R^2 representa átomo de hidrogeno o grupo alquilo C_{1-4} recto o ramificado;

R^3 representa átomo de hidrogeno o un grupo alquilo C_{1-4} recto o ramificado, o un grupo fenilo, grupo tienilo, o grupo furilo, opcionalmente sustituido mediante uno o más grupos alquilos C_{1-4} rectos o ramificados, grupo alcoxi C_{1-4} recto o ramificado, o átomo de halógeno, o para un anillo heteroaromático de 5 o 6 miembros que contienen uno, dos o tres átomos de nitrógeno o un átomo de hidrogeno y un átomo de oxígeno o un átomo de nitrógeno y un átomo de azufre-

Opcionalmente sustituido mediante uno o más grupos alquilo C_{1-4} recto o ramificado, grupos alcoxi C_{1-4} rectos o ramificados, o átomo de halógeno;

R^4 y R^5 forman en conjunto un grupo 1,3-butadienilo, opcionalmente sustituido mediante un grupo metilenedioxi o uno o más grupos alquilo C_{1-4} rectos o ramificados, grupo alcoxi C_{1-4} recto o ramificado, grupo hidroxí o átomo de halógeno.

R⁶ representa átomo de hidrogeno o grupo ciano, un grupo aminocarbonilo, un grupo alcoxycarbonilo C₁₋₄ o un grupo a carboxi;

R⁷ representa átomo de hidrogeno o un grupo alquilo C₁₋₄ recto o ramificado, o un grupo fenilo, grupo benzilo, grupo tienilo, o grupo furilo, opcionalmente sustituido mediante un grupos metilenedioxi o uno o más grupos alquilo C₁₋₄ recto o ramificado, grupo alcoxi C₁₋₄ recto o ramificado, grupo hidroxí, grupo difluorometilo, grupo ciano o átomo de halógeno, o para un anillo heteroaromático de 5 o 6 miembros - que contienen uno, dos o tres átomos de nitrógeno o un átomo de hidrogeno y un átomo de oxígeno o un átomo de nitrógeno y un átomo de azufre-

Opcionalmente sustituido mediante uno o más grupos alquilo C₁₋₄ recto o ramificado, grupos alcoxis C₁₋₄ rectos o ramificados, o átomo de halógeno,

X representa un grupo -CH₂-, grupo -NH-, grupo -NR⁸-, o un átomo de azufre o un átomo de oxígeno o un grupo sulfo o un grupo sulfoxi- en donde R⁸ representa un grupo alquilo C₁₋₄ recto o ramificado o un grupo cicloalquilo C₃₋

n representa cero, 1 o 2- y su sales, solvatos e isómeros y las sales , solvatos de los últimos, llenan los criterios anteriores.

Los significados detallados de los sustituyentes anteriormente listados son como sigue:

Mediante un grupo alquilo C_{1-4} recto o ramificado nosotros significamos metilo-, etilo-, propilo-, isopropilo-, butilo-, isobutilo-, butilo secundario-, butilo terciario-, preferiblemente etilo- o grupo metilo.

Mediante un grupo alcoxi C_{1-4} recto o ramificado nosotros significamos metoxi-, etoxi-, propoxi-, isopropoxi-, butoxi-, isobutoxi-, butoxi secundario-, butoxi terciario-, preferiblemente etoxi- o grupo metoxi.

Mediante un grupo cicloalquilo C_{3-6} nosotros significamos ciclopropil-, ciclobutil-, ciclopentil- o el grupo ciclohexilo.

Mediante el grupo 1,3-butadienil- nosotros significamos un grupo $(-CH=CH-CH=CH-)$ es decir el anillo

de piridina sustituido mediante los sustituyentes R^4 y R^5 significan un anillo de benzopiridina o mediante su nombre trivial un anillo de quinolina.

El anillo heteroaromático que contiene uno o dos o tres átomos de nitrógeno significan pirrol, imidazol, pirazol, 1,2,3-triazol, 1,2,4-triazol, piridina, pirimidina, piridazina, pirazina y 1,3,4-triazina. El anillo es opcionalmente sustituido mediante alquilo C_{1-4} , o grupo alcoxi o mediante un átomo de halógeno.

El anillo heteroaromático que contiene uno átomo de nitrógeno y un átomo de oxígeno o azufre significa el oxazol, isoxazol, tiazol o anillo de isotiazol. El anillo es opcionalmente sustituido mediante alquilo C_{1-4} , o grupo alcoxi o mediante un átomo de halógeno.

Las sales y los compuestos de fórmula general (I) significan sales dadas con ácidos y bases inorgánicas u orgánicas. Las sales preferidas son aquellas dadas con ácidos farmacéuticamente aceptados como por ejemplo ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido etanosulfónico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido málico,

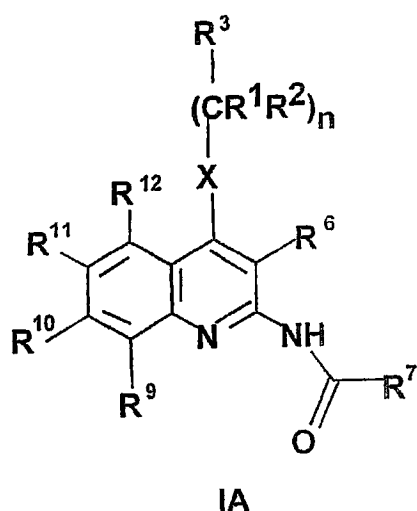
399
399

ácido cítrico, y bases, como por ejemplo hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, etanolamina.

Los sulfatos significan solvatos dados con varios solventes, como por ejemplo con agua o etanol.

Los compuestos para la fórmula general (I) muestran isómeros geométricos y ópticos, por lo tanto la invención también se relaciona con mezclas de los isómeros geométricos, con isómeros geométricos racémicos u óptimamente activos, así como también con sus sales y solvatos.

Un grupo favorable de los compuestos de la fórmula general (I) es el formado por los compuestos de la fórmula general (IA),



en donde

R^1 representa átomo de hidrogeno o un grupo alquilo C_{1-4} recto o ramificado;

R^2 representa átomo de hidrogeno o un grupo alquilo C_{1-4} recto o ramificado;

400
400

R^3 representa átomo de hidrogeno o un grupo alquilo C_{1-4} recto o ramificado, o un grupo fenilo, grupo tienilo, grupo furilo, opcionalmente sustituido mediante un o más grupos alquilos C_{1-4} rectos o ramificados, grupo alcoxi C_{1-4} recto o ramificado, o átomo de halógeno, o por anillo heteraromático de 5 o 6 miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno o un átomo de nitrógeno y un átomo de oxígeno o un átomo de nitrógeno y un átomo de azufre- opcionalmente sustituido mediante uno o más grupos alquilo C_{1-4} rectos o ramificados, grupo alcoxi C_{1-4} recto o ramificado, o átomo de halógeno;

R^9 , R^{10} , R^{11} y R^{12} independientemente significan átomo de hidrogeno o grupo alquilo C_{1-4} recto o ramificado, o grupo alcoxi C_{1-4} recto o ramificado, o grupo hidroxilo o átomo de halógeno, o

R^9 , y R^{12} representan átomo de hidrogeno y R^{10} y R^{11} forman juntos un grupo metilenedioxi;

R^6 representan átomo de hidrogeno o grupo ciano, grupo aminocarbonilo, grupo alcóxicarbonilo C_{1-4} , o grupo carboxi;

R^7 representan átomo de hidrogeno o grupo alquilo C_{1-4} recto o ramificado, un grupo fenilo, grupo benzilo, grupo tienilo, grupo furilo, opcionalmente sustituido mediante un grupo metilenedioxi, o uno o más grupos alquilo C_{1-4} recto o ramificados, grupo alcoxi C_{1-4} recto o ramificado, grupo hidroxilo, grupo trifluorometilo, grupo ciano o átomo de halógeno, o un anillo heteroaromático de 5 6 miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno o un átomo de nitrógeno y un átomo de oxígeno o un átomo de nitrógeno y un átomo de azufre- opcionalmente sustituido mediante uno o más grupos alquilo C_{1-4} rectos o ramificados, grupo alcoxi C_{1-4} recto o ramificado, o átomo de halógeno,

X representa un grupo $-CH_2-$, grupo $-NH-$, grupo $-NR^8-$, o un átomo de azufre o un átomo de oxígeno o un grupo sulfo o un grupo sulfoxi- en donde R^8 representa un grupo alquilo C_{1-4} recto o ramificado o un grupo cicloalquilo C_3-6- ;

n representa cero, 1 o 2- y su sales, solvatos e isómeros y las sales, solvatos de estos.

