



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2022 00559**

(22) Data de depozit: **12/09/2022**

(41) Data publicării cererii:
29/03/2024 BOPI nr. **3/2024**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE
CHIMICO-FARMACEUTICĂ - ICCF
BUCUREȘTI, CALEA VITAN NR.112,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **PINTILIE LUCIA, INTRAREA VORONEȚ
NR. 14, BL.D 8, SC.3, ET.1, AP.36,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **HANGANU ANAMARIA, CALEA GIULEȘTI
NR. 337B, BL. 5, AP. 58, ET. 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **MAGANU MARIA, STR. IERBEI NR. 2,
BL. 158, SC. 1, ET. 2, AP. 13, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;**
• **CAPROIU MIRON TEODOR,
ALEEA BĂIUȚ NR. 13, AP. 12, BL. A34,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **DERIVAȚI DE 1-BENZIL-CHINOLONE INHIBITORI DUALI
AI ADN GIRAZĂ ȘI TOPOIZOMERAZĂ IV**

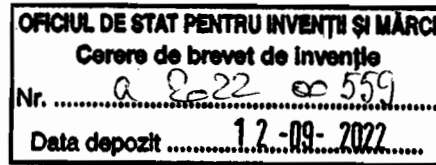
(57) Rezumat:

Invenția se referă la derivați de 1-benzil- chinolone ca inhibitori duali ai ADN giraza și Topoizomeraza IV. Derivații, conform invenției, au formula generală I, în care R₆ este un atom de fluor sau hidrogen și R₇ este

piperidinil, 3-metil-piperidinil sau pirolidinil.

Revendicări: 7





66

Derivati de 1-benzil-chinolone inhibitori duali ai ADN giraza si Topoizomeraza IV

Inventia se refera la identificarea prin proiectare si simulare "in silico" a unor derivati cu structura chinolonica, potentiali inhibitori duali ai ADN giraza si Topoizomeraza IV si procedeu de preparare al lor.

Inhibitorii de ADN Giraza sunt o clasa de medicamente antibacteriene cu spectru larg de actiune. Structura de baza a acestor medicamente (Figura 1) este o structura biciclica, ce contine un inel *A* de tip 4-piridinona combinat cu un inel aromatic sau heteroaromatic *B*. Inelul *A* de tip 4-piridinona este un inel cu necesitate absoluta: a unei nesaturari in pozitia 2-3, a unei functii acide libere in pozitia 3, a unui substituent la azotul din pozitia 1.

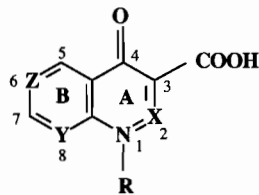


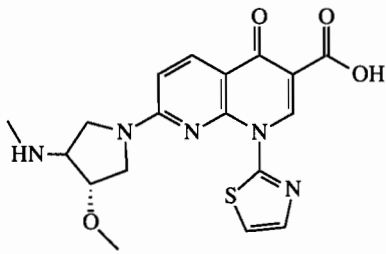
Fig. 1 Structura de baza a chinolonelor

Mecanismul de actiune se bazeaza pe inhibarea topoizomerazei prokariotice de tip II, denumita ADN giraza si in cateva cazuri a topoizomerazei IV. Chinolona reactioneaza direct cu cromozomul bacterian, astfel inhibarea enzimei fiind urmata de interactiunea cu ADN-ul bacterian.

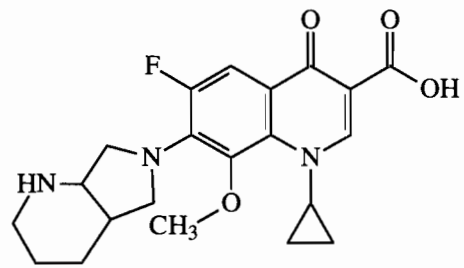
Prin modificari structurale efectuate pe nucleul chinolinic, in pozitile 1,2, 3, 6, 7 si 8, au fost obtinute noi structuri, care, pe langa proprietatile antibacteriene poseda si proprietati antitumorale.

In practica medicala sunt utilizati un numar mare de agenti antimicrobieni cu structura chinolonica, unii dintre ei fiind considerati de specialistii farmacologi ca medicamente de prima necesitate in terapia antiinfectioasa umana si veterinara.

In ultimul timp, studiile farmacologice au dovedit ca chinolonele poseda si alte activitati biologice: activitate antitumorală (ex. Voreloxin: acid (+)-1,4-dihidro-7-(3S,4S)-3- metoxi-4-(metil amino)-1-pirrolidinil-4- oxo-1-(2-tiazolil)-1,8-naftiridine-3-carboxilic (US 2017/0035741), primul derivat din clasa chinolonelor cu activitate anticanceroasa), activitate antimicobacteriana (Ex. Moxifloxacină).

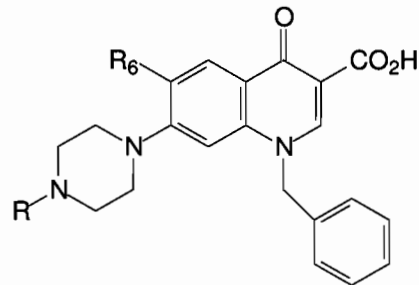
**Voreloxin**

Clin Cancer Res; 16(7) Apr. 1, 2010

**Moxifloxacin**

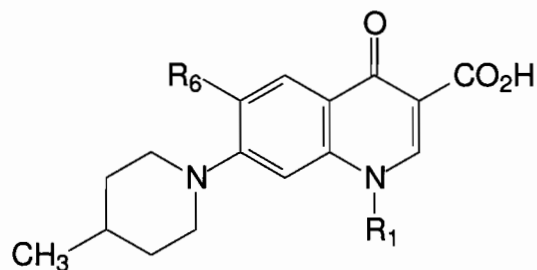
Bioorg. Med. Chem., 27(14), 2019

Se cunosc si dervatii substituiti ai acizilor 1-benzil-chinolin-3-carboxilici definiti prin structura generala :



in care substituentii au diferite semnificatii; R = H, alchil, R₆ = halogen, care prezinta activitate antibacteriana atat impotriva bacteriilor gram-pozitive cat si a celor gram-negative [Koga H.; Itoh A.; Murayama S.; J.Med. Chem.,1980, 23, 1358-1363; Bouzard D.; Di Cesare P.;J.Med.Chem., 1989,32, 537-542]

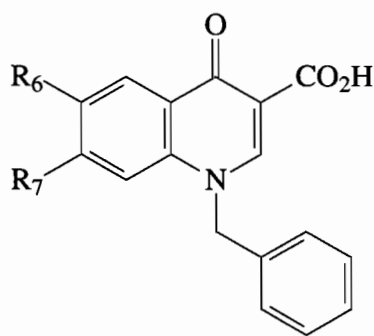
Se cunosc, de asemenea derivatii substituiti ai acizilor 7-(4-metil-piperidinil)-chinolin-3-carboxilici definiti prin structura generala:



64

in care substituentii au diferite semnificatii; R_6 este F, Cl, H, metil iar R_1 este alil, izopropil sau benzil care prezinta activitate antibacteriana atat impotriva bacteriilor gram-pozitive cat si a celor gram-negative [L. Pintilie si altii, Biotechnol.Lett.,2003,8(2), 1200; L. Pintilie si altii, Roumanian Biotechnological Letters., 2003 , 8(3), 1303-1309, L. Pintilie si altii, Roum. Biotechnol.Lett.,2003,8(2),1215, L. Pintilie si altii, RO 134117A2 /29.05.2020]

