



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 363 716**

51 Int. Cl.:

C07C 43/23 (2006.01) **C07C 43/225** (2006.01)

C07C 217/84 (2006.01) **C07C 237/04** (2006.01)

C07F 9/12 (2006.01) **A61K 31/09** (2006.01)

A61K 31/136 (2006.01) **A61K 31/661** (2006.01)

A61K 31/16 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06817879 .7**

96 Fecha de presentación : **22.11.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **2025661**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.02.2009**

54

Título: **Derivados de combretastania que contienen la función fluoroalquiloxi, su preparación y su uso.**

30

Prioridad: **06.06.2006 CN 2006 1 0027307**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
12.08.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
12.08.2011

73

Titular/es: **ZHEJIANG DADE PHARMACEUTICAL
GROUP Co., Ltd.
289 West Jiangbin Road Yiwu
Zhejiang 322000, CN**

72

Inventor/es: **Shen, Weiping;
Wang, Jianping;
Wang, Jianguo;
Jin, Hongmei;
Qian, Feng y
Wang, Fei**

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 363 716 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de combretastatina que contienen la función fluoroalquiloxi, su preparación y su uso

Campo de la invención

5 La presente invención está dirigida al campo de la síntesis farmacéutica, especialmente a la síntesis de medicamentos anticancerosos.

Técnicas antecedentes

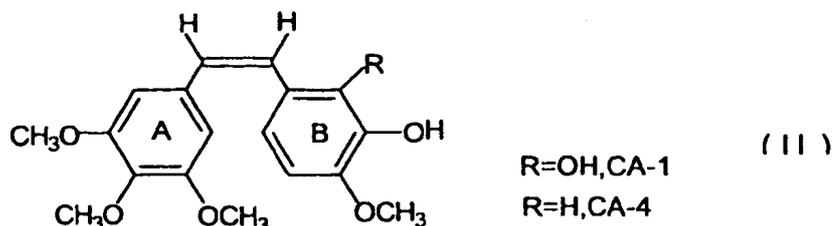
10 En el mundo actual, el cáncer es una enfermedad que presenta la máxima incidencia y grado de mortalidad. Amenaza seriamente a los seres humanos y a su salud y sigue siendo un rompecabezas para los investigadores. Al comienzo de los años de la década de 1970 los científicos no conocían nada sobre la causa de la formación de cánceres. Tenían que encontrar a ciegas remedios anticancerosos. En 1966 el National Cancer Institute empezó a fundar el proyecto de exploración de fármacos químicos. Se ensayaron uno por uno miles y miles de productos químicos que tuvieran el potencial de tratar el cáncer. Como resultado de ello se desarrollaron muchos fármacos quimioterapéuticos, tales como ácido aminometilfólico, ciclofosfamida, cisplatino, fluorouracil, paclitaxel, etc. Aunque esta clase de fármacos citotóxicos puede mejorar o eliminar algunos síntomas patológicos de la enfermedad, un tratamiento continuo usualmente causa una serie resistencia a múltiples fármacos, lo que conduce a un efecto menos curativo del tratamiento. Lo que hace peores las cosas es que el cáncer desarrollará resistencia a restos fármacos, y luego puede ser imposible el tratamiento futuro.

20 En 1971, el Dr. Folkman expuso por primera vez la teoría de la angiogénesis. Hizo las siguientes audaces hipótesis: (1) el crecimiento tumoral depende de la angiogénesis, (2) el tumor puede estimular la formación de esta clase de vaso sanguíneo iniciativamente, (3) el tumor puede secretar algunas sustancias químicas que pueden impulsar al vaso sanguíneo a crecer hacia el tumor y crecer las ramas. El crecimiento del tumor sólido depende de la cantidad de células neoplásicas y las células endoteliales del vaso sanguíneo del tumor. Estas dos clases de células dependen una de la otra para su existencia mutua. La fluctuación de la cantidad de cualquier clase de células puede causar inevitablemente la correspondiente fluctuación de la otra. Por ello, cualquier fármaco que pueda 25 inhibir las células neoplásicas o las células endoteliales del vaso sanguíneo del tumor es útil en el tratamiento de cánceres. La inhibición de células neoplásicas es quimioterapia usando sobre todo fármacos citotóxicos, y la inhibición de células endoteliales es terapia antiangiogénica que recientemente es la más perceptible. De acuerdo con la hipótesis del Dr. Folkman, el crecimiento y transferencia de un tumor sólido descansa en la neovascularización. Así, si se inhibe la formación de vasos sanguíneos del tumor, las células tumorales morirán a causa de la falta de sangre y suministro de oxígeno; y, sucesivamente, se retrasa el crecimiento del tumor y se inhibe la transferencia del tumor. Ahora se ha demostrado que la angiogénesis de nuevos vasos sanguíneos es un requerimiento para que crezca un tumor. Un tumor que tiene un volumen de menos de 1-2 mm³ puede sobrevivir mediante la obtención de nutrientes de los tejidos del entorno por ósmosis. En ese momento el tumor crece lentamente porque su desarrollo futuro debe descansar en la angiogénesis para obtener suficiente nutrición. La angiogénesis tumoral es un proceso multietapa que implica retracción de pericitos de la superficie abluminal de la capilaridad, liberación de proteasas de las células endoteliales activadas, degradación de la matriz extracelular (ECM) que rodea los vasos preexistentes, migración de células endoteliales hacia un estímulo angiogénico y su proliferación, formación de estructuras de tipo tubular, fusión de los vasos formados e iniciación de la corriente sanguínea. Este proceso se regula por el factor de secreción interna del nervio de base y factores de crecimiento expresados por células tumorales y células madre tumorales.

35 La terapia antiangiogénica ataca células endoteliales vasculares similares que rodean diferentes tumores. Excepto por la mayor velocidad de proliferación de las células endoteliales vasculares de tumor, no hay una diferencia aparente entre ellas y las normales. Las células endoteliales vasculares normales tienen un tiempo de vida más prolongado y un genotipo más estable. Excepto para las células de nervios, la célula endotelial es una clase de células que tienen el tiempo de vida más largo. Entre las células endoteliales, de la pared vascular en la edad adulta, sólo en torno a un 0,01% de ellas están en estado de división. La célula endotelial vascular de tumor se diferencia de la célula endotelial vascular normal de varias maneras. La célula endotelial vascular de tumor tiene una velocidad de proliferación que es de media 50 veces mayor que la de la célula endotelial vascular normal y por tanto es menos madura. Consecuentemente, los factores inhibitorios vasculares tienen una especificidad relativa para vasos sanguíneos tumorales, mientras que no tienen un efecto digno de mención alguno sobre la vasculatura de células normales. En comparación con la quimioterapia tradicional, que directamente selecciona dianas de células tumorales, la terapia antiangiogénica tiene algunas ventajas significativas: (1) los fármacos antiangiogénicos tienen una buena especificidad porque la angiogénesis se inicia una vez que se presenta el tumor. Los fármacos antiangiogénicos seleccionan directamente dianas de células endoteliales neovasculares. Por tanto, morirán miles 50 de células tumorales debido a la falta de oxígeno a medida que se destruye uno cualquiera de los vasos que causan oclusión. Estudios afines han demostrado que mueren el 99% de las células tumorales en un sitio

isquémico 2 horas después de tratamiento con fármacos antiangiogénicos. (2) A causa de que las células endoteliales vasculares están expuestas en sí a la corriente sanguínea, se pueden seleccionar por los fármacos como dianas directamente. Los fármacos antiangiogénicos no matarán directamente las células tumorales y justo cambiarán la formación y la velocidad de crecimiento de las células. La dosificación terapéutica de los fármacos antiangiogénicos es tan pequeña como de sólo 1/10-1/100 de la dosis máxima tolerada (MTD). A causa de la efectividad terapéutica alta con pequeñas dosis, no se generan efectos adversos como los derivados de la radioterapia y la quimioterapia. (3) Las células endoteliales tienen una expresión de genes relativamente estable y no es fácil que produzcan resistencia a fármacos. La velocidad de proliferación de las células endoteliales vasculares es varias decenas de veces la de tejidos normales. Los inhibidores de angiogénesis tienen efectos selectivos sobre las células endoteliales vasculares de tumor, que proliferan rápidamente, y tienen efectos muy limitados sobre los tejidos normales. Los inhibidores de angiogénesis tienen grandes ventajas.

La familia de las combretáceas de arbustos y árboles, que se encuentra en zonas tropicales y subtropicales, está bien representada en las prácticas médicas tradicionales. Hay 25 géneros combretum conocidos usados para el tratamiento de la enfermedad de Hansen y cánceres en África e India. Al final de la década de 1970, después de amplia exploración, el National Cancer Institute encontró que las plantas del género combretum pueden inhibir fuertemente la célula leucémica linfocítica P388. Desde el comienzo de la década de 1980, había un gran interés en el estudio de esta clase de plantas. Durante este período, el Dr. G. Robert Petit, director del Cancer Research Institute de la Universidad del estado de Arizona, y sus colegas aislaron combretastatinas del árbol sauce africano *Combretum caffrum* que ha sido usado por los zulúes como remedio y como pintura para lanzas. En el *Journal of Canadian Chemistry*, el Dr. George R. Petit señaló que la corteza del árbol tenía actividad antitumoral. Después no sólo se han aislado e identificado muchos compuestos que tienen una actividad alta, sino que también se ha desarrollado la investigación de su mecanismo farmacológico y la modificación de sus estructuras. El grupo del Dr. Petit comenzó primeramente un estudio en profundidad en este campo. Este grupo estudia las plantas del género *Combretum*, lo que dio por resultado el aislamiento de una serie de fenantrenos, estilbenos y bibencilos activos. Fue especialmente importante el descubrimiento de las combrestatinas A-1 y A-4 (denominadas en lo que sigue CA-4 y CA-1, representadas por la fórmula II). Inhibidoras muy potentes del crecimiento celular y la tubulina. Ambas demostraron ser inhibidores excepcionalmente fuertes de la polimerización de tubulina (documentos U.S. 5.561.122; WO 9935150).



Hay un interés extraordinario en el estudio de las combretastatinas, aunque no lo había antes de su descubrimiento. Esto no es sólo debido a que tienen una actividad antitumoral grande, sino porque también son productos naturales pequeños que inhiben la polimerización de la tubulina y la angiogénesis. El estudio del mecanismo de acción de la CA-1 muestra que el anillo A y el anillo B se unen a tubulina α y tubulina β , respectivamente, lo que causa el colapso de células endoteliales vasculares del tumor. La CA-4 suprime el crecimiento del tumor por atacar vasos sanguíneos nuevos mediante la inhibición de la polimerización de tubulina, a causa del suministro de oxígeno y nutrientes de los vasos sanguíneos necesario para el crecimiento tumoral.

La CA-4 puede entrar en las células endoteliales que revisten los vasos sanguíneos de células tumorales. En los tumores, estas células son inmaduras y por ello particularmente sensibles a los efectos de las combretastatinas en comparación con las células endoteliales de un tejido normal. Una vez que han entrado en las células endoteliales, las combretastatinas destruyen el esqueleto interno de las células y cambian su forma de lisas a redondas, taponando eficazmente los capilares que alimentan los tumores, lo que da por resultado una gran superficie de isquemia tumoral, dando sucesivamente por resultado la regresión del tumor. De acuerdo con la experiencia de experimentos precedentes y ensayos clínicos, ningún fármaco anticanceroso tradicional puede entrar en este sitio hasta ahora. Esta teoría se demostró en el ensayo clínico de fase I con CA-4, hasta ahora. Para cada paciente de cáncer individual, de 4 a 6 horas después del tratamiento con CA-4, el flujo sanguíneo decreció obviamente y más del 95% de las células tumorales murieron. Además del desarrollo de CA-4 como agente sistémico para el tratamiento del cáncer, se está desarrollando como aplicación tópica para el tratamiento de diversas enfermedades oculares, incluidas la degeneración macular relacionada y la retinopatía diabética proliferativa. La CA-4 puede tener también potencial para el tratamiento de la psoriasis y la artritis. La CA-4 también tiene efecto en cuanto a intensificación de la inmunidad, por lo que puede ser también útil en el tratamiento de enfermedades relacionadas con SIDA (documentos WO 02058535; U.S. 6773702).