Un grupo favorable de los compuestos de la fórmula general (IA) es el formado por los compuestos en donde

R^1 representa átomo de hidrogeno, o un grupo metilo;

R^2 representa átomo de hidrogeno, o un grupo metilo;

R^3 representa grupo fenil- o tienil- o furilo;

R^9 , R^{10} , R^{11} , y R^{12} independientemente significan átomo de hidrogeno o grupo alquilo C_{1-4} recto o ramificado, o grupo alcoxi C_{1-4} recto o ramificado, o grupo hidroxil o átomo de halógeno, o

R^9 , y R^{12} representan átomo de hidrogeno y R^{10} y R^{11} forman juntos un grupo metilenedioxi;

R^6 representan átomo de hidrogeno, o grupo ciano;

R^7 representan 4-metoxifenil-, 3-metifenil-, 3-metoxifenil-, 3-tienil-, o el grupo 3-furil-,

X representa un grupo -NH-, o átomo de oxígeno

n representa 1-

y sus sales, solvatos, isómeros y las sales, solvatos de estos.

Especialmente favorable son los compuestos siguientes que cumplen con los criterios anteriores:

3-metil-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)
benzamida;

4-metoxi-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)
benzamida;

3-metoxi-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)
benzamida;

3,4-metilenedioxi-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-
2-il) benzamida;

N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il) tiofeno-2-
carboxamida;

~~404~~
404

N-(4[2-tienilmetilamino] -3-cianoquinolin-2-il)
tiofeno-3-carboxamida;

4-metoxi-N-(4-[2- tienilmetilamino] -3-
cianoquinolin-2-il) benzamida;

3,4-metilenedioxi-N-(4-[2- tienilmetilamino] -3-
cianoquinolin-2-il) benzamida;

N-(4[2-furilmetilamino]-3-cianoquinolin-2-il) furan-
2-carboxamida;

N-(4[2-furilmetilamino]-3-cianoquinolin-2-il)
tiofeno-3-carboxamida,

y sus sales, solvatos, isómeros y las sales, solvatos
de estos.

De acuerdo con otro de sus aspectos, la presente
invención también se relaciona con composiciones
farmacéuticas que contienen los principios activos de los
compuestos de fórmula general (I) o sus isómeros, sales y
solvatos, que son preferiblemente composiciones orales
pero inhalable, formulaciones parenterales y

406
yob

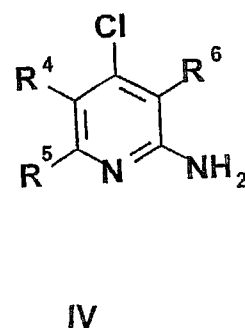
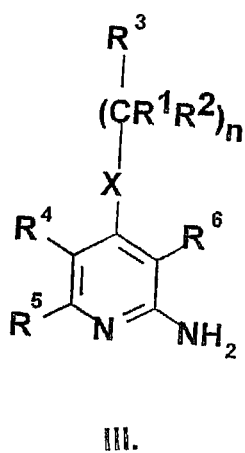
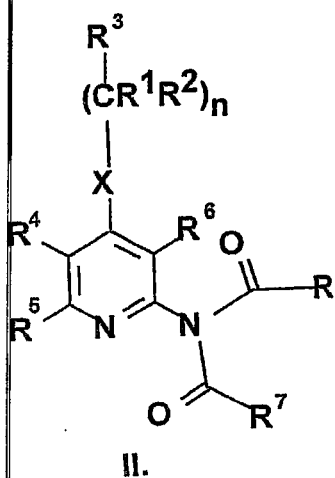
inhiben la liberación de $TNF\alpha$, inhibe la migración de eosinófilos, neutrófilos y otras células inmune, inhiben la broncoconstricción y la extravasación de plasma.

Con base en estos efectos, los antagonistas del receptor A3 de adenosina de la presente invención se puede utilizar terapéuticamente como antiinflamatorios, antiasmático, antiisquémicos, antidepresivos, antiaritmicos, protectores reales, antitumorales, drogas antiparquinson y mejoramiento cognitivo. También ellas pueden ser útiles en el tratamiento o prevención de daño por repercusión de miocardio, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) y síndrome de desetres respiratorio (ARDS) incluyendo bronquitis crónica, enfisema pulmonar o dispnea, reacciones alérgicas (por ejemplo rinitis, respuestas inducidas por hiedra venenosa, urticaria, escleroderma, artritis) otras enfermedades auto inmunes, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Addison, enfermedad de Crohn, soriasis, reumatismo, hipertensión, desordenes de la función neurológica, glaucoma y diabetes (K.N. Klotz, Naunyn-Schmiedberg's Arch.farmacol. 362:382,2000; P.G. Baraldi es P:A: Borea, TiPs 21:456,2000).

Los compuestos de la presente invención puede ser preferiblemente utilizados para el tratamiento de enfermedad tal como asma, COPD y ARDS, glaucoma, tumor, enfermedad alérgica e inflamatoria, isquemia, hipoxia, arritmia y enfermedades renales.

De acuerdo con otro de sus aspectos, la presente invención se relaciona con el uso de los compuestos de la fórmula general (I) en el tratamiento de las patologías anteriores. La dosis diaria sugerida es de 1-100 mg de ingrediente activo dependiendo de la naturaleza de la severidad de la enfermedad y del sexo, peso, etc. del paciente.

Un objeto adicional de la invención es la preparación de los compuestos de la fórmula general (I) y los intermedios de las fórmulas generales (II) (III) y (IV).



Los intermedios de las fórmulas generales (II), (III) y (IV) que son utilizados en el proceso de preparación de acuerdo con la invención, son novedosos. Los sustituyentes de las fórmulas generales (II), (III) y

(IV) tienen los significados como se definieron anteriormente.

En el proceso de acuerdo con nuestra invención la bis-carboxamida de la fórmula general (II) es selectivamente hidrolisada y el compuesto resultante a la fórmula general (I) es, si se desea, transformado en sus sales, solvatos o, liberado de su sal como solvato y separada en sus isómeros geométricos u ópticos.

Los sustituyentes de los compuestos de la fórmula general (I) se pueden transformar uno en el otro mediante métodos conocidos.

La hidrólisis selectiva se desarrolla al utilizar solución alcohólica, preferiblemente solución de hidróxido alcalino metanólico, preferiblemente soluciones de potasio y/o sodio, pero otros agentes que ayudan la hidrólisis de las amidas también se puedan utilizar.

La hidrólisis selectiva se puede llevar a cabo en un amplio rango de temperaturas favorablemente entre 20 °C - 100 °C.