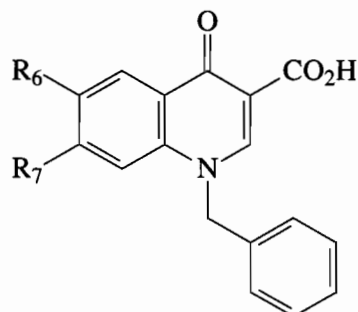
Se cunosc, de asemenea si derivatii substituiti ai acizilor 1-benzil-chinolin-3-carboxilici definiti prin structura generala:



in care substituentii au diferite semnificatii; R_6 este F, H, R_7 este morfolinil,4-metil-piperidinil, care prezinta activitate antitumorală [L. Pintilie si altii, Cerere Brevet A/00357 din 23.06.2021]

Chinolonele, considerate “privileged building blocks”, obtinute prin metode simple si flexibile de sinteza, permit dezvoltarea de biblioteci mari de molecule bioactive. Cercetarile pentru obtinerea unui nou medicament cu structura chinolonica, continua in multe laboratoare din intreaga lume. Un parametru important in procesul de dezvoltare a unui nou medicament, este si afinitatea medicamentului fata de tinta identificata (proteina/enzima). Predictia modului de legare a ligandului la tinta (proteina/enzima), prin simulare moleculara ar permite restrangerea sintezei la compusii cei mai promitatori.[David Chi Cheong Wan si altii, US 2016/0113937A1]

Prezenta inventie largeste gama derivatilor derivati cu structura chinolonica inhibitori duali ai ADN giraza si Topoizomeraza IV cu noi compusi care corespund formulei generale I:



I

in care R_1 este fluor, hidrogen, iar R_7 este piperidinil, 3-metil-piperidinil, pirolidinil.

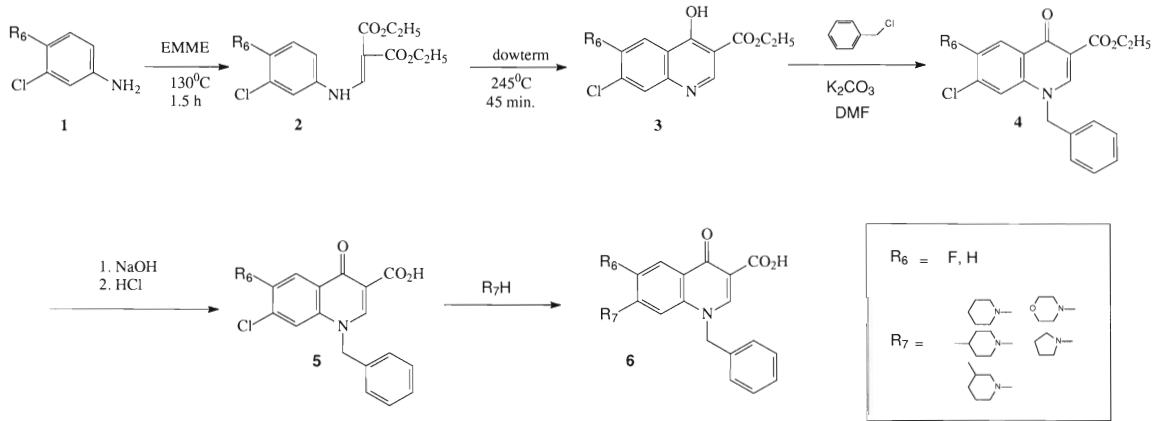
Structurile compusilor au fost proiectate utilizand Spartan Wavefunction, Inc. Irvine CA USA. Pentru fiecare compus a fost generata structura 3D modelul CPK, s-a optimizat geometria prin minimizarea energiei, in vederea obtinerii conformerului cel mai stabil, de energie minima. Au fost calculati descriptorii moleculari și proprietăți moleculare: masa, energia, energia de solvatare, energia orbitalilor de frontieră, aria, volumul, suprafața polară totală (TPSA), ovalitatea, coeficientul de partiție apă-octanol (logP), polarizabilitatea, mometul de dipol.

Studiile de andocare moleculara ale compusilor proiectati s-au realizat cu CLC Drug Discovery Workbench pentru a identifica și a vizualiza modul de interactiune ligand-receptor. Au fost studiate interactiunile compusilor proiectati cu o serie de receptori extrasi din Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>):

- *Staphylococcus aureus* DNA gyrase subunitatea A (PDB ID:5CDQ)
- *Multidrug efflux pump subunitatea AcrB -Escherichia coli* (PDB ID: 1T9U);
- *Streptococcus pneumoniae* DNA gyrase subunitatea B (PDB ID: 4Z2C);
- *Human estrogen receptor alpha* (PDB ID:3ERT)

Derivatii de 1-benzil-chinolone se prepara prin metoda Gould-Jacobs – schema de Reactii Nr.1 care consta consta in reactia de condensare a 3-substituit/nesubstituit-4-cloro-anilinei (1) cu etoximetilenmalonatul de etil la temperatura de 130⁰C, timp de 1,5 ore si ciclizarea anilinometilenmalonatului (2) obtinut in dowterm la 240-250⁰C, timp de 45 minute. Intermediarul (3) (esterul etilic al acidului 6- substituit/nesubstituit-7-cloro-4-hidroxi-chinolin-3carboxilic) este supus in continuare reactiei de alchilare cu clorura de benzil, in prezenta de carbonat de potasiu si in mediu de N,N-dimetilformamida. Esterul etilic (4) este supus in continuare, unei reactii de

hidroliza, iar acidul chinolin-3carboxilic (5) in urma unor reactii de substitutie regiospecifica a clorului din pozitia 7 conduce la compusii (6).