Recientemente, la CA-4 muestra una interesante propiedad en la desaparición de la vasculatura tumoral como agente que identifica dianas de la vasculatura tumoral. (Thorpe PE. Clin Cancer Res. 2004, 15 enero, 10(2): 415-27; West CM, Price P. Anticancer Drugs 2004 marzo, 15(3):179-87; Young SL, Chaplin DJ. Expert Opin Investig Druga, 2004, sept, 13(9): 1171-82). Así, el desarrollo de nuevos análogos de CA-4 está siendo un asunto muy destacado. Por ejemplo, Oxigene Inc. ha desarrollado una serie de derivados funcionalizados de estilbeno (U.S. 6.919.324).

Es bien conocido que la introducción de flúor en una molécula bioactiva cambiará su actividad biológica, pero no es seguro si de ello resultará un aumento o una disminución de la actividad.

Por ejemplo, la fluorocombretastatina sintetizada por Sigma-Tau Industrie Farmaceutiche Riunite S.P.A., que introdujo uno o dos átomos de flúor en el puente de doble enlace, no presentó diferencia de actividad alguna con la CA-4.

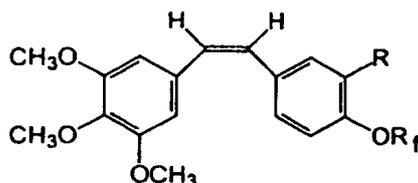
Por tanto, para los solicitantes es una tarea exigente la búsqueda de nuevos derivados de combretastatina con más alta actividad.

Sumario de la invención

Es objetivo de la invención proporcionar derivados fluoroalcoxicombretastatina de fórmula I. Es otro objetivo de la invención proporcionar un procedimiento para producir los compuestos de fórmula I. El tercer objetivo de la invención es proporcionar una composición farmacéutica que contenga los compuestos de fórmula I.

El cuarto objeto de la invención es proporcionar el uso médico de los compuestos de fórmula I.

En el primer aspecto, la invención proporciona compuestos de fórmula I:



(I)

en la que:

R_f es un grupo alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono en el que de 1 a 17 átomos de hidrógeno están sustituidos por 1 a 17 átomos de flúor;

R es amino, amino sustituido, hidroxilo, nitro, halógeno, alcoxi, fosfato o una cadena lateral de un aminoácido, y sus sales farmacéuticamente aceptables,

preferiblemente, $R_f = -CH_2F, -CHF_2, -C_nF_{2n+1}, -CH_2C_nF_{2n+1}, -CHFC_nF_{2+1}$ o $-CH_2CHFC_nF_{2n+1}$, n es un número entero de 1 a 3.

En una realización preferente, R_f y R se seleccionan entre los grupos siguientes constituidos por:

- R_f es fluorometilo, R es hidroxilo;
- R_f es fluorometilo, R es amino o amino sustituido;
- R es fluorometilo, R es fosfato disódico o fosfato amónico o una sal interna de fosforilcolina, o
- R_f es fluorometilo, R es $-NH(COCHR'NH)_m-H$, R' es hidrógeno, una cadena lateral de un aminoácido natural, fenilo, m es un número entero de 1 a 3.

En otra realización preferente, R_f y R se seleccionan entre los grupos siguientes constituidos por:

- R_f es fluoroetilo, R es hidroxilo;
- R_f es fluoroetilo, R es amino o amino sustituido;
- R_f es fluoroetilo, R es fosfato disódico o fosfato amónico o una sal interna de fosforilcolina, o
- R_f es fluoroetilo, R es $-NH(COCHR'NH)_m-H$, R' es hidrógeno, una cadena lateral de un aminoácido natural, fenilo, m es un número entero de 1 a 3.

En otra realización preferente, R_f y R se seleccionan entre los grupos siguientes constituidos por:

- $R_f = CH_2F, -CHF_2, -CF_3, -CH_2CF_3, -CH_2CHF_2$ o $-CF_2CF_3$, R = OH o $-OPO_3Na_2$; o

(b) $R_f = \text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CHF}_2$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{F}_3$, $-\text{CH}_2\text{CHF}_2$ o $-\text{CF}_2\text{CF}_3$, $R = -\text{NH}_2$ o $-\text{NHCOCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{OH}$.

En otra realización preferente, $R_f = -\text{CHF}_2$, $R = -\text{OH}$.

En otra realización preferente, $R_f = -\text{CHF}_2$, $R = -\text{OPO}_3\text{Na}_2$;

En otra realización preferente, $R_f = -\text{CHF}_2$, $R = -\text{NH}_2$.

5 En otra realización preferente, $R_f = -\text{CHF}_2$, $R = -\text{NHCOCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{OH}$.

En otra realización preferente, $R_f = -\text{CH}_2\text{CF}_3$, $R = -\text{OH}$.

En otra realización preferente, $R_f = -\text{CH}_2\text{CF}_3$, $R = -\text{OPO}_3\text{Na}_2$.

En otra realización preferente, $R_f = -\text{CH}_2\text{CF}_3$, $R = -\text{NH}_2$.

En otra realización preferente, $R_f = -\text{CH}_2\text{CF}_3$, $R = -\text{NHCOCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{OH}$.

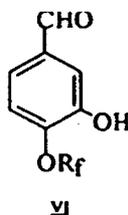
10 En el segundo aspecto, la invención proporciona un procedimiento para preparar los compuestos de fórmula I, que comprende las etapas de:

(1) en condiciones de catalizador de transferencia de fase, el 4-hidroxibenzaldehído III se fluoroalquila con un reactivo que contiene flúor, sintetizándose 4-fluoroalcoxi-3-metoxibenzaldehído, representado por la fórmula V:



15

(2) usando difenilfosfina de litio, se desmetila 4-fluoroalcoxi-3-metoxibenzaldehído V, sintetizándose 4-fluoroalcoxi-3-hidroxibenzaldehído, representado por la fórmula VI:



20

(3) se protege el hidroxilo de 4-fluoroalcoxi-3-hidroxibenzaldehído VI, luego el 4-fluoroalcoxi-3-hidroxibenzaldehído VI con hidroxilo protegido se hace reaccionar con iluro de 3,4,5-trimetoxibenciltrifenilfosonio por reacción de Wittig y el compuesto resultante se libera de la protección, obteniéndose los compuestos de fórmula I.

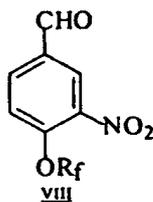
En otra realización preferente, el procedimiento comprende las etapas de:

25

(a) en condiciones de catalizador de transferencia de fase, el 4-hidroxibenzaldehído IV se fluoroalquila con un reactivo que contiene flúor, sintetizándose el 4-fluoroalcoxi-3-hidroxibenzaldehído representado por la fórmula VII:



(b) el 4-fluoroalcoxi-3-hidroxibenzaldehído VII se nitra en la posición 3 del anillo de fenilo con ácido nítrico y anhídrido acético, sintetizando el 4-fluoroalcoxi-3-nitrobenzaldehído representado por la fórmula VIII:



(c) el 4-fluoroalcoxi-3-nitrobenzaldehído VIII se hace reaccionar con iluro de 3,4,5-trimetoxibenciltrifenilfosfina por reacción de Wittig, obteniéndose los compuestos de fórmula I.

5 En otra realización preferente, el mencionado reactivo que contiene flúor es un fluorohalometano o fluoroalquilsulfonato.

En el tercer aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de los compuestos de fórmula I y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 En otra realización preferente, las mencionadas composiciones farmacéuticas se pueden administrar oralmente o intravenosamente mediante las formas de medicamento siguientes: polvo liofilizado, polvo, gránulos, comprimidos, cápsulas, jarabe, supositorios, inyección, emulsión, tintura, suspensión o solución.

En el cuarto aspecto, la invención proporciona el uso de los compuestos de fórmula I para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades causadas por una angiogénesis anormal.

15 En otra realización preferente, los compuestos de fórmula I se usan para tratar el crecimiento de diversos tumores y metástasis causados por una angiogénesis anormal: Entre los mencionados tumores figuran, no limitativamente, los siguientes:

20 carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón amicrocítico, hepatocarcinoma, adenocarcinoma de páncreas, carcinoma de estómago, osteocarcinoma, carcinoma de esófago, cáncer de mama, cáncer de próstata, tumor testicular, carcinoma de colon, cáncer de ovario, carcinoma de vejiga, cáncer cervical, melanocarcinoma, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándula sudorípara, carcinoma de glándula sebácea, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, cistocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de osteocitos, carcinoma epitelial, carcinoma del conducto biliar, carcinoma embrionario, coriocarcinoma, seminoma, tumor de Wilms, oligodendroglioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, meningioma, neuroblastoma, blastoma de nervio óptico, retinoblastoma, neurofibroma, fibrosarcoma, fibroblastoma, fibroma, fibroadenoma, fibrocondroma, fibrocistoma, fibromixoma, fibrostroma, fibromixodsarcoma, fibropapiloma, mixosarcoma, tumor bursal, mixocondroma, mixomixocondrosarcoma, mixocondrofibrosarcoma, mixoadenoma, mixoblastoma, liposarcoma, lipoma, lipoadenoma, tumos de lipoblasto, lipocondroma, fibroma lípido, lipoangioma, mixolipoma, condrosarcoma, condroma, confromioma, cordoma, corioadenoma, corioepitelioma, corioblastoma, osteosarcoma, sarcoma osteoblástico, ostrocondrofibroma, osteocondrosarcoma, osteocondroma, osteocistoma, osteodentinoma, osteofibroma, fibroblastoma de hueso, angiosarcoma, angioma, angioliopoma, condroma hemático, angioblastoma, angioqueratoma, angioglioma, hemangioendotelioma, hemangiofibroma, angiomioma, angiopolioma, linfangioma hemático, angiopoleiomioma, mioneuroma hemático, mixoma hemático, angiorretículoendotelioma, linfangiosarcoma, linfogranulomatosis, linfangioma, linfoma, linfomixoma, linfosarcoma, linfangiofibroma, linfocitoma, linfoepitelioma, linfoblastoma, carcinoma endotelial, endoblastoma, sinovioma, sinoviosarcoma, mesotelioma, mesocitoma, tumor de Ewing, lilioma, leiomiosarcoma, leiomioblastoma, liomiofibroma, rabdomioma, rabdomiosarcoma, rabdomiomixoma, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda (mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica, monocítica y eritroleucemia), leucemia crónica (leucemia mielocítica crónica [granulocítica] y leucemia linfocítica crónica), policitemia vera, linfoma (enfermedad de Hodgkin y linfoma no hodgkiniano), mieloma múltiple.

40 En otra realización preferente, los compuestos de fórmula I se usan para tratar otras enfermedades relacionadas que son producidas por angiogénesis patológica, que incluyen, no limitativamente, las siguientes: artritis reumatoide, retinopatía diabética, retinopatía de premadurez, obstrucción de vena de retina, psoriasis, acné rosáceo, sarcoma de Kaposi, queratitis atópica, queratoconjuntivitis epidémica, glaucoma neovascular, úlceras bacterianas, úlceras fúngicas, infecciones de herpes simple, infecciones de herpes zoster, infecciones de protozoos, infecciones de micobacterium, poliarteritis, sarcoidosis, escleritis, entema, enfermedad de Sjogren, lupus sistémico, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), sífilis.