Los compuestos de la fórmula general (II)-en donde los significados $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^8, X$ y n son como se definió anteriormente, se pueden obtener mediante varios métodos conocidos, entre ellos el demostrado en el esquema 1 (Figura 6), mediante la acilación del compuesto de fórmula (III), al utilizar un método de acilación conocido en la química orgánica. Para el agente de acilación preferiblemente cloruro de acilo, para el agente ácida trietilamina y/o piridina se pueden aplicar, pero también se puede utilizar otros agentes de unión ácida.

Los compuestos de la fórmula general (III)-en donde los significados $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^8, X$ y n son como se definió anteriormente, se pueden preparar de los compuestos de la fórmula (IV)- al utilizar métodos conocidos per se (Nan Zhang, Bioorg. y Med. Chem. Lett., 10, 2825, 2000).

Los compuestos de la fórmula general (IV)-en donde los significados R^4, R^5 y R^6 son como se definió anteriormente - se pueden preparar de los compuestos de la fórmula (V), al utilizar métodos conocidos per se (D.L: Leysen, J. Heterocyclic Chem., 24, 1611, 1987).

Los compuestos de la fórmula general (V)-en donde los significados R^4, R^5 y R^6 son como se definió anteriormente - se pueden preparar de los compuestos de la fórmula (VI), al utilizar métodos conocidos per se (Pfizer (Inc) USP 4, 175, 193).

Los compuestos de la invención de las fórmulas generales (I), (II), (III) y (IV), u preparación y su actividad biológica son demostrados en los siguientes ejemplos, sin limitar el alcance de las reivindicaciones a los ejemplos.

La figura 1 muestra la fórmula general (I), la figura 2 muestra la fórmula general (IA), la figura 3 muestra la fórmula general (II), la figura 4 muestra la fórmula general (III) y la figura 5 muestra la fórmula general (IV). La figura 6 muestra el esquema 1 la ruta de reacción para la preparación de los compuestos de la fórmula general (I).

Ejemplos 1

411
4113-Metil-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)benzamida:

En la fórmula general (I) R^1 y R^2 representa átomos de hidrogeno, R^3 representan grupo fenilo, R^4 y R^5 forman juntos un grupo 1,3-butadienilo, R^6 representa grupo ciano, R^7 representa un grupo 3-metilfenilo, el significado de X es el grupo -NH-, n es 1.

a) 2-Amino-3-ciano-4-cloroquinolina:

La mezcla 10 g de 2-amino-3-ciano-4-hidroxiquinilina y 15 ml de cloruro de fosforilo se calientan bajo agitación a 110 °C. la mezcla de reacción se enfría, se vierte sobre 100 ml de hielo-agua y se neutraliza con 60 ml de una solución de hidróxido de sodio al 10%. El precipitado amarillo resultante se filtra, se lava con 50 ml de agua. Después de secado 7,5 g del compuesto del título se obtienen, pf.: 210 °C.

NMR, δ_H (400 MHz, DMSO- d_6): 57,21 ppm, (s, 2H, NH_2), 7,35-7,40 ppm, (dd, 1H, 6-H), 7,53-7,57 ppm, (d, 1H, 5-

412
412

H), 7,70-7,75 ppm, (dd, 1H, 7-H), 7,93-7,98 ppm, (d, 1H, 8-H)

b) 2-Amino-3-ciano-4-benzilaminoquinolina

5 g de 2-amino-3-ciano-4-cloroquinolina y 11 ml de benzilamina son calentados bajo agitación a 130 °C. la mezcla de reacción se vierte sobre 50 ml de agua, el precipitado resultante se filtra, se lava con 50 ml de agua, el precipita amarillo pálido se recristaliza de metilformamida para obtener 5,2 g del compuesto del título.

NMR, δ_H (400 MHz, DMSO- d_6): 5,02-5,03 ppm, (d, 2H, N-CH₂), 6,22 ppm, (s, 2H, NH₂), 7,14-7,16 ppm, (dd, 1H, 6-H), 7,24-7,26 ppm, (dd, 1H, 5-H), 7,30 ppm, (s, 5H, Ph), 7,50-7,52 ppm, (dd, 1H, 7-H), 8,16-8,19 ppm, (d, 1H, 8-H), 8,30-8,33 ppm, (t, 1H, NH)

Utilizando 2-aminometilpiridina o 3-aminometilpiridina o 4-aminometilpiridina en lugar de benzilamina, los compuestos apropiados de la fórmula general III se pueden obtener.

413
413

c) 3-metil-N-(3-metilbenzoil)-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)benzamida:

A la solución 5 g de 2-amino-3-ciano-4-benzilaminoquinolina en 30 ml de piridina se gotean 6 ml de 3-metilbenzoil cloruro, bajo agitación a 0 °C. La mezcla de reacción se agita a 80 °C durante 8h, luego se vierten sobre 150 ml de hielo-agua, el precipitado resultante se filtra, se lava dos veces con 40 ml de agua, el material cristalino blanco resultante se recrystaliza de 200 ml de etanol para dar 9,2 g del compuesto del título, pf.: 234 °C.

Al utilizar cloruro de piridina-3-carbonilo como agente acilante, el compuesto apropiado de la fórmula general II se puede obtener.

d) 3-metil-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)benzamida

A la solución 5 g de 3-metil-N-(3-metilbenzoil)-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il) benzamida en 80 ml de acetonitrilo 20 ml de solución de hidróxido de

114
9/9

potasio metanólico 1N se agregan. La mezcla de reacción se refluje durante 3 minutos, luego 3 ml de ácido acético glacial se agregan a esta, luego se neutralizan con 50 ml de una solución de carbonato ácido de hidrogeno 1M y los cristales resultantes se filtran. El material cristalino blanco se recrystaliza de 130 ml de acetonitrilo para dar 3,1 g del compuesto del título de fórmula general (I). Pf.: 230 °C.

Ejemplo 2

4-metoxi-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)benzamida

En la fórmula general (I) el significado R^1 y R^2 es átomos de hidrogeno, R^3 es grupo fenilo, R^4 y R^5 significan juntos un grupo 1,3-butadienilo, R^6 representa grupo ciano, R^7 representa un grupo 4-metoxifenilo, el significado de X es el grupo -NH-, n es 1.

2-amino-3-ciano-4-benzilaminoquinilina, preparado como se describió en el ejemplo 1, se transforma con

415
415

cloruro de 4-metoxibenzoilo análogamente como se describió en el ejemplo 1, en 4-metoxi-N-(4-metoxibenzoil)-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)benzamida, el cual después de hidrólisis selectiva, mediante el método descrito en el ejemplo 1, da como resultado el compuesto del título de fórmula general (I). El punto de fusión del compuesto del título: 188 °C.

La sal de sodio del compuesto del título se prepara mediante el siguiente método:

4-metoxi-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)benzamida se disuelve en metanol y una cantidad equivalente de hidróxido de sodio en metanol se agrega a esta. El material cristalino blanco precipitado se filtra. Pf. 255 °C.

Sal de etanosulfonato del compuesto del título se prepara del siguiente método:

4-metoxi-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)benzamida se disuelve en metanol y cantidad equivalente de ácido etanosulfónico se agrega a esta.

416

El material cristalino blanco resultado se filtra.

Pf.: 223 °C.

Ejemplo 3

3-metoxi-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)benzamida

En la fórmula general (I) el significado R^1 y R^2 es átomos de hidrogeno, R^3 es grupo fenilo, R^4 y R^5 significan juntos un grupo 1,3-butadienilo, R^6 significa grupo ciano, R^7 significa un grupo 3-metoxifenilo, el significado de X es el grupo -NH-, n es 1.