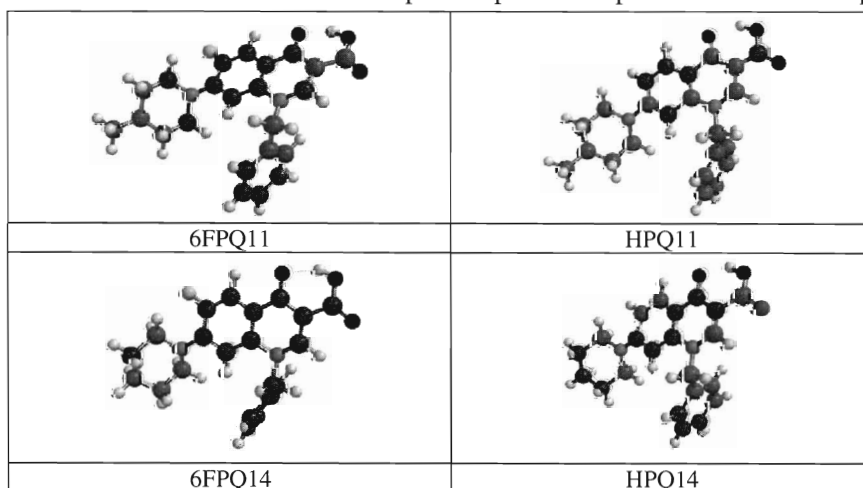


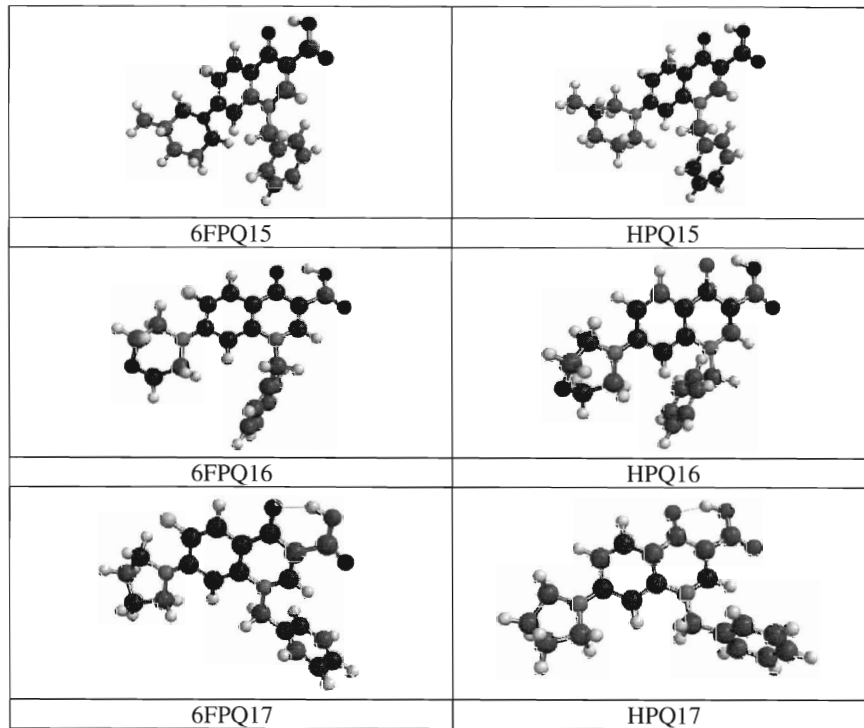
Schema de reactii Nr.1

Exemplul 1: Proiectarea compusilor ce corespund Formulei generale I

Utilizand Spartan Wavefunction, Inc. Irvine CA USA au fost generate structurile 3D a compusilor prezentati in Tabelul Nr. 1, a caror geometrie a fost optimizata prin minimizarea energiei, in vederea obtinerii conformerului cel mai stabil, de energie minima. Pentru fiecare conformer s-a realizat o analiza conformationala și calcule a unor proprietăți moleculare, importante pentru analiza cantitativă a relațiilor structură-activitate (QSAR).

Tabel Nr. 1. Structura 3 D a compusilor proiectati-prezentare ball and spoke





Au fost calculati descriptorii moleculari și proprietăți moleculare: masa, energia, energia de solvatare, energia orbitalilor de frontieră, aria, volumul, suprafața polară totală (TPSA), ovalitatea, coeficientul de partiție apă-octanol (logP), polarizabilitatea, mometul de dipol (Tabel 2)

Tabel Nr. 2. Proprietatile moleculare a compusilor proiectati

Compus	Proprietati calculate												
	Energie [au]	Moment de dipol [debye]	E HOMO [eV]	E LUMO [eV]	HOMO-LUMO GAP	Polarizabilitate [10^{-30} m^3]	PSA[\AA^2]	Ovalitate	Log P	Aria [\AA^2]	Volum [\AA^3]	HBA	HBD
6FPQ11	-1325.35417	11.37	-5.88	-1.62	4.26	72.46	44.195	1.55	4.44	403.19	395.60	1	4
HPQ11	-1226.12649	11.82	-5.82	-1.46	4.36	72.05	44.426	1.54	4.29	398.02	390.88	1	4
6FPQ14	-1286.03878	11.47	-5.85	-1.60	4.25	70.99	44.065	1.52	4.11	383.73	377.42	1	4
HPQ14	-1186.81112	11.82	-5.82	-1.46	4.36	70.57	44.402	1.51	3.96	378.62	372.67	1	4
6FPQ15	-1325.35373	11.51	-5.83	-1.60	4.23	72.47	44.009	1.55	4.51	403.19	395.66	1	4
HPQ15	-1226.12558	12.24	-5.68	-1.36	4.32	72.05	44.143	1.54	4.29	397.56	390.99	1	4
6FPQ16	-1321.92209	10.34	-5.95	-1.56	4.39	70.18	51.502	1.51	2.98	374.53	367.94	1	5
HPQ16	-1222.69420	10.77	-5.85	-1.43	4.42	69.82	51.337	1.50	2.82	370.14	363.55	1	5
6FPQ17	-1246.72480	12.24	-5.71	-1.32	4.39	69.52	44.014	1.50	3.70	367.74	359.75	1	4
HPQ17	-1147.49724	12.48	-5.65	-1.20	4.45	69.15	43.941	1.50	3.54	363.60	355.42	1	4

Exemplul 2 Studii de andocare moleculara

Studiile de andocare ale compusilor proiectati s-au realizat cu CLC Drug Discovery Workbench pentru a identifica si vizualiza modul de interactiune ligand-receptor. Au fost studiate interactiunile compusilor proiectati cu o serie de tinte, care au fost importate din Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/>:

- *Staphylococcus aureus DNA gyrase subunitatea A* (PDB ID:5CDQ)
- *Multidrug efflux pump subunitatea AcrB -Escherichia coli* (PDB ID: 1T9U);
- *Streptococcus pneumoniae DNA gyrase subunitatea B* (PDB ID: 4Z2C);
- *Human estrogen receptor alpha* (PDB ID:3ERT)

Studiile de docking au fost efectuate conform protocolului (Pintilie L. si altii "In silico drug design and molecular docking studies of some quinolone compounds", <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.72995>): a fost importata protein receptor din Protein Data Bank, a fost extras ligandul natural, co-cristalizatul, a fost amplasat locul de legare a ligandului (binding site), a fost redocat co-cristalizatul si validata docarea. Validarea docarii a fost efectuata pentru a ne asigura ca orientarea ligandului si pozitia din locul de legare (binding site) este valida si cat mai aproape de realitate. Au fost stabilite legaturile de hidrogen dintre co-cristalizat si resturile de aminoacizi din situsul de legare, a fost creat grupul de interactiune format din resturile de aminoacizi. A fost efectuata andocarea tuturor liganzilor si au fost stabilite legaturile de hidrogen create de fiecare ligand cu resturile de aminoacid din interiorul locului de legare (binding site). Au fost stabilite grupurile de interactiune din interiorul locului de legare (binding site) a fiecarui ligand. Au fost calculate proprietatile moleculare ale tuturor liganzilor si a fost efectuata docarea tuturor liganzilor, determinandu-se functia "scor de docking" (scor de andocare) (Figura Nr. 2, Tabel Nr. 3). Studiile de andocare moleculara au fost realizate comparativ cu chinolone cunoscute: FPQ11, HPQ11, FPQ16, HPQ16 (a caror sinteza s valoare a ctivitatii antitumorale a fost prezentata in Cerere Brevet **A/00357 din 23.06.2021** si voreloxin (pentru protein areceptor 3ERT).