Con este documento, la presente invención proporciona algunos nuevos derivados de combretastatinas con actividades biológicas mejoradas.

Ilustración

Figura 1: vía de síntesis de fluorometoxicombretastatina;

Figura 2: vía de síntesis de fluoroetoxicombretastatina;

Figura 3: vía de síntesis de derivados aminoácido de fluorometoxicombretastatina;

Figura 4: vía de síntesis de derivados aminoácido de fluoroetoxicombretastatina.

5 en las que:

PTC representa catalizador de transferencia de fase; Cat. representa catalizador; reacción de Wittig; Ph_2PLi representa difenilfosfina de litio; THF representa tetrahidrofurano; TFA representa ácido trifluoroacético; iPr_2EtN representa diisopropiletilamina; $(\text{PhCH}_2)_2\text{P}(\text{O})\text{H}$ representa fosfato de dibencilo; TMBS representa trimetilbromosilano; Fmoc-Ser(Ac) representa derivado de N-cr-9-fluorenilmetoxicarbonilo serina; DCC representa ciclohexilcarbodiimida; HOBt representa 1-hidroxibenzotriazol; DMF representa dimetilformamida; HCl ac. representa una solución diluida de ácido clorhídrico; NaOH ac. representa una solución diluida de hidróxido sódico; HCl conc. representa solución concentrada de ácido clorhídrico; HNO_3 conc. representa solución concentrada de ácido nítrico.

Descripción detallada de la invención

15 En el transcurso de un estudio extensivo e intensivo, los inventores descubrieron inesperadamente que la posición 4' del anillo B del producto natural combretastatina es un sitio activo, y que se puede introducir un grupo fluoroalcoxi en este sitio para mejorar la actividad identificadora de dianas de vasculaturas de tumores.

En el mencionado producto natural combretastatina se introdujo con éxito un grupo fluoroalcoxi en la posición 4' del anillo aromático B mediante la reacción clave de desmetilación usando selectivamente difenilfosfina de litio. Comparando con CA-4, estos nuevos compuestos de fórmula I intensifican la inhibición de la polimerización de tubulina, lo que se puede usar para tratar un estado patológico causado por angiogénesis anormal.

Como se señala aquí, los derivados de combretastatina son compuestos representados por la fórmula II.

Compuestos

25 La presente invención proporcionó nuevos derivados de combretastatina en los que en la posición 4' del anillo aromático B se introdujo un grupo fluoroalcoxi, representados por la fórmula I



(I)

en la que

30 R_f es un grupo alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono en el que de 1 a 17 átomos de hidrógeno están sustituidos con 1 a 17 átomos de flúor.

R es amino, amino sustituido, hidroxilo, nitro, halógeno, alcoxi, fosfato o una cadena lateral o un aminoácido, y sus sales farmacéuticamente estables.

Preferiblemente, $R_f = -\text{CH}_2\text{F}_2$, $-\text{CHF}_2$, $-\text{C}_n\text{F}_{2n+1}$, $-\text{CH}_2\text{C}_n\text{F}_{2n+1}$, $-\text{CHFC}_n\text{F}_{2n+1}$ o $-\text{CH}_2\text{CHFC}_n\text{F}_{2n+1}$, n es un número entero de 1 a 3.

35 Los compuestos preferidos de fórmula I de la presente invención son fluorometoxicombretastatina o derivados aminoácido de fluorometoxicombretastatina representados por la fórmula I, en los que $R_f = -\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CHF}_2$ o $-\text{CF}_3$, R = $-\text{OH}$, $-\text{OPO}_3\text{Na}_2$, $-\text{NH}_2$ o $-\text{NHCOCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{OH}$.

Preferiblemente, $R_f = -\text{CH}_2\text{F}$, R = $-\text{OH}$, $-\text{OPO}_3\text{Na}_2$, $-\text{NH}_2$ o $-\text{NHCOCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{OH}$.

40 Los otros compuestos preferidos de fórmula I de la presente invención son fluoroetoxicombretastatina o derivados aminoácido de fluoroetoxicombretastatina representados por la fórmula I, en la que $R_f = -\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{CHF}_2$ o $-\text{CF}_2\text{CF}_3$, R = $-\text{OH}$, $-\text{OPO}_3\text{Na}_2$, $-\text{NH}_2$ o $-\text{NHCOCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{OH}$.

Los derivados fluoroalcoxicombretastatina de la presente invención pueden formar sales de adición de base farmacéuticamente aceptables con bases inorgánicas o bases orgánicas. Entre tales bases inorgánicas pueden

figurar, no limitativamente, hidróxido potásico e hidróxido amónico, y entre las mencionadas bases orgánicas figuran, no limitativamente, aminas alifáticas tales como trietilamina), hidroxiaminas (tales como etanolamina), aminoácidos (tales como histidina), aminoglucósidos (tales como neoamina).

5 Los derivados fluoroalcoxicombretastatina de la presente invención pueden formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables con ácido inorgánicos o ácidos orgánicos. Entre los mencionados ácidos inorgánicos pueden figurar, no limitativamente, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico, y entre los ácidos orgánicos figuran, no limitativamente, ácido oxálico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido málico, ácido cítrico, ácido láctico y ácido glutámico.

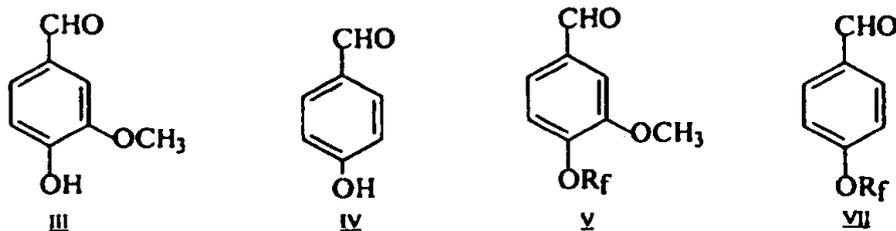
Preparación de compuestos

10 La presente invención proporciona un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula I, que comprende las etapas siguientes:

15 Con el catalizador de transferencia de fase, se fluoroalquiló 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído, luego se desmetiló selectivamente a una serie de nuevos derivados alcoxibenzaldehído fluorados usando difenilfosfina de litio, secuencialmente. El compuesto anterior se nitró, redujo, se protegió el grupo hidroxilo y luego se sometió a la reacción de Wittig, a lo que siguió desprotección, fosfatación, combinación con aminoácidos, etc., obteniéndose una serie de derivados fluoroalcoxicombretastatina.

Síntesis de derivados fluoroalcoxibenzaldehído

20 Se preparó 4-fluoroalcoxi-3-metoxibenzaldehído (V) o 4-fluoroalcoxibenzaldehído (VII) a partir de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído (III) o 4-hidroxibenzaldehído (IV) usando reactivo de fluoroalquilación en presencia de una base inorgánica y catalizador de transferencia de fase.



25 Los mencionados reactivos de fluoroalquilación se seleccionaron entre el grupo constituido por fluorohaloalcano, fluoroalquilsulfonato, preferiblemente entre el grupo constituido por Freón (F22) o p-foluenosulfonato de fluoroalquilo. Las mencionadas bases se seleccionaron entre el grupo constituido por: hidróxido, uno o varios de carbonatos, preferiblemente seleccionados entre el grupo constituido por hidróxido potásico y/o carbonato potásico. El catalizador de transferencia de fase mencionado se seleccionó entre el grupo constituido por sales de amonio cuaternario, sales de fosfonio cuaternario, éter corona, polietilenglicol (PEG), preferiblemente del grupo constituido por cloruro de benciltrietilamonio, bisulfato de tetrabutilamonio (TBAB), éteres 18-corona-6, difenil-18-corona-6, dicitclohexil-18-corona-6 o PEG-400. El grupo fórmula de 4-fluoroalcoxi-3-metoxibenzaldehído (V) se protegió usando compuestos glicol, luego se desmetiló selectivamente con difenilfosfina de litio el metoxilo de la posición 3, obteniéndose el 4-fluoroalcoxi-3-hidroxibenzaldehído VI. Se nitró el 4-fluoroalcoxibenzaldehído VII en la posición meta con ácido nítrico concentrado en presencia de anhídrido acético como disolvente, obteniéndose el 3-nitro-4-fluoroalcoxibenzaldehído VIII.

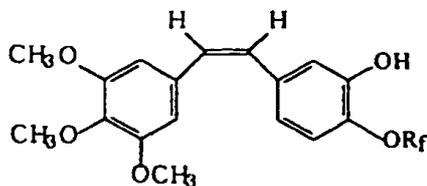


35

Síntesis de derivados fluoroalcoxicombretartatina

40 Se hizo reaccionar 4-fluoroalcoxi-3-hidroxibenzaldehído VI con cloruro de trifenilmetilo en presencia de un catalizador base orgánica, obteniéndose 3-trifenilmetoxi-4-fluoroalcoxibenzaldehído. Se convirtió bromuro de 3,4,5-trimetoxibenciltrifenilfosfina en el correspondiente iluro de P con n-butil litio, luego se hizo reaccionar el iluro de P correspondiente con el 3-trifenilmetoxi-4-fluoroalcoxibenzaldehído anterior por reacción de Wittig, formándose los

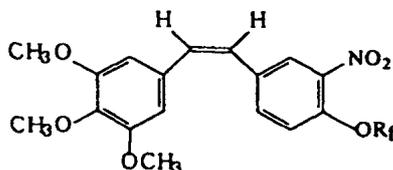
derivados fluoroalcoxiestilbeno. Seguidamente se desprotegió el grupo tritilo con la acción combinada de ácido clorhídrico concentrado y ácido trifluoroacético, obteniéndose los derivados 3'-hidroxifluoroalcoxicombrestatatina IX.



IX

5

Análogamente se hizo reaccionar el 4-fluoroalcoxi-3-nitrobenzaldehído VIII con el iluro de P por reacción de Wittig, obteniéndose los derivados 3'-nitrofluoroalcoxicombrestatatina X

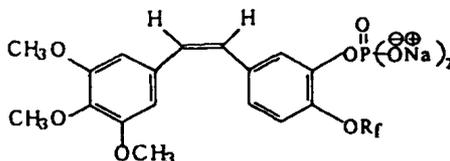


X

10

Síntesis de derivados fosfato o aminoácido de fluoroalcoxicombrestatatina

Como se muestra en la Figura 1 o 2, el grupo hidroxilo de la posición 3' del derivado fluoroalcoxicombrestatatina IX se convirtió en la sal preferida con tetracloruro de carbono, di(isopropil)etilamina, fosfito de dibencilo, bromuro de trimetilsilano, metóxido sódico, formando a su vez fosfato de fluoroalcoxicombrestatatina XI

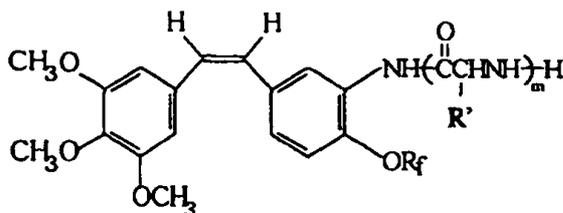


XI

15

O como se muestra en la Figura 3 o la Figura 4, el grupo nitro de la posición 3' de los anteriores derivados fluoroalcoxicombrestatatina X se redujo a amino por agentes reductores. Los agentes reductores preferidos fueron cloruro de estaño(II), polvo de zinc/ácido acético o tiosulfato sódico. Sucesivamente, el producto reducido se trató con el derivado aminoácido de N- α -9-fluoroenilmtoxycarbonilo (FmocAA), ciclohexilcarbodiimida (DCC) y 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) para introducir una cadena aminoácido lateral en la posición 3. Seguidamente el producto que tenía una cadena lateral aminoácido en la posición 3 se desprotegió con hidróxido sódico a aminocarboxamida, obteniéndose los derivados aminoácido de fluoroalcoxicombrestatatina XII.