2-amino-3-ciano-4-benzilaminoquinolina, preparado como se describió en el ejemplo 1, se transforma con cloruro de 3-metoxibenzoilo análogamente como se describió en el ejemplo 1, en 3-metoxi-N-(3-metoxibenzoil)-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)benzamida, el cual después de hidrólisis selectiva, mediante el método descrito en el ejemplo 1, da como resultado el compuesto del título de fórmula general

4/7
4/7

(I). El punto de fusión del compuesto del título: 186 °C.

Ejemplo 4

3,4-metilenedioxy-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)benzamida

En la fórmula general (I) el significado R^1 y R^2 es átomos de hidrogeno, R^3 es grupo fenilo, R^4 y R^5 significan juntos un grupo 1,3-butadienilo, R^6 significa grupo ciano, R^7 significa un grupo 3,4-metilenedioxifenilo, el significado de X es el grupo -NH-, n es 1.

2-amino-3-ciano-4-benzilaminoquinolina, preparado como se describió en el ejemplo 1, se transforma con cloruro de 4-metoxibenzoilo análogamente como se describió en el ejemplo 1, en 3-metilenedioxi-N-(3,4-metilenedioxibenzoilo)-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)benzamida, el cual después de hidrólisis selectiva, mediante el método descrito en el ejemplo 1; da como resultado el compuesto del

título de fórmula general (I). El punto de fusión del compuesto del título: 231 °C.

Ejemplo 5

N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)tiofeno-2-carboxamida

En la fórmula general (I) el significado R^1 y R^2 es átomos de hidrogeno, R^3 es grupo fenilo, R^4 y R^5 significan juntos un grupo 1,3-butadienilo, R^6 significa grupo ciano, R^7 significa un grupo 2-tienilo, el significado de X es el grupo -NH-, n es 1.

2-amino-3-ciano-4-benzilaminoquinolina, preparado como se describió en el ejemplo 1, se transforma con cloruro de tiofeno-2-carbonilo, análogamente como se describió en el ejemplo 1, en N-(2-tiofenocarbonil)-N-(4-benzilamino-3-cianoquinolin-2-il)tiofeno-2-carboxamida, el cual después de hidrólisis selectiva, mediante el método descrito en el ejemplo 1; da como resultado el compuesto del título de fórmula general

(I). El punto de fusión del compuesto del título: 197 °C.

Ejemplo 6

N-(4-[2-tienilmetilamino]-3-cianoquinolin-2-il) tiofeno-3-carboxamida

En la fórmula general (I) el significado R^1 y R^2 es átomos de hidrogeno, R^3 es grupo 2-tienilo, R^4 y R^5 significan juntos un grupo 1,3-butadienilo, R^6 significa grupo ciano, R^7 significa un grupo 3-tienilo, el significado de X es el grupo -NH-, n es 1.

a) 2-amino-3-ciano-4-(2-tienilmetilamino)quinolina

5 g de 2-amino-3-ciano-4-cloroquinolina preparada como se describió en el ejemplo 1 se agitan con 11 ml de 2-tienilmetilamino a 130 °C durante 3h. La mezcla de reacción se vierte sobre 50 ml de agua el precipitado resultante se filtra, se lava con 50 ml de agua. El material amarillo pálido se recrystaliza de

420
425

25 ml de etanol para obtener 5,2 g del compuesto del título se obtienen, pf.: 208 °C.

La 2-amino-3-ciano-4-(2-tienilmetilamino)quinolina preparada como se describió anteriormente se transforma con cloruro de tiofeno-3-carbonilo, análogamente como se describió en el ejemplo 1, en N-(3-tiofenocarbonil)-N-(4-[2-tienilmetilamino]-3-cianoquinolin-2-il)tiofeno-3-carboxamida, el cual después de hidrólisis selectiva, mediante el método descrito en el ejemplo 1; da como resultado el compuesto del título de fórmula general (I). El punto de fusión del compuesto del título: 223 °C.

Ejemplo 7

4-metoxi-N-(4-[2-tienilmetilamino]-3-cianoquinolin-2-il)benzamida

En la fórmula general (I) el significado R^1 y R^2 es átomos de hidrogeno, R^3 es grupo 2-tienilo, R^4 y R^5 significan juntos un grupo 1,3-butadienilo, R^6 significa grupo ciano, R^7 significa un grupo 4-

422
422

2-amino-3-ciano-4-(2-tienilmetilamino)quinolina preparada como se describió en el ejemplo 6, transforma con cloruro de 3,4-metilenedioxibenzoilo en 3,4-metilenedioxi-N-(3,4-metetilenedioxibenzoilo)-N-(4-[2-tienilmetilamino]-3-cianoquinolin-2-il)benzamida, mediante el método descrito en el ejemplo 1, el cual después de hidrólisis selectiva da el compuesto del título de fórmula general (I). El punto de fusión del compuesto del título: 241 °C.

Ejemplo 9

N-(4-[2-furilmetilamino]-3-cianoquinolin-2-il) furan-2-carboxamida

En la fórmula general (I) el significado R^1 y R^2 es átomos de hidrogeno, R^3 es grupo 2-furilo, R^4 y R^5 significan juntos un grupo 1,3-butadienilo, R^6 significa grupo ciano, R^7 significa un grupo 2-furilo, el significado de X es el grupo -NH-, n es 1.

a) 2-amino-3-ciano-4-(2-furilmetilamino)quinolina

423.
423

5 g de 2-amino-3-ciano-4-cloroquinolina preparada como se describió en el ejemplo 1 se agitan con 1 ml de 2-furilmetilamina (furfurilamina) a 130 °C durante 3h. La mezcla de reacción se vierte sobre 50 ml de agua, el precipitado resultante se filtra, se lava con 50 ml de agua. El material amarillo pálido se recristaliza de 20 ml de etanol para obtener 4,8 g del compuesto del título, pf.: 208 °C.

La 2-amino-3-ciano-4-(2-furimetilamino)quinolina preparada como se describió anteriormente se transforma con cloruro de furan-2-carbonilo, mediante el método descrito en el ejemplo 1, N-(2-furancarbonil)-N-(4-[2-furilmetilamino]-3-cianoquinolin-2-il)furan-2-carboxamida, el cual después de hidrólisis selectiva, da como resultado el compuesto del título de fórmula general (I). El punto de fusión del compuesto del título: 196 °C.

Ejemplo 10

N-(4-[2-furilmetilamino]-3-cianoquinolin-2-il)tiofeno-3-carboxamida

429
429

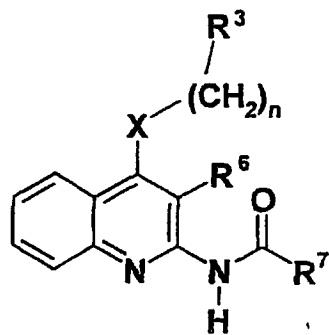
En la fórmula general (I) el significado R^1 y R^2 es átomos de hidrogeno, R^3 es grupo 2-furilo, R^4 y R^5 significan juntos un grupo 1,3-butadienilo, R^6 significa grupo ciano, R^7 significa un grupo 3-tienilo, el significado de X es el grupo -NH-, n es 1.

1. La 2-amino-3-ciano-4-(2-furimetilamino)quinolina preparada análogamente como se describió en el ejemplo 6, se transforma con cloruro de tiofeno-3-carbonilo, mediante el método descrito en el ejemplo 1. En N-(3-tiofenocarbonil)-N-(4-[2-furilmetilamino]-3-cianoquinolin-2-il)tiofeno-3-carboxamida, el cual después de hidrólisis selectiva, desarrollada análogamente como se describió en el ejemplo 1 da el compuesto del título de fórmula general (I). El punto de fusión del compuesto del título: 118 °C.