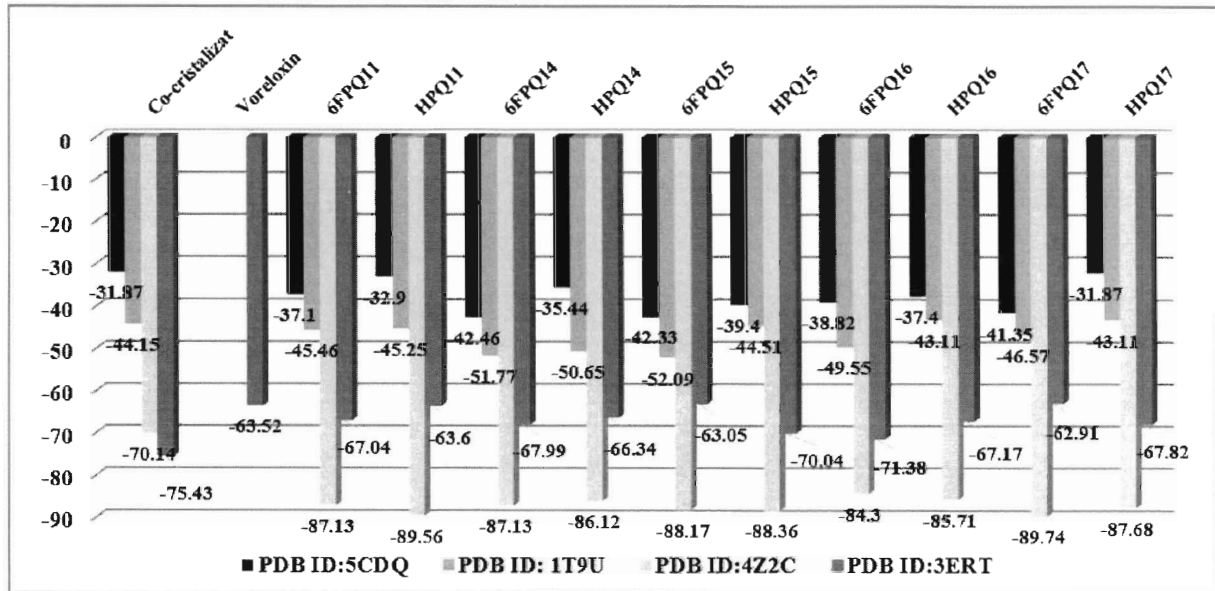


Figura Nr.2. Scorul de andocare comparativ cu chinolona de referinta

Tabel Nr.3. Scorul de andocare moleculara a compusilor proiectati

Ligand	PDB ID:5CDQ		PDB ID:1T9U		PDB ID:4Z2C		PDB ID:3ERT	
	Scor	RMSD	Scor	RMSD	Scor	RMSD	Scor	RMSD
Co-cristalizat	-31.87	0.03	-44.15	0.06	-70.14	0.009	-75.43	0.15
Voreloxin	-	-	-	-	-	-	-63.52	0.01
6FPQ11	-37.10	1.58	-45.46	0.58	-87.13	0.20	-67.04	0.11
HPQ11	-32.90	0.94	-45.25	0.32	-89.56	0.44	-63.60	0.44
6FPQ14	-42.46	0.06	-51.77	0.40	-87.13	0.14	-67.99	0.07
HPQ14	-35.44	0.52	-50.65	0.16	-86.12	0.15	-66.34	0.08
6FPQ15	-42.33	1.33	-52.09	0.11	-88.17	0.59	-63.05	0.19
HPQ15	-39.40	1.32	-44.51	0.11	-88.36	0.03	-70.04	0.13
6FPQ16	-38.82	0.04	-49.55	0.60	-84.30	0.15	-71.38	0.14
HPQ16	-37.40	0.62	-43.11	0.06	-85.71	0.62	-67.17	0.02
6FPQ17	-41.35	0.01	-46.57	0.27	-89.74	0.04	-62.91	0.24
HPQ17	-38.93	0.64	-43.11	0.04	-87.68	0.25	-67.82	0.07

In urma studiului de simulare *in silico*, s-a observat ca:

- Compusul care prezinta o buna afinitate fata de proteina receptor *Staphylococcus aureus* DNA gyrase subunitatea A (PDB ID:5CDQ) este compusul FPQ14 care prezinta un scor de andocare mai mare decat al Co-cristalizatului (moxifloxacin) :

Scor FPQ14: -42.46 > Scor Co-cristalizat (Moxifloxacin): -31.87

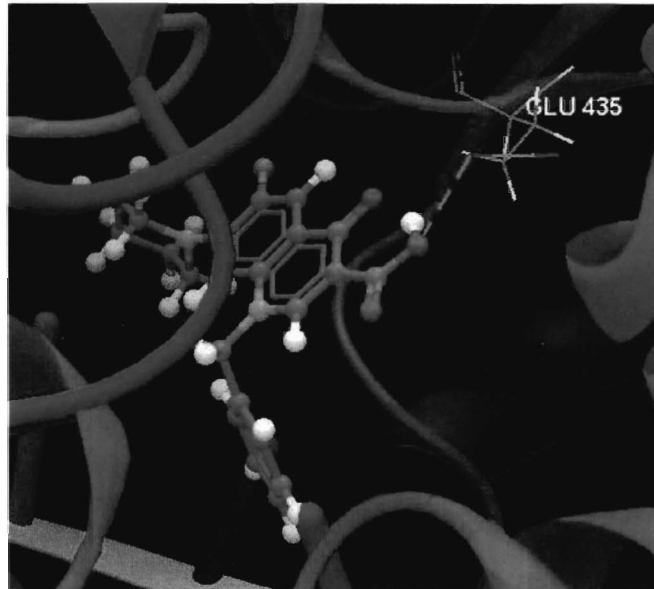


Figura 3. Compusul 6FPQ14 andocat in 5CDQ

- Compusul care prezinta o buna afinitate fata de proteina receptor *Multidrug efflux pump subunitatea AcrB -Escherichia coli* (PDB ID: 1T9U) este compusul FPQ15 care prezinta un scor de andocare mai mare decat al Co-cristalizatului (ciprofloxacin) :

Scor FPQ17: -52.89 > Scor Co-cristalizat (Ciprofloxacin): -44.15

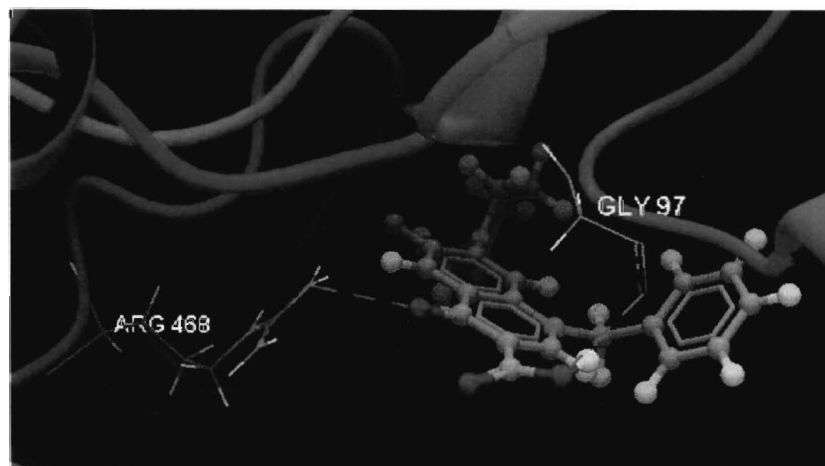


Figura 4. Compusul 6FPQ15 andocat in 1T9U

- Compusul care prezinta o buna afinitate fata de proteina receptor *Streptococcus pneumoniae DNA gyrase subunitatea B* (PDB ID: 4Z2C este compusul FPQ15 care prezinta un scor de andocare mai mare decat al Co-cristalizatului (moxifloxacin) :

Scor FPQ15: -89.74 > Scor Co-cristalizat (Moxifloxacin): -70.14

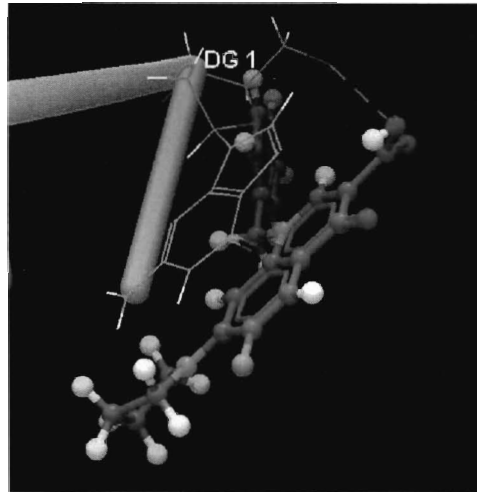


Figura 5 . Compusul 6FPQ17 andocat in 4Z2C

- Compusii care prezinta o buna afinitate fata de proteina receptor *Human estrogen receptor alpha* (PDB ID:3ERT) sunt:

- compusul FPQ16 (a carui sinteza si evaluare a ctivitatii antitumorale a fost prezentata in Cerere Brevet A/00357 din 23.06.2021) care prezinta un scor de andocare mai mare decat al compusului de referinta, Voreloxin, dar mai mic decat al Co-cristalizatului (4-hidroxitamoxifen) :

Scor Co-cristalizat : -75.43 > Scor FPQ16: -71.38 > Scor Voreloxin : -63.52

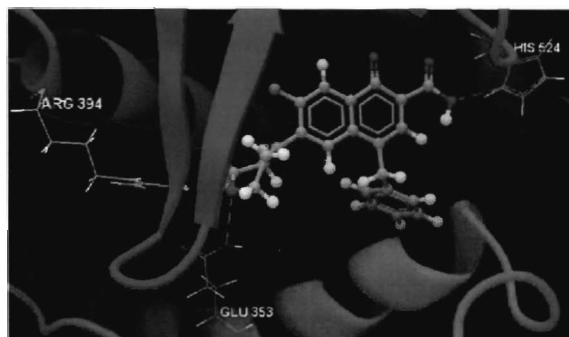


Figura 6. Compusul 6FPQ16 andocat in 3ERT

- compusul HPQ15 (dintre compusii care fac obiectul acestui brevet) care prezinta un scor de andocare mai mare decat al compusului de referinta, Voreloxin, dar mai mic decat al Co-cristalizatului (4-hidroxitamoxifen) :

Scor Co-cristalizat : -75.43 > Scor HPQ15: -70.04 > Scor Voreloxin : -63.52



Figura 7. Compusul HPQ15 docat in 3ERT

Au fost calculati o serie de parametri (Tabel Nr.4), cum ar fi si parametrii inclusi in Regula lui Lipinski (Lipinski's rule of five) (Advanced Drug Delivery Reviews.2001;**46**, p.3-26):

- Numarul de atomi donori de hidrogen trebuie sa fie mai mic decat 5 (numarul total de legaturi azot-hidrogen si oxigen-hidrogen);
- Numarul de atomi acceptori de hidrogen trebuie sa fie mai mic decat 10 (numarul total de atomi de oxigen si azot)
- masa moleculara mai mica decat 500 Da;
- logP (coeficientul de partitie apa-octanol) mai mic decat 5.

Acesti parametri pot da informatii pentru identificarea moleculelor ce au sansa sa devina medicamente. Pentru majoritatea compusilor proiectati, exista o incalcare a Rgului lui Lipinski, Lipinski violations > 1, (LogP > 5), doar pentru compusii FPQ16 si HPQ16, Lipinski violations este egal cu 0.

Table Nr. 4. Parametrii calculati cu Softul CLC Drug Discovery Workbench

Ligand	Numar de atomi	Masa [Daltons]	Nr. Legaturi flexibile	Lipinski violations	Donori de hidrogen	Acceptori de hidrogen	LogP
Co-crystalized	44	335.38	1	0	1	5	2.57
6FPQ11	52	394.44	4	1	1	5	6.52
HPQ11	52	376.45	4	1	1	5	6.42
6FPQ14	49	380.41	4	1	1	5	6.08
HPQ14	49	362.42	4	1	1	5	5.98
6FPQ15	52	394.44	4	1	1	5	6.52
HPQ15	52	376.45	4	1	1	5	6.42
6FPQ16	47	382.38	4	0	1	5	4.87
HPQ16	47	364.39	4	0	1	5	4.76
6FPQ17	46	366.39	4	1	1	5	5.73
HPQ17	46	348.40	4	1	1	5	5.63

Exemplul 3: Sinteza esterului etilic al acidului 6-fluoro-7-cloro-4-hidroxi-chinolin-3-carboxilic (6FQE)

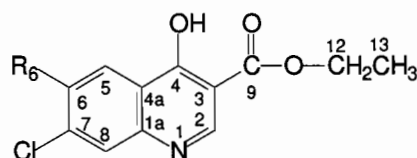
Solutia formata din 0,35 moli 3-cloro-4-fluoro-anilina (53,6 g) si 0,35 moli etoximetilenmalonatul de etil (75,7 g) se incalzeste timp de 1,5 ore, sub agitare, la temperatura de 130°C, cu indepartarea concomitenta a alcoolului etilic rezultat in urma reactiei de condensare. [(3-cloro-4-fluoro-anilino)-metilen]-malonatul de dietil rezultat, fara a fi separat din masa de reactie, se toarna peste 250 ml Dowterm incalzit la 245°C. Se incalzeste amestecul de reactie, sub agitare intensa, timp de 45 de minute, la aceeasi temperatura, cand are loc si indepartarea alcoolului etilic rezultat in urma reactiei de condensare. Se raceste la 20°C si se filtreaza precipitatul format, care se spala cu acetona si se usuca. Se obtin 75,5 g ester etilic al acidului 6-fluoro-7-cloro-4-hidroxi-chinolin-3-carboxilic (p.t.= 308-311 °C; randamentul global = 80 %).

Prin acelasi procedeu s-a preparat si urmatorul compus:

Exemplul 3a: Esterul etilic al acidului 7-cloro-4-hidroxi-chinolin-3-carboxilic (HQE) : p.t.= 310-312 °C; randamentul global = 85 %.

Tabel 5. Esterul etilic al acidului 6-(substituit/nesubstituit)-7-cloro-4-hidroxi-chinolin-3-carboxilic (3)

54



Compus	R ₆	RMN spectra	IR spectra	p.t. °C	Rand. %
6FQE	F	¹ H-RMN(dmso-d ₆ , δ ppm, J Hz): 8.63(s, 1H, H-2); 7.97(d, 1H, H-5, ³ J(¹⁹ F- ¹ H)=9.6 Hz); 7.87(d, 1H, H-8, ⁴ J(¹⁹ F- ¹ H)=6.3 Hz); 4.23(q, 2H, H-12, 7.1); 1.28(t, 3H, H-13, 7.1).	FT-IR(solid in ATR, v cm ⁻¹): 3154m; 3099s; 2984m; 2907w; 1691vs; 1610vs; 1551s; 1530s; 1470s; 1379m; 1358m; 1293m; 1271m; 1251m; 1219w; 1190m; 1170m; 1104w; 1036m; 968w; 934w; 901w; 855w; 828w; 800m; 770w; 734w; 655w; 621w; 555w.	308-313	80
HQE	H	¹ H-RMN(dmso-d ₆ , δ ppm, J Hz): 8.60(s, 1H, H-2); 8.15(d, 1H, H-5, 8.5); 7.68(d, 1H, H-8, 1.7); 7.44(dd, 1H, H-6, 1.7, 8.5); 4.22(q, 2H, H-12, 7.1); 1.28(t, 3H, H-13, 7.1).	FT-IR(solid in ATR, v cm ⁻¹): 3102s; 2981s; 2904m; 1694vs; 1611vs; 1588m; 1548s; 1528s; 1461m; 1401w; 1378m; 1350m; 1291m; 1270m; 1194s; 1140m; 1106w; 1076m; 1031w; 937w; 910w; 887w; 855w; 830w; 788s; 751w; 678w; 623w; 513w.	310-312	85

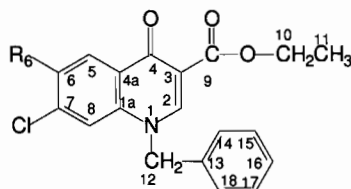
Exemplul 4: Sinteza esterului etilic al acidului 1-benzil-6-fluoro-7-cloro -1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (6FBzQE)

Se incalzeste, sub agitare un amestec format din N,N-dimetilformamida – 300 ml, ester etilic al acidului 6-fluoro-7-dicloro-4-hidroxi-chinolin-3-carboxilic (6FQE) (13,47 g), 0,05 moli), si carbonat de potasiu (17,62 g ; 0,125 moli) sub agitare timp de 1 ora la 100⁰C, dupa care se raceste la 80⁰C. Se adauga apoi clorura de benzil (31,64 G ; 0,25 moli) si se incalzeste masa de reactie sub agitare la 100⁰C, timp de 4 ore. La sfarsitul regimului, masa de reactie se raceste sub agitare la 20⁰C, dupa care se dilueaza cu 500 ml apa, se aduce la pH 4-4,5 prin picurare de acid acetic, se filtreaza si se spala cu apa. Produsul umed obtinut, dupa uscare, se recrystalizeaza din N,N-dimetilformamida. Se obtin 11,44 g produs pur (p.t. 203,4-208,3⁰C; randament global reactie + purificare 63,6 %).

Prin acelasi procedeu s-a preparat si urmatorul compus:

Exemplul 4a: Esterul etilic al acidului 1-benzil-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (HBzQE): p.t.= 167-171 ⁰C; randamentul global = 57,65 %.

Tabel 6. Esterul etilic al acidului 1-benzil-6-(substituit/nesubstituit)-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (4)

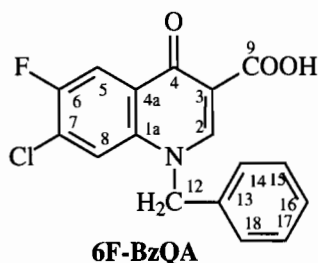


Compus	R ₆	RMN spectra	IR spectra	p.t. °C	Rand. %
6FBzQE	F	¹ H-NMR(500MHz, CDCl ₃ , δ ppm, J Hz): 8.56(s, 1H, H-2); 8.21(d, 1H, H-5, J(F-H ⁵)=9.0); 7.17(dd, 2H, H-14, H-18, 2.2, 8.1); 7.44÷7.35(m, 4H, H-8, H-15, H-16, H-17); 5.36(s, 2H, H-12); 4.38(q, 2H, H-10, 7.0); 1.40(t, 3H, H-11, 7.0). ¹³ C-NMR(125MHz, CDCl ₃ , δ ppm): 172.76(d, C-4, J(F-C ⁴)=2.3 Hz); 165.15(C-9); 155.49(d, C-6, J(F-C ⁶)=249.8 Hz); 135.77(d, C-1a, J(F-C ^{1a})=2.3 Hz); 133.38(C-13); 129.44(d, C-4a, J(F-C ^{4a})=4.5 Hz); 127.14(d, C-7, J(F-C ⁷)= 21.3 Hz); 111.02(C-3); 149.83(C-2); 129.57(C-15, C-17); 128.95(C-16); 126.07(C-14, C-18); 118.98(d, C-8); 114.09(d, C-5, J(F-C ⁵)=22.8 Hz); 61.13(C-10); 57.68(C-12); 14.36(C-11)	FT-IR(ATR in solid, v cm ⁻¹): 3052w; 2981w; 2930w; 1716vs; 1605s; 1546m; 1475vs; 1378m; 1302m; 1264w; 1215m; 1159m; 1093m; 1034m; 901w; 807w; 724m; 703w.	203,4- 208,3	63,6
HBzQE	H	¹ H-NMR(500MHz, CDCl ₃ , δ ppm, J Hz): 8.54(s, H, H-2); 8.41(d, 1H, H-5, 8.6); 7.37(s, 1H, H-8); 7.43÷7.28(m, 3H, H-15, H-16, H-17); 7.16(dd, 2H, H-14, H-18, 2.2, 8.0); 5.35(s, 2H, H-12); 4.37(q, 2H, H-10, 7.0); 1.38(t, 3H, H-11, 7.0). ¹³ C-NMR(125MHz, CDCl ₃ , δ ppm): 173.56(C-4); 165.25(C-9); 139.92(C-7); 139.03(C-1a); 133.63(C-13); 127.46(C-4a); 111.72(C-3); 149.98(C-2); 129.44(C-16, C-15, C-17); 128.78(C-5); 126.15(C-14, C-18); 125.75(C-6); 116.31(C-8); 61.01(C-10); 57.28(C-12); 14.34(C-11).	FT-IR(ATR in solid, v cm ⁻¹): 3055w; 2977w; 2919w; 1710m; 1677m; 1634sh; 1595vs; 1541m; 1458s; 1374m; 1301m; 1215s; 1154m; 1081m; 1019m; 845w; 790m; 722m; 696w.	167- 171	57,65

Exemplul 5: Sinteza acidului 1-benzil-6-fluoro-7-cloro -1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (6FBzQA)

Se incalzeste la reflux, sub agitare timp de 1,5 ore amestecul de reactie format din esterul etilic al acidului 1-benzil-6-fluoro-7-cloro-1,4-dihidro-4oxo-chinolin-3-carboxilic (6FBzQE) (11,04; 0,03 moli) si o solutie apa-etanol de hidroxid de sodiu (NaOH – 6,73; 0,168 moli; apa-120 ml, etanol-30 ml). Se adauga carbune activ, se agita inca 30 de minute la aceeasi temperatura, se filtreaza, se mai adauga 120 ml apa si se precipita acidul 1-benzil-6-fluoro-7-cloro-1,4-dihidro-

4oxo-chinolin-3-carboxilic (6FBzQA) prin picurare de acid acetic glacial, pana la pH 4,5. Se filtreaza produsul brut, se spala cu apa pana la pH neutru si se usuca. Dupa recristalizarea din N,N-dimetilformamida se obtin 5,54 g (p.t. 251,1-253,5⁰C, randament reactie +purificare 55,68 %)



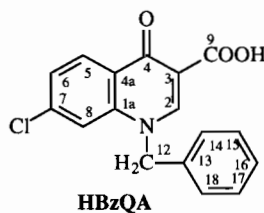
¹H-NMR(300 MHz, dms_o-d₆, δ ppm, *J* Hz): 9.23(s, 1H, H-2); 8.20(d, 1H, H-5, *J*(F-H⁵)=9.1); 8.16(d, 1H, H-8, *J*(F-H⁸)=6.1); 7.41÷7.26(m, 5H, H-14÷H-18); 5.89(s, 2H, H-12).

¹³C-NMR(75 MHz, dms_o-d₆, δ ppm): 176.47(C-4); 165.15(C-9); 154.73(d, C-6, *J*(F-C⁶)=248.4 Hz); 136.46(C-1a); 134.72(C-13); 126.96(d, C-7, *J*(F-C⁷)=20.2 Hz); 126.15(d, C-4a, *J*(F-C^{4a})=5.1 Hz); 108.02(C-3); 150.42(C-2); 128.83(C-15, C-17); 128.06(C-16); 126.63(C-14, C-18); 121.18(C-8); 111.94(d, C-5, *J*(F-C⁵)=22.8 Hz); 56.40(C-12).

FT-IR(ATR in solid, ν cm⁻¹): 3042w; 1715s; 1608s; 1540w; 1447vs; 1381m; 1305wm; 1260m; 1209m; 1024w; 900w; 804w; 758w; 700w.

Prin acelasi procedeu s-a preparat si urmatorul compus:

Exemplul 5a: Acidul 1-benzil-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (HBzQA):
p.t.= 243,3—246,7⁰C; randamentul global = 69.85 %.



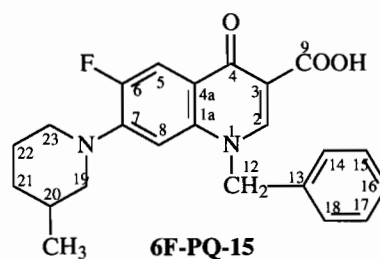
¹H-NMR(300 MHz, dms_o-d₆, δ ppm, *J* Hz): 9.22(s, H, H-2); 8.34(d, 1H, H-5, 8.6); 7.95(s, 1H, H-8); 7.62(d, 1H, H-6, 8.6); 7.42÷7.22(m, 5H, H-14÷H-18); 5.86(s, 2H, H-12).

¹³C-NMR(75 MHz, dms_o-d₆, δ ppm): 177.21(C-4); 165.34(C-9); 140.24(C-7); 138.93(C-1a); 134.89(C-13); 124.42(C-4a); 108.39(C-3); 150.64(C-2); 128.85(C-15, C-17); 128.00(C-5); 127.92(C-6); 126.56(C-14, C-18, C-16); 118.05(C-8); 56.19(C-12).

FT-IR(ATR in solid, ν cm^{-1}): 3117w; 3043w; 1697s; 1599vs; 1497m; 1446vs; 1363m; 1304m; 1204m; 1148m; 1080m; 1029w; 990w; 917m; 847m; 795m; 755w; 704m.

Exemplul 6: Sinteza acidului 1-benzil-6-fluoro-7-(3-metil-piperidinil)-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (6FPQ15)

Sinteza acidului 1-benzil-6-fluoro-7-(3-metil-piperidinil) -1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (6FPQ15): Un amestec format din acid 1-benzil-6-fluoro-7-cloro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic (6FBzQA) (1,66 g ; 0,005 moli), 3-metil-piperidina (2,48 g ; 0,025 moli) si N,N-dimetilformamida (50 ml) se incalzeste sub agitare energica timp de 22 ore la 120-130 $^{\circ}$ C. La sfarsitul regimului, masa de reactie racita la 20 $^{\circ}$ C, se dilueaza cu 50 ml apa si se neutralizeaza cu acid acetic conc., dupa care se raceste timp de 24 de ore (0-5 $^{\circ}$ C) pentru precipitarea completa a compusului. Produsul brut obtinut se purifica prin recristalizare din N,N-dimetilformamida. Se obtin 1,52 g produs pur (randament reactie + purificare 77 %).



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm, J Hz): 8.78(s, 1H, H-2); 7.96(d, 1H, H-5, $J(\text{F-H}^5)=13.2$ Hz); 7.40÷7.33(m, 3H, H-15, H-16, H-17); 7.20(d, 2H, H-14, H-18, 6.9); 6.82(bs, 1H, H-8); 3.46(bd, 1H, H-19, 12.0); 3.31(bd, 1H, H-23, 10.6); 2.72(bt, 1H, H-19, 12.0); 2.42(bt, 1H, H-23, 10.0); 1.84-1.62(m, 4H, H-20, 2H-21, H-22); 1.08(qd, 1H, H-22, 12.4, 4.1); 0.91(d, 3H, CH_3 , 6.6).

-perechile H-19 și H-23 (care formeaza sisteme AB) au fost diferiteiate prin COSY și carbonii corespunzatori prin HMQC.

-unul din protonii H-22 este mai ecranat decât perechea lui.

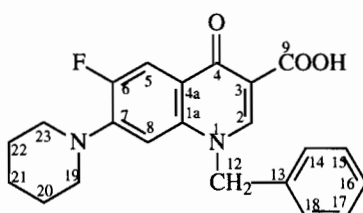
$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 177.07(C-4); 167.10(C-9); 153.34(d, C-6, $J(\text{F-C}^6)=250.0$ Hz); 148.33(C-2); 145.20(C-1a); 137.48(C-7); 133.52 (C-13); 129.47(C-15, C-17); 129.03(C-16); 126.45(C-14, C-18); 120.80(C-4a); 112.62(d, C-5, $J(\text{F-C}^5)=23.7$ Hz); 108.24(C-3); 106.47(C-8); 58.83(C-12); 57.92(C-23); 50.78(C-19); 32.25(C-22); 30.52(C-20); 24.77(C-21); 19.07(CH_3).

50

FT-IR(ATR in solid, ν cm^{-1}): 3102m; 2955w; 2906m; 2842w; 1704vs; 1615vs; 1545m; 1462vs; 1379m; 1302m; 1254s; 1201s; 1123w; 1047w; 936m; 819m; 758m; 702m; 647w.

In acelasi mod se prepara si urmatoorii compusi:

Exemplul 6a: Acidul 1-benzil-6-fluoro-7-pipridinil-4-oxo-1,4-dihidro-chinolin-3-carboxilic (6FPQ14)



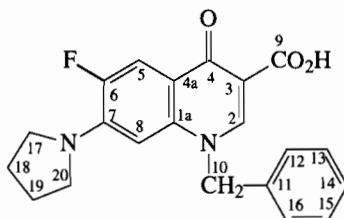
6F-PQ-14

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm, J Hz): 8.78(s, 1H, H-2); 7.95(d, 1H, H-5, $J(\text{F-H}^5)=13.2$ Hz); 7.39-7.34(m, 3H, H-15, H-16, H-17); 7.18(d, 2H, H-14, H-18, 7.0); 6.81(d, 1H, H-8, $J(\text{F-H}^8)=6.0$ Hz); 5.43(s, 2H, H-12); 3.10-3.09(m, 4H, H-19, H-23); 1.67-1.60(m, 6H, H-20, H-21, H-22);

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 177.04(C-4); 167.08(C-9); 153.43(d, C-6, $J(\text{F-C}^6)=251.2$ Hz); 145.51(d, C-1a); 137.47(C-7); 133.49(C-13); 120.30(C-4a); 108.18(C-3); 148.27(C-2); 129.49(C-15, C-17); 129.02(C-16); 126.40(C-14, C-18); 112.46(d, C-5, $J(\text{F-C}^5)=23.7$ Hz); 105.94(C-8); 58.71(C-12); 51.25(C-19, C-23); 25.37(C-20, C-22); 23.75(C-21).

FT-IR(ATR in solid, ν cm^{-1}): 3041w; 2928m; 2846w; 1721s; 1617s; 1498s; 1445vs; 1384m; 1308w; 1252s; 1219sh; 1104w; 1059w; 1023w; 928w; 886w; 813w; 716w; 691w.

Exemplul 6b: Acidul 1-benzil-6-fluoro-7-pirolidinil-4-oxo-1,4-dihidro-chinolin-3-carboxilic (6FPQ17)



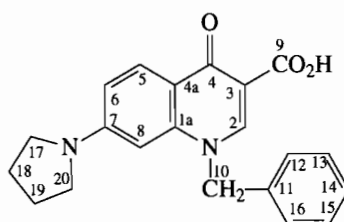
6F-HPQ-17

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm, J Hz): 9.12(s, 1H, H-2); 7.79(d, 1H, H-5, $J(\text{F-H}^5)=13.3$ Hz); 7.37(t, 2H, H-13, H-15, 7.4); 7.32-7.30(m, 3H, H-12, H-14, H-16); 6.56(d, 1H, H-8, $J(\text{F-H}^8)=7.4$ Hz); 5.76(s, 2H, H-12); 3.40(m, 4H, H-17, H-20); 1.90(m, 4H, H-18, H-19).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 176.06(C-4); 166.52(C-9); 153.43(d, C-6, $J(\text{F-C}^6)=251.2$ Hz); 149.22(C-2); 145.51(d, C-1a); 135.51(C-7); 132.79(C-11); 129.09(C-13, C-15); 128.20(C-14); 126.96(C-12, C-16); 120.42(C-4a); 111.01(d, C-5, $J(\text{F-C}^5)=23.4$ Hz); 106.67(C-3); 101.01(C-8); 56.81(C-12); 49.82(d, C-17, C-20, $J(\text{F-C}^{17,20})=6.3$ Hz); 24.99(C-18, C-19).

FT-IR(ATR in solid, ν cm^{-1}): 3046w; 2961w; 2871w; 1712s; 1616vs; 1506s; 1454vs; 1399s; 1342vs; 1293s; 1249s; 1204s; 1104m; 1052m; 955m; 891m; 804m; 724m; 704m; 644w.

Exemplul 6c: Acidul 1-benzil-7-pirolidinil-4-oxo-1,4-dihidro-chinolin-3-carboxilic (HPQ17)



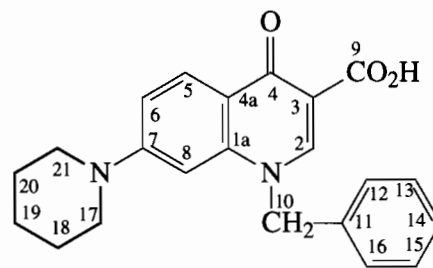
HPQ-17

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{dms-}d_6$, δ ppm, J Hz): 9.09(s, 1H, H-2); 8.11(d, 1H, H-5, 9.2); 7.37(t, 2H, H-13, H-15, 7.6); 7.34÷7.27(m, 3H, H-12, H-14, H-16); 6.87(dd, 1H, H-6, 1.8, 9.2); 6.42(d, 1H, H-8, 1.8); 5.74(s, 2H, H-10); 3.25(m, 4H, H-17, H-20); 1.95(m, 4H, H-18, H-19).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, $\text{dms-}d_6$, δ ppm): 176.48(C-4); 166.64(C-9); 153.34(C-7); 150.77(C-2); 141.40(C-1a); 135.42(C-11); 114.53(C-4a); 106.49(C-3); 128.86(C-15, C-17); 127.93(C-14); 126.85(C-5); 126.81(C-12, C-16); 113.10(C-6); 96.69(C-8); 56.40(C-10); 47.42(C-17, C-20); 24.77(C-18, C-19).

FT-IR(ATR in solid, ν cm^{-1}): 3046w; 2958w; 2849w; 1684m; 1614vs; 1519m; 1469s; 1379s; 1260m; 1219m; 1166w; 1114w; 1043w; 794m; 740w; 701w; 660w.

Exemplul 6d: Acidul 1-benzil-7-pipridinil-4-oxo-1,4-dihidro-chinolin-3-carboxilic (HPQ14)

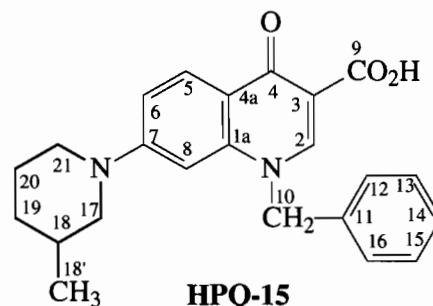
**HPQ-14**

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, dms -d_6 , δ ppm, J Hz): 9.11(s, 1H, H-2); 8.08(d, 1H, H-5, 9.2); 7.36(t, 2H, H-13, H-15, 7.4); 7.31(d, 2H, H-12, H-16, 7.4); 7.29(t, 1H, H-14, 7.4); 7.23(dd, 1H, H-6, 1.8, 9.2); 6.78(d, 1H, H-8, 1.8); 5.77(s, 2H, H-10); 3.38(m, 4H, H-17, H-21); 1.56(m, 2H, H-19); 1.44(m, 4H, H-18, H-20).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, dms -d_6 , δ ppm): 176.48(C-4); 166.60(C-9); 153.65(C-7); 149.39 (C-2); 141.65(C-1a); 135.67(C-11); 115.62(C-4a); 106.70(C-3); 128.90(C-13, C-15); 127.95(C-14); 126.80(C-12, C-16); 127.04(C-5); 114.44(C-6); 98.91(C-8); 56.30(C-10); 47.78(C-17, C-21); 24.52(C-18, C-20); 23.86(C-19).

FT-IR(ATR in solid, ν cm^{-1}): 3047w; 2939w; 2851w; 1689m; 1607vs; 1518m; 1443s; 1361sh; 1237s; 1110m; 1019w; 955m; 801m; 712w; 648w.

Exemplul 6d: Acidul 1-benzil-7-pipridinil-4-oxo-1,4-dihidro-chinolin-3-carboxilic (HPQ15)

**HPQ-15**

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, dms -d_6 , δ ppm, J Hz): 9.02(s, 1H, H-2); 8.07(d, 1H, H-5, 9.2); 7.36(t, 2H, H-13, H-15, 7.4); 7.31(d, 2H, H-12, H-16, 7.4); 7.29(t, 1H, H-14, 7.4); 7.21(dd, 1H, H-6, 1.8, 9.2); 6.75(d, 1H, H-8, 1.8); 5.77(s, 2H, H-10); 3.86(d, 1H, H-17 or H-21, $^{\text{gem}}J(\text{H}^{\text{A}}-\text{H}^{\text{B}})=13.3$ Hz); 3.76(d, 1H, H-17 or H-21 $^{\text{gem}}J(\text{H}^{\text{A}}-\text{H}^{\text{B}})=12.8$ Hz); 2.83(t, 1H, H-17 or H-2, $^{\text{gem}}J(\text{H}^{\text{A}}-\text{H}^{\text{B}})=13.3$ Hz); 2.54(t,

1H, H-17 or H-21, $^{gem}J(H^A-H^B)=12.8$ Hz); 1.68(m, 1H, H-20); 1.12(m, 1H, H-20); 1.58(m, 1H, H-19); 1.30(m, 1H, H-19); 1.39(m, 1H, H-18); 0.85(d, 3H, H-18', 7.5).

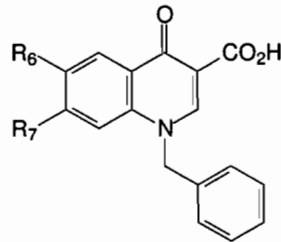
Datorita conformatiei adoptate de ciclul piperidinic protonii geminali H-17 si H-21 (ce pot avea orientari axiale sau ecuatoriale) au ecranari distincte si apar ca sisteme cuplate AB cate un proton la camp jos (3.86 ppm, respectiv 3.76 ppm) cu perechile lor ce rezoneaza la camp mai inalt (2.83 ppm respectiv 2.54 ppm). Din spectrul de corelare H-C se observa ca semnalele de la $\delta = 3.86$ ppm si semnalul de la $\delta = 2.83$ ppm apartin unor protoni geminali legati de C $\delta = 47.42$ ppm; idem și pentru semnalele de la 3.76 ppm și 2.54 ppm protoni geminali legati de carbonul $\delta = 54.37$ ppm.

^{13}C -NMR(125 MHz, dms o -d $_6$, δ ppm): 176.44(C-9); 166.61(C-4); 153.42(C-7); 149.40(C-2); 141.64(C-1a); 135.70(C-11); 115.51(C-4a); 106.68(C-3); 128.86(C-13, C-15); 127.92(C-14); 126.74(C-12, C-16); 127.10(C-5); 114.34(C-6); 98.86(C-8); 56.39(C-10); 54.31(C-17 or C-21); 47.28(C-17 or C-21); 32.49(C-20); 29.71(C-18); 23.99(C-19); 18.90(C-18').

FT-IR(ATR in solid, v cm^{-1}): 3052w; 2924w; 1715m; 1613vs; 1521m; 1463s; 1379m; 1244m; 1125w; 959w; 809w; 705w.

REVENDICARI

1. Derivatii de acid chinolin-3-carboxilic inhibitori duali ai ADN giraza si Topoizomeraza IV cu formula generala I



I

caracterizati prin aceea ca R₆ este un atom de fluor sau hidrogen, R₇ este piperidinil, 3-metil-piperidinil sau pirolidinil

2. Derivat de acid chinolin-3-carboxilic, conform revendicarii 1, caracterizat prin aceea ca, este acidul 1-benzil-6-fluoro-7-piperidinil-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic

3. Derivat de acid chinolin-3-carboxilic, conform revendicarii 1, caracterizat prin aceea ca, este acidul 1-benzil-6-fluoro-7-(3-metil-piperidinil)-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic

4. Derivat de acid chinolin-3-carboxilic, conform revendicarii 1, caracterizat prin aceea ca, este acidul 1-benzil-6-fluoro-7-pirolidinil-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic

5. Derivat de acid chinolin-3-carboxilic, conform revendicarii 1, caracterizat prin aceea ca, este acidul 1-benzil-7-piperidinil-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic

6. Derivat de acid chinolin-3-carboxilic, conform revendicarii 1, caracterizat prin aceea ca, este acidul 1-benzil-7-(3-metil-piperidinil)-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic

7. Derivat de acid chinolin-3-carboxilic, conform revendicarii 1, caracterizat prin aceea ca, este acidul 1-benzil-7-pirolidinil-1,4-dihidro-4-oxo-chinolin-3-carboxilic