

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 381 057**

51 Int. Cl.:
A61K 31/343 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08761406 .1**
96 Fecha de presentación: **30.06.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2190426**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.06.2010**

54 Título: **Análogos de la griseofulvina para el tratamiento del cáncer mediante la inhibición de la agregación centrosomal**

30 Prioridad:
28.06.2007 EP 07111335

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
22.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
22.05.2012

73 Titular/es:
**DKFZ DEUTSCHES
KREBSFORSCHUNGSZENTRUM
IM NEUENHEIMERFELD 280
69120 HEIDELBERG, DE y
TECHNICAL UNIVERSITY OF DENMARK**

72 Inventor/es:
**CLAUSEN, Mads, Hartvig;
KRÄMER, Alwin;
LARSEN, Thomas Ostenfeld y
REBACZ, Blanka**

74 Agente/Representante:
Carvajal y Urquijo, Isabel

ES 2 381 057 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

Análogos de la griseofulvina para el tratamiento del cáncer mediante la inhibición de la agregación centrosomal.

La presente invención se relaciona con los usos de los compuestos que tienen una estructura como se muestra por la fórmula (I) para la fabricación de una composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer. La presente invención abarca el uso de dichos compuestos en métodos de tratamiento de dichas enfermedades. La presente invención también se dirige a los compuestos revelados en la presente aplicación como tal.

Un inconveniente de la terapia estándar actual para el cáncer utilizando cirugía, quimioterapia, quimioterapia de dosificación alta incluyendo trasplante de célula madre, radiación y terapia 131I-MIBG es la eficacia y selectividad limitada acompañada por la variación de las tasas de mortalidad, según el caso pueda ser. Por otra parte, regularmente se encuentran graves efectos secundarios.

Los fármacos anti-cáncer clásicos utilizan proliferación/división celular como un objetivo, por consiguiente matando todas las células divididas sin diferenciar entre las células que pertenecen al tumor que deben ser objetivos y los tejidos normales. Esta falta de especificidad causa más de los efectos secundarios bien conocidos e inevitables de agentes quimioterapéuticos clásicos.

Existe una gran necesidad considerada de proporcionar o identificar los compuestos, que se pueden utilizar en un método para el tratamiento del cáncer, el modo de acción anti-tumoral del cual no se basa en los principios citotóxicos de la quimioterapia tradicional y que sean selectivos solamente para las células cancerosas, no para las células normales, no-transformadas del cuerpo.

La griseofulvina (Fórmula Química Abstracta: (2-5-trans)-7-cloro-2,4,6-trimetoxi-6-metilspiro-[benzofuran-2(3H), 1-(2)-ciclohexeno]-3,4-diona; Chem. Abstr. Ser. No. 126-07-8; estructura química ver estructura (II)) es un antibiótico natural producido por *Penicillium griseofulvum* así como otros microhongos y se aisló en 1938.

La griseofulvina comúnmente se utiliza en humanos en un método para el tratamiento de dermatomicosis en la piel, cabello, y uñas causada por *Microsporum*, *Trichophyton*, y *Epidermophyton*. El modo de acción en hongos no se entiende completamente, pero se ha demostrado que causa un bloqueo reversible de la síntesis del ácido nucleico y las proteínas y que su principal efecto en la mitosis aparentemente se debe a la desorganización de los microtúbulos del husillo. La dosis diaria para adultos es 0.5 a 1 g (máximo 20 mg/kg de peso corporal); en niños esta es 10 mg/kg de peso corporal. El tiempo de tratamiento depende del tipo y localización de la infección, para infecciones del cabello 2 a 3 meses, para onicomycosis y se necesitan aproximadamente 6 meses para infecciones de las uñas. La griseofulvina también se utiliza en medicina veterinaria contra infecciones de tiña (*Trichophyton*).

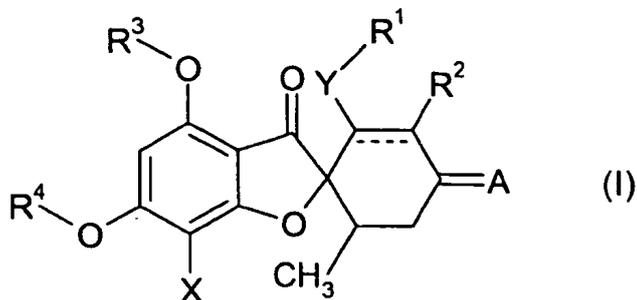
Patent application WO 97/05870 revela el uso de griseofulvina para inhibir el crecimiento de cánceres, particularmente en humanos. El compuesto se puede utilizar para inhibir el crecimiento de células de leucemia, tumores y cáncer. La divulgación de esta solicitud se restringe solo a la griseofulvina.

Oda revela en J. Antibiot. 59(2), páginas 114-116 (2066), que un análogo de la griseofulvina, en el cual el grupo metoxi en la posición 2' se ha reemplazado por un grupo n-propoxi muestra un efecto inhibitor más fuerte en las células cancerosas que la griseofulvina en sí.

El efecto inhibitor de la griseofulvina, sin embargo no se considera que sea suficiente para permitir su uso en un método para el tratamiento del cáncer.

Por lo tanto, es un objeto de la presente invención proporcionar los compuestos para utilizar en los métodos para tratar el cáncer, el modo de acción anti-tumoral del cual no se basa en los principios citotóxicos de la quimioterapia tradicional, porque este no mejorará los resultados de la terapia. Otro objeto de la presente invención es el suministro de los compuestos que son activos en el tratamiento del cáncer y que no se basan en los principios de la quimioterapia tradicional citotóxica. Adicionalmente, solo las células cancerosas serán afectadas, pero no las células del cuerpo "normales" no-transformadas. En particular, los compuestos tendrán mejores propiedades para el tratamiento del cáncer que la griseofulvina o sus análogos probados para actividad anti-cáncer, con respecto a su actividad anti-tumor así como con respecto al espectro de cánceres que se pueden tratar.

Este objeto se consigue por un compuesto de acuerdo con la fórmula general (I)



En el sentido más general se clasifican a continuación bajo A, los símbolos tienen los siguientes significados:

A:

A se selecciona de: =O, =NOR⁵, y =N-NR⁶R⁷, y =NR⁸;

5 X se selecciona de: H, halógeno y pseudohalógeno;

Y se selecciona de: -CH₂-, -O-, -S- y -NH-;

en donde, la línea punteada indica un doble enlace, el cual opcionalmente puede estar presente;

10 R¹ se selecciona de: grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 4 a 20 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -NO₂, NH₂, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos alquilo acíclicos lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y que llevan en su cadena uno o más átomos no-adyacentes del grupo O y S; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 20 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

15 R² se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -NO₂, NH₂, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos alquilo acíclicos lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y que llevan en su cadena uno o más átomos no-adyacentes del grupo O y S; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 20 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

R³ se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 10 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 6 átomos de carbono;

25 R⁴ independientemente tiene el mismo significado que R³;

R⁵ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁶ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁷ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

30 R⁸ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En el contexto de la presente invención, un grupo aralquilo es un grupo basado en un grupo alquilo, por el cual un grupo aromático se une al resto de la molécula a la cual está unida. Un ejemplo prominente de un grupo aralquilo es el grupo bencilo -CH₂-(C₆H₅), en donde -CH₂- se une al resto de la molécula y además lleva un grupo fenilo -(C₆H₅).

Los enlaces dobles en el anillo no-aromático de los compuestos de fórmula (I) pueden dar lugar a tautomerismo de por ejemplo un equilibrio enol/ceto. En el caso que los tautómeros resulten de la presencia del doble enlace exocíclico, una forma tautomérica dada se puede estabilizar o fijar por alquilación. Los métodos de alquilación apropiados se conocen por el experto en la técnica.

5 La presente invención también incluye profármacos de los compuestos de fórmula (I).

Las modalidades preferidas se clasifican a continuación bajo B:

B:

A se selecciona de: =O, =NOR⁵ y =N-NR⁶R⁷

X se selecciona de: H, halógeno y pseudohalógeno;

10 Y se selecciona de: -CH₂-, -O-; -S

en donde, la línea punteada indica un doble enlace, el cual opcionalmente puede estar presente;

15 R¹ se selecciona de: grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 4 a 15 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -NO₂, NH₂, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos alquenoxi lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 10 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

20 R² se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 15 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -NO₂, NH₂, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos alquenoxi lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 10 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

25 R₃ se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 6 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono;

R⁴ independientemente tiene el mismo significado que R³;

30 R⁵ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁶ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁷ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

35 Incluso las modalidades más preferidas, se clasifican a continuación bajo C:

C:

A se selecciona de: -O, -NOR⁵ y =N-NR⁶R⁷

X se selecciona de: H, halógeno y pseudohalógeno;

Y se selecciona de: -CH₂-, -O-; -S

40 En donde, la línea punteada indica un doble enlace, el cual opcionalmente puede estar presente;

5 R¹ se selecciona de: grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 4 a 10 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos etileno que tienen 1 a 20 átomos de carbono y grupos propileno, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 6 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5, 6 o 10 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

10 R² se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos etileno que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y grupos propileno, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 6 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5, 6 o 10 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

15 R³ se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 6 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono;

R⁴ independientemente tiene el mismo significado que R³;

20 R⁵ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁶ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁷ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Las modalidades, que incluso se prefieren sobre aquellas bajo C, se clasifican a continuación bajo D:

25 **D:**

A se selecciona de: =O, =NOR⁵;

X se selecciona de: H, halógeno;

Y se selecciona de: -O-; -S

en donde, la línea punteada indica un doble enlace, el cual opcionalmente puede estar presente;

30 R¹ se selecciona de: grupos alquilo, alqueno y alquino lineales o ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 5 a 8 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos etileno que tienen 1 a 10 átomos de carbono y grupos propileno, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 4 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

40 R² se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales o ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen 1 a 8 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos etileno que tienen 1 a 10 átomos de carbono y grupos propileno, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 4 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

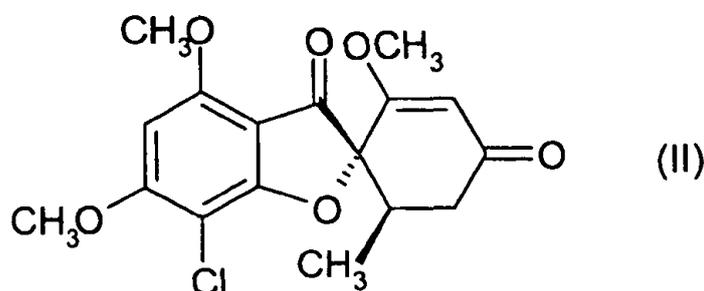
45 R³ se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 4 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 4 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono;

R⁴ independientemente tiene el mismo significado que R³;

R⁵ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

- 5 Dentro de las definiciones realizadas de antemano para las modalidades A, B, C y D, los significados individuales para cada sustituyente o cada grupo no se interpretan para ser limitantes a la modalidad en las cuales se mencionan, i.e. una definición citada bajo C se puede combinar con las definiciones hechas bajo, por ejemplo A, B, o D. La combinación total de todas las definiciones para cada sustituyente hechas bajo cada uno de A, B, C y D sin embargo, se prefiere.
- 10 Como un ejemplo, para el mejor compuesto conocido cerca a la fórmula (I) y que no se incluye en la presente invención es la griseofulvina de acuerdo con la fórmula (II)



- 15 Las variedades del cáncer que se pueden tratar con los compuestos, tal como se definen previamente son tumores malignos humanos, preferiblemente neoplasias sólidas o tumores malignos hematológicos. Ejemplos de tales tumores malignos comprenden cáncer del cerebro, cáncer de cabeza y de cuello, cáncer renal, cáncer de mama, cáncer esofágico, cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer del páncreas, cáncer del tracto biliar, cáncer de próstata, cáncer de la piel, melanoma, cáncer de ovarios, cáncer cervical, sarcoma, sarcomas de tejido suave y óseo, leucemia, mieloma múltiple y linfoma, incluyendo ambos linfomas de Hodgkin y No- Hodgkin.
- 20 Básicamente, todos los tumores malignos humanos son objetivos potenciales para inhibidores del agrupamiento de centrosomas/griseofulvina/ análogos de la griseofulvina, dado que casi todas las neoplasias malignas examinadas hasta la fecha albergan aberraciones del centrosoma. Específicamente, las aberraciones del centrosoma han sido reportadas en tumores sólidos de diferente origen incluyendo cánceres de cerebro, mama, pulmón, colon cervical, pancreático, tracto biliar, próstata, y cabeza y cuello. También, se ha descrito que los sarcomas y tumores malignos hematológicos incluyendo linfomas de Hodgkin y no-Hodgkin, leucemias mieloide aguda y crónica, leucemias linfocíticas crónicas y mielomas múltiples, albergan aberraciones centrosomales. Es importante destacar que, dado que varias lesiones preneoplásicas como, neoplasias intraepiteliales cervicales, carcinoma ductal in situ de la glándula mamaria, adenomas del colon y pancreático, carcinomas pre-invasivos in situ de la próstata, síndromes mielodisplásicos, y gamopatías monoclonales de significancia indeterminada contienen aberraciones del centrosoma
- 30 así como, la terapia anterior también puede servir para prevenir el progreso de estas lesiones en carcinomas invasivos, leucemia o mieloma múltiple, respectivamente.

En otra modalidad, la presente invención se relaciona con un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) como se define anteriormente en forma general o en modalidades preferidas, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para utilizar como medicamento.

- 35 El término "composición farmacéutica" algunas veces se refiere como "producto farmacéutico" o "medicamento" en lo sucesivo o en la técnica anterior. Dichos términos tendrán el mismo significado y se pueden utilizar de forma intercambiable.

- 40 Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) actúan como un inhibidor de agregación del centrosoma. Obligan a las células tumorales con centrosomas supernumerarios a experimentar mitosis multipolares y, posteriormente, la apoptosis.

Adicionalmente, los compuestos son específicos para los tumores porque no provocan ningún efecto sobre las células sanas del cuerpo con un contenido de centrosoma normal. En consecuencia, no existen o solo puede esperarse efectos secundarios menores.

5 Los centrosomas son organelos citoplásmicos pequeños que consisten de un par de centriolos inmersos en material pericentriolar y actúan como centros que organizan el microtúbulo. Durante la mitosis, los centrosomas funcionan como polos de husillo, dirigiendo la formación de husillos bipolares, un proceso esencial para la correcta segregación de los cromosomas. Dado que el centrosoma se duplica precisamente una vez por ciclo celular, cada célula hija recibe un centrosoma en la citoquinesis y contiene dos centrosomas en el momento de la mitosis.

10 Se ha observado frecuentemente la amplificación del centrosoma en ambos tumores sólidos y tumores malignos hematológicos y se relaciona con la tumorigénesis y la aneuploidía. La medida de aberraciones centrosomales se correlaciona con el grado de inestabilidad cromosomal y la agresividad clínica de las neoplasias malignas. En la mitosis, los centrosomas supernumerarios pueden conducir a la formación de husillos multipolares que son responsables de la segregación deficiente del cromosoma con la posterior aneuploidía y que se puede encontrar en muchos tipos de tumores. Los husillos multipolares, sin embargo, son antagónicos a la viabilidad celular. La mayoría de la progenie derivada de una mitosis defectuosa experimentará apoptosis, pero pocas células hijas, recibirán el complemento de cromosoma apropiado y la dosificación del gen, puede sobrevivir y contribuir, a través de la selección clonal, a una población de células tumorales aneuploides. Los sobrevivientes, sin embargo, deben superar la condición de centrosomas supernumerarios con el fin de dividirse eficientemente. Para recuperar la estabilidad del cariotipo secundario, muchas células tumorales han desarrollado un mecanismo llamado agregación centrosomal que previene la formación de husillos multipolares por coalescencia de centrosomas múltiples en dos polos de husillo funcionales.

25 El posicionamiento del centrosoma en el centro de las células en interfase, se logra tirando de las fuerzas aplicadas a los microtúbulos por la dineína, lo que sirve para mantener el centrosoma lejos del margen celular, y los microtúbulos empujando por la actomiosina conducen las fuerzas dirigidas hacia el centro celular. Varias piezas de evidencia sugieren que la proteína dineína motora de microtúbulos dirigida extremo negativo se involucra en la agrupación del extremo negativo de los microtúbulos para el establecimiento de los husillos bipolares. Un modelo actual sugiere que la función de la dineína para atar los microtúbulos polares del husillo en manojos necesita NuMA, que puede utilizar la actividad motora de la dineína para ser localizados en los centrosomas. En los polos de husillo, se forma una matriz para mantener juntos los extremos negativos de los microtúbulos. De forma análoga, en las células con centrosomas múltiples, la agregación centrosomal parece estar mediada por la dineína. Los datos recientes muestran que solo las células con localización de la dineína asociada con los husillos fueron capaces de coalescencia de centrosomas múltiples en dos polos de husillo. La multipolaridad del husillo, por otra parte, se encontró que sigue la sobre expresión de NuMA que interfiere con la localización del husillo de dineína. Con la excepción de la participación de dineína y NuMA, se desconocen los mecanismos moleculares responsables de la agregación de centrosomas múltiples en dos polos de husillo de células tumorales.

40 Solo se conoce que las moléculas pequeñas afectan específicamente el objetivo de la maquinaria mitótica, ya sea la tubulina o la proteína motora dirigida del extremo positivo Eg5, una quinesina mitótica necesaria para la bipolaridad del husillo. Mientras que los alcaloides de la vinca y taxanos interrumpen la función del husillo inhibiendo o incrementando la polimerización de microtúbulos, la inhibición de la actividad de Eg5 por el monastrol conduce al deterioro de la separación del centrosoma dependiente de los microtúbulos y formación de husillos monopolares. Ambos alcaloides de la vinca y taxanos se utilizan como fármacos contra el cáncer y actualmente Eg5 se evalúa como un potencial objetivo para el desarrollo de fármacos antineoplásicos. Sin embargo, ni el envenenamiento de los microtúbulos ni la inhibición de Eg5 afecta selectivamente las células tumorales, explicando los efectos secundarios y las limitaciones de las dosis de fármacos antimitóticos en uso clínico.

45 Los centrosomas supernumerarios se producen casi exclusivamente en una amplia variedad de trastornos neoplásicos pero no en células no-transformadas. Por lo tanto, la inhibición de la agregación centrosomal con la consecuencia de inducción de husillos multipolares y la posterior muerte celular estaría dirigida específicamente a las células tumorales sin afectar a las células normales con un contenido de centrosoma regular. Para identificar las moléculas pequeñas permeables a las células que inhiben la agregación centrosomal en las células con centrosomas supernumerarios, desarrollamos una estrategia de selección basada en la célula fundada en la visualización de microtúbulos y la cromatina.

55 Se ha demostrado que los productos naturales son fuentes ricas de novedosos compuestos guiados contra el cáncer durante los últimos 20 años. Por lo tanto, decidimos seleccionar una biblioteca de extracto de hongos, para los compuestos que inhiben la agregación centrosomal. Los extractos de hongos se seleccionaron basándose en una tecnología de selección quimiotaxonómica, con el fin de aumentar la quimiodiversidad a ser ensayada. Un esfuerzo de selección inicial utilizando extractos de diferentes especies de *Penicillium* condujo a la identificación de la griseofulvina como un inhibidor de coalescencia del centrosoma en diferentes líneas celulares de tumores.

Las concentraciones de los compuestos utilizados de acuerdo con la presente invención, necesarias para la inducción de husillos multipolares son similares a aquellas necesarias para la inhibición de la mitosis y la proliferación celular, sugiriendo que los husillos multipolares conducen a divisiones celulares aberrantes y la posterior muerte celular. La citotoxicidad inducida por los compuestos utilizados de acuerdo con la presente invención, se limita a células con husillos multipolares. A diferencia de estas, las células con husillos bipolares, a pesar de experimentar una mitosis prolongada, eventualmente se dividen y sobreviven en la presencia de los compuestos de la invención.

Los compuestos que tienen una estructura como se muestra en la fórmula general (I) son más potentes que el conocido compuesto griseofulvina.

Específicamente, el crecimiento, ciclo celular y viabilidad de células del cuerpo no-transformadas "normales", no se afectan por los compuestos de la invención.

La presente invención incluye todas las formas estereoisoméricas de los compuestos de la fórmula (I) para los fines previstos en este documento, i.e. para su uso en un método para el tratamiento del cáncer, en particular las variedades del cáncer que se pueden tratar con un compuesto de la fórmula (I). La presente invención también incluye, todas las formas estereoisoméricas de estos compuestos. Los centros de asimetría que están presentes en los compuestos de fórmula (I) todos independientemente uno del otro, tienen configuración S o configuración R. La invención incluye todos los posibles enantiómeros y diastereómeros y mezclas de dos o más estereoisómeros, por ejemplo mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros, en todas las relaciones. De esta manera, los compuestos de acuerdo con la presente invención que pueden existir como enantiómeros pueden estar presentes en forma enantioméricamente pura, antípodos tanto como levógiro y como dextrógiro, en la forma de racematos y en la forma de mezclas de los dos enantiómeros en todas las relaciones. En el caso de un isomerismo cis/trans, la invención incluye tanto la forma cis, como la forma trans así como las mezclas de estas formas en todas las relaciones. Todas estas formas son un objeto de la presente invención. La preparación de estereoisómeros individuales se pueden llevar a cabo, si se desea, por la separación de una mezcla mediante métodos habituales, por ejemplo por cromatografía o cristalización, mediante el uso de materiales iniciales uniformes estereoquímicamente para la síntesis o mediante síntesis estereoselectiva. Opcionalmente una derivatización se puede llevar a cabo antes de una separación de estereoisómeros. La separación de una mezcla de estereoisómeros se puede llevar a cabo en la etapa de los compuestos de la fórmula (I) o en la etapa de un intermedio durante la síntesis. La presente invención también incluye todas las formas tautoméricas de los compuestos de fórmula (I).

En el caso de que los compuestos de acuerdo con fórmula (I) contengan uno o más grupos ácidos o básicos, la invención también comprende sus correspondientes sales farmacéuticas o toxicológicamente aceptables, en particular sus sales farmacéuticamente utilizables. De esta manera, los compuestos de la fórmula (I), que contienen grupos ácidos, pueden estar presentes en estos grupos y se pueden utilizar de acuerdo con la invención, por ejemplo, como sales de metal alcalino, sales de metal alcalinotérreo o como sales de amonio. Ejemplos más precisos de tales sales incluyen sales de sodio, sales de potasio, sales de calcio, sales de magnesio o sales con amoniaco o aminas orgánicas tales como, por ejemplo, etilamina, etanolamina, trietanolamina o aminoácidos. Los compuestos de la fórmula (I), que contienen uno o más grupos básicos, i.e. grupos que se pueden protonar, pueden estar presentes y se pueden utilizar de acuerdo con la invención en la forma de sus sales de adición con ácidos orgánicos o inorgánicos. Ejemplos de ácidos apropiados incluyen cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido naftalenodisulfónicos, ácido oxálico, ácido acético, ácido tartárico, ácido láctico, ácido salicílico, ácido benzoico, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido pivalico, ácido dietilacético, ácido malónico, ácido succínico, ácido pimélico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido málico, ácido sulfamínico, ácido fenilpropiónico, ácido glucónico, ácido ascórbico, ácido isonicotínico, ácido cítrico, ácido adípico, y otros ácidos conocidos por un experto en la técnica. Si los compuestos de la fórmula (I) simultáneamente contienen grupos ácidos y básicos en la molécula, la invención también incluye, además de las formas de sal mencionadas, sales internas o betainas (zwitteriones). Las respectivas sales de acuerdo con la fórmula (I) se pueden obtener mediante métodos habituales, que se conocen por el experto en la técnica similar, por ejemplo mediante el contacto de estas con un ácido o base orgánica o inorgánica en un solvente o dispersante, o mediante intercambio aniónico o intercambio catiónico con otras sales. La presente invención también incluye todas las sales de los compuestos de la fórmula (I), que, debido a la baja compatibilidad fisiológica, no son directamente apropiadas para utilizar en productos farmacéuticos pero que pueden ser utilizadas, por ejemplo, como intermedios para reacciones químicas o para la preparación de sales farmacéuticamente aceptables.

La presente invención adicionalmente incluye todos los solvatos de los compuestos de la fórmula (I), por ejemplo hidratos o aductos con alcoholes, metabolitos activos de los compuestos de la fórmula (I), y también derivados y profármacos de los compuestos de la fórmula (I) que contienen grupos escindibles y fisiológicamente tolerables, por ejemplo ésteres, amidas y compuestos en los cuales el grupo N-H representado en la fórmula (I) se reemplaza con un grupo N-alquilo, tal como N-metilo, o con un grupo N-acilo, tal como N-acetilo o N-argininilo, incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables formadas en los grupos funcionales presentes en el grupo N-acilo.

Los compuestos de acuerdo con la fórmula general (I) y sus precursores se pueden preparar de acuerdo con los métodos publicados en la literatura o, respectivamente, métodos análogos. Se han publicado métodos apropiados en, por ejemplo, Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie (Methods of Organic Chemistry), Thieme-Verlag, Stuttgart, or Organic Reactions, John Wiley & Sons, New York.

5 Todas las reacciones para la síntesis de los compuestos de la fórmula (I) son bien conocidos per se por un experto y se pueden llevar a cabo bajo condiciones estándar de acuerdo con o análogamente a los procedimientos descritos en la literatura, por ejemplo en Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie (Methods of Organic Chemistry), Thieme-Verlag, Stuttgart, or Organic Reactions, John Wiley & Sons, New York. Dependiendo de las circunstancias del caso individual, con el fin de evitar las reacciones secundarias durante la síntesis de un compuesto de la fórmula (I), puede ser necesario o ventajoso bloquear temporalmente los grupos funcionales introduciendo los grupos protectores y para desprotegerlos en una última etapa de la síntesis, o introducir grupos funcionales en la forma de grupos precursores que en la última etapa de reacción se convierten en los grupos funcionales deseados. Tales estrategias de síntesis y los grupos protectores y los grupos precursores, que son apropiados en un caso individual, se conocen por un experto. Si se desea, los compuestos de la fórmula (I) se pueden purificar mediante procedimientos de purificación habituales, por ejemplo mediante recristalización o cromatografía. Los compuestos iniciales para la preparación de los compuestos de la fórmula (I) son disponibles comercialmente o se pueden preparar de acuerdo con o análogamente a los procedimientos de literatura. Los compuestos obtenidos con los métodos de síntesis mencionados anteriormente son otro objeto de la presente invención.

20 Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I), también se pueden utilizar en combinación con otros compuestos farmacéuticamente activos, preferiblemente los compuestos que son capaces de mejorar el efecto de los compuestos de acuerdo con la fórmula general (I). Ejemplos de tales compuestos incluyen: (i) antimetabolitos, citarabina, fludarabina, 5-fluoro-2'-desoxiuridina, gemcitabina, hidroxiurea o metotrexato; (ii) agentes de fragmentación del ADN, bleomicina, (iii) agentes de alquilación y reticulantes del ADN, clorambucilo, cisplatino, carboplatino, fotemustina, ciclofosfamida, ifosfamida, dacarbazina o mostaza de nitrógeno; (iv) agentes intercalantes, adriamicina (doxorubicina) o mitoxantrona; (v) inhibidores de la síntesis de proteínas, L-asparaginasa, cicloheximida, puromicina o toxina de la difteria; (vi) venenos de la topoisomerasa I, camptotecina o topotecan; (vii) venenos de la topoisomerasa II, etopósido (VP-16) o tenipósido; (viii) agentes dirigidos a los microtúbulos, colcemida, colchicina, paclitaxel (taxol), docetaxel (taxotere), vinblastina o vincristina; (ix) inhibidores de la quinasa, flavopiridol, estaurosporina, ST1571 (CPG 57148B) o UCN-01 (7-hidroxiestaurosporina); (x) varios agentes de investigación, tricostatina A, tioplatino, PS-341, fenilbutirato, ET-18-OCH₃, o inhibidores de farnesil transferasa (L-739749, L-744832); polifenoles, quercetina, resveratrol, piceatannol, epigallocatequina gallato, teaflavinas, flavanoles, procianidinas, ácido betulínico y derivados de estos; (xi) hormonas, glucocorticoides o fenretinida; (xii) antagonistas de la hormona, tamoxifeno, finasteride o antagonistas de LHRH, (xiii) agentes desmetilantes, 5-azacitidina, 5-aza-2'-desoxicitidina, 5,6-dihidro-5-azacitidina, o (xiv) una combinación de cualquiera de los productos farmacéuticos dados anteriormente o utilizados en regímenes de quimioterapia de dosis altas incluyendo trasplante de células madre; (xv) agentes inductores de diferenciación tales como derivados del ácido retinoico; (xvi) terapia de radiación ionizante, terapia MIBG y terapia de radiación convencional.

40 Los compuestos de la fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables, opcionalmente en combinación con otros compuestos farmacéuticamente activos, se pueden administrar a animales, preferiblemente a mamíferos, y en particular a humanos, como productos farmacéuticos por sí mismos, en mezclas uno con el otro o en la forma de preparaciones farmacéuticas. Los compuestos de la fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden utilizar como productos farmacéuticos, como inhibidores de agregación del centrosoma, para inducir la mitosis multipolares de células tumorales con centrosomas supernumerarios, y para inducir la apoptosis. Se pueden utilizar en la terapia y profilaxis de las enfermedades mencionadas anteriormente y los síndromes, así como para preparar los productos farmacéuticos para estos fines. Adicionalmente, los sujetos de la presente invención son preparaciones farmacéuticas (o composiciones farmacéuticas), que comprenden una dosis efectiva de al menos un compuesto de la fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un portador farmacéuticamente aceptable, i.e. una o más sustancias portadoras y/o aditivos farmacéuticamente aceptables.

50 Los productos farmacéuticos de acuerdo con la invención se pueden administrar por vía oral, por ejemplo en la forma de píldoras, comprimidos, comprimidos revestidos, comprimidos recubiertos con azúcar, gránulos, cápsulas de gelatina dura y suave, soluciones oleosas, alcohólicas o acuosas, jarabes, emulsiones o suspensiones, o por vía rectal, por ejemplo en la forma de supositorios. La administración también se puede llevar a cabo por vía parenteral, por ejemplo por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa en la forma de soluciones para inyección o infusión. Otras formas de administración apropiadas son, por ejemplo, administración por vía percutánea o tópica, por ejemplo en la forma de ungüentos, tinturas, aerosoles o sistemas terapéuticos transdérmicos, o la administración por inhalación en la forma de aerosoles nasales o mezclas de aerosoles, o, por ejemplo, microcápsulas, implantes o varillas. La forma de administración preferida depende, por ejemplo, de la enfermedad que se trata y de su severidad.

60 La preparación de las preparaciones farmacéuticas se pueden llevar a cabo de una manera conocida per se. Para este fin, uno o más compuestos de la fórmula (I) y/o sus sales farmacéuticamente aceptables, junto con una o más

sustancias portadoras farmacéuticas y/o aditivos sólidos o líquidos (o sustancias auxiliares) y, si se desea, en combinación con otros compuestos farmacéuticamente activos que tienen acción terapéutica o profiláctica, se presentan en una forma de administración apropiada o forma de dosificación, que después puede ser utilizada como un producto farmacéutico en medicina veterinaria o humana.

5 Para la producción de píldoras, comprimidos, comprimidos recubiertos con azúcar y cápsulas de gelatina dura es posible utilizar, por ejemplo, lactosa, almidón, por ejemplo almidón de maíz, o derivados del almidón, talco, ácido esteárico o sus sales, etc. Los portadores para cápsulas de gelatina suave y supositorios son, por ejemplo, grasas, ceras, polioles semisólidos y líquidos, aceites endurecidos o naturales, etc. Los portadores apropiados para la preparación de soluciones, por ejemplo de soluciones para la inyección, o de emulsiones o jarabes son, por ejemplo, agua, solución de cloruro de sodio fisiológicamente, alcoholes tales como etanol, glicerol, polioles, sacarosa, azúcar invertido, glucosa, manitol, aceites vegetales, etc. También es posible liofilizar los compuestos de la fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables y para utilizar los liofilizados resultantes, por ejemplo, para preparar las preparaciones para inyección o infusión. Los portadores apropiados para las microcápsulas, implantes o varillas son, por ejemplo, copolímeros del ácido glicólico y del ácido láctico.

15 Además del compuesto o los compuestos de acuerdo con la invención y los portadores, las preparaciones farmacéuticas también pueden contener aditivos, por ejemplo rellenos, desintegrantes, aglutinantes, lubricantes, agentes de humectación, estabilizadores, emulsificadores, dispersantes, conservantes, edulcorantes, colorantes, saborizantes, aromatizantes, espesantes, diluentes, sustancias reguladoras, solventes, solubilizantes, agentes para lograr un efecto depósito, sales para alterar la presión osmótica, agentes de recubrimiento o antioxidantes.

20 La dosificación del compuesto de la fórmula (I) que se administra y/o de una sal farmacéuticamente aceptable de este, depende del caso individual y es, como es habitual, para adaptarse a las circunstancias individuales para lograr un efecto óptimo. De esta manera, depende de la naturaleza y la severidad del trastorno que se trata, y también del sexo, edad, peso y la respuesta individual del humano o animal que se trata, de la eficacia y de la duración de acción de los compuestos utilizados, de si la terapia es aguda o crónica o profiláctica, o de si otros compuestos activos se administran además de los compuestos de la fórmula (I). La dosis diaria se puede administrar en una dosis única o, en particular cuando grandes cantidades se administran, se dividen en varias dosis, por ejemplo dos, tres o cuatro dosis individuales. En algunos casos, dependiendo de la respuesta individual, puede ser necesario desviar hacia arriba o hacia abajo la dosis diaria proporcionada.

25 Se debe entender que los compuestos de la presente invención, se pueden utilizar como composiciones farmacéuticas en un método para el tratamiento del cáncer y, preferiblemente, incluso las variedades del cáncer mencionadas con anterioridad. En consecuencia, la presente invención además puede comprender las etapas de fabricación del compuesto identificado como una composición farmacéutica según se describe en otra parte en esta especificación.

30 Las figuras 1 a 7, 14, 15, 17, 18, 21, 22, 24 y 27 a 33, dan ejemplos representativos de los compuestos, que han sido preparados en el marco de la presente invención, junto con su actividad, que ha sido determinada según se describe a continuación. Las gráficas muestran el porcentaje de células que muestran husillos mitóticos multipolares. Por ejemplo, un número de 65% debería significar que el 65% de todas las células mitóticas, muestran husillos multipolares y 35% muestran husillos bipolares.

35 La invención será ilustrada por los siguientes Ejemplos. Sin embargo, los Ejemplos no tienen la intención de limitar el alcance de la invención en ningún aspecto.

Materiales y Métodos

40 Cultivo Celular. Todas las líneas celulares fueron cultivadas en Medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM; PAA Laboratories, Pasching, Austria) suplementado con 10% de FCS (PAA). Las células SCC114 que expresan establemente GFP- α -tubulina fueron generadas por transfección (Fugene 6, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) del transgen en pEGFP-C1 (Clontech, Heidelberg, Germany) y se mantuvieron bajo presión selectiva mediante la adición de genitocina (Invitrogen, Karlsruhe, Germany). Queratinocitos epidérmicos de humanos normales primarios (NHEK; PromoCell, Heidelberg, Germany) fueron cultivados en Medio de Crecimiento de Queratinocitos 2 (PromoCell). Cuando se indica, la griseofulvina (Sigma, Deisenhofen, Germany) o un análogo de la griseofulvina se adicionaron al medio de cultivo. La griseofulvina o el análogo de griseofulvina se disolvió en DMSO (Sigma). En todos los experimentos, la concentración final de DMSO fue 0.1 %.

45 Anticuerpos. Los siguientes anticuerpos fueron utilizados: anticuerpos monoclonales de ratón para Eg5 (Transduction Laboratories, Lexington, KY), α -tubulina (DM1A), γ -tubulina (GTU-88) (Sigma, Deisenhofen, Germany), δ -tubulina (A1), ϵ -tubulina (H280), PARP (F-2) (Santa Cruz, Heidelberg, Germany) cadena de intermedio ligera de dineína (Chemicon International, Hampshire, UK), y NuMA (Calbiochem, Darmstadt, Germany); anticuerpos policlonales de conejo para γ -tubulina, centrina (Sigma), pericentrina (Covance, Richmond, CA), actina (I-19) (Santa

Cruz), y fosfo-S10-histona H3 (Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY). Un anticuerpo monoclonal de ratón para centrina y un anticuerpo policlonal de conejo para c-Nap1 fue proporcionado amablemente por J.L. Salisbury, Rochester, MN and E.A. Nigg, Martinsried, Germany, respectivamente.

5 Inmunofluorescencia. La tinción de inmunofluorescencia se realizó según se describe (Krämer et al., 2004). Los siguientes anticuerpos secundarios fluorocromo-conjugado fueron utilizados: Alexa 488 anti-conejo (Molecular Probes, Invitrogen, Karlsruhe, Germany) y anti-ratón Cy3 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PN). Las células inmunoteñidas fueron examinadas utilizando un microscopio de fluorescencia Zeiss Axiovert 200 M (Göttingen, Germany). Las imágenes fueron procesadas con el software Photoshop (Adobe, Munich, Germany).
10 [Krämer A, Mailand N, Lukas C, et al. Centrosome-associated Chk1 prevents premature activation of cyclin-B-Cdk1 kinase. Nat Cell Biol 2004;6:884-891]

15 Microscopía de video de lapso de tiempo. Para las imágenes de las células vivas, células SCC114 que expresan GFP- α -tubulina fueron cultivadas en medio de Leibovitz independiente de CO₂ (Gibco, Invitrogen, Karlsruhe, Germany) en placas de plástico (P-dishes, Ibidi, Munich, Germany). Las imágenes de las células vivas, se llevó a cabo utilizando un microscopio invertido Nikon TE2000-U equipado con ópticas de contraste de interferencia diferencial y una cámara AG Orca (Hamamatsu), accionado por el software NIS-Element AR (Nikon). Las células que expresan GFP- α -tubulina individuales que contienen husillos bipolares o multipolares fueron detectadas por inmunofluorescencia y seguido con el uso de imágenes de contraste de interferencia diferencial.

20 Citometría de flujo. El análisis del ciclo celular por citometría de flujo, incluyendo la cuantificación de las células en la mitosis mediante la tinción fosfo-S10-histona H3, se realizó como se describe previamente (Syljuasen et al., 2004)). [Syljuasen RG, Sorensen CS, Nylandsted J, Lukas C, Lukas J, Bartek J. Inhibition of Chk1 by CEP-3891 accelerates mitotic nuclear fragmentation in response to ionizing Radiation. Cancer Res 2004;64:9035-40]

Ensayo colorimétrico MTT (tetrazolio). El ensayo de citotoxicidad se realizó como se describe previamente (Mosmann, 1983). [Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983;65:55-63]

25 Aislamiento y análisis de centrosomas humanos. Los centrosomas de las células SCC114, fueron aisladas como se describe previamente (Krämer et al., 2004; Blomberg-Wirschell and Doxsey, 1998). [Krämer A, Mailand N, Lukas C, et al. Centrosome-associated Chk1 prevents premature activation of cyclin-B-Cdk1 kinase. Nat Cell Biol 2004;6:884-891] [Blomberg-Wirschell M, Doxsey SJ. Rapid isolation of centrosomes. Methods Enzymol 1998;298:228-38]

30 Medición de células positivas-V-Anexina. La externalización de la fosfatidilserina se analizó utilizando el Kit de Detección de Apóptosis I de Becton Dickinson (Heidelberg, Germany) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

35 Cepas fúngicas examinadas. Todos los aislados fúngicos fueron obtenidos del IBT Culture Collection at BioCentrum-DTU, Technical University of Denmark. Los cultivos fueron inoculados por triplicado en agar de levadura Czapek (autolizado) (CYA) y agar de sacarosa de extracto de levadura (YES) y se incubó a 25 °C, durante 7 días en la oscuridad. *Penicillium adametzii*; IBT 21918, 22617. *P. alkaloidigenum*; IBT 13424. *P. arizonae*; 12285, 12289. *P. berlinense*; IBT 4099, 18288, 19440. *P. bilaiae*; IBT 14448, 14960. *P. brasilianum*; IBT 13220, 22244. *P. chilense*; IBT 22472. *P. coralligenum*; IBT 5972. *P. decumbens*; IBT 11843, 24323. *P. digitatum*; IBT 5533, 23020. *P. faroense*; IBT 22543, 22955. *P. gerundense*; IBT 19242, 19244. *P. graminiarum*; IBT 22393. *P. implicatum*; IBT 19329, 22878. *P. indicum*; IBT 14840, 21937. *P. italicum*; IBT 21533, 23026. *P. kubunicum*; IBT 20435. *P. lapatayae*; IBT 10870, 23667. *P. lividum*; IBT 22614. *P. neodorkii*; IBT 13306, 16446. *P. novodecumbens*; IBT 22238, 22239. *P. palmense*; IBT 4912, 23009. *P. stallonei*; IBT 20688, 20718. *P. svalbardense*; IBT 23856, 23949.

45 Preparación de los extractos de hongos. Los procedimientos para la micro-extracción de metabolitos secundarios de hongos fueron similares a aquellos proporcionados por Smedsgaard (1997) con las siguientes diferencias: Los extractos de tapón se prepararon a partir de cinco tapones y se extrajeron con 2 ml de EtOAc/CH₂Cl₂/MeOH (3:2:1) que contiene 50 ppm de ácido trifluoroacético. Los extractos se llevaron a sequedad utilizando un sistema de centrifugación de vacío rotatorio (RVC). [Smedsgaard J. Micro-scale extraction procedure for standardized screening of fungal metabolite production in cultures. J Chromatography 1997;760:264-70]

50 Tratamiento de células SCC114 que expresan GFP- α -tubulina con extractos de hongos. El material inicial fue (en promedio) 3.5 mg de cada extracto de hongos bruto. Cada extracto consistió de (en promedio) 10 compuestos activos principales con un peso molecular medio de 350 (200-500) Dalton. Dado que diluciones de 1:200 a 1:107 veces a partir de una solución stock de 3.5 mg/100 μ l (10 mM por compuesto activo) fueron utilizados en nuestro sistema de ensayo, las concentraciones finales resultantes por compuesto y el extracto osciló de nanomolar a micromolar.

5 Fraccionamiento de extractos de hongos y aislamiento de los compuestos puros por HPLC semi-preparativa. Los extractos positivos para la inhibición de agregación centrosomal fueron fraccionados en 24 fracciones (4 ml) para rastrear la actividad en compuestos únicos (o pocos) en una columna C18 Phenomenex Luna II (250 mm x 10 mm, 5 μ m). La columna se hizo funcionar a temperatura ambiente con una velocidad de flujo de 4 ml/min iniciando con H₂O/CH₃CN a 85:15 subiendo hasta 0:100 en 20 min seguido por isocrático a 100 % de CH₃CN durante 4 min. Los solventes fueron acetonitrilo y agua destilada grado HPLC, ambos con una adición de TFA 50 ppm. Todas las fracciones se llevaron a sequedad en un RVC. Las fracciones positivas, además fueron purificadas según se describe anteriormente, sin embargo esta vez picos individuales se recolectan, con el fin de obtener compuestos muy puros tales como la griseofulvina.

10 Identificación de la griseofulvina por HPLC-DAD-MS. Las fracciones que contienen la griseofulvina, fueron analizadas utilizando un cromatógrafo líquido Agilent HP 1100 con un sistema DAD (Waldbronn, Germany) acoplado a un espectrómetro de masas LCT oaTOF (Micromass, Manchester, UK) utilizando una fuente Z-spray ESI y una sonda Lock Spray de acuerdo con Nielsen and Smedsgaard (2003). Para la separación, se utilizó una columna C18 Phenomenex Luna II (100 mm x 2 mm, 3 μ m) a 40°C y una velocidad de flujo de 0.3 ml/min. Los solventes fueron acetonitrilo y agua destilada grado HPLC. El agua y el acetonitrilo fueron estandarizados con ácido fórmico 20 mM. [Nielsen, K. F. and Smedsgaard, J. Fungal metabolite screening: database of 474 mycotoxins and fungal metabolites for dereplication by standardised liquid chromatography-UV-mass spectrometry methodology. Journal of chromatography, 1002: 111-136, 2003]

20 Síntesis de los derivados de griseofulvina. La Griseofulvina y todos los otros químicos se adquirieron de Sigma-Aldrich y se utilizaron sin una purificación adicional. Se realizó una cromatografía de capa delgada sobre placas de aluminio precubiertas con sílica gel. La cromatografía instantánea se realizó utilizando sílica gel 60 Merck. Los espectros NMR ¹H fueron registrados en un espectrómetro Varian Unity Inova 500 y los espectros NMR ¹³C en una espectrómetro Bruker AC 200 que opera a 50 MHz. Los espectros IR fueron obtenidos utilizando un instrumento Perkin-Elmer 1600 FT-IR. Los puntos de fusión fueron determinados utilizando un equipo de punto de fusión capilar Heidolph y no se corrigieron. Los microanálisis fueron realizados por H. Kolbe Mikroanalytisches Laboratorium, Mülheim an der Ruhr, Germany.

Síntesis de los compuestos activos, representativos de la fórmula (I):

30 Procedimiento general 1, para los compuestos con la variación en R₁: A una solución de griseofulvina [Arkley et al., 1962] en el alcohol apropiado, se le adicionó ácido sulfónico del alcanfor (0.15 equiv.). La mezcla se agitó a 80-120 °C durante 1-24 h, se enfrió a 20 °C y se le adicionó EtOAc a la solución. La mezcla se lavó con NaH₂PO₄ acuoso saturado y a continuación agua. Las fases acuosas combinadas se extrajeron con EtOAc y las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía de columna (EtOAc y heptano) para proporcionar el producto y el regioisómero. Los compuestos cristalinos fueron re-cristalizados a partir de EtOAc y heptano.

35 Procedimiento general 2, para los compuestos con variación en R₁: A una solución de ácido griseofulvico [Arkley et al., 1962] en dioxano anhidro, se le adicionó el alcohol apropiado (5 equiv.) y ácido sulfónico del alcanfor (0.15 equiv.). La mezcla se agitó a 80 °C durante 22 h y se enfrió a 20 °C. Se le adicionó EtOAc a la solución y la mezcla se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y la capa orgánica se secó (MgSO₄), luego se concentró. El residuo se purificó por cromatografía de columna (EtOAc y heptano) para proporcionar el producto y el regioisómero. Los compuestos cristalinos fueron re-cristalizados a partir de EtOAc y heptano.

45 Procedimiento general 3, para los compuestos con variación en R₃: A una solución de (2S,6'R)-(7-cloro-6-metoxi-4-hidroxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-metoxi-6'-metil-ciclohex-2'-en-4'-ona) [Arkley et al., 1962] en DMF se le adicionó K₂CO₃ (1 equiv.) y NaH (2 equiv.). Después de 20 min., se le adicionó el bromuro de alquilo apropiado (2 equiv.). Más bromuro de alquilo se le adicionó en intervalos (5 equiv. por porción). Después de 30 h, la solución se diluyó con EtOAc y se lavó con NH₄Cl acuoso saturado. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y la capa orgánica se secó (MgSO₄), luego se concentró. El residuo se purificó por cromatografía de columna (EtOAc y heptano) para proporcionar el producto, el cual fue re-cristalizado a partir de EtOAc y heptano.

Los siguientes compuestos representativos, se prepararon de acuerdo con el procedimiento general 1:

50 (2S,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-butoxi-6'-metil-ciclohex-3'-en-4'-ona): m.p. 152-154°C; IR (KBr, cm⁻¹): 1706, 1662 (C=O), 1614 (C=C);

¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.11 (1H, s), 5.50 (1H, s), 4.03 (3H, s), 3.97 (3H, s), 3.83-3.68 (2H, m), 3.03 (1H, dd, J = 16.5, 13.5 Hz), 2.79 (1H, ddq, J = 13.3, 6.6, 4.7 Hz), 2.41 (1H, dd), 1.59-1.49 (2H, m), 1.28-1.19 (2H, m), 0.95 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.74 (3H, t, J = 7.4 Hz);

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 197.1, 192.9, 170.4, 169.5, 164.7, 157.9, 105.4, 105.2, 97.2, 91.1, 89.6, 69.5, 57.2, 56.6, 40.2, 36.5, 30.2, 19.0, 14.5, 13.8; Anal. Calc. para C₂₀H₂₃ClO₆: C, 60.84; H, 5.87, encontrado: C, 60.71; H, 5.83.

(2S,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-pentoxi-6'-metil-ciclohex-3'-en-4'-ona): m.p. 146-148 °C; IR (KBr, cm⁻¹): 1701, 1653 (C=O), 1613 (C=C);

5 ¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.11 (1H, s), 5.48 (1H, s), 4.02 (3H, s), 3.96 (3H, s), 3.79-3.66 (2H, m), 3.03 (1H, dd, J = 16.5, 13.5 Hz), 2.82 (1H, ddq, J = 13.5, 6.7, 4.6 Hz), 2.40 (1H, dd, J = 16.5, 4.6 Hz), 1.55 (2H, quintet, J = 6.5 Hz), 1.20-1.15 (2H, m), 0.95 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.77 (3H, t, J = 6.8 Hz); ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 197.4, 192.8, 170.4, 169.9, 164.7, 157.9, 105.4, 105.1, 97.4, 91.1, 89.5, 69.8, 57.2, 56.6, 40.2, 36.4, 28.0, 27.9, 22.3, 14.5, 14.1; Anal. Calc. para C₂₁H₂₅ClO₆: C, 61.69; H, 6.16, encontrado: C, 61.73; H, 5.99.

10 (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-hexoxi-6'-metil-ciclohex-3'-en-4'-ona): m.p. 152-154 °C; IR (KBr, cm⁻¹): 1701, 1663 (C=O), 1616 (C=C);

¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.11 (1H, s), 5.50 (1H, s), 4.03 (3H, s), 3.97 (3H, s), 3.83-3.66 (2H, m), 3.04 (1H, dd, J = 16.5, 13.4 Hz), 2.83 (1H, ddq, J = 13.4, 6.6, 4.6 Hz), 2.41 (1H, dd, J = 16.5, 4.6 Hz), 1.55 (2H, quintet, J = 6.5 Hz), 1.25-1.16 (6H, m), 0.96 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.80 (3H, t, J = 6.9 Hz); ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 192.8, 170.4, 169.8, 164.7, 157.9, 105.5, 105.1, 97.6, 91.1, 89.5, 69.7, 57.2, 56.6, 54.7, 40.2, 36.4, 31.3, 28.2, 25.4, 22.6, 14.5, 14.0; Anal. Calc. para C₂₂H₂₇ClO₆: C, 62.48; H, 6.44, encontrado: C, 62.39; H, 6.37.

(2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-pent-4-eniloxi-6'-metil-ciclohex-2'-en-4'-ona): IR (KBr, cm⁻¹): 1707, 1654 (C=O), 1613 (C=C); ¹H-NMR(CDCl₃): δ 6.13 (1H, s), 5.65 (1H, ddt, J = 17.2, 10.5, 6.8 Hz), 5.50 (1H, s), 4.93 (1H, dd, J = 17.2, 1.8 Hz), 4.90 (1H, dd, J = 10.5, 1.8 Hz), 4.03 (3H, s), 3.97 (3H, s), 3.81 (1H, dt, J = 9.6, 6.2 Hz), 3.73 (1H, dt, J = 9.6, 6.2 Hz), 3.04 (1H, dd, J = 16.7, 13.5 Hz), 2.82 (1H, ddt, J = 13.5, 4.7, 6.7 Hz), 2.41 (1H, dd, J = 16.7, 4.7 Hz), 2.00-1.94 (2H, m), 1.70-1.63 (2H, m), 1.02 (3H, d, J = 6.7 Hz); ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 197.1, 192.5, 170.0, 169.5, 164.4, 157.6, 136.9, 115.6, 104.9 (2C), 97.0, 90.8, 89.3, 68.4, 56.9, 56.3, 39.9, 36.2, 29.6, 27.2, 14.2; EIMS: *m/z* calculado para C₂₁H₂₃ClO₆ M+ 406, encontrado 406.

Los siguientes compuestos representativos se prepararon de acuerdo con el procedimiento general 2:

25 (2S,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-ciclopropilmetoxi-6'-metil-ciclohex-2'-en-4'-ona): m.p.: 190-191 °C; IR (KBr, cm⁻¹): 1704, 1659 (C=O), 1608 (C=C); ¹H-NMR(CDCl₃): δ 6.13 (1H, s), 5.47 (1H, s), 4.03 (3H, s), 3.98 (3H, s), 3.65 (2H, d, J = 6.5, Hz), 3.03 (1H, dd, J = 16.7, 13.5 Hz), 2.83 (1H, ddq, J = 13.5, 4.7, 6.6 Hz), 2.41 (1H, dd, J = 16.7, 4.7 Hz), 1.05-0.98 (1H, m), 0.96 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.50-0.43 (2H, m), 0.22-0.13 (2H, m); ¹³C-NMR(CDCl₃): δ 197.0, 192.5, 169.9, 169.6, 164.4, 157.6, 105.0 (2C), 97.1, 90.8, 89.3, 73.2, 56.9, 56.3, 39.9, 36.2, 14.2, 9.0, 2.7 (2C); Anal. Calc. para C₂₀H₂₁ClO₆: C, 61.15; H, 5.39, encontrado: C, 60.95; H, 5.45.

30 (2S,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-ciclopentoxi-6'-etil-ciclohex-2'-en-4'-ona): IR (KBr, cm⁻¹): 1705, 1652 (C=O), 1615 (C=C); ¹H-NMR(CDCl₃): δ 6.11 (1H, s), 5.49 (1H, s), 4.56-4.51 (1H, m), 4.03 (3H, s), 3.97 (3H, s), 3.03 (1H, dd, J = 16.7, 13.5 Hz), 2.82 (1H, ddq, J = 13.5, 4.8, 6.7 Hz), 2.40 (1H, dd, J = 16.7, 4.8 Hz), 1.79-1.72 (2H, m), 1.72-1.64 (2H, m), 1.58-1.44 (4H, m), 0.95 (3H, d, J = 6.7 Hz); ¹³C-NMR(CDCl₃): δ 197.1, 192.6, 169.6, 169.0, 164.3, 157.5, 105.8, 105.1, 97.0, 90.9, 89.2, 81.6, 56.8, 56.3, 39.8, 36.1, 32.1 (2C), 23.7 (2C) 14.2; EIMS: *m/z* calculado para C₂₁H₂₃ClO₆ [M+] 406, encontrado 406.

40 (2S,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-benziloxi-6'-metil-ciclohex-2'-en-4'-ona): m.p.: 186-188 °C; ¹H-NMR(CDCl₃): δ 7.32-7.24 (3H, m), 7.20-7.16 (2H, m), 6.11 (1H, s), 5.60 (1H, s), 4.02 (3H, s), 3.96 (3H, s), 4.92 (1H, d, J = 12.3 Hz), 4.82 (1H, d, J = 12.3 Hz), 3.06 (1H, dd, J = 16.7, 13.4 Hz), 2.87 (1H, ddq, J = 13.4, 6.7, 4.8 Hz), 2.44 (1H, dd, J = 16.7, 4.8 Hz), 0.99 (3H, d, J = 6.7 Hz); ¹³C-NMR(CDCl₃): δ 196.9, 192.3, 169.5 (2C), 164.5, 157.7, 134.6, 128.5 (2C), 128.1, 126.6 (2C), 105.9, 105.2, 97.2, 90.7, 89.4, 70.6, 56.9, 56.3, 40.0, 36.6, 14.2; EIMS: *m/z* calculado para C₂₃H₂₁ClO₆ [M+] 428, encontrado 428.

Los siguientes compuestos comparativos se prepararon de acuerdo con el procedimiento general 3:

45 (2S,6'R)-(7-cloro-4-etoxi-6-metoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-metoxi-6'-metil-ciclohex-2'-en-4'-ona): m.p.: 205-206 °C; ¹H-NMR(CDCl₃): δ 6.12 (1H, s), 5.53 (1H, s), 4.19 (2H, m), 4.00 (3H, s), 3.61 (3H, s), 3.04 (1H, dd, J = 16.8, 13.5 Hz), 2.84 (1H, ddq, J = 13.5, 4.7, 6.7 Hz), 2.42 (1H, dd, J = 16.8, 4.7 Hz), 1.52 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.96 (3H, d, J = 6.7 Hz); ¹³C-NMR(CDCl₃): δ 196.9, 192.2, 170.8, 169.5, 164.4, 157.2, 105.6, 104.7, 97.0, 90.6, 90.3, 65.1, 56.9, 56.6, 40.0, 36.4, 14.3, 14.2; EIMS: *m/z* calculado para C₁₈H₁₉ClO₆ [M+] 366, encontrado 366.

50 (2S,6'R)-(7-cloro-4-benziloxi-6-metoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-metoxi-6'-metil-ciclohex-2'-en-4'-ona): m.p.: 237-239 °C; ¹H-NMR(CDCl₃): δ 7.49-7.46 (2H, m), 7.42-7.38 (2H, m), 7.36-7.31 (1H, m), 6.17 (1H, s), 5.55 (1H, s), 5.27 (2H, s), 3.94 (3H, s), 3.63 (3H, s), 3.05 (1H, dd, J = 16.6, 13.6 Hz), 2.85 (1H, m), 2.44 (1H, dd, J = 16.6, 4.6 Hz),

0.98 (3H, d, J = 6.7 Hz); $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 196.9, 192.1, 170.8, 169.4, 164.3, 156.6, 135.4, 128.8 (2C), 128.3, 126.8 (2C), 104.8 (2C), 97.4, 91.5, 90.7, 71.1, 56.9, 56.6, 40.0, 36.5, 14.4; EIMS: m/z calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{ClO}_6$ [M+] 428, encontrado 428.

Los siguientes compuestos se prepararon de acuerdo con los procedimientos suministrados para cada compuesto:

- 5 Compuesto comparativo (2S,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-metoxi-3',6'-dimetilciclohex-2'-en-4'-ona): A una solución de griseofulvina [Arkley et al., 1962] (514 mg, 1.5 mmol) en acetona (10 mL) se le adicionó K_2CO_3 y MeI (0.2 mL, 3.1 mmol), a continuación la mezcla se calentó a 80 °C. La solución se enfrió a 20 °C después de 14 h y se transfirió a un embudo de separación con EtOAc (30 mL) y se lavó con NH_4Cl acuoso (40 mL). Las fases acuosas combinadas se extrajeron con EtOAc (3X60 mL) y la capa orgánica se secó (MgSO_4), a
- 10 continuación se concentró. La mezcla cruda se purificó por cromatografía de columna (EtOAc y heptano) para proporcionar el compuesto base: 29 mg (5 %): $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 6.14 (1H, s), 4.04 (3H, s), 3.98 (3H, s), 3.73 (3H, s), 3.06 (1H, dd, J = 16.6, 13.7 Hz), 2.78 (1H, ddq., J = 13.6, 4.8, 6.5 Hz), 2.47 (1H, dd, J = 16.6, 4.7 Hz), 1.85 (3H, s), 0.95 (3H, d, J = 6.7 Hz); $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 198.0, 193.1, 169.3, 166.5, 164.4, 157.6, 125.0, 105.6, 97.2, 92.9, 89.4, 61.8, 56.9, 56.3, 40.2, 36.4, 14.2, 9.3; EIMS: m/z calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{ClO}_6$ M+ 366, encontrado 366.
- 15 Compuesto representativo (2S,2'S,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-benziloxi-6'-metilciclohexan-4'-ona): Una solución de isogriseofulvina [Arkley et al., 1962] (106 mg, 0.3 mmol) en MeOH (3 mL) se enfrió a -45 °C. Se le adicionó CeCl_3 (239 mg, 1.0 mmol) y la solución se agitó durante 10 min., después de lo cual se le adicionó NaBH_4 (35 mg, 0.9 mmol) y la mezcla se dejó alcanzar -35 °C. Después de 4 h de exceso el reactivo se apagó mediante la adición de acetona (3 mL) durante 5 min., y la mezcla se dejó calentar a 20 °C. A la solución se le
- 20 adicionó EtOAc (10 mL) y la mezcla se lavó con agua destilada (20 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3X20 mL) y la capa orgánica se secó (MgSO_4), luego se concentró y el residuo fue recristalizado a partir de EtOAc y heptano, proporcionando un intermedio, el cual se disolvió en EtO_2 (10 mL). Se le adicionó Ag_2O (138 mg, 0.6 mmol) y bromuro de bencilo (242 mg, 0.6 mmol) y la mezcla se calentó a 50 °C durante 72 h y a continuación se enfrió a 20 °C. Se le adicionó EtOAc (60 mL) a la solución y la mezcla se filtró a través de sílica, se secó (MgSO_4) y se
- 25 concentró. La mezcla cruda se purificó por cromatografía de columna (EtOAc y heptano) proporcionando el compuesto base, el cual fue re-cristalizado a partir de EtOAc y heptano, produciendo 59 mg (45 %): m.p.: 162-163 °C; IR (KBr, cm^{-1}): 1700, 1612 (C=O); $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 7.28-7.22 (3H, m), 7.14-7.11 (2H, m), 6.10 (1H, s), 4.55 (1H, d, J = 12.5 Hz), 4.46 (1H, d, J = 12.5 Hz), 4.04 (1H, dd, J = 12.4, 5.7 Hz), 4.03 (3H, s), 3.98 (3H, s), 3.37 (1H, dd, J = 14.2, 12.4 Hz), 3.15 (1H, m), 2.71 (1H, ddd, J = 14.3, 5.7, 2.1 Hz), 2.36 (1H, ddq., J = 13.4, 4.7, 6.6 Hz), 2.29
- 30 (1H, ddd, J = 14.7, 4.7, 2.1 Hz), 0.91 (3H, d, J = 6.6 Hz); $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 206.3, 195.7, 169.0, 164.1, 157.1, 137.3, 128.3 (2C), 127.6, 127.4 (2C), 107.7, 97.0, 93.7, 89.0, 78.1, 72.1, 56.9, 56.2, 43.4, 42.8, 34.4, 14.4; EIMS: m/z calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClO}_6$ M+ 430, encontrado 430.

Compuesto comparativo (2S,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-metoxi-6'-metilciclohex-3'-en-4'-oxima): A una solución de griseofulvina [1] (1.0 g, 2.84 mmol) en EtOH (120 mL) se le adicionó clorhidrato de hidroxilamina (620 mg, 8.92 mmol) y acetato de sodio (1.0 g, 12.19 mmol). La mezcla se agitó a 80 °C durante 24 horas, se enfrió a 0 °C, y el precipitado de color blanco se recolectó por filtración. Se le adicionó al licor madre CH_2Cl_2 (150 mL) y se lavó con agua (2x100 mL) y a continuación salmuera (100 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), se filtraron y a continuación se concentraron para proporcionar el compuesto

35 base: 988 mg (95 %): IR (KBr, cm^{-1}): 1706 (C=O), 1590 (C=C), 1614 (C=N); $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 6.20 (1H, s), 6.04 (1H, s), 5.53 (1H, s), 3.95 (3H, s), 3.90 (3H, s), 3.55 (3H, s), 2.93 (1H, dd, J = 15.0, 13.1 Hz), 2.57-2.43 (1H, m), 2.34 (1H, dd, J = 15.0, 4.2 Hz), 0.88 (3H, d, J = 6.7 Hz); $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 194.2, 176.4, 169.9, 155.3, 152.1, 106.0, 99.1, 97.4, 92.9, 91.6, 89.4, 57.2, 56.4, 56.2, 36.6, 35.5, 14.6; EIMS: m/z calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{ClNO}_6$ M+ 367, encontrado 367; Anal. Calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{ClNO}_6$: C, 55.52; H, 4.93, encontrado: C, 55.60; H, 4.96.

[Arkley, V., Attenburrow, J., Gregory, G. I., and Walker, T. J. Chem. Soc. 1962, 1260-1268].

- 45 Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-ciclopropilmetoxi-6'-metilciclohex-2'-en-4'-ona)

A una solución de ácido griseofulvico (2.09 g, 6.2 mmol) en dioxano anhidro (8.5 mL), se le adicionó ciclopropilmetanol (1.6 mL, 30.2 mmol) y CSA (205 mg, 0.9 mmol). La mezcla se agitó a 80 °C, durante 22 h y se enfrió a 20 °C. Se le adicionó a la solución EtOAc (30 mL). La mezcla se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado (30 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3X30 mL) y la capa orgánica se secó (MgSO_4), a continuación se

50 concentró. La mezcla cruda se purificó por cromatografía de columna (EtOAc/heptano 1:4), proporcionando el compuesto base y un isómero. El producto fue re-cristalizado a partir de EtOAc/heptano.

Producción: 86 mg (4%) (cristales de color blanco)

Valor-Rf (EtOAc/heptano 5:1): 0.51

m.p. 190-191 °C

IR (KBr, cm^{-1}): 1704, 1659 (C=O), 1608 (C=C)

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 6.13 (1H, s), 5.47 (1H, s), 4.03 (3H, s), 3.98 (3H, s), 3.65 (2H, d, $J=6.5$, Hz), 3.03 (1H, dd, $J=16.7$, 13.5 Hz), 2.83 (1H, ddq, $J=13.5$, 4.7, 6.6 Hz), 2.41 (1H, dd, $J=16.7$, 4.7 Hz), 1.05-0.98 (1H, m), 0.96 (3H, d, $J=6.6$ Hz), 0.50-0.43 (2H, m), 0.22-0.13 (2H, m)

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 197.0, 192.5, 169.9, 169.6, 164.4, 157.6, 105.0 (2C), 97.1, 90.8, 89.3, 73.2, 56.9, 56.3, 39.9, 36.2, 14.2, 9.0, 2.7 (2C)

Anal. Calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{ClO}_6$: C, 61.15; H, 5.39. Encontrado: C, 60.95; H, 5.45.

10 Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-benziloxi-6'-metilciclohex-2'-en-4'-ona)

15 A una solución de ácido griseofulvico (1.00 g, 3.0 mmol) en dioxano anhidro (8.5 mL), se le adicionó alcohol bencílico (1.5 mL, 14.8 mmol) y CSA (103 mg, 0.4 mmol). La mezcla se agitó a 80 °C, durante 16 h y se enfrió a 20 °C. Se le adicionó EtOAc (30 mL) a la solución. La mezcla se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado (20 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3x40 mL) y la capa orgánica se secó (MgSO_4), luego se concentró. La mezcla cruda se purificó por cromatografía de columna (EtOAc/heptano 1:4), proporcionando el compuesto base y un isómero. El producto fue re-cristalizado a partir de EtOAc/heptano.

Producción: 30 mg (2%) (cristales de color blanco)

Valor-R_f (EtOAc/heptano 5:1): 0.49

m.p. 186-188 °C

20 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 7.32-7.24 (3H, m), 7.20-7.16 (2H, m), 6.11 (1H, s), 5.60 (1H, s), 4.02 (3H, s), 3.96 (3H, s), 4.92 (1H, d, $J=12.3$ Hz), 4.82 (1H, d, $J=12.3$ Hz), 3.06 (1H, dd, $J=16.7$, 13.4 Hz), 2.87 (1H, ddq, $J=13.4$, 6.7, 4.8 Hz), 2.44 (1H, dd, $J=16.7$, 4.8 Hz), 0.99 (3H, d, $J=6.7$ Hz)

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 196.9, 192.3, 169.5 (2C), 164.5, 157.7, 134.6, 128.5 (2C), 128.1, 126.6 (2C), 105.9, 105.2, 97.2, 90.7, 89.4, 70.6, 56.9, 56.3, 40.0, 36.6, 14.2

25 EIMS: m/z calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{ClO}_6$ [M⁺] 428. Encontrado 428.

Compuesto comparativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-metoxi-3',6'-dimetilciclohex-2'-en-4'-ona)

30 A una solución de griseofulvina (514 mg, 1.5 mmol) en acetona (10 mL), se le adicionó K_2CO_3 y MeI (0.2 mL, 3.1 mmol), a continuación la mezcla se calentó a 80 °C. La solución se enfrió a 20 °C después de 14 h. La solución fue transferida a un embudo de separación con EtOAc (30 mL) y se lavó con NH_4Cl acuoso (40 mL). Las fases acuosas combinadas se extrajeron con EtOAc (3X60 mL) y la capa orgánica se secó (MgSO_4), luego se concentró. La mezcla cruda se purificó por cromatografía de columna (EtOAc/heptano 1:6), proporcionando el compuesto base.

Producción: 29 mg (5%) (aceite de color amarillo)

Valor-R_f (EtOAc/heptano 5:1): 0.58

35 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 6.14 (1H, s), 4.04 (3H, s), 3.98 (3H, s), 3.73 (3H, s), 3.06 (1H, dd, $J=16.6$, 13.7 Hz), 2.78 (1H, ddq, $J=13.6$, 4.8, 6.5 Hz), 2.47 (1H, dd, $J=16.6$, 4.7 Hz), 1.85 (3H, s), 0.95 (3H, d, $J=6.7$ Hz)

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 198.0, 193.1, 169.3, 166.5, 164.4, 157.6, 125.0, 105.6, 97.2, 92.9, 89.4, 61.8, 56.9, 56.3, 40.2, 36.4, 14.2, 9.3

EIMS: m/z calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{ClO}_6$ [M⁺] 366. Encontrado 366.

40 Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-ciclopentoxi-6'-metilciclohex-2'-en-4'-ona)

- 5 A una solución de ácido griseofulvico (1.02 g, 3.0 mmol) en dioxano anhidro (8.7 mL), se le adicionó ciclopentanol (1.4 mL, 14.8 mmol) y CSA (109 mg, 0.4 mmol). La mezcla se agitó a 80 °C, durante 18 h y se enfrió a 20 °C. Se le adicionó a la solución EtOAc (30 mL) y la mezcla se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (20 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3X40 mL) y la capa orgánica se secó (MgSO₄), a continuación se concentró. La mezcla cruda se purificó por cromatografía de columna (EtOAc/heptano 1:3), produciendo el compuesto base y un isómero. El producto fue re-cristalizado a partir de EtOAc/heptano.
- Producción: 50 mg (4%) (cristales de color blanco)
- Valor-R_f (EtOAc/heptano 5:1): 0.50
- IR (KBr, cm⁻¹): 1705, 1652 (C=O), 1615 (C=C)
- 10 ¹H-NMR(CDCl₃): δ 6.11 (1H, s), 5.49 (1H, s), 4.56-4.51 (1H, m), 4.03 (3H, s), 3.97 (3H, s), 3.03 (1H, dd, J=16.7, 13.5 Hz), 2.82 (1H, ddq, J=13.5, 4.8, 6.7 Hz), 2.40 (1H, dd, J=16.7, 4.8 Hz), 1.79-1.72 (2H, m), 1.72-1.64 (2H, m), 1.58-1.44 (4H, m), 0.95 (3H, d, J=6.7 Hz)
- ¹³C-NMR(CDCl₃): δ 197.1, 192.6, 169.6, 169.0, 164.3, 157.5, 105.8, 105.1, 97.0, 90.9, 89.2, 81.6, 56.8, 56.3, 39.8, 36.1, 32.1 (2C), 23.7 (2C) 14.2
- 15 EIMS: *m/z* calculado para C₂₁H₂₃ClO₆ [M⁺] 406. Encontrado 406.
- Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-pent-4-eniloxi-6'- metil-ciclohex-2'-en-4'-ona)
- 20 A una solución de ácido griseofulvico (305 mg, 0.9 mmol) en pent-4-en-1-ol (1 mL, 9.9 mmol), se le adicionó CSA (30 mg, 0.1 mmol). La mezcla se agitó a 90 °C, durante 22 h y se enfrió a 20 °C. Se le adicionó a la solución EtOAc (20 mL) y la mezcla se lavó con NaH₂PO₄ acuoso saturado (20 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3X20 mL) y la capa orgánica se secó (MgSO₄), luego se concentró. La mezcla cruda se purificó mediante cromatografía de columna (EtOAc/heptano 1:5) produciendo el compuesto base y un isómero.
- Producción: 29 mg (8%) (aceite de color amarillo)
- Valor-R_f (EtOAc/heptano 5:1): 0.49
- 25 IR (KBr, cm⁻¹): 1707, 1654 (C=O), 1613 (C=C)
- ¹H-NMR(CDCl₃): δ 6.13 (1H, s), 5.65 (1H, ddt, J=17.2, 10.5, 6.8 Hz), 5.50 (1H, s), 4.93 (1H, dd, J=17.2, 1.8 Hz), 4.90 (1H, dd, J=10.5, 1.8 Hz), 4.03 (3H, s), 3.97 (3H, s), 3.81 (1H, dt, J=9.6, 6.2 Hz), 3.73 (1H, dt, J=9.6, 6.2 Hz), 3.04 (1H, dd, J=16.7, 13.5 Hz), 2.82 (1H, ddt, J=13.5, 4.7, 6.7 Hz), 2.41 (1H, dd, J=16.7, 4.7 Hz), 2.00-1.94 (2H, m), 1.70-1.63 (2H, m), 1.02 (3H, d, J=6.7 Hz)
- 30 ¹³C-NMR(CDCl₃): δ 197.1, 192.5, 170.0, 169.5, 164.4, 157.6, 136.9, 115.6, 104.9 (2C), 97.0, 90.8, 89.3, 68.4, 56.9, 56.3, 39.9, 36.2, 29.6, 27.2 14.2
- EIMS: *m/z* calculado para C₂₁H₂₃ClO₆ [M⁺] 406. Encontrado 406.
- Compuesto comparativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4-etoxi-6-metoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-metoxi-6'-metil- ciclohex-2'-en-4'-ona)
- 35 A una solución de griseofulvina (231 mg, 0.7 mmol) en DMF (3 mL), se le adicionó K₂CO₃ (113 mg, 0.8 mmol). La mezcla se agitó a 65 °C y después de 20 min., se le adicionó bromuro de etilo (0.08 mL, 1.1 mmol). Se adicionó más bromuro de etilo, después de 2 h (0.2 mL), 5 h (0.2 mL), 6 h (0.8 mL) y 7 h (0.8 mL). Después de 6 h, se adicionó yoduro de tetrabutilamonio (25 mg, 0.1 mmol). Después de 24 h, se adicionó NaH (16 mg, 0.7 mmol), después de 28 h, se adicionó otra vez NaH (17 mg, 0.7 mmol), cuando adicionalmente se le adicionó bromuro de etilo (0.8 mL).
- 40 Después de 29 h, la solución se diluyó con EtOAc (20 mL) y se lavó con NH₄Cl acuoso saturado (20 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3X30 mL) y la capa orgánica se secó (MgSO₄), luego se concentró. La mezcla cruda se purificó por cromatografía de columna (EtOAc/heptano 1: 2) proporcionando el compuesto base, el cual fue re-cristalizado a partir de CH₂Cl₂/heptano.
- Producción: 39 mg (15%) (cristales de color blanco)
- 45 Valor-R_f (EtOAc/heptano 5:1): 0.55

m.p. 205-206 °C

¹H-NMR(CDCl₃): δ 6.12 (1H, s), 5.53 (1H, s), 4.19 (2H, m), 4.00 (3H, s), 3.61 (3H, s), 3.04 (1H, dd, J=16.8, 13.5 Hz), 2.84 (1H, ddq, J=13.5, 4.7, 6.7 Hz), 2.42 (1H, dd, J=16.8, 4.7 Hz), 1.52 (3H, t, J=7.0 Hz), 0.96 (3H, d, J=6.7 Hz) ¹³C-NMR(CDCl₃): δ 196.9, 192.2, 170.8, 169.5, 164.4, 157.2, 105.6, 104.7, 97.0, 90.6, 90.3, 65.1, 56.9, 56.6, 40.0, 36.4, 14.3, 14.2

5

EIMS: *m/z* calculado para C₁₈H₁₉ClO₆ [M⁺] 366. Encontrado 366.

Ejemplo comparativo (2S,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-aliloxi-6'-metil-ciclohex-2'-eno-4'-ona)

10 A una solución de griseofulvina (1.0 g, 2.84 mmol) en 2-propen-1-ol (28 mL), se le adicionó CSA (0.1 g, 0.430 mmol). La mezcla se agitó a 95 °C, durante 24 horas y se enfrió a 20 °C. Se adicionó EtOAc (93 mL) y la mezcla se lavó con NaHCO₃ saturado (2x93 mL). Las fases acuosas combinadas se extrajeron con EtOAc (3x93 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄), se filtraron y luego se concentraron. La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (EtOAc/heptano, 1:3), para proporcionar el compuesto base y dos isómeros. El producto fue recristalizado a partir de CH₂Cl₂/heptano.

15 Producción: 213 mg (20%) (cristales de color amarillo)

Valor-R_f (EtOAc/heptano, 5:1): 0.47

m.p. 125-128 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 1706, 1663 (C=O), 1617 (C=C)

20 ¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.11 (1H, s), 5.76 (1H, ddt, J = 17.6, 10.2, 5.0 Hz), 5.51 (1H, s), 5.19-5.17 (1H, m), 5.14-5.12 (1H, m), 4.34 (2H, ddd, J = 4.9, 1.6, 1.6 Hz), 4.02 (3H, s), 3.96 (3H, s), 3.02 (1 H, dd, J = 16.5, 13.4 Hz), 2.89-2.79 (1H, m), 2.41 (1H, dd, J = 16.4, 4.5 Hz), 0.95 (3H, d, J = 6.7 Hz)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 197.1, 192.6, 169.9, 164.8, 158.0, 130.7, 118.5, 105.8, 105.5, 97.6, 91.0, 89.7, 69.8, 57.2, 56.6, 40.2, 36.6, 14.5 Anal. Calc. para C₁₉H₁₉ClO₆: C, 60.24; H, 5.06. Encontrado: C, 60.02; H, 5.02.

25 Compuesto representativo (2S,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-butoxi-6'-metil-ciclohex-2'-eno-4'-ona)

30 A una solución de griseofulvina (500 mg, 1.42 mmol) en n-butanol (14 mL), se le adicionó CSA (51 mg, 0.22 mmol). La mezcla se agitó a 120 °C, durante 24 horas y se enfrió a 20 °C. Se adicionó EtOAc (50 mL) y la mezcla se lavó con NaHCO₃ saturado (2X50 mL). Las fases acuosas combinadas se extrajeron con EtOAc (3X50 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄), se filtraron y a continuación se concentraron. La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (EtOAc/heptano, 1:3) para proporcionar el compuesto base y un isómero. El producto fue recristalizado a partir de EtOAc/heptano.

Producción: 71.6 mg (14%) (cristales de color blanco)

Valor-R_f (EtOAc/heptano, 5:1): 0.41

m.p. 152-154 °C

35 IR (KBr, cm⁻¹): 1706, 1662 (C=O), 1614 (C=C)

¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.11 (1H, s), 5.50 (1H, s), 4.03 (3H, s), 3.97 (3H, s), 3.83-3.68 (2H, m), 3.03 (1H, dd, J = 16.5, 13.5 Hz), 2.79 (1H, ddq, J = 13.3, 6.6, 4.7 Hz), 2.41 (1H, dd), 1.59-1.49 (2H, m), 1.28-1.19 (2H, m), 0.95 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.74 (3H, t, J = 7.4 Hz) ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 197.1, 192.9, 170.4, 169.5, 164.7, 157.9, 105.4, 105.2, 97.2, 91.1, 89.6, 69.5, 57.2, 56.6, 40.2, 36.5, 30.2, 19.0, 14.5, 13.8

40 Anal. Calc. para C₂₀H₂₃ClO₆: C, 60.84; H, 5.87. Encontrado: C, 60.71; H, 5.83.

Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-hexoxi-6'-metilciclohex-2'-eno-4'-ona)

5 A una solución de griseofulvina (2.0 g, 5.67 mmol) en n-hexanol (56 mL), se le adicionó CSA (0.2 g, 0.861 mmol). La mezcla se agitó a 120 °C, durante 24 horas y se enfrió a 20 °C. Se adicionó EtOAc (180 mL) y la mezcla se lavó con NaHCO₃ saturado (2x180 mL). Las fases acuosas combinadas se extrajeron con EtOAc (3x180 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄), se filtraron y a continuación se concentraron. La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (EtOAc/heptano, 1:4), para proporcionar el compuesto base y un isómero. El producto fue recristalizado a partir de EtOAc/heptano.

Producción: 450.1 mg (19%) (cristales de color blanco)

Valor-R_f (EtOAc/heptano, 5:1): 0.52

m.p. 152-154 °C

10 IR (KBr, cm⁻¹): 1701, 1663 (C=O), 1616 (C=C)

¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.11 (1H, s), 5.50 (1H, s), 4.03 (3H, s), 3.97 (3H, s), 3.83-3.66 (2H, m), 3.04 (1 H, dd, J = 16.5, 13.5 Hz), 2.83 (1H, ddq, J = 13.3, 6.6, 4.6 Hz), 2.41 (1H, dd, J = 16.5, 4.6 Hz), 1.55 (2H, quintet, J = 13.4, 6.5 Hz), 1.25-1.16 (6H, m), 0.96 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.80 (3H, t, J = 6.9 Hz)

15 ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 192.8, 170.4, 169.8, 164.7, 157.9, 105.5, 105.1, 97.6, 91.1, 89.5, 69.7, 57.2, 56.6, 54.7, 40.2, 36.4, 31.3, 28.2, 25.4, 22.6, 14.5, 14.0

Anal. Calc. para C₂₂H₂₇ClO₆: C, 62.48; H, 6.44. Encontrado: C, 62.39; H, 6.37.

(2S,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-metoxi-6'-metil-ciclohex-2'-eno-4'-ona oxima)

20 A una solución de griseofulvina (1.0 g, 2.84 mmol) en etanol (120 mL), se le adicionaron clorhidrato de hidroxilamina (620 mg, 8.92 mmol) y acetato de sodio (1.0 g, 12.19 mmol). La mezcla se agitó a 80 °C, durante 24 horas, se enfrió a 0 °C, y el precipitado de color blanco se recolectó por filtración. Se adicionó al licor madre CH₂Cl₂ (150 mL) y se lavó con agua (2x100 mL) y a continuación salmuera (100 mL). La fase orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y a continuación se concentró para proporcionar el compuesto base.

Producción: 988 mg (95%) (agujas de color blanco)

Valor-R_f (MeOH/ CH₂Cl₂, 1:10): 0.50

25 IR (KBr, cm⁻¹): 1706 (C=O), 1590 (C=C), 1614 (C=N)

¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.20 (1H, s), 6.04 (1H, s), 5.53 (1H, s), 3.95 (3H, s), 3.90 (3H, s), 3.55 (3H, s), 2.93 (1 H, dd, J = 15.0, 13.1 Hz), 2.57-2.43 (1H, m), 2.34 (1H, dd, J = 15.0, 4.2 Hz), 0.88 (3H, d, J= 6.7 Hz)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 194.2, 176.4, 169.9, 155.3, 152.1, 106.0, 99.1, 97.4, 92.9, 91.6, 89.4, 57.2, 56.4, 56.2, 36.6, 35.5, 14.6

30 EIMS: *m/z* calculado para C₁₇H₁₈ClNO₆ [M⁺] 367. Encontrado 367

Anal. Calc. para C₁₇H₁₈ClNO₆: C, 55.58; H, 4.93. Encontrado: C, 55.60; H, 4.96.

Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-pentoxi-6'-metilciclohex-2'-eno-4'-ona)

35 A una solución de griseofulvina (2.0 g, 5.67 mmol) en n-pentanol (56 mL), se le adicionó CSA (0.2 g, 0.861 mmol). La mezcla se agitó a 120 °C, durante 24 horas y se enfrió a 20 °C. Se adicionó EtOAc (180 mL) y la mezcla se lavó con NaHCO₃ saturado (2x 180 mL). Las fases acuosas combinadas se extrajeron con EtOAc (3x180 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄), se filtraron y a continuación se concentraron. La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (EtOAc/heptano, 1:4), para proporcionar el compuesto base. El producto fue re-cristalizado a partir de EtOAc/heptano.

40 Producción: 392 mg (17%) (cristales de color blanco)

Valor-R_f (EtOAc/heptano, 5:1): 0.52

m.p. 146-148 °C

IR (KBr, cm^{-1}): 1701, 1653 (C=O), 1613 (C=C)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 6.11 (1H, s), 5.48 (1H, s), 4.02 (3H, s), 3.96 (3H, s), 3.79-3.66 (2H, m), 3.03 (1H, dd, $J = 16.5, 13.5$ Hz), 2.82 (1H, ddq, $J = 13.5, 6.8, 4.7$ Hz), 2.40 (1H, dd, $J = 16.5, 4.6$ Hz), 1.55 (2H, quintet, $J = 13.8, 6.5$ Hz), 1.20-1.15 (2H, m), 0.95 (3H, d, $J = 6.7$ Hz), 0.77 (3H, t, $J = 6.8$ Hz)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 192.8, 170.4, 169.9, 164.7, 157.9, 105.4, 105.1, 97.4, 91.1, 89.5, 69.8, 57.2, 56.6, 40.2, 36.4, 28.0, 27.9, 22.3, 14.5, 14.1

Anal. Calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{ClO}_6$: C, 61.69; H, 6.16. Encontrado: C, 61.73; H, 5.99.

10 Compuesto comparativo (25,6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-metoxi-6'-metil-ciclohex-2'-eno-4'-ona-4'-dimetilhidrazona)

15 A una solución de griseofulvina (1.0 g, 2.83 mmol) en tolueno (28.3 mL), se le adicionó N,N-dimetilhidrazina (0.9 mL, 11.32 mmol) y ácido acético al 90% (0.5 mL, 8.66 mmol). La mezcla se calentó a 50 °C, durante 24 horas y a continuación se enfrió a 20 °C. La mezcla se diluyó con éter dietílico (100 mL) y se lavó con solución de NaHCO_3 saturada acuosa (50 mL) y a continuación salmuera (50 mL). Las fases acuosas combinadas se extrajeron con éter dietílico (50 mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron, y se concentraron. La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (tolueno/ CH_2Cl_2 /EtOAc, 1:1:2) para proporcionar el producto de acuerdo con las figuras 25 y 26.

Producción: Compuesto de acuerdo con la figura 25: 208 mg (19 %) (agujas de color naranja), compuesto de acuerdo con la figura 25 y figura 26: 354 mg (32 %) (agujas de color naranja)

20 Valor- R_f (EtOAc/heptano, 5:1): 0.22

m.p. 118-120 °C

IR (KBr, cm^{-1}): 1708 (C=O), 1613 (C=N)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 6.11 (1H, s), 5.67 (1H, s), 4.02 (3H, s), 3.97 (3H, s), 3.56 (3H, s), 3.13 (1H, dd, $J = 16.2, 4.5$ Hz), 2.77 (1H, dd, $J = 16.2, 12.9$ Hz), 2.60 (1H, ddq, $J = 12.8, 4.7, 6.6$ Hz), 2.53 (6H, s), 0.94 (3H, d, $J = 6.7$ Hz)

25 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 194.4, 169.7, 164.5, 162.7, 160.0, 157.7, 105.8, 103.3, 97.3, 91.9, 89.4, 57.2, 56.5, 56.2, 47.5 (2C), 36.1, 29.4, 14.6

EIMS: m/z calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{ClN}_2\text{O}_5$ [M^+] 394. Encontrado 394

Anal. Calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{ClN}_2\text{O}_5$: C, 57.80; H, 5.87. Encontrado: C, 56.73; H, 5.90.

30 El Compuesto Comparativo de acuerdo con la figura 26, solo se caracteriza como una mezcla de compuestos de acuerdo con la figura 25 y 26

Valor- R_f (EtOAc/heptano, 5:1): 0.22 y 0.15

m.p. 105-108 °C

IR (KBr, cm^{-1}): 1708 (C=O) 1612 (C=N)

35 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 6.25 (1H, s), 6.09 (1H, s), 4.00 (3H, s), 3.95 (3H, s), 3.58 (3H, s), 3.09 (1H, dd, $J = 16.1, 4.4$ Hz), 2.78-2.68 (1H, m), 2.54-2.49 (1H, m), 2.50 (6H, s), 0.92 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)

δ 6.09 (1H, s), 5.64 (1H, s), 4.00 (3H, s), 3.95 (3H, s), 3.53 (3H, s), 3.07-2.96 (1H, m), 2.61-2.53 (1H, m), 2.40-2.33 (1H, m), 2.48 (6H, s), 0.91 (3H, d, $J = 6.6$ Hz)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 194.1, 169.4, 164.2, 162.4, 160.1, 157.4, 105.5, 103.0, 97.1, 91.9, 89.4, 57.2, 56.5, 54.7, 47.9 (2C), 36.8, 34.7, 14.6

40 δ 194.1, 169.4, 164.2, 161.8, 159.7, 157.4, 105.5, 103.0, 97.0, 91.9, 89.4, 56.3, 56.2, 54.7, 47.5 (2C), 36.1, 34.7, 14.5

EIMS: m/z calculado para $C_{19}H_{23}ClN_2O_5$ [M+] 394. Encontrado 394.

Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-1-naftalenometoxi-6'-metil-ciclohex-2'-eno-4'-ona)

5 A una solución de 2'-demetoxi-2'-cloro griseofulvina (500 mg, 1.40 mmol) en 1,4-dioxano (6 mL), se le adicionó una solución de 1-naftaleno metanol (1.107 mg, 7.00 mmol) y NaH (78 mg, 2.10 mmol) en 1,4-dioxano (6.7 mL) durante 5 min a 10 °C. La mezcla se agitó por 30 min y a continuación se adicionó otra vez NaH (78 mg, 2.10 mmol) y la mezcla se agitó por otros 10 min a 10 °C. La mezcla se apagó con solución de NaH_2PO_4 acuoso al 5% y a continuación se extrae con EtOAc (3X100 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$), se filtraron, y se concentraron.

10 La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (tolueno/ CH_2Cl_2 /EtOAc, 8:8:1), para proporcionar el producto base.

El compuesto fue re-cristalizado a partir de EtOAc/heptano.

Producción: 354 mg (53 %) (cristales de color blanco)

Valor- R_f (EtOAc/heptano, 5:1): 0.46

15 m.p. 180-182 °C

IR (KBr, cm^{-1}): 1707, 1663 (C=O)

1H -NMR ($CDCl_3$): δ 7.81-7.74 (3H, m), 7.49-7.45 (2H, m), 7.34-7.32 (2H, m), 5.99 (1H, s), 5.77 (1H, s), 5.28-5.26 (2H, m), 3.92 (3H, s), 3.90 (3H, s), 3.08 (1H, dd, $J = 16.5, 13.4$ Hz), 2.87 (1H, ddq, $J = 13.5, 4.8, 6.8$ Hz), 2.44 (1H, dd, $J = 16.5, 4$ Hz), 0.97 (3H, d, $J = 6.7$ Hz)

20 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ 197.0, 192.4, 170.0, 169.9, 164.4, 157.6, 133.4, 131.0, 130.0, 129.6, 128.8, 126.9, 126.6, 126.2, 125.3, 123.6, 106.2, 105.0, 97.0, 91.0, 89.6, 70.3, 57.1, 56.5, 40.3, 36.5, 14.5

EIMS: m/z calculado para $C_{27}H_{23}ClO_6$ [M+] 478. Encontrado 478.

Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-benziloxi-6'-metil-ciclohex-2'-eno-4'-ona oxima)

25 A una solución de 2'-benziloxi enol éter de griseofulvina (197 mg, 0.459 mmol) en etanol (18 mL) y DMSO (9 mL) se le adicionó clorhidrato de hidroxilamina (112 mg, 1.605 mmol) y acetato de sodio (162 mg, 1.972 mmol). La mezcla se agitó a 80 °C, durante 24 horas, se enfrió a 20 °C, y se diluye con CH_2Cl_2 (25 mL). La mezcla se lavó con H_2O (2x20 mL) y a continuación salmuera (20 mL). La fase orgánica se secó ($MgSO_4$), se filtró, y concentró. La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (tolueno/ CH_2Cl_2 /EtOAc, (2:2:1), para proporcionar el compuesto base.

30

Producción: 167 mg (82 %) (agujas de color blanco)

Valores- R_f (EtOAc/heptano, 5:1): 0.40 y 0.34

m.p. 139-141 °C

IR (KBr, cm^{-1}): 1706 (C=O), 1614 (C=N)

35 1H -NMR ($CDCl_3$): δ .30-7.21 (3H, m), 7.18-7.15 (2H, m), 6.36 (1H, s), 6.07 (1H, s), 4.95 (1H, d, $J = 12.3$ Hz), 4.75 (1H, d, $J = 12.3$ Hz), 3.99 (3H, s), 3.93 (3H, s), 3.04 (1H, dd, $J = 15.2, 13.2$ Hz), 2.67-2.54 (1H, m), 2.42 (1H, dd, $J = 15.0, 4.2$ Hz), 0.98 (3H, d, $J = 6.6$ Hz) δ 7.30-7.21 (3H, m), 7.18-7.15 (2H, m), 6.07 (1H, s), 5.68 (1H, s), 4.87 (1H, d, $J = 12.2$ Hz), 4.81 (1H, d, $J = 12.2$ Hz), 3.99 (3H, s), 3.93 (3H, s), 3.14 (1H, dd, $J = 16.6, 4.7$ Hz), 2.73 (1H, dd, $J = 16.6, 13.0$ Hz), 2.67-2.54 (1H, m), 0.97 (3H, d, $J = 6.7$ Hz)

40 ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ 193.9, 169.4, 164.1, 159.8, 157.2, 135.7, 128.3 (2C), 127.6, 126.5 (2C), 105.6, 100.3, 96.9, 93.6, 91.4, 89.1, 69.9, 56.8, 56.2, 36.3, 35.1, 14.3

ES 2 381 057 T3

δ 193.7, 169.3, 164.0, 157.2, 155.0, 135.5, 128.2 (2C), 127.5, 126.4 (2C), 105.6, 100.3, 96.9, 93.6, 91.3, 89.1, 69.7, 56.8, 56.2, 36.3, 35.1, 14.2

EIMS: m/z calculado para $C_{23}H_{22}ClNO_6$ [M⁺] 443. Encontrado 443.

5 Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-1-naftalenometoxi- 6'-metil-ciclohex-2'-eno-4'-ona-4'-dimetilhidrazona)

10 A una solución de 2'-1-naftalenometoxi enol éter de griseofulvina (170 mg, 0.356 mmol) en tolueno (3.5 mL), se le adicionó N,N-dimetilhidrazina (0.1 mL, 1.422 mmol) y 90 % de ácido acético (0.06 mL, 1.067 mmol). La mezcla se calentó a 55 °C, durante 24 horas y a continuación se enfrió a 20 °C. La mezcla se diluyó con éter dietílico (20 mL) y se lavó con H₂O (5 mL) y a continuación salmuera (3X25 mL). La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtraron, y concentraron.

La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (tolueno/CH₂Cl₂/EtOAc, 1: 1: 1) para proporcionar el compuesto base.

Producción: 56 mg (30 %) (agujas de color naranja)

Valor-R_f (EtOAc/heptano, 7:1): 0.33 y 0.24

15 m.p. 135-137 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 1706 (C=O) 1616 (C=N)

¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.77-7.61 (3H, m), 7.41-7.31 (2H, m), 7.30-7.23 (2H, m), 5.98 (1H, s), 5.89 (1H, s), 5.27-5.15 (2H, m), 3.84 (3H, s), 3.81 (3H, s), 3.10 (1H, dd, J = 16.5, 4.6 Hz), 2.79 (1H, dd, J = 17.3, 12.3 Hz), 2.63-2.52 (1H, m), 2.49 (6H, s), 0.88 (3H, d, J = 6.7 Hz)

20 δ 7.77-7.61 (3H, m), 7.41-7.31 (2H, m), 7.30-7.23 (2H, m), 5.98 (1H, s), 5.89 (1H, s), 5.27-5.15 (2H, m), 3.84 (3H, s), 3.81 (3H, s), 3.09-2.99 (1H, m), 2.44-2.34 (1H, m), 2.63-2.52 (1H, m), 2.43 (6H, s), 0.87 (3H, d, J = 6.7 Hz)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 187.1, 169.4, 169.3, 164.3, 157.8, 155.0, 133.7, 131.3, 129.2, 128.6, 126.8, 126.7, 126.1, 126.0, 125.4, 123.7, 109.7, 105.5, 97.1, 91.4, 89.5, 69.8, 57.1, 56.5, 47.7 (2C), 36.5, 29.7, 14.7

25 δ 187.0, 169.4, 169.3, 164.2, 157.7, 155.0, 133.7, 131.3, 129.2, 128.6, 126.8, 126.7, 126.1, 126.0, 125.4, 123.7, 109.7, 105.4, 96.7, 91.3, 89.4, 69.8, 57.2, 56.4, 47.4 (2C), 36.0, 29.3, 14.6

EIMS: m/z calculado para $C_{29}H_{29}ClN_2O_5$ [M⁺] 520. Encontrado 520.

30 Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-1-naftalenometoxi- 6'-metil-ciclohex-2'-eno-4'-ona oxima)

30 A una solución de 2'-1-naftalenometoxi enol éter de griseofulvina (95 mg, 0.199 mmol) en etanol (5 mL) y DMSO (2.5 mL), se le adicionaron clorhidrato de hidroxilamina (48 mg, 0.696 mmol) y acetato de sodio (70 mg, 0.855 mmol). La mezcla se agitó a 75 °C, durante 24 horas, se enfrió a 20 °C, y se diluye con CH₂Cl₂ (20 mL). La mezcla se lavó con H₂O (2X15 mL) y a continuación salmuera (15 mL). La fase orgánica se secó (MgSO₄), se filtró, y concentró. La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (tolueno/CH₂Cl₂/EtOAc, (2:2:1) para proporcionar el compuesto base.

35 Producción: 62 mg (64 %) (agujas de color blanco)

Valores-R_f (EtOAc/heptano, 5:1): 0.42 y 0.34

m.p. 129-130 °C

IR (KBr, cm⁻¹): 1707 (C=O), 1613 (C=N)

40 ¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.76-7.6 (3H, m), 7.44-7.34 (2H, m), 7.26-7.22 (2H, m), 6.54 (1H, s), 5.86 (1H, s), 5.30-5.10 (2H, m), 3.81 (3H, s), 3.79 (3H, s), 3.05 (1H, dd, J = 15.0, 13.2 Hz), 2.67-2.53 (1H, m), 2.44 (1H, dd, J = 15.0, 4.2 Hz), 0.94 (3H, d, J = 6.6 Hz)

δ 7.76-7.63 (3H, m), 7.44-7.34 (2H, m), 7.26-7.22 (2H, m), 5.86 (1H, s), 5.84 (1H, s), 5.30-5.10 (2H, m), 3.80 (3H, s), 3.78 (3H, s), 3.14 (1H, dd, $J = 16.6, 4.7$ Hz), 2.74 (1H, dd, $J = 16.7, 13.0$ Hz), 2.67-2.53 (1H, m), 0.93 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 194.0, 169.3, 164.0, 160.0, 155.0, 133.3, 131.1, 128.9, 128.2, 128.1, 126.3, 126.2, 125.2, 125.0, 123.5, 105.6, 100.5, 99.8, 93.9, 91.7, 89.0, 69.4, 57.0, 56.4, 35.2, 36.6, 14.4

δ 193.9, 169.3, 164.0, 157.3, 151.8, 133.3, 131.1, 128.9, 128.2, 128.1, 126.3, 126.2, 125.2, 125.0, 123.5, 105.5, 100.5, 99.7, 93.9, 91.6, 88.9, 69.0, 57.0, 56.4, 35.2, 36.6, 14.3

EIMS: m/z calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{ClNO}_6$ [M⁺] 493. Encontrado 493.

10 Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-benziltio-6'-metil-ciclohex-2'-eno-4'-ona)

15 A una solución de 2'-demetoxi-2'-cloro griseofulvina (300 mg, 0.840 mmol) en 1,4-dioxano (3.6 mL), se le adicionó una solución de bencil mercaptano (522 mg, 4.20 mmol) y NaH (47 mg, 1.26 mmol) en 1,4-dioxano (4.0 mL) durante 5 min a 10 °C. La mezcla se agitó durante 30 min y a continuación se adicionó otra vez NaH (47 mg, 1.26 mmol) y la mezcla se agitó por otros 10 min a 10 °C. La mezcla se apagó con solución de NaH_2PO_4 acuoso al 5% y a continuación se extrae con EtOAc (3X45 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), se filtraron, y concentraron.

La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (tolueno/ CH_2Cl_2 /EtOAc, 5:5:1) para proporcionar el producto, el compuesto base. El compuesto fue re-cristalizado a partir de CH_2Cl_2 /EtOAc/heptano.

Producción: 349 mg (93 %) (cristales de color blanco)

20 Valor- R_f (EtOAc/heptano, 5:1): 0.44

m.p. 208-210 °C

IR (KBr, cm^{-1}): 1703, 1663 (C=O)

25 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 7.33-7.27 (5H, m), 6.51 (1H, s), 6.09 (1H, s), 4.17 (1H, d, $J = 12.6$ Hz), 4.05 (1H, d, $J = 12.5$ Hz), 4.03 (3H, s), 3.95 (3H, s), 2.95-2.83 (1H, m), 2.68 (1H, dd, $J = 17.3, 13.3$ Hz), 2.40 (1H, dd, $J = 17.2, 5.3$ Hz), 0.77 (3H, d, $J = 6.6$ Hz)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 193.4, 191.1, 168.5, 165.2, 160.5, 158.4, 135.3, 129.8 (2C), 129.4 (2C), 128.4, 122.6, 104.1, 95.8, 92.3, 92.2, 58.3, 57.3, 49.9, 37.4, 35.4, 14.9

EIMS: m/z calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{ClO}_5\text{S}$ [M⁺] 444. Encontrado 444

Anal. Calc. para $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{ClO}_5\text{S}$: C, 62.09; H, 4.76. Encontrado: C, 62.15; H, 4.78.

30 Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-ona)-2-spiro-1'-(2'-benziltio-6'-metil-ciclohex-2'-eno-4'-ona oxima)

35 A una solución de 2'-1-bencil enol tioeter de griseofulvina (100 mg, 0.225 mmol) en etanol (60 mL) y DMSO (30 mL) se le adicionaron clorhidrato de hidroxilamina (55 mg, 0.787 mmol) y acetato de sodio (80 mg, 0.966 mmol). La mezcla se agitó a 80 °C, durante 20 horas, se enfrió a 20 °C, y se diluye con CH_2Cl_2 (50 mL). La mezcla se lavó con H_2O (2X100 mL) y a continuación salmuera (100 mL). La fase orgánica se secó (MgSO_4), se filtró, y concentró. La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (EtOAc/heptano, (1:1) para proporcionar el compuesto base.

Producción: 97 mg (94 %) (cristales de color blanco)

m.p. 112-119 °C.

40 Compuesto representativo (2S, 6'R)-(7-cloro-4,6-dimetoxi-benzofuran-3-on)-2-spiro-1'-(2'-(2-feniletotoxi)-6'- metil-ciclohex-2'-en-4'-ona)

A una solución de 2'-demetoxi-2'-cloro griseofulvina (300 mg, 0.840 mmol) en 1,4-dioxano (3.6 mL), se le adicionó una solución de 2-feniletanol (513 mg, 4.20 mmol) y NaH (47 mg, 1.26 mmol) en 1,4-dioxano (4.0 mL) durante 5 min

ES 2 381 057 T3

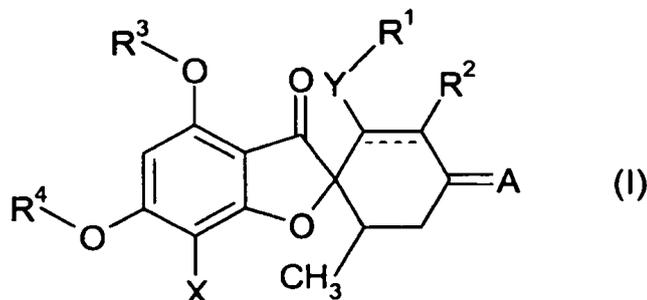
a 10 °C. La mezcla se agitó por 30 min y a continuación se le adicionó otra vez NaH (47 mg, 1.26 mmol) y la mezcla se agitó por otros 10 min a 10 °C. La mezcla se apagó con solución de NaH₂PO₄ acuoso al 5% y a continuación se extrajo con EtOAc (3X45 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄), se filtraron, y concentraron.

5 La mezcla cruda se separó por cromatografía de columna (tolueno/CH₂Cl₂/EtOAc, 6:6:1) para proporcionar el producto, compuesto base. El compuesto fue re-cristalizado a partir de CH₂Cl₂/EtOAc/heptano.

Producción: 186 mg (50%)

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de acuerdo con la fórmula general (I)



en donde los símbolos tienen los siguientes significados:

5 A se selecciona de: =O, =NOR⁵, y =N-NR⁶R⁷ y =NR⁸;

X se selecciona de: H, halógeno y pseudohalógeno;

Y se selecciona de: -CH₂-, -O-, -S- y -NH-;

en donde la línea punteada indica un doble enlace, el cual opcionalmente puede estar presente;

10 R¹ se selecciona de: grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 4 a 20 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -NO₂, NH₂, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos alquilo acíclicos lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y que llevan en su cadena uno o más átomos no-adyacentes del grupo O y S; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 20 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual, el grupo
15 aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

20 R² se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -NO₂, NH₂, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos alquilo acíclicos lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y que llevan en su cadena uno o más átomos no-adyacentes del grupo O y S; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 20 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

25 R³ se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 10 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono;

R⁴ independientemente tiene el mismo significado que R³;

R⁵ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁶ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

30 R⁷ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

R⁸ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

y/ o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde

A se selecciona de: =O, =NOR⁵ y =N-NR⁶R⁷

X se selecciona de: H, halógeno y pseudohalógeno;

Y se selecciona de: -CH₂-, -O-; -S

en donde, la línea punteada indica un doble enlace, el cual opcionalmente puede estar presente;

5 R¹ se selecciona de: grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 4 a 15 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -NO₂, NH₂, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos alquenoxi lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono; y grupos aralquilo, que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 10 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

15 R² se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 15 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -NO₂, NH₂, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos alquenoxi lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 10 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

20 R³ se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 6 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono;

R⁴ independientemente tiene el mismo significado que R³;

R⁵ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

25 R⁶ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁷ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde

A se selecciona de: =O, =NOR⁵ y =N-NR⁶R⁷

X se selecciona de: H, halógeno y pseudohalógeno;

30 Y se selecciona de: -CH₂-, -O-; -S

en donde, la línea punteada indica un doble enlace, el cual opcionalmente puede estar presente;

35 R¹ se selecciona de: grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 4 a 10 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos etilenoxi, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y grupos propilenoxi, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 6 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5, 6 o 10 átomos de carbono, en el cual el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

40 R² se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos etilenoxi, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y grupos propilenoxi, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 6 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5, 6 o 10 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

45

R³ se selecciona de: H; grupos alquilo, alquenilo y alquinilo lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 6 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono;

R⁴ independientemente tiene el mismo significado que R³;

5 R⁵ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁶ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁷ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

4. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde

10 A se selecciona de: =O, =NOR⁵;

X se selecciona de: H, halógeno;

Y se selecciona de: -O-; -S

en donde, la línea punteada indica un doble enlace, el cual opcionalmente puede estar presente;

15 R¹ se selecciona de: grupos alquilo, alquenilo y alquinilo lineales o ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 5 a 8 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos etilenoxi, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono y grupos propilenoxi, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 4 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

20 R² se selecciona de: H; grupos alquilo, alquenilo y alquinilo lineales o ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 8 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos etilenoxi, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono y grupos propilenoxi, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 4 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

25 R³ se selecciona de: H; grupos alquilo, alquenilo y alquinilo lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 4 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 4 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono;

30 R⁴ independientemente tiene el mismo significado que R³;

R⁵ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1

35 en donde

A se selecciona de: =O, =NOR⁵, y =N-NR⁶R⁷, y =NR⁸;

X se selecciona de: H, halógeno y pseudohalógeno;

Y se selecciona de: -CH₂-, -O-, -S- y -NH-;

40 en donde, la línea punteada indica un doble enlace, el cual opcionalmente puede estar presente; R¹ se selecciona de: grupos alquilo, alquenilo y alquinilo lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 5 a 8 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -NO₂, NH₂, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos alquilo acíclicos lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y que llevan en su cadena uno o más átomos no-

adyacentes del grupo O y S; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 20 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

5 R^2 se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, $-C(O)OH$, $-NO_2$, NH_2 , $-OH$ y $-O$ alquilo (C_1-C_4); grupos alquilo acíclicos lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y que llevan en su cadena uno o más átomos no-adyacentes del grupo O y S; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 20 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

R^3 se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 10 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 6 átomos de carbono;

R^4 independientemente tiene el mismo significado que R^3 ;

15 R^5 es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R^6 es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R^7 independientemente tiene el mismo significado que R^6 ;

R^8 independientemente tiene el mismo significado que R^6 ;

20 y/ o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1,

en donde

A se selecciona de: $=O$, $=NOR^5$, y $=N-NR^6R^7$, y $=NR^8$;

X se selecciona de: H, halógeno y pseudohalógeno;

25 Y se selecciona de: $-CH_2-$, $-O-$, $-S-$ y $-NH-$;

en donde, la línea punteada indica un doble enlace, el cual opcionalmente puede estar presente;

30 R^1 se selecciona de grupos alquilo acíclicos lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y que llevan en su cadena uno o más átomos no-adyacentes del grupo O y S; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 20 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

35 R^2 se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, $-C(O)OH$, $-NO_2$, NH_2 , $-OH$ y $-O$ alquilo (C_1-C_4); grupos alquilo acíclicos lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y que llevan en su cadena uno o más átomos no-adyacentes del grupo O y S; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 20 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

40 R^3 se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 10 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 6 átomos de carbono;

R^4 independientemente tiene el mismo significado que R^3 ;

R^5 es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁶ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁷ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

R⁸ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

y/ o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

5 7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 6

en donde

A se selecciona de: =O, =NOR⁵, y =N-NR⁶R⁷ y =NR⁸;

X se selecciona de: H, halógeno y pseudohalógeno;

Y se selecciona de: -CH₂-, -O-, -S- y -NH-;

10 en donde, la línea punteada indica un doble enlace, el cual opcionalmente puede estar presente;

R¹ se selecciona de: grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 20 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

15 R² se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono, en donde los grupos mencionados pueden ser no sustituidos o sustituidos o llevar uno o más sustituyentes del grupo halógeno, pseudohalógeno, -C(O)OH, -NO₂, NH₂, -OH y -O alquilo (C₁-C₄); grupos alquilo acíclicos lineales o ramificados, que tienen de 1 a 20 átomos de carbono y que llevan en su cadena uno o más átomos no-adyacentes del grupo O y S; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 20 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, en el cual, el grupo aromático opcionalmente contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S o N en su ciclo;

20 R³ se selecciona de: H; grupos alquilo, alqueno y alquino lineales y ramificados, acíclicos y cíclicos, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono; y grupos aralquilo que tienen un grupo alquilo acíclico lineal o ramificado con 1 a 10 átomos de carbono y un grupo aromático, que tiene de 5 o 6 átomos de carbono;

R⁴ independientemente tiene el mismo significado que R³;

25 R⁵ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un grupo acilo, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁶ es H o un grupo alquilo lineal o ramificado, que tiene de 1 a 4 átomos de carbono;

R⁷ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

R⁸ independientemente tiene el mismo significado que R⁶;

30 y/ o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

8. Un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para utilizar como un medicamento.

9. Un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para utilizar en un método para el tratamiento del cáncer.

35 10. El compuesto para utilizar en un método de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el cáncer se selecciona del grupo tumor maligno humano, preferiblemente neoplasia sólida o tumor maligno hematológico.

11. El compuesto para utilizar en un método de acuerdo con la reivindicación 10, en donde dicho cáncer se selecciona de cáncer del cerebro, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, cáncer esofágico, cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer renal, cáncer del páncreas, cáncer del tracto biliar,

cáncer de próstata, cáncer de la piel, melanoma, cáncer de ovarios, cáncer cervical, sarcoma, sarcomas de tejido suave y óseo, leucemia, mieloma múltiple y linfoma, incluyendo ambos linfomas de Hodgkin y No-Hodgkin.

5 12. Un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para utilizar en un método para tratar el cáncer en un paciente, que comprende la administración a un paciente que sufre de dicha enfermedad en un cantidad terapéuticamente efectiva de dicho compuesto.

13. Una composición farmacéutica para utilizar en un método para el tratamiento del cáncer que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y opcionalmente portadores y aditivos.

Figura 1

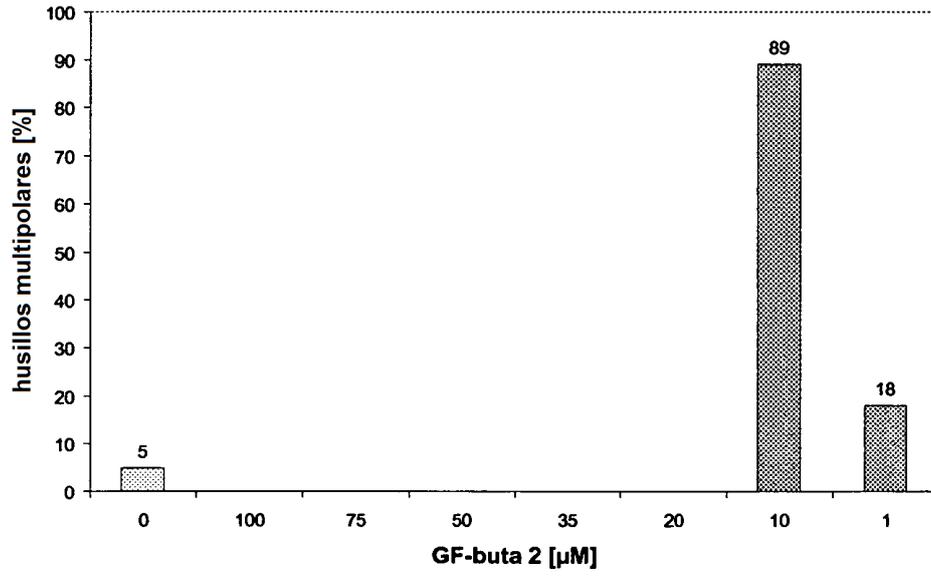
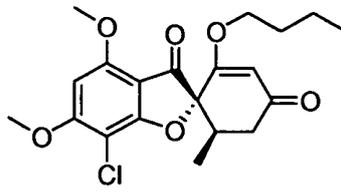


Figura 2

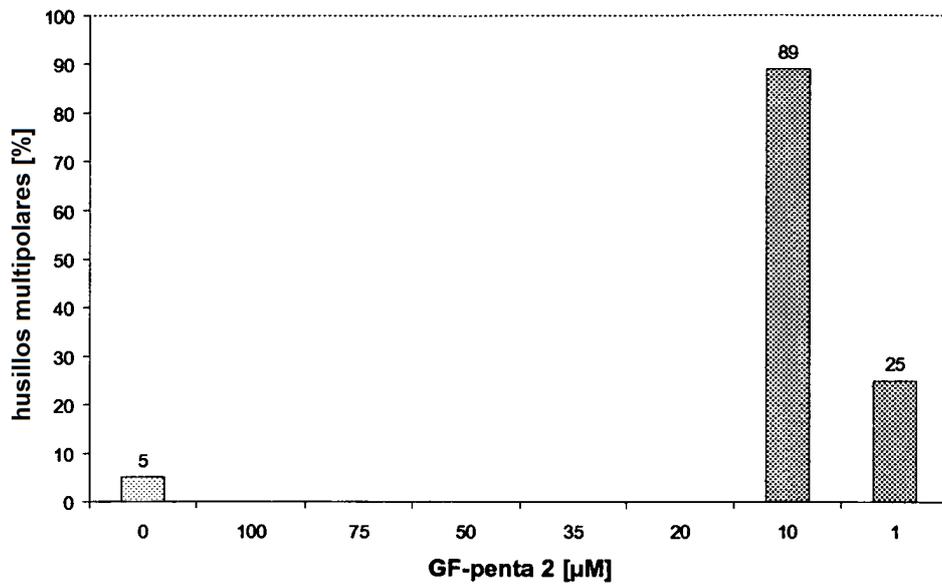
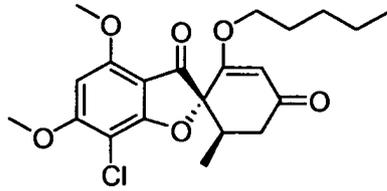


Figura 3

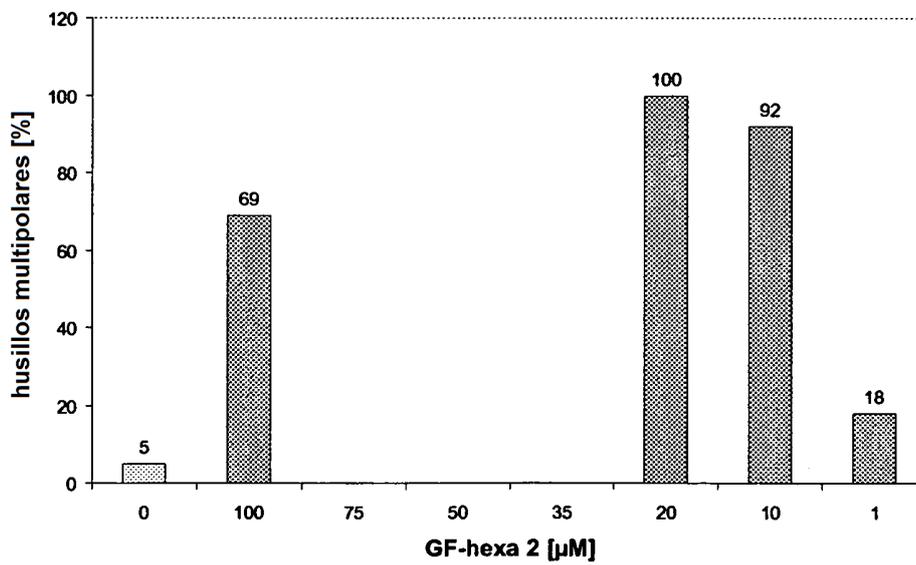
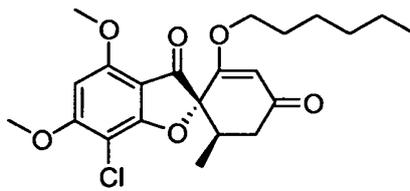


Figura 4

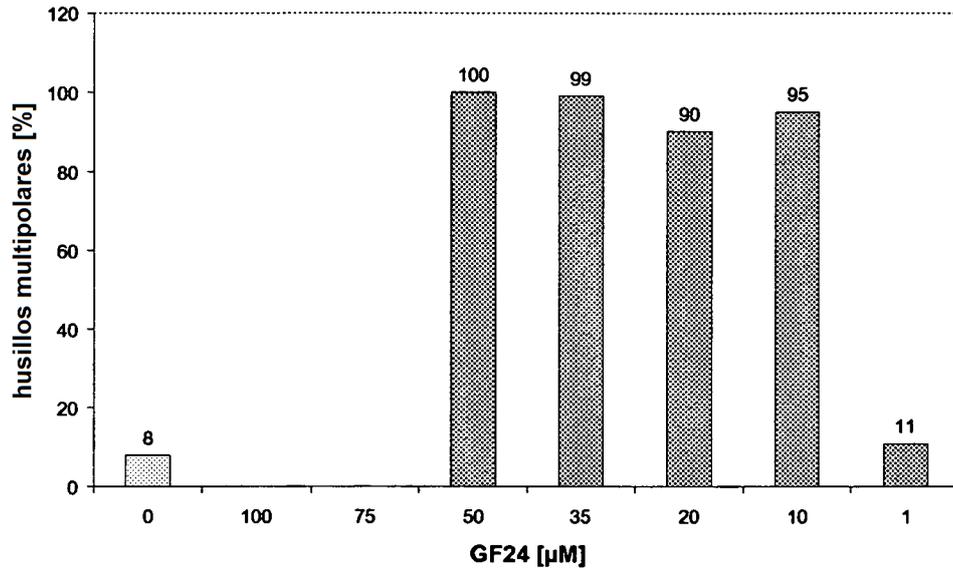
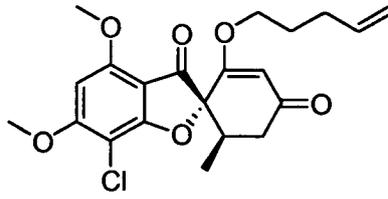


Figura 5

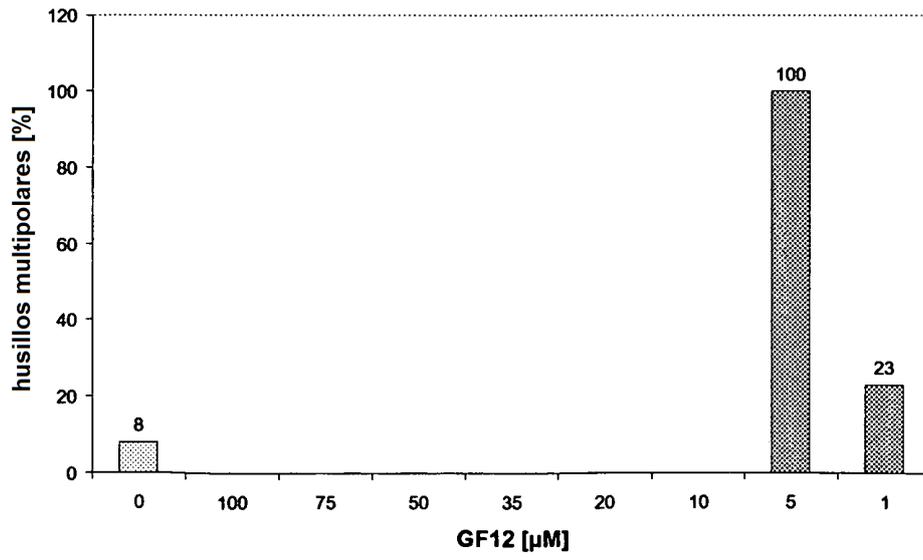
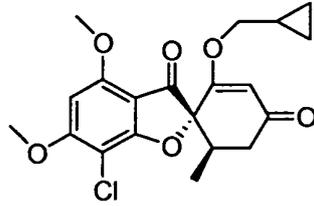


Figura 6

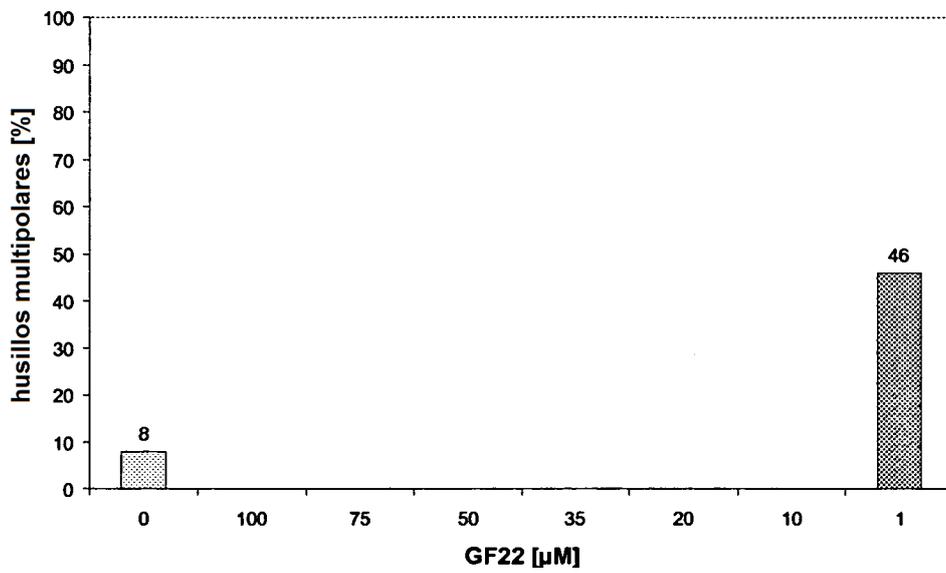
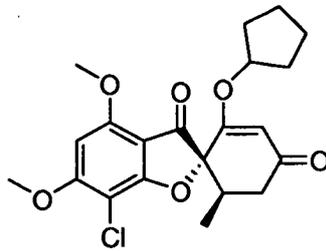


Figura 7

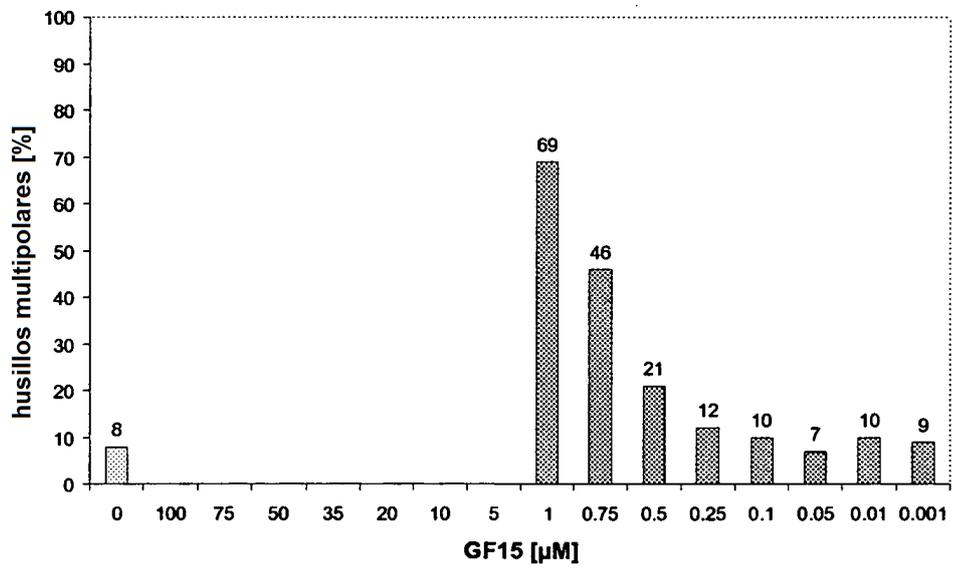
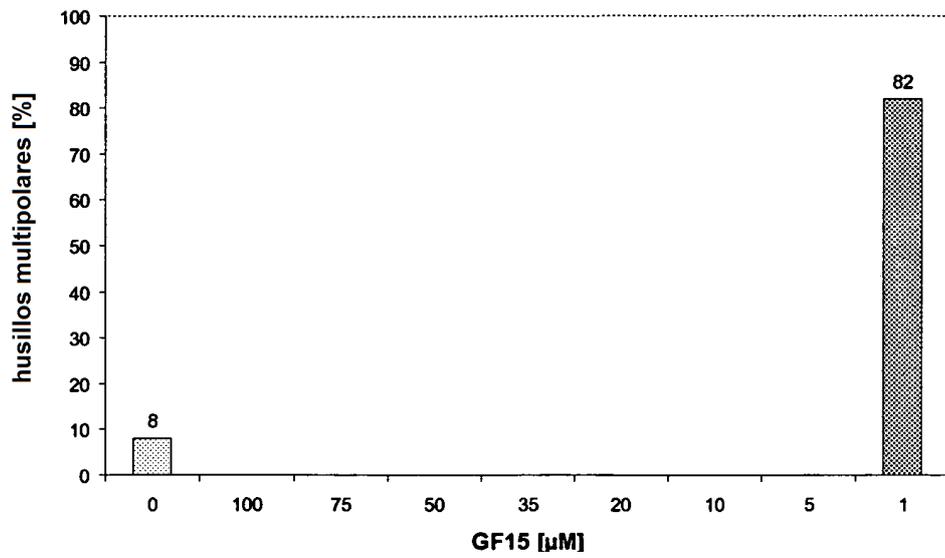
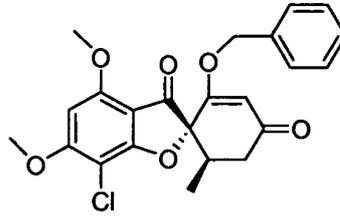


Figura 8

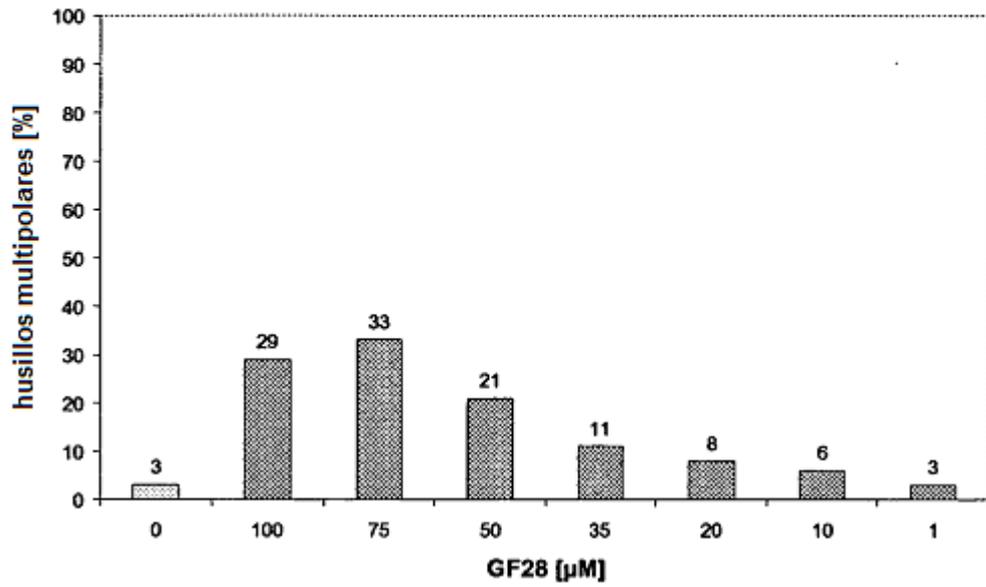
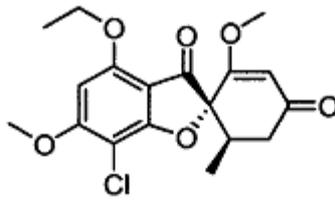


Figura 9

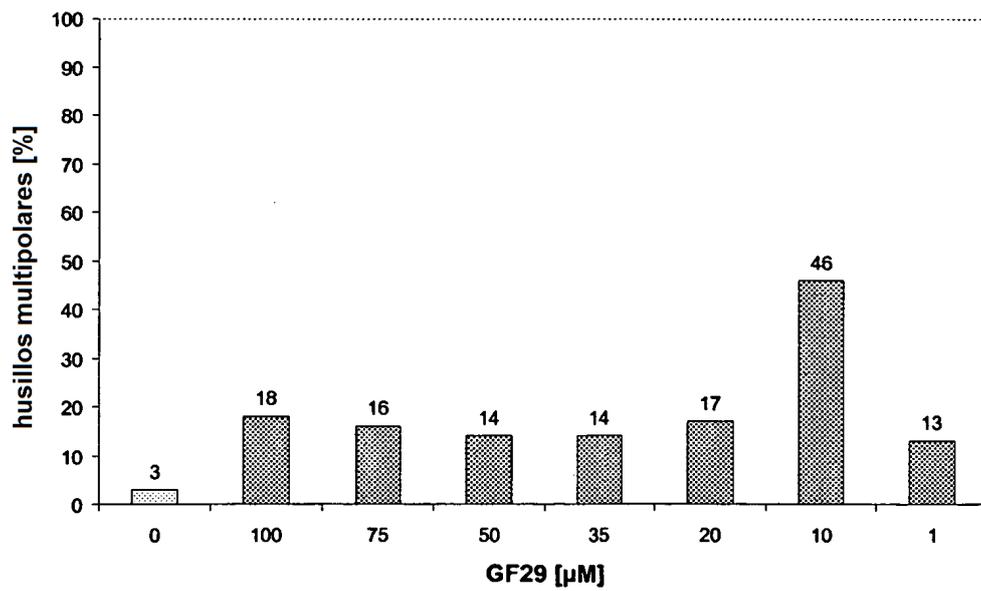
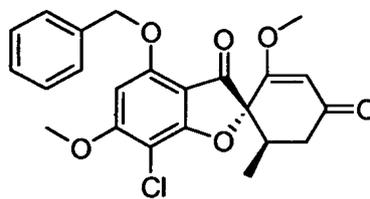


Figura 10

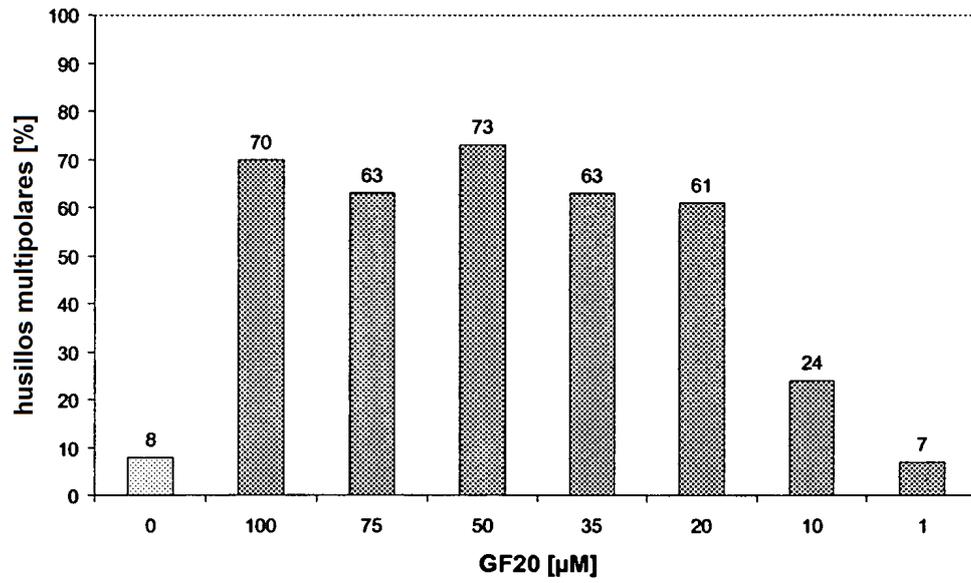