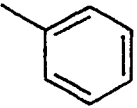
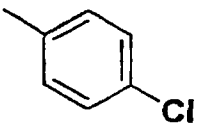
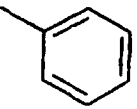
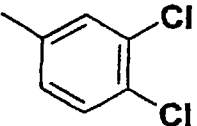
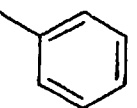
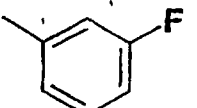
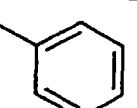
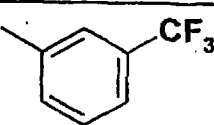
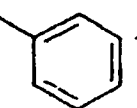
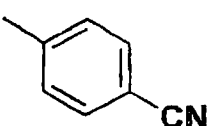
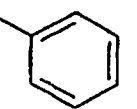
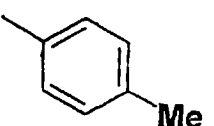
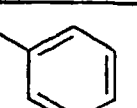
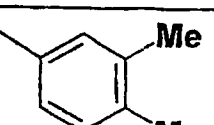
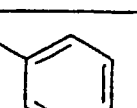
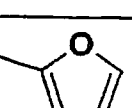
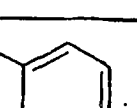
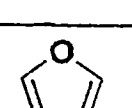
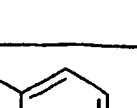
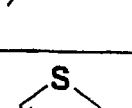
La estructura y las características físicas de los compuestos adicionales de la fórmula general (I) preparado por el método descrito en el ejemplo 1, son mostrados en las tablas I y II.

425
425

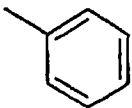
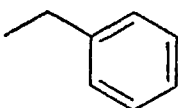
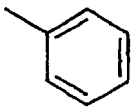
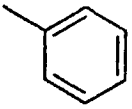
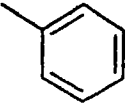
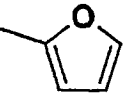
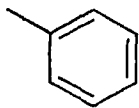
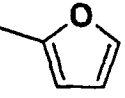
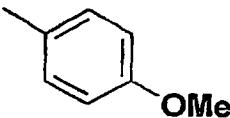
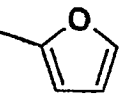
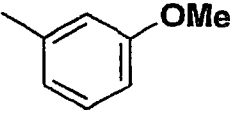
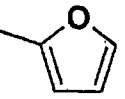
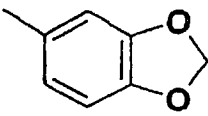
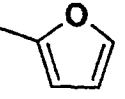
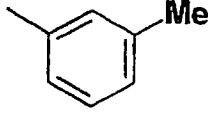
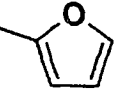
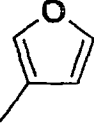
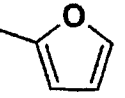
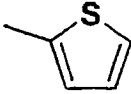
TABLA I

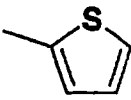
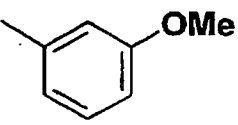
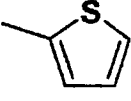
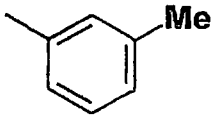
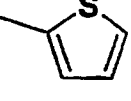
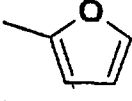
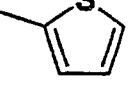
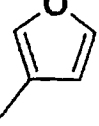
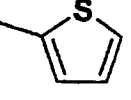
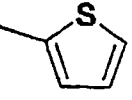
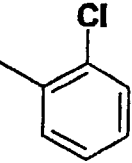
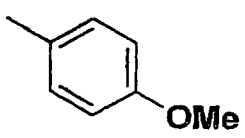
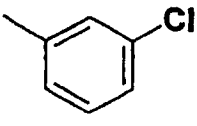
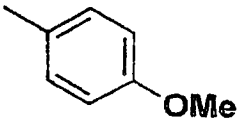
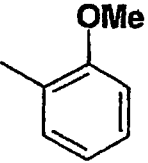
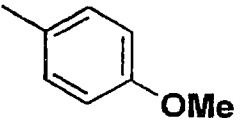
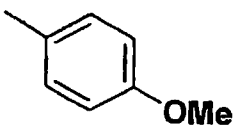
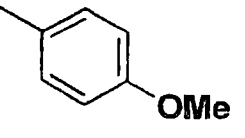
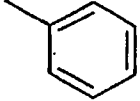
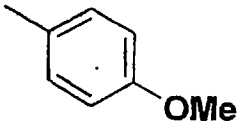


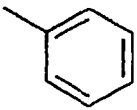
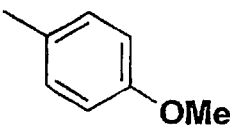
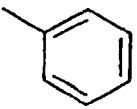
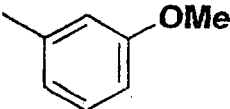
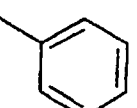
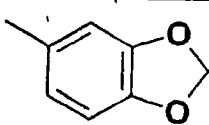
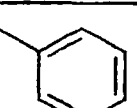
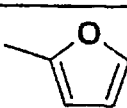
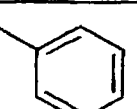
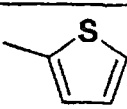
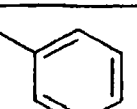
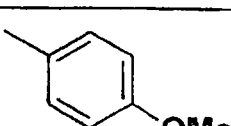
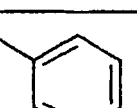
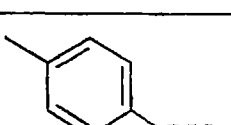
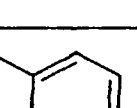
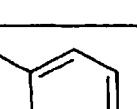
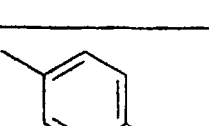
No.:	X	R ³	R ⁶	R ⁷	n	Mp [°C]
11.	NH		CN		1	237
12.	NH		CN		1	128
13.	NH		CN		1	116
14.	NH		CN		1	100,5
15.	NH		CN		1	223

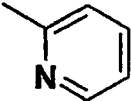
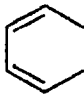
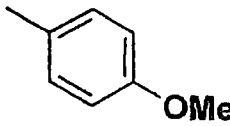
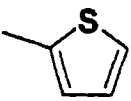
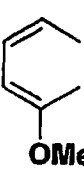
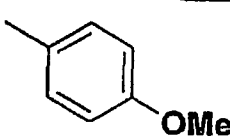
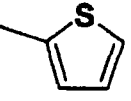
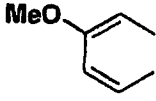
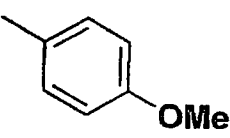
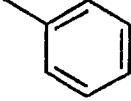
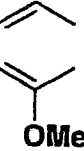
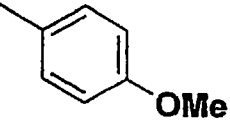
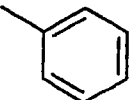
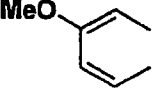
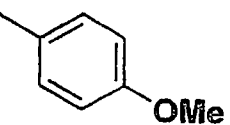
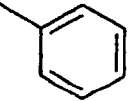
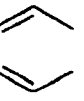
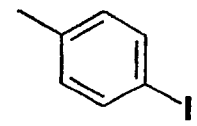
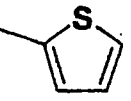
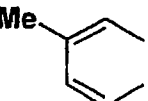
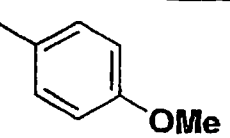
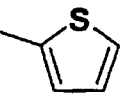
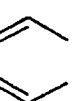
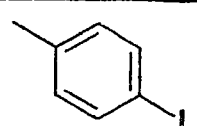
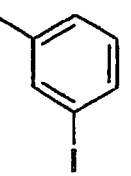
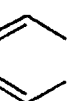
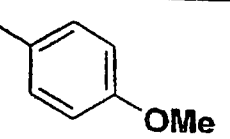
16.	NH		CN		1	193,5
17.	NH		CN		1	193
18.	NH		CN		1	208
19.	NH		CN		1	215
20.	NH		CN		1	250
21.	NH		CN		1	205
22.	NH		CN		1	238
23.	NH		CN		1	212
24.	NH		CN		1	215
25.	NH		CN		1	234

427
427

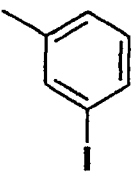
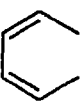
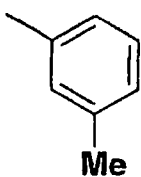
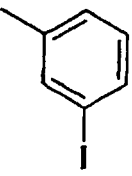
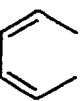
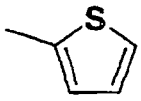
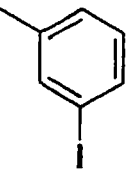
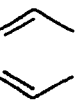
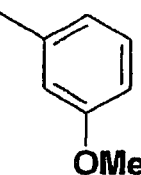
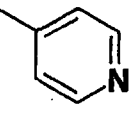
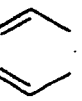
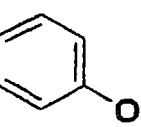
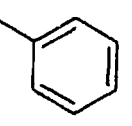
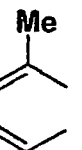
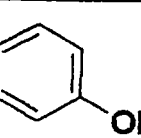
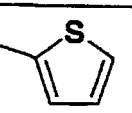
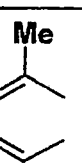
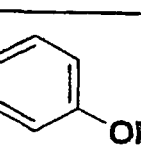
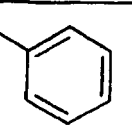
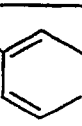
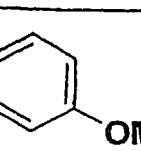
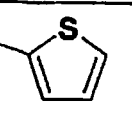
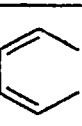
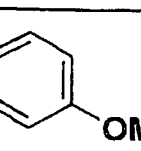
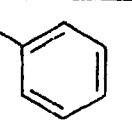
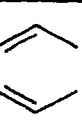
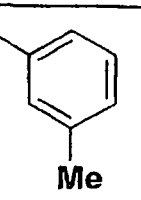
26.	NH		CN		1	160,5
27.	NH		CN	—Me	1	184
28.	NH		CN		1	141,5
29.	NH		CN		1	194
30.	NH		CN		1	203
31.	NH		CN		1	152
32.	NH		CN		1	190
33.	NH		CN		1	202
34.	NH		CN		1	207
35.	NH		CN		1	159
36.	NH		CN		1	200

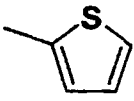
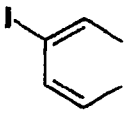
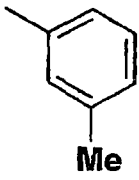
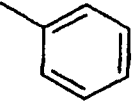
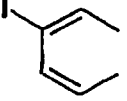
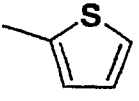
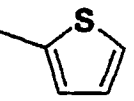
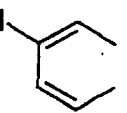
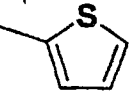
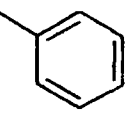
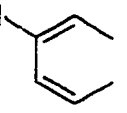
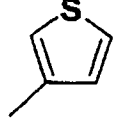
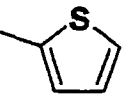
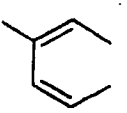
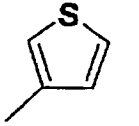
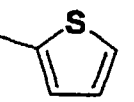
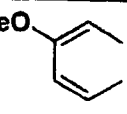
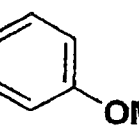
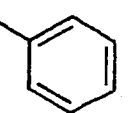
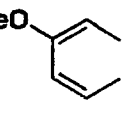
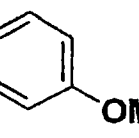
37.	NH		CN		1	206
38.	NH		CN		1	221
39.	NH		CN		1	198
40.	NH		CN		1	158
41.	NH		CN		1	178
42.	NH		CN		1	198,5
43.	NH		CN		1	197,5
44.	NH		CN		1	191
45.	NH		CN		1	168,5
46.	N-Me		CN		1	155

47.	NH		H		1	172
48.	NH		H		1	250
49.	NH		H		1	264
50.	NH		H		1	265
51.	NH		H		1	163
52.	O		CN		1	157
53.	S		CN		1	196
54.	S=O		CN		1	205
55.	NH	H	CN		0	266
56.	NH		CN		1	154

72.	H	H				237
73.	H	H				275
74.	H	H				245
75.	H	H				247
76.	H	H				222
77.	H	H				218
78.	H	H				214
79.	H	H				252
80.	H	H				178

433
433

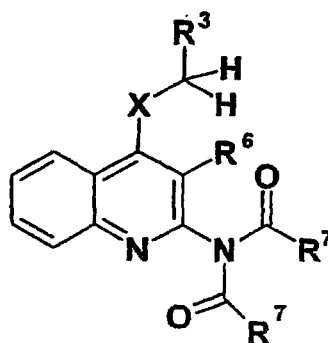
81.	H	H				173
82.	H	H				212
83.	H	H				184
84.	H	H				150
85.	H	H				195
86.	H	H				171
87.	H	H				217
88.	H	H				149
89.	H	H				135

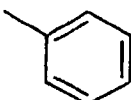
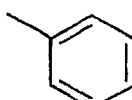
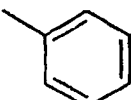
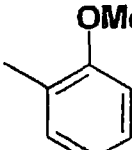
90.	H	H				127
91.	H	H				257
92.	H	H				260
93.	H	H				153
94.	H	H				145
95.	H	H				214
96.	H	H				183

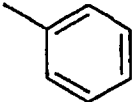
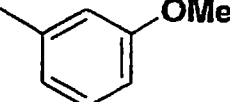
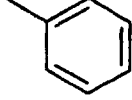
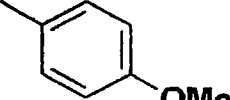
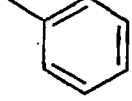
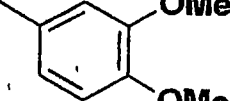
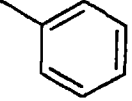
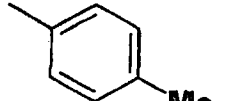
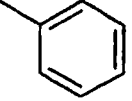
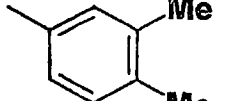
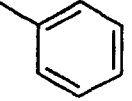
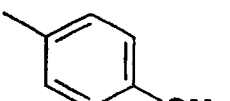
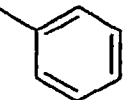
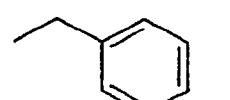
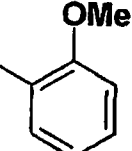
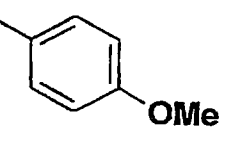
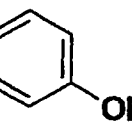
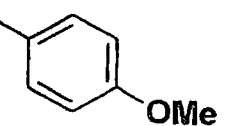
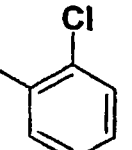
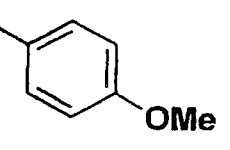
435
435

La estructura y las características físicas de los intermedios de la fórmula general (II) preparados por el método descrito en el Ejemplo 1. Se muestran en la Tabla III.

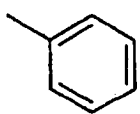
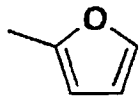
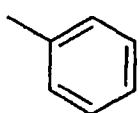
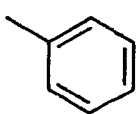
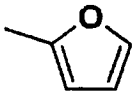
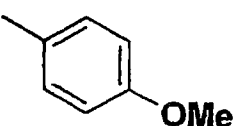
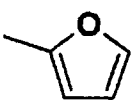
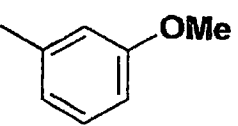
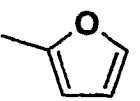
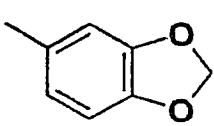
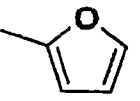
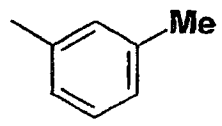
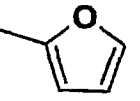
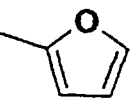
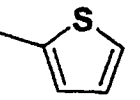
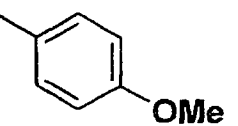
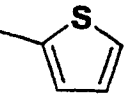
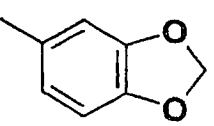
Tabla III



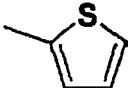
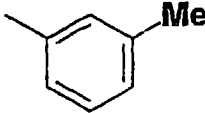
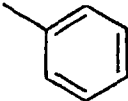
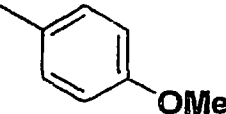
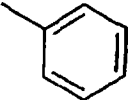
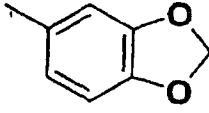
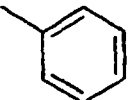
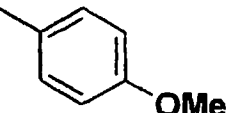
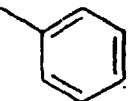
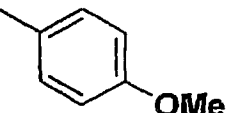
No.:	X	R ³	R ⁶	R ⁷	Mp [°C]
97	NH		CN		213
98	NH		CN		208

99	NH		CN		178s
100	NH		CN		158
101	NH		CN		210
102	NH		CN		223
103	NH		CN		224
104	NH		CN		212
105	NH		CN		198
106	NH		CN		208
107	NH		CN		168
108	NH		CN		168

437
437

109	NH		CN		225
110	NH		CN	Me	152
111	NH		CN	Et	192
112	NH		CN		177
113	NH		CN		169
114	NH		CN		151
115	NH		CN		218
116	NH		CN		194
117	NH		CN		188
118	NH		CN		179

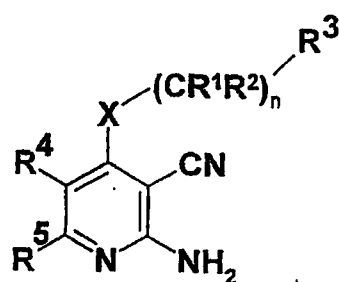
438
438

119	NH		CN		239
120	NH		H		162
121	NH		H		262
122	S		CN		170
123	$\text{O}=\text{S}=\text{O}$		CN		228

La estructura y las características físicas de los intermedios de la fórmula general (III) y (IIIa) preparados mediante el método descrito en el ejemplo 1. Se muestran en la tabla IV.

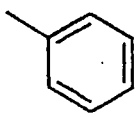
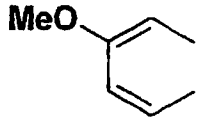
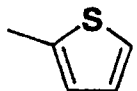
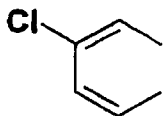
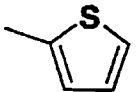
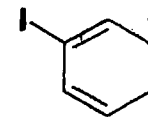
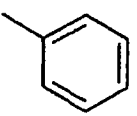
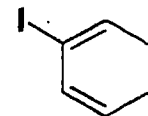
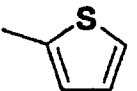
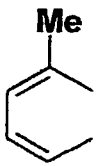
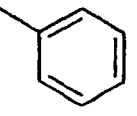
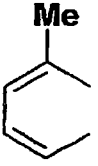
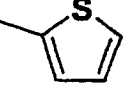
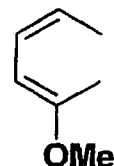
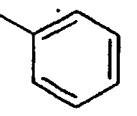
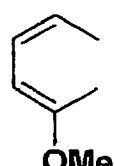
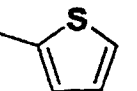
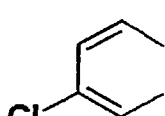
439
939

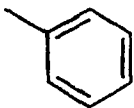
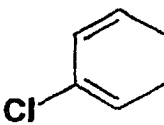
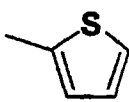
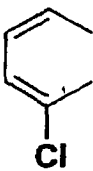
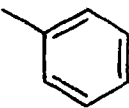
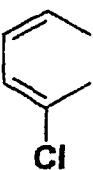
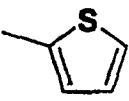
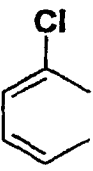
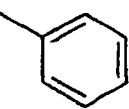
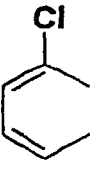
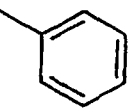
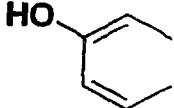
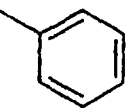
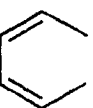
Tabla IV



No.:	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	X	n	Mp [°C]
124	H	H				NH	1	192
125	H	H				NH	1	202
126	H	H				NH	1	250
127	H	H				NH	1	167
128	H					NH	1	183
129	H					NH	1	182

441
491

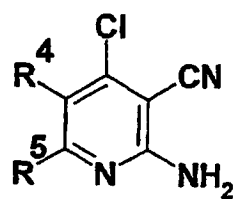
140	H	H			NH	1	201
141	H	H			NH	1	213
142	H	H			NH	1	198
143	H	H			NH	1	201
144	H	H			NH	1	167
145	H	H			NH	1	156
146	H	H			NH	1	187
147	H	H			NH	1	178
148	H	H			NH	1	207

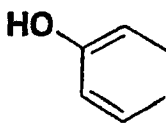
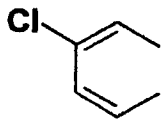
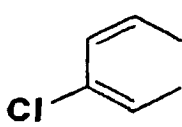
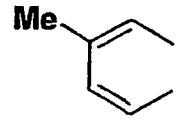
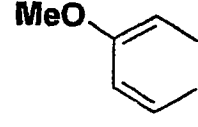
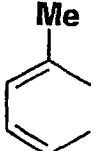
149	H	H			NH	1	217
150	H	H			NH	1	204
151	H	H			NH	1	216
152	H	H			NH	1	205
153	H	H			NH	1	213
154	H	H			NH	1	200
155					NH	0	214

Estructura y características físicas de los intermedios de la fórmula general (V) preparados mediante el método descrito en el ejemplo 1, se muestran en la tabla V.

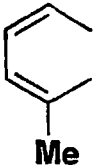
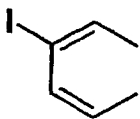
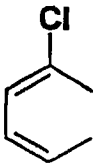
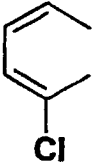
4A3
4A3

TABLA V



No:	R^4	R^5	Mp [$^{\circ}\text{C}$]
156			360
157			250
158			278
159			283
160			360
161			234
162			246

~~444~~
447

164		267
163		293
165		289
166		307

445
445

Ejemplo 167.

Las tabletas de la siguiente composición son hechas mediante métodos conocidos utilizados en la industria farmacéutica

Ingrediente Activo	25 mg
Lactosa	50 mg
Avicel	21 mg
Crospovidona	3 mg
Estearato de magnesio	1 mg

Biología

Métodos

Unión de receptor de A₃ adenosina humano

Preparación de suspensión de membrana: recolectar células CHO que expresan receptores hA3 al lavar tres veces con hielo PBS frío, centrifuga a 1000 x g 10 min, homogenizar durante 15 sec en amortiguador (50 mM Tris, 10 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, pH 8.09), centrifuga a 43.000 x g durante 10 min (Sigma 3K30), suspender la

1446
996

preparación de membrana en amortiguador mencionado anteriormente, almacenar las alícuotas a -80 C.

Protocolo de unión: incubar la preparación de membrana CHO-hA₃ (contenido de proteína 2 µg) en amortiguador de incubación (50mM Tris, 10 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, 3 U/mL adenosina deaminasa, pH 8.0), en la presencia de 0,5 nM [¹²⁵]AB-MECA (p-amino-benzilo-metilcarboxamido-adenosina) (100.000 cpm) y 100 µM R-PIA (N⁶-[L-2-fenilisopropil]adenosina) para definir una unión no específica o un compuesto de ensayo en un volumen total de 50 µL durante 1 hr a temperatura ambiente. Filtrar sobre filtros de fibra de vidrio Whatman GF/B (preempapado en 0,5% de polietilenimina durante 3 horas), lavar 4x con 1 mL de hielo- 50 mM de Tris frío, 10 mM MgCl₂, 1 mM EDTA (pH 8.0) sobre un cosechador de celda Brandel de 96 posos. Detección de actividad: en contador gama (1470 Wizard, Wallac).
Inhibición [%] = $100 - \left(\frac{\text{actividad en la presencia del compuesto de ensayo} - \text{actividad no específica}}{\text{actividad total} - \text{actividad no específica}} \right) * 100$

447
447

Unión de receptor A₁ de adenosina humana

Preparación de suspensión de membrana: recolectar células CHO que expresan receptores hA₁ al lavar tres veces con hielo PBS frío, centrifuga a 1000 x g 10 min, homogenizar durante 15 sec en amortiguador (50 mM Tris, pH 7,4), centrifuga a 43.000 x g durante 10 min (Sigma 3K30), suspender la preparación de membrana en amortiguador mencionado anteriormente, almacenar las alícuotas a -80 C.

Protocolo de unión: incubar la preparación de membrana CHO-hA₁ (contenido de proteína 50 µg) en amortiguador de incubación (50 mM Tris, 3 U/mL de adenosina deaminasa, pH 7.4), 10 nM [³H]CCPA (2-cloro-N⁶-ciclofenil-adenosina)

(80.000 dpm) y 10 µM R-PIA (N⁶-[L-2-fenilisopropil] adenosina) para definir el compuesto de unión de ensayo no específica en un volumen total de 100 µL durante 3 hr a temperatura ambiente de cuarto. Filtrar sobre filtros de fibra de vidrio Whatman GF/B (preempapados en 0,5% de polietilenimina durante 3 horas), lavar 4x con 1 mL de hielo- 50 mM de

448
448

Tris frío, (pH 7,4) sobre un cosechador de celda Brandel de 96 posos. Detección de actividad: en

un plato de 96 posos en la presencia de un cóctel HiSafe-3 en un contador beta (1450 Microbeta, Wallac).
 Inhibición [%] = $100 - \left(\frac{\text{actividad en la presencia del compuesto de ensayo} - \text{actividad no especifica}}{\text{actividad total} - \text{actividad no especifica}} \right) * 100$

Unión de receptor A_{2a} de adenosina humana

Protocolo de unión: incubar 7 µg de membranas (receptores de adenosina A_{2a} humano tranfectada en HEK-293, fuente: Receptor Biology, Inc), amortiguador (50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, 2 U/mL de adenosina deaminasa, pH 7,4), 20 nM [³H]CGS-21680 (2-[p-(2-carboniletil)feniletilamino]-5'-N-etilcarboxamido-adenosina) (200.000 dpm) y 50 µM NECA (5'-N-etilcarboxamido-adenosina) para definir la unión no especifica o compuesto de ensayo en un volumen total de 100 µL durante 90 min a temperatura ambiente de cuarto. Filtrar sobre filtros de fibra de vidrio Whatman GF/B (preempapados en 0,5% de

AA
7H

polietilenimina), lavar 4x con 1 mL de hielo- 50 mM de Tris frío, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EDTA, 0,9% NaCl, pH 7,4 sobre un cosechador de celda Brandel de 96 posos. Detección de actividad: en un plato de 96 posos en la presencia de un cóctel HiSafe-3 en un contador beta (1450 Microbeta, Wallac). Inhibición [%] = $100 - ((\text{actividad en la presencia del compuesto de ensayo} - \text{actividad no especifica}) / (\text{actividad total} - \text{actividad no especifica})) * 100$

Unión de receptor A_{2b} de adenosina humana

Protocolo de unión: incubar 20,8 μg de membranas (receptores de adenosina A_{2b} humano transfectadas en células HEK-293, fuente: Receptor Biology, Inc), amortiguador (50 mM Tris-HCl, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EDTA, 0,1 nM benzamidina, 2 U/mL de adenosina deaminasa, pH 6,5), 32,4 nM [3H]DPCPX (8-ciclopentil-1,3-dipropilxantina) (800.000 dpm) y 100 μM NECA (5'-N-etilcarboxamido-adenosina) para definir la unión no especifica o compuesto de ensayo en un volumen total de 100 μL durante 30 min a temperatura ambiente. Filtrar sobre filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C (preempapados en 0,5% de polietilenimina), lavar 4x

con 1 mL de hielo- 50 mM de Tris-HCl (pH 6,5) sobre un cosechador de celda Brandel de 96 posos. Detección de actividad: en un plato de 96 posos en la presencia de un cóctel HiSafe-3 en un contador beta (1450 Microbeta, Wallac). Inhibición [%] = $100 - ((\text{actividad en la presencia del compuesto de ensayo} - \text{actividad no especifica}) / (\text{actividad total} - \text{actividad no especifica})) * 100$

Resultados

Consideramos los compuestos como biológicamente activos si ellos inhiben la unión del radioligandos sobre los receptores A₃ de adenosina humana con una actividad superior al 80% a 1 μ M en nuestras condiciones experimentales.

La constante de disociación (K_d) de [¹²⁵I]AB-MECA sobre reparación de CHO-hA₃ se determina mediante estudios de saturación de isótopo con la ayuda de análisis Scatchard (G. Scatchard, Ann. N. Y. Acad. Sci. 51:660, 1949). El IC₅₀ se convierte a una constante de afinidad (K_i) mediante la aplicación de