20



XII

en la que R' = H, fenilo o una cadena lateral de aminoácido, m es un número entero de 1 a 3.

25 Composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas de la invención contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de compuestos

de fórmula I y el vehículo farmacéuticamente aceptable, siendo en ellas la cantidad de compuestos de fórmula I de 0,1 a 99% (p/p) de las composiciones. Las mencionadas composiciones farmacéuticas pueden administrarse oralmente o intravenosamente en las formas de medicamento siguientes: polvo liofilizado, gránulos, polvo, comprimido, cápsula, jarabe, supositorio, inyección, emulsión, tintura, suspensión o solución.

5 Para administración intravenosa, las composiciones pueden tener forma de polvo liofilizado, que se disuelve con solución salina o de glucosa.

Para administración oral, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, tintura, cápsula, supositorio, jarabes, gránulos, emulsión, suspensión o solución.

10 La dosificación de ingrediente activo varía con la vía de administración y el grado de progresión de las enfermedades. Cuando el compuesto de la presente invención se tomó en forma de dosificación diaria de aproximadamente 0,5-500 mg/kg de peso corporal/día, el resultado del tratamiento fue satisfactorio. En una realización preferente de la presente invención, el compuesto inventado se administra al sujeto en dosis divididas de 2 a 4 veces o en forma de liberación extendida. Para la mayoría de mamíferos grandes, la dosificación diaria es de entre 1 y 100 mg totalmente. La forma de dosificación oral adecuada contenía 0,5-500 mg de compuesto activo, 15 que se mezcló con una forma sólida o líquida de vehículo farmacéuticamente aceptable. La dosificación se puede ajustar para tener la respuesta del tratamiento más preferida. Por ejemplo, de acuerdo con las diferentes condiciones terapéuticas, las composiciones inventadas se pueden administrar diariamente en dosis divididas, o se pueden administrar a escalas descendentes. Generalmente, la dosificación de administración oral clínica adecuada para un adulto es de entre 1 y 1000 mg y, las preferidas de 10-200 mg. La dosificación no oral para un adulto es de 20 entre 0,1 y 100 mg, siendo una preferida de 1-100 mg.

La fluoroalcoxicombretastatina de la presente invención preparada por los procedimientos antes mencionados se puede administrar oralmente o intravenosamente cuando se usa como agente que identifica dianas vasculares. La dosificación del ingrediente activo varía con el grado de progresión de la enfermedad. Usualmente, la dosificación diaria es de 1 a 3.000 mg para un adulto.

25 En una realización preferente, los compuestos de la presente invención se administraron oralmente o intravenosamente. Entre los vehículos sólidos figuraban almidón, lactosa, hidrogenofosfato cálcico, celulosa cristalina, azúcar y caolín; y entre los vehículos líquidos, agua estéril, polietilenglicol, manitol, tensioactivo no iónico y aceite comestible (tal como aceite de maíz, aceite de cacahuete) y aceites de sésamo que eran adecuados para la característica del ingrediente activo o para la forma de administración específica. El coadyuvante que 30 habitualmente se usó en la preparación de las medicinas hizo uso también de agentes saboreadores, pigmentos, conservantes y antioxidantes, tales como vitamina E, vitamina C, BHT y BHA.

Como se indica en la memoria, la administración intravenosa incluye la inyección intraperitoneal y la infusión de fluido por goteo disolviendo el polvo liofilizado con solución salina o glucosa. El polvo liofilizado pudo prepararse de forma rutinaria en la técnica.

35 Las composiciones de la invención se pueden administrar oralmente, lo que incluye comprimidos y cápsulas. Las preparaciones se pueden preparar mezclando el ingrediente eficaz y al menos uno de los aditivos farmacéuticamente aceptables, figurando como aditivos excipientes, aglutinantes, desintegrantes, lubricantes, colorantes, agentes correctivos, antioxidantes, conservantes y similares, y la mezcla resultante se conforma a polvo, gránulos, comprimidos, comprimidos revestidos, píldoras, cápsulas o similares. Entre los ejemplos de excipientes 40 adecuados figuran uno o varios de lactosa, almidón de maíz, sacáridos, dextrosa, sorbitol y celulosa cristalina. Entre los ejemplos de aglutinantes adecuados figuran uno o varios de poli(alcohol de vinilo), poli(vinil éter), etilcelulosa, metilcelulosa, goma arábiga, tragacanto, gelatina, goma laca, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilalmidón y polivinilpirrolidona. Entre los ejemplos de desintegrantes típicos figuran uno o varios de almidón, agar, polvo de gelatina, celulosa cristalina, carbonato cálcico, hidrogenocarbonato sódico, citrato cálcico, dextrano y pectina. Entre 45 los ejemplos de lubricantes apropiados figuran uno o varios de estearato magnésico, talco, polietilenglicol, sílice y aceite vegetal hidrogenado. Entre los colorantes típicos figuran colorantes que han sido aprobados para adición a medicinas. Entre los agentes correctivos aceptables figuran polvo de cacao, mentol, aceite de menta piperácea, borneol refinado y canela. Los comprimidos o gránulos se pueden revestir con azúcar, gelatina, etc. Los medicamentos pueden tener también otros aditivos, entre ellos un diluyente inerte, un conservante tal como ésteres del ácido p-hidroxibenzoico y ácido sórbico, un antioxidante tal como vitamina E, vitamina C, BHT y BHA, un agente 50 de descomposición, agente adhesivo, agente igualador, solución tampón, edulcorante, agente saboreador y perfume. Los comprimidos y píldoras también se pueden revestir con un revestimiento entérico. Entre los ejemplos de antioxidantes figuran vitamina E, vitamina C, BHT y BHA. Entre los ejemplos de conservantes figuran ésteres del ácido p-hidroxibenzoico, ácido sórbico. Los comprimidos y gránulos se pueden revestir con azúcar, gelatina o 55 similar si se desea. Entre las formas líquidas de administración figuran emulsión, jarabe, tintura, suspensión y solución, que pueden contener un diluyente inerte usualmente empleado, tal como agua.

La ventaja principal de la invención es la introducción de la función fluoroalcoxi en la posición 4' del anillo aromático

del producto natural combretastatina para mejorar la actividad de selección de dianas en la vasculatura tumoral

La invención se ilustra adicionalmente con los ejemplos siguientes. Estos ejemplos son sólo para ilustrar la invención, pero no para limitar el alcance de la invención. En cuanto a los procedimientos experimentales utilizados en los ejemplos siguientes, se han realizado en condiciones rutinarias o siguiendo las instrucciones de los fabricantes, y todas las partes, porcentajes, relaciones son en peso a no ser que se especifique lo contrario.

Ejemplo 1

Síntesis de 4-difluorometoxibenzaldehído

En un matraz de cuatro bocas, de 1 litro, equipado con termómetro, condensador de reflujo, agitador mecánico y entrada de gas se cargaron 50 g (0,01 mol) de 4-hidroxibenzaldehído y 400 ml de alcohol isopropílico. La mezcla se agitó durante 20 min y luego se añadieron por goteo 120 ml de una solución acuosa que contenía 5 g de éter 18-corona-6 y 106,3 g de hidróxido sódico (2,665 mol). Después de la adición se agitó la mezcla durante 30 min, luego se calentó a 65°C y luego se introdujo clorodifluorometano a través de la entrada en 5-6 horas; se controló la reacción por TLC. Después de la reacción, la mezcla se enfrió a 15°C y luego se añadieron 400 ml de agua para apagar la reacción. La mezcla resultante se sometió a extracción tres veces con éter (3 x 300 ml). La capa orgánica se lavó con agua a pH = 7 y se secó con sulfato magnésico anhidro. Se eliminó el éter por destilación rápida y luego el residuo se eliminó a presión reducida, obteniéndose 4-difluorobenzaldehído (85-87°C/10 mm de Hg) con un rendimiento de 95%. RMN ¹H (ppm) δ: 9,87 (1H, s; -CHO), 7,70 (2H, m; 2,6-ArH); 7,36 (1H, t; J²_{H-F} = 68 Hz; -CHF₂), 6,96 (2H, m; 3,5 -ArH).

Ejemplo 2

Síntesis de 4-difluorometoxi-3-metoxibenzaldehído

Se repite el Ejemplo 1, excepto que se reemplazó 4-hidroxibenzaldehído con 62,5 g (0,41 mol) de 4-hidroxi-3-metoxi-benzaldehído, obteniéndose 4-difluorometoxi-3-metoxibenzaldehído (117-120°C/10 mm de Hg) con un rendimiento de 93%. RMN ¹H (ppm) δ: 9,85 (1H, s; -CHO), 7,38 (1H, t; J²_{H-F} = 69 Hz; -CHF₂), 7,27 (1H, m; 6-ArH), 7,20 (1H, m; 2-ArH), 6,83 (1H, m; 5-ArH), 3,73 (3H, s; -OCH₃).

Ejemplo 3

Síntesis de 4-difluorometoxi-3-hidroxibenzaldehído

Etapas 1: bajo atmósfera de argón se cargaron por turno 61 g (0,3 mol) de 4-difluorometoxi-3-metoxibenzaldehído, 130 g (2,1 mol) de etilenglicol y 133 g (0,9 mol) de ortoformiato de trietilo en un matraz de tres bocas. La mezcla se calentó a reflujo y luego se añadió como catalizador 1 ml de una solución de trifluoruro de boro en éter. La mezcla se calentó a reflujo y se hizo reaccionar durante 24, controlándose por TLC. La mezcla se enfrió luego a temperatura ambiente y se añadieron 200 ml de una solución acuosa de hidróxido sódico al 15%. La mezcla se sometió a extracción con 300 ml de éter. El extracto se lavó con salmuera saturada, luego se secó con sulfato magnésico anhidro y se destiló a presión reducida, obteniéndose un producto oleoso amarillo.

Etapas 2: Se cargó un matraz con 200 ml de solución 1,28 M de difenilfosfina de litio en tetrahidrofurano, se añadieron en lotes 50 g (0,2 mol) del acetal antes preparado. Después de la adición la mezcla resultante se agitó durante 3-4 h a temperatura ambiente, controlándose por TLC. Se añadió agua para apagar la reacción, luego se añadieron 200 ml de una solución acuosa de hidróxido sódico al 30%. La mezcla se sometió a extracción con 300 ml de éter. Se enfrió la capa acuosa, se acidificó con ácido clorhídrico a pH 3-4 y luego se sometió a extracción con 500 ml de éter. Se combinaron los extractos etéreos y la combinación se lavó con salmuera saturada y se secó con sulfato magnésico anhidro. Se filtró el extracto seco y se eliminó el disolvente a presión reducida, obteniéndose un sólido amarillo. El producto en bruto se recristalizó en benceno/éter de petróleo, obteniéndose 31,2 g de un sólido cristalino amarillento (p.f. 104-106°C) con un rendimiento de 83%. RMN ¹H (ppm) δ: 9,86 (1H, s; -CHO), 7,37 (1H, t; J²_{H-F} = 72 Hz; -CHF₂), 7,26 (1H, m; 6-ArH), 7,17 (1H, m; 2-ArH), 6,79 (1H, m; 5-ArH), 4,88 (1H, s; -OH), 4,88 (1H, s; -OH). RMN ¹³C (ppm) δ: 191,0 (CHO), 163,9 (l, CHF₂), 157,2 (4-ArC), 146,2 (3-ArC), 130,6 (1-ArC), 123,5 (6-ArC), 116,7 (2-ArC), 116,2 (5-ArH).

Ejemplo 4

Síntesis de 4-difluorometoxi-3-nitrobenzalaldehído

En un matraz de tres bocas, de 1000 ml, con embudo de adición y agitador mecánico se cargaron 72 g (0,42 mol) de p-difluorometoxibenzaldehído y 400 ml de anhídrido acético. La mezcla se enfrió en baño de hielo-sal. Se añadió a gotas en 3-4 h, a menos de 5°C, una solución de 36 ml de ácido nítrico concentrado en 50 ml de diclorometano. Se controló por TLC la marcha de la reacción. La temperatura se aumentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 días.

La mezcla de reacción se enfrió a 0-5°C. Mientras que se agitaba la mezcla, se añadió solución acuosa de ácido

clorhídrico al 20% hasta que se formó un precipitado y la mezcla se enfrió más hasta que no se formó más precipitado. Se filtró la mezcla, obteniéndose cristales amarillos. Se recrystalizó el producto en bruto en etanol del 95%, obteniéndose 74 g (p.f. 88-90°C) de un sólido cristalino amarillento con un rendimiento de 81%. RMN ¹H (ppm) δ: 9,92 (1H, s; -CHO), 7,87 (1H, t; J²_{H-F} = -70 Hz; -CHF₂), 7,68 (1H, m; 6-ArH), 7,59 (1H, m; 2-ArH), 7,22 (1H, m; 5-ArH), RMN ¹³C (ppm) δ: 194,0 (CHO), 165,1 (t, CHF₂), 160,2 (4-ArC), 157,4 (3-ArC), 137,3 (1-ArC), 130,2 (6-ArC), 122,5 (2-ArC), 120,2 (5-ArC).

Ejemplo 5

Síntesis de 4-trifluoroetoxi-benzaldehído

Se cargaron 50 g (0,41 mol) de 4-hidroxibenzaldehído, 400 ml de N,N-dimetilformamida (DMF) y 5 g de éter 18-corona-6 en un matraz de 4 bocas, de un litro, equipado con termómetro, agitador mecánico y condensador de reflujo, y luego la mezcla se agitó durante 20 min. Se añadieron en lotes 168 g (1,22 mol) de carbonato potásico en polvo y se agitó durante otros 30 min. La mezcla de reacción se calentó a 110°C y luego se añadió a gotas, en aproximadamente 1 h, una solución de 115 g (0,45 ml) de tolueno-4-sulfonato de trifluoroetilo en 100 ml de DMF. La mezcla de reacción se calentó a aproximadamente 130°C durante 3-4 h. La reacción se controló por TLC. Se enfrió la mezcla a 0°C, se vertió en 600 ml de ácido clorhídrico 3 N enfriado y se agitó. La mezcla se sometió a extracción con 1000 ml de éter. Se separó la capa acuosa y se sometió a extracción con éter (3 x 400 ml). Se combinaron los extractos y la combinación se lavó con 400 ml de ácido clorhídrico 3N, agua destilada y salmuera por turnos. Luego se secó con sulfato magnésico anhidro. Se eliminó el éter por destilación rápida y el residuo se destiló en vacío, obteniéndose 4-trifluoroetoxibenzaldehído (95-97°C/10 mm de Hg) con un rendimiento de 88%. RMN ¹H (ppm) δ: 9,80 (1H, s; -CHO), 7,65 (2H, m; 2,6-ArH), 6,83 (2H, m; 3,5-ArH), 4,56 (2H, q; J³_{H-F} = 7,2 Hz; -CH₂CF₃).

Ejemplo 6

Síntesis de 4-trifluoro-3-metoxibenzaldehído

Se repitió el Ejemplo 5, excepto que el 4-hidroxibenzaldehído se reemplazó con 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído, obteniéndose 4-trifluoro-3-metoxibenzaldehído (126-129°C/10 mm de Hg) con un rendimiento de 83%. RMN ¹H (ppm) δ: 9,88 (1H, s; -CHO), 7,27 (1H, m; 6-ArH), 7,20 (1H, m; 2-ArH), 6,83 (1H, m; 5-ArH), 4,48 (2H, q; J³_{H-F} = 7,2 Hz; -CH₂CF₃), 3,65 (3H, s; -OCH₃).

Ejemplo 7

Síntesis de 4-trifluoroetoxi-3-hidroxibenzaldehído.

Se repitió el Ejemplo 3, excepto que el 4-difluoro-3-metoxibenzaldehído se reemplazó con 70 g (0,3 mol) de 4-trifluoroetoxi-3-metoxibenzaldehído, obteniéndose 4-trifluoroetoxi-3-hidroxibenzaldehído (p.f. 133-135°C) con un rendimiento de 81%. RMN ¹H (ppm) δ: 9,81 (1H, s; -CHO), 7,26 (1H, m; 6-ArH), 7,17 (1H, m; 2-ArH), 6,79 (1H, m; 5-ArH), 4,88 (1H, s; -OH), 4,45 (2H, q; J³_{H-F} 7,2 Hz; -CH₂CF₃). RMN ¹³C (ppm) δ: 191,0 (CHO), 157,2 (4-ArC), 146,2 (4-ArC), 130,6 (1-ArC), 126 (q, CF₃), 123,5 (6-ArH), 116,7 (2-ArC), 116,2 (5-ArC), 87 (m, CH₂).

Ejemplo 8

Síntesis de 4-trifluoroetoxi-3-nitrobenzaldehído

Se repitió el Ejemplo 4, excepto que el 4-difluorometoxibenzaldehído se reemplazó con 86 g (0,42 mol) de 4-trifluoroetoxibenzaldehído, obteniéndose 4-trifluoroetoxi-3-nitrobenzaldehído (p.f. 126-127°C) con un rendimiento de 78%. RMN ¹H (ppm) δ: 9,91 (1H, s; -CHO), 7,28 (1H, m; 6-ArH), 7,20 (1H, m; 2-ArH), 6,77 (1H, m; 5-ArH), 4,46 (2H, q; J³_{H-F} 7,2 Hz; -CH₂CF₃). RMN ¹³C (ppm) δ 191,0 (CHO), 157,2 (4-ArC), 146,2 (3-ArC), 127 (q, CF₃), 123,5 (6-ArC), 116,7 (2-ArC), 116,2 (5-ArC), 89 (m, CH₂).

Ejemplo 9

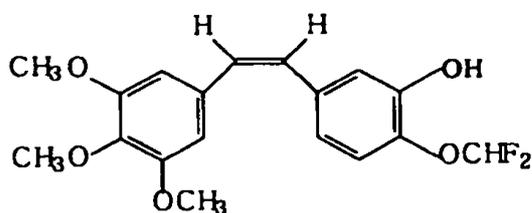
Síntesis de (Z)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(3'-hidroxi-4'-difluorometoxifenil)-eteno (DD8011, fórmula XIII)

Etapas 1: Se disolvieron 12,5 g (0,066 mol) de 4-difluorometoxi-3-hidroxibenzaldehído y 21,1 g (0,076 mol) de cloruro de trifetilmetilo en 42 ml de THF seco en un matraz de 4 bocas de 500 ml. La mezcla se agitó uniformemente, se gotearon lentamente 1,3 ml de trietilamina en la mezcla y luego se agitó durante 1 h. La reacción se controló por TLC. Finalizada la reacción se añadieron 50 ml de agua para apagar la reacción. La mezcla se agitó durante otros 30 min y se añadieron 100 ml de acetato de etilo para disolver el flóculo. Se añadieron 250 ml de n-heptano para precipitar el sólido amarillento pálido. Se separó por filtración el sólido y se lavó dos veces con agua, luego con una mezcla de 10 ml de acetato de etilo/éter de petróleo. Se obtuvieron 25,8 g de un sólido cristalino blanco con un rendimiento de 91%. RMN ¹H (ppm) δ 9,87 (s, 1H, CHO), 7,37 (t, 1H, J²_{H-F} = 72 Hz, -CHF₂), 7,26 (m, 2H, Ar-H), 7,19 (m, 15H, Tr-H), 6,85 (s, 1H, Ar-H).

Etapas 2: Bajo atmósfera de argón se pusieron en suspensión en 30 ml de THF 15 g (28,7 mol) de bromuro de

trimetoxifenilmetilentrifenilfosfonio y la mezcla se enfrió a aproximadamente -15°C . Se añadieron lentamente a gotas 22 ml de una solución de n-butil litio en hexano (aproximadamente 1,6 mol/l) y luego se agitó la mezcla de reacción durante 1 h. Se añadió lentamente a gotas una solución de 12,5 g (29 mmol) del aldehído antes preparado en la etapa 1 en 24 ml de THF. La mezcla de reacción se agitó durante la noche y la temperatura de reacción se elevó lentamente hasta temperatura ambiente. La reacción se controló por TLC. La mezcla de reacción se enfrió nuevamente a -5°C al día siguiente y se añadió salmuera para apagar la reacción. Se separó la capa orgánica y se eliminó el disolvente por destilación rápida. El producto en bruto se purificó por cromatografía rápida en columna, obteniéndose 15 g de un sólido cristalino blanco con un rendimiento de 88%. RMN ^1H (ppm) δ : 7,19 (m, 15H, Tr-H), 6,94 (d, 1H, 2'-H), 6,80 (dd, 1H, 5'-H), 6,55 (s, 2H, 2,6-H), 6,52 (t, 1H; $J_{\text{H-F}}^2 = 72$ Hz; $-\text{CHF}_2$), 6,47 (d, 1H, 1a-H), 6,41 (d, 1H, 1a'-H), 3,88 (s, 3H, 4-OCH₃), 3,71 (s, 6H, 3,5-OCH₃).

Etapa 3: Se disolvieron a temperatura ambiente 10 g (16,8 mmol) de los compuestos de la reacción de Wittig de la etapa 2 en 20 ml de tolueno. Se añadieron a gotas 4 ml de solución acuosa al 37% de ácido clorhídrico. La reacción se controló por TLC. Finalizada la reacción, se añadió agua para parar la reacción. La mezcla de reacción se enfrió a -5°C , obteniéndose bajo agitación un sólido cristalino blanco. Se separó por filtración el sólido y se secó, obteniéndose 5,6 g de un sólido cristalino blanco con un rendimiento de 95%. RMN ^1H (ppm) δ : 7,02 (d, 1H, 2'-H), 6,94 (dd, 1H, 6'-H), 6,80 (d, 1H, 5'-H), 6,62 (s, 2H, 2,6-H), 6,53 (t, 1H, $J_{\text{H-F}}^2 = -72$ Hz; $-\text{CHF}_2$), 6,46 (d, 1H, 1a-H), 6,40 (d, 1H, 1a'-H), 5,51 (a, 1H; OH), 3,86 (s, 3H, 4-OCH₃), 3,70 (s, 6H, 3,5-OCH₃).



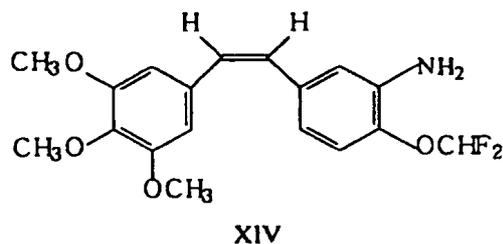
XIII

Ejemplo 10

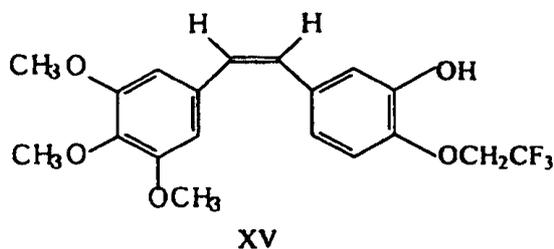
Síntesis de (Z)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(3'-amino-4'-difluorometoxifenil)-eteno (DD8021, fórmula XIV)

Etapa 1: Bajo atmósfera de argón se pusieron en suspensión 15 g (28,7 mmol) de bromuro de trimetoxifenilmetilentrifenilfosfonio en 30 ml de THF y la mezcla se enfrió a aproximadamente -15°C . Se añadieron lentamente a gotas 22 ml de una solución de n-butil litio en hexano (aproximadamente 1,6 mol/l) y luego se agitó la mezcla de reacción durante 1 h más. Se añadió lentamente a gotas una solución de 6,3 g (29 mmol) de 4-difluorometoxi-3-nitrobenzaldehído en 24 ml de THF. La mezcla de reacción se agitó durante la noche y la temperatura de reacción se elevó lentamente hasta temperatura ambiente. La reacción se controló por TLC. La mezcla de reacción se enfrió nuevamente a -5°C y se añadió salmuera para apagar la reacción. Se separó la capa orgánica y se eliminó el disolvente por destilación rápida. El producto en bruto se purificó por cromatografía rápida en columna, obteniéndose 6,6 g de un sólido cristalino amarillento pálido con un rendimiento de 61%. RMN ^1H (ppm) δ : 7,32 (d, 1H, 6'-H), 7,16 (dd, 1H, 6'-H), 6,90 (d, 1H, 5'-H), 6,78 (t, 1H, $J_{\text{H-F}}^2 = 72$ Hz; CHF_2), 6,64 (s, 2H, 2,6-H), 6,49 (d, 1H, 1a-H), 6,43 (d, 1H, 1a'-H), 3,86 (s, 3H, 4-OCH₃), 3,70 (s, 6H, 3,5-OCH₃).

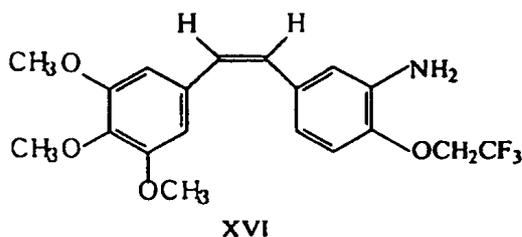
Etapa 2: Se disolvieron en 10 ml de acetona/agua (v/v, 2:1) 4,1 g (10,8 mmol) de (Z)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(3'-nitro-4'-difluorometoxifenil)eteno. La mezcla se calentó a 50°C y se agitó para disolver la totalidad de sólidos. Se añadieron 18,8 g de tiosulfato sódico y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 6 h. La reacción se controló por TLC. Finalizada la reacción, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se separó la capa orgánica y la capa acuosa se sometió a extracción con 50 ml x 4 de acetato de etilo. Se combinaron las capas orgánicas y la combinación se lavó con salmuera saturada, luego se secó sobre sulfato magnésico anhidro. Se eliminó parcialmente el disolvente por evaporación rotatoria y luego se enfrió, obteniéndose producto en bruto. El producto en bruto se recristalizó en éter de petróleo, obteniéndose 2,6 g de un sólido cristalino amarillento con un rendimiento de 68,6%. RMN ^1H (ppm) δ : 7,08 (d, 1H, 2'-H), 6,92 (dd, 1H, 6'-H), 6,76 (d, 1H, 5'-H), 6,62 (s, 2H, 2,6-H), 6,49 (d, 1H, 1a-H), 6,43 (d, 1H, 1a'-H), 6,28 (t, 1H, $J_{\text{H-F}}^2 = 72$ Hz, $-\text{CHF}_2$), 5,13 (a, 2H, NH₂), 3,86 (s, 3H, 4-OCH₃), 3,70 (s, 6H, 3,5-OCH₃).

**Ejemplo 11****Síntesis de (Z)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(3'-hidroxi-4'-trifluoroetoxifenil)-eteno (DD 8031, fórmula XV)**

Se repitió el Ejemplo 9, excepto que se reemplazó 4-difluorometoxi-3-hidroxibenzaldehído con 14.5 g (66 mmol) de 4-trifluoroetoxi-3-hidroxibenzaldehído. Después de las tres etapas de reacción, se obtuvo (Z)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(3'-hidroxi-4'-trifluoroetoxifenil)-eteno con un rendimiento de 79,5%. RMN ¹H (ppm) δ 6.93 (d, 1H, 2'-H), 6,84 (dd, 1H, 6'-H), 6,72 (d, 1H, 5'-H), 6,60 (s, 2H, 2,6-H), 6,45 (d, 1H, 1a-H), 6,38 (d, 1H, 1a'-H), 5,51 (a, 1H, OH), 4,48 (2H, q, J_{F-H} = 7,2 Hz, -CH₂CF₃), 3,86 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.70 (s, 6H, 3,5-OCH₃)

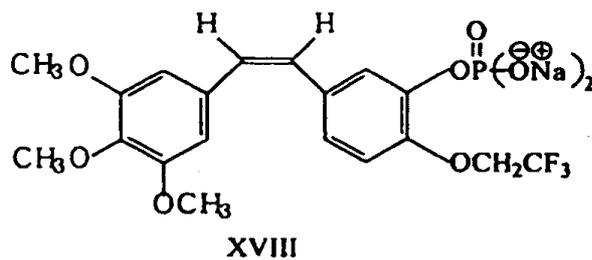
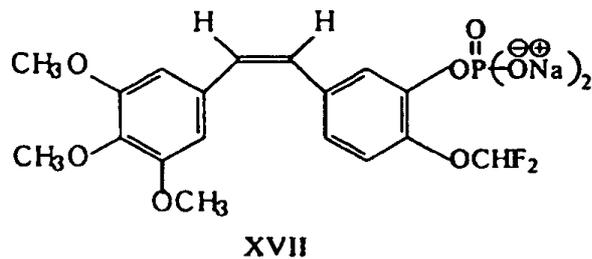
**Ejemplo 12****Síntesis de (Z)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(3'-amino-4'-trifluoroetoxifenil)-eteno (DD8041, fórmula XVI)**

Se repitió el Ejemplo 10, excepto que se reemplazó 4-difluorometoxi-3-nitrobenzaldehído con 14.5 g (66 mmol) de 4-trifluoroetoxi-3-nitrobenzaldehído. Después de dos etapas de reacción, se obtuvo (Z)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(3'-amino-4'-trifluoroetoxifenil)-eteno con un rendimiento de 43,6%. RMN ¹H (ppm) δ 7.08 (d, 1H, 2'-H), 6,92 (dd, 1H, 6'-H), 6,76 (d, 1H, 5'-H), 6,62 (s, 2H, 2,6-H), 6,49 (d, 1H, 1a-H), 6,43 (d, 1H, 1a'-H), 5,13 (a, 2H, NH₂), 4,40 (2H, q, J_{F-H} = 7,2 Hz, -CH₂CF₃), 3,86 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.70 (s, 6H, 3,5-OCH₃).

**Ejemplo 13**

Síntesis de la sal (Z)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(3'-hidroxi-4'-difluorometoxifenil)-eteno-3'-O-fosfato disódico (DD 8011 DP, fórmula XVII) y la sal (Z)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(3'-hidroxi-4'-difluoroetoxifenil)-eteno-3'-O-fosfato disódico (DD 8031 DP, fórmula XVIII)

El procedimiento de conversión del hidroxilo de la combretastatina A-4 en el profármaco fosfato disódico soluble en agua fue dado a conocer por Petit, G.R y otros en Anti-Cancer Drug Design 1998, 13, 183-191 (véase Figura 1 y Figura 2).



Ejemplo 14

Síntesis

5 (Z)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(3'-amino-4'-difluorometoxifenil)-eteno-3'-serinamida (DD8021AS, fórmula XIX) y (Z)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(3'-amino-4'-trifluoroetoxifenil)-eteno-3'-serinamida (DD80

Se hizo reaccionar derivados aminosustituídos de estilbeno que habían reaccionado con derivados de N- α -9-fluoroenilmetoxicarbonilserina (FmocAA) por reacción de acoplamiento y el producto resultante se desprotegió, obteniéndose compuestos profármaco aminoácido de estilbeno. El procedimiento se dio a conocer por Petit, G.R. y otros en J. Med. Chem., 2002, 46, 525-31, Véanse Figura 3 y Figura 4.

10

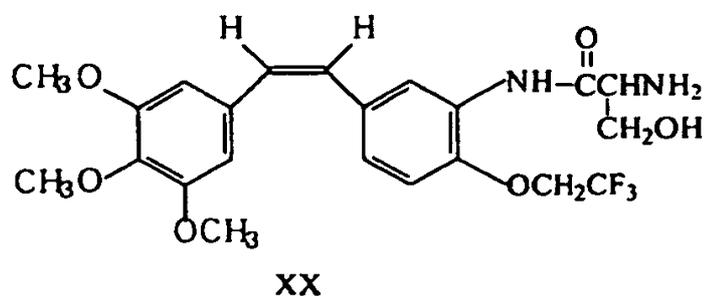
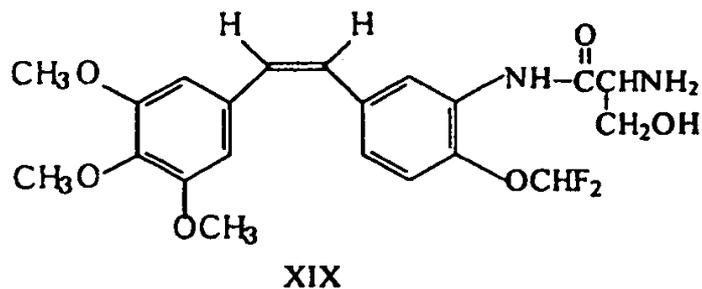


Tabla I

	Fórmula nº.	R _f	R	
5	DD8011	XIII	-CHF ₂	-OH
	DD8021	XIV	-CHF ₂	-NH ₂
	DD8031	XV	-CH ₂ CF ₃	-OH
	DD8041	XVI	-CH ₂ CF ₃	-NH ₂
	DD8011DP	XVII	--CHF ₂	-OPO ₃ Na ₂
10	DD8031DP	XVIII	-CH ₂ CF ₃	-OPO ₃ Na ₂
	DD8021AS	XIX	-CHF ₂	-NHCOCH(NH ₂)CH ₂ OH
	DD8041AS	XX	-CH ₂ CF ₃	-NHCOCH(NH ₂)CH ₂ OH

Ejemplo 15**15 Evaluación de la actividad antitumoral in vitro**

Se usaron los ensayos MTT y SRB para evaluar la inhibición de la proliferación de tumor en células cultivadas in vitro a las que se administró fluoroalcoxicombretastatina durante 72 h. El resultado comparativo con CA-4 se mostró en la Tabla 2.

20 Grupos de células: células de cáncer humano H460, células de cáncer de estómago humano SGC7901, células de cáncer de colon humano HT-29, células de cáncer de hígado humano Bel-7402.

Diseño experimental: las células se cultivaron en caliente con los compuestos en diferentes concentraciones (100, 10, 1, 0,1, 0,01, 0,001 μM) durante 72 h. Se usó el ensayo SRB para evaluar el grado de inhibición de los compuestos a la proliferación de células. Se calculó el grado de inhibición y se calculó la CI₅₀ usando el modelo Logit de acuerdo con el grado de inhibición. Y se comparó la actividad de los compuestos in vitro.

25 El grado de inhibición se expresó usando la siguiente ecuación:

Grado de inhibición, % = [(valor medio de DO del grupo de control-valor medio de DO del grupo experimental)/valor medio de OD del grupo de control] x 100%.

Tabla 2

Comd. \ Cl ₅₀ , μM	Cáncer de estómago SGC-7901	Cáncer de pulmón amicrocítico	Cáncer de colon HT29	Cáncer de hígado Bel-7402
CA-4	0,010	0,027	2,380	0,75
DD8011	0,022	0,044	3,000	0,92
DD8021	0,018	0,036	2,250	0,83
DD8031	0,005	0,005	0,079	0,30
DD8041	0,003	0,005	0,068	0,28

5

Los resultados muestran que la fluorometoximetastatina tenía una actividad antitumoral similar in vitro a la de la combretastatina natural A-4. Mientras que la fluoroetoxicombretastatina tenía una actividad atitumoral de 3 a 30 veces la de fluorometoxicombretastatina.

Ejemplo 16

10 **Evaluación de la inhibición neovascular in vitro**

Los efectos antiangiogénicos de las fluoroalcoxicombretastatinas se estimaron en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) usando el mismo método del Ejemplo 15

Tabla 3

Comd. \ Cl ₅₀	HUVEC
CA-4	0,003
DD8011	0,002
DD8021	0,002
DD8031	0,001
DD8041	0,001

15

Los resultados demuestran que las fluoroalcoxicombretastatinas tienen una fuerte actividad inhibidora de la unión de tubulina e indican que las fluoroalcoxicombretastatinas son una nueva clase de fármacos potenciales que identifican dianas de la vasculatura tumoral (Tabla 3).

Ejemplo 17

20 **Preparación de polvo liofilizado de fluoroalcoxicombretastatina**

Tabla 4

Fórmula	Contenido, g
DD8031DP	25
Manitol	125
Agua de inyección	2500
DD8031DP, polvo liofilizado	0,025/botella x 1000 botella

5 Se pesaron exactamente los materiales de acuerdo con las fórmulas (Tabla 4): La cantidad de la fórmula de manitol se disolvió en 80% de la cantidad de agua de inyección de la fórmula para obtener una solución clara, y se añadió 0,1% (g/ml) de coque absorbente. La mezcla se agitó y se dejó sedimentar y se filtró a través de una membrana de microaberturas de 0,45 μm . Se midió el pH y el contenido, obteniéndose el producto cualificado. Luego se llenó la botella con el agua y seguidamente se liofilizó. Se introdujo nitrógeno y se taponó y marcó, se envasó y se ensayó, obteniéndose el producto acabado (dado que los derivados de combretastatina son moderadamente sensibles a la temperatura y la luz, los procesos se realizaron en la oscuridad y los productos se almacenaron a 2-80 en la oscuridad.).

10 Todos los documentos citados aquí se incorporan en la invención como referencia, incorporándose cada uno de ellos individualmente. Además, se tendrá en cuenta que en la exposición anterior de la invención el experto en la técnica podría hacer ciertos cambios y modificaciones de la invención, y estas equivalencias seguirían estando dentro del alcance de la invención, definida por las reivindicaciones anexas a la memoria.

15

20

25

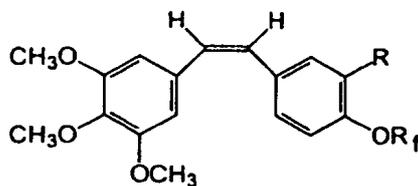
30

35

40

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



(I)

5 en la que:

R_f es un grupo alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono en el que de 1 a 17 átomos de hidrógeno están sustituidos por 1 a 17 átomos de flúor;

R es amino, amino sustituido, hidroxilo, nitro, halógeno, alcoxi, fosfato o una cadena lateral de un aminoácido, y sus sales farmacéuticamente aceptables,

10 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R_f y R se seleccionan entre los siguientes grupos:

- (a) R_f es fluorometilo, R es hidroxilo;
- (b) R_f es fluorometilo, R es amino o amino sustituido;
- (c) R es fluorometilo, R es fosfato disódico o fosfato amónico o una sal interna de fosforilcolina, o
- (d) R_f es fluorometilo, R es -NH(COCHR'NH)_m-H, R' es hidrógeno, una cadena lateral de un aminoácido

15 natural, fenilo,

m es un número entero de 1 a 3.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R_f y R se seleccionan entre los siguientes grupos:

- (a) R_f es fluoroetilo, R es hidroxilo;
- (b) R_f es fluoroetilo, R es amino o amino sustituido;
- (c) R_f es fluoroetilo, R es fosfato disódico o fosfato amónico o una sal interna de fosforilcolina, o
- (e) R_f es fluoroetilo, R es -NH(COCHR'NH)_m-H, R' es hidrógeno, una cadena lateral de un aminoácido natural, fenilo,

20

m es un número entero de 1 a 3.

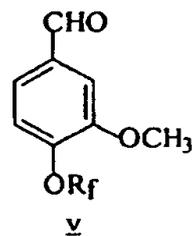
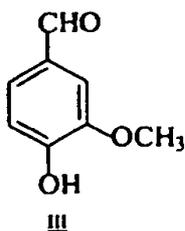
4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R_f y R se seleccionan entre los siguientes grupos:

- (a) R_f = -CH₂F, -CHF₂, -CF₃, -CH₂CF₃, -CH₂CHF₂ o -CF₂CF₃, R = OH o -OPO₃Na₂; o
- (b) R_f = -CHF, -CHF₂, -CF₃, -CH₂F₃, -CH₂CHF₂ o -CF₂CF₃, R = -NH₂ o -NHCOCH(NH₂)CH₂OH.

25

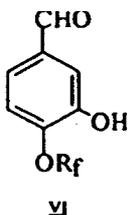
5. Un procedimiento para preparar el compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende las etapas de:

30 (1) en condiciones de catalizador de transferencia de fase, el 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído III se fluoroalcoxila con un reactivo que contiene flúor, sintetizándose 4-fluoroalcoxi-3-metoxibenzaldehído, representado por la fórmula V:



(2) usando difenilfosfina de litio, se desmetila 4-fluoroalcoxi-3-metoxibenzaldehído, sintetizándose 4-

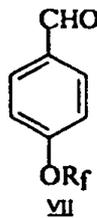
fluoroalcoxi-3-hidroxibenzaldehído, representado por la fórmula VI:



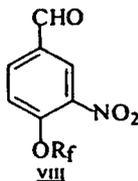
(3) se protege el hidroxilo de 4-fluoroalcoxi-3-hidrobenzaldehído VI, y luego se hace reaccionar con iluro de 3,4,5-trimetoxibenciltrifenilfosfonio por reacción de Wittig y el compuesto resultante se libera de la protección, obteniéndose el compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1.

6. Un procedimiento para preparar el compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende las etapas de:

(a) en condiciones de catalizador de transferencia de fase, el 4-hidroxibenzaldehído IV se fluoroalquila con un reactivo que contiene flúor, sintetizándose el 4-fluoroalcoxi-3-hidrobenzaldehído representado por la fórmula VII:



(b) el 4-fluoroalcoxi-3-hidrobenzaldehído VII se nitra en la posición 3 del anillo de fenilo con ácido nítrico y anhídrido acético, sintetizándose el 4-fluoroalcoxi-3-nitrobenzaldehído representado por la fórmula VIII:



(c) el 4-fluoroalcoxi-3-nitrobenzaldehído VIII se hace reaccionar con iluro de 3,4,5-trimetoxibenciltrifenilfosfina por reacción de Wittig, obteniéndose el compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1.

7. El procedimiento de la reivindicación 5 o 6, en el que el reactivo que contiene flúor es un fluorohalometano o fluoroalquilsulfonato.

8. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende el compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en una cantidad terapéuticamente eficaz y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

9. Uso del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para la fabricación de un inhibidor de unión de la tubulina.

10. Uso del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de las enfermedades causadas por angiogénesis anormal.

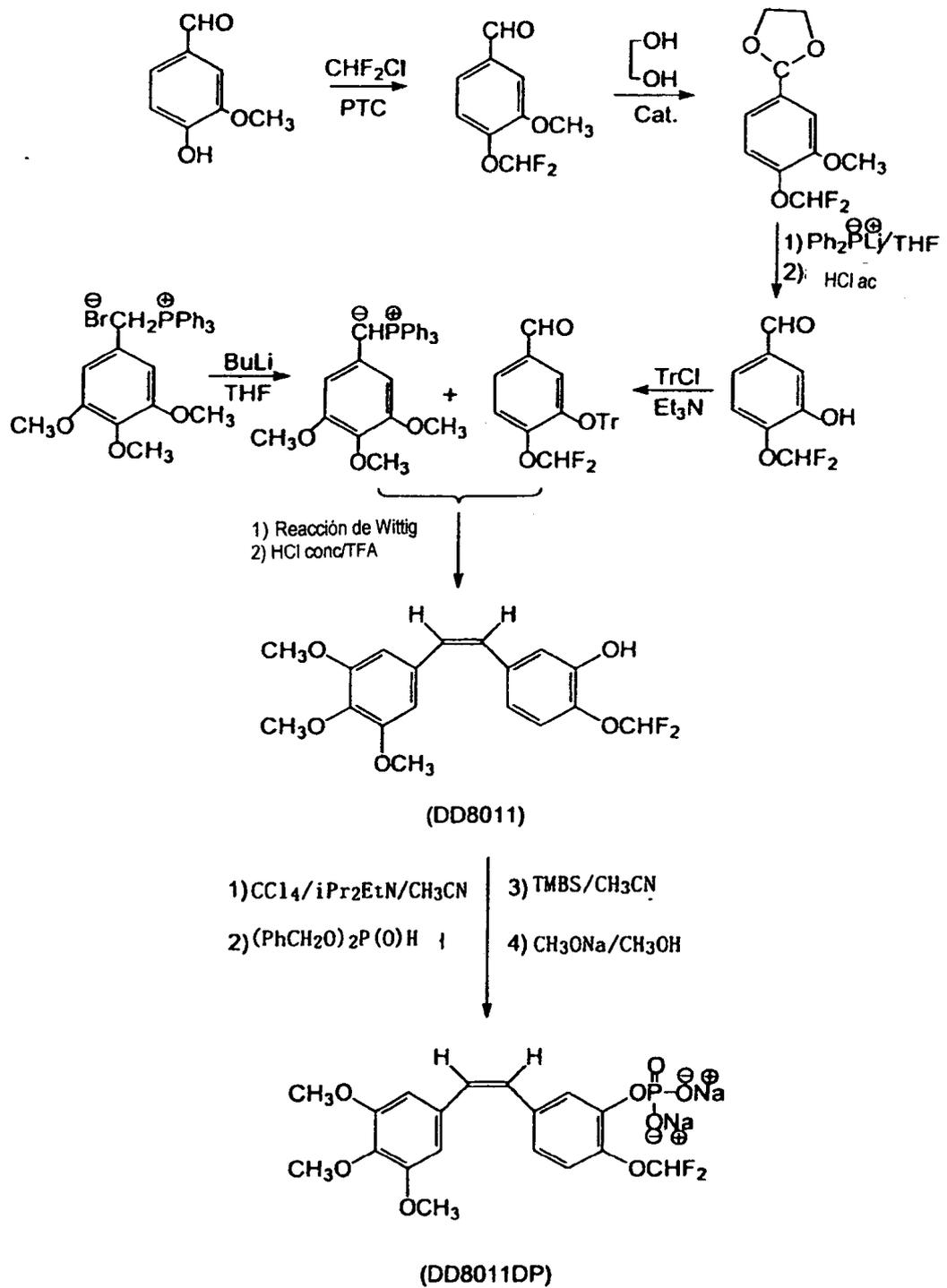


FIG. 1

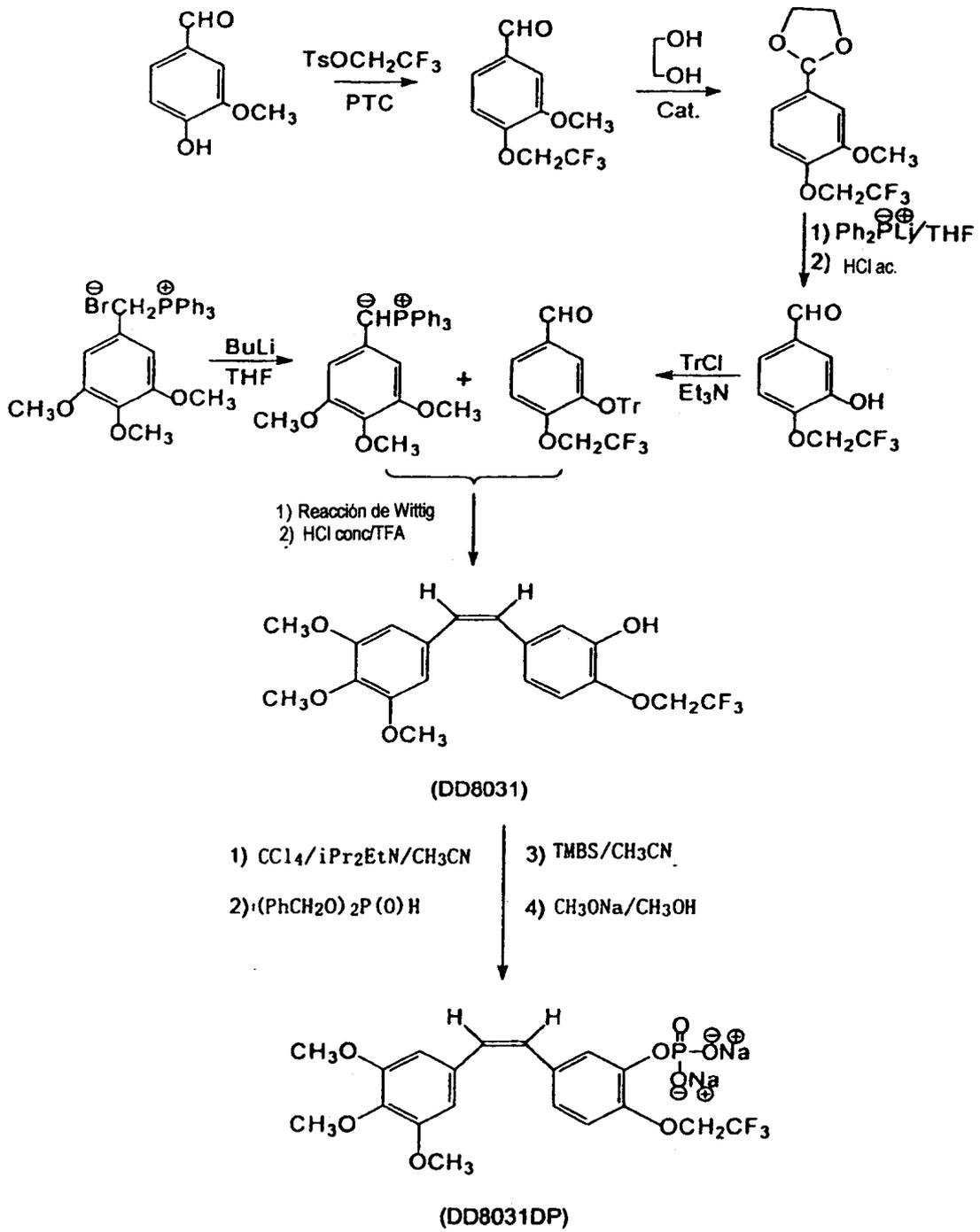


FIG. 2

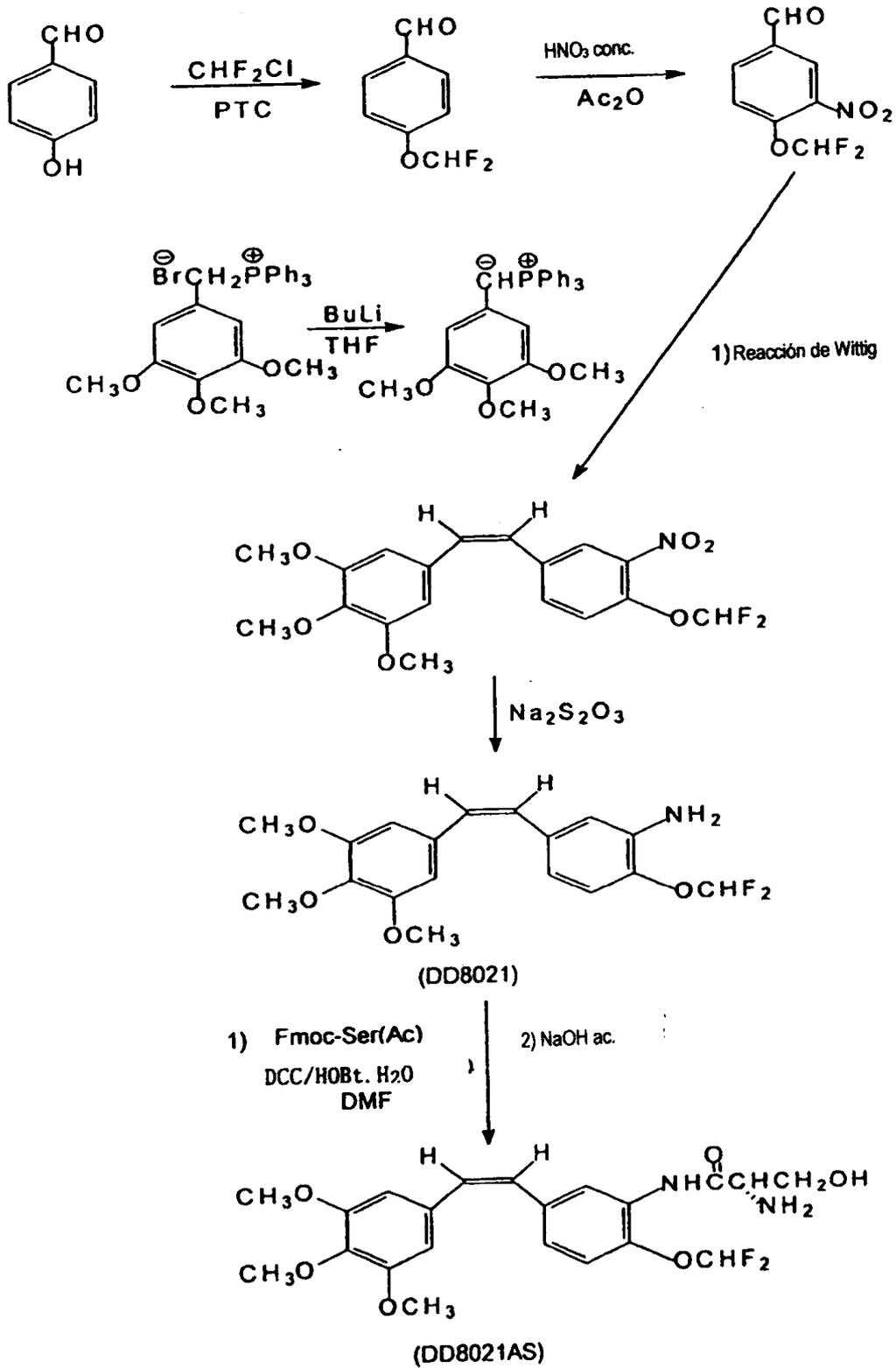


FIG. 3

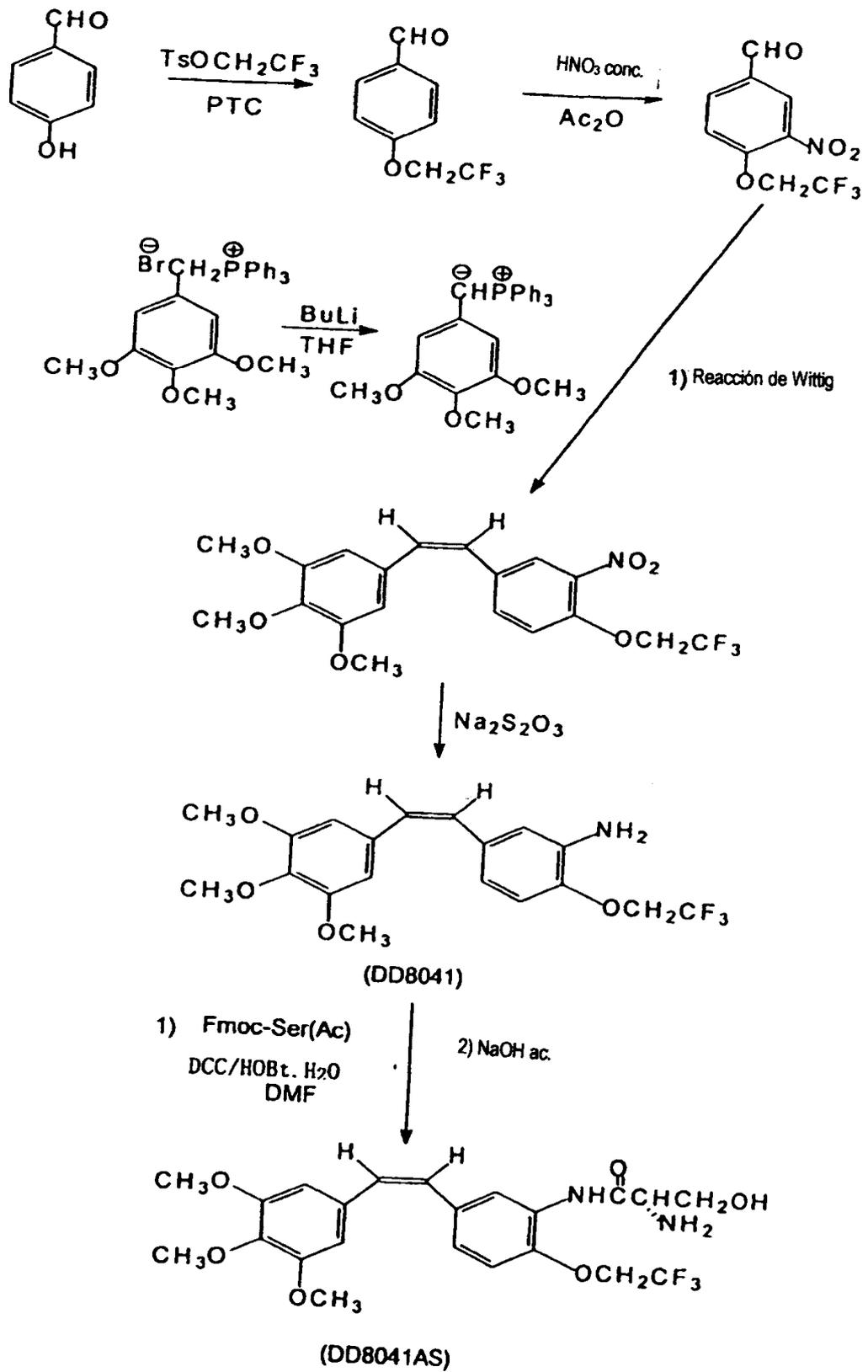


FIG. 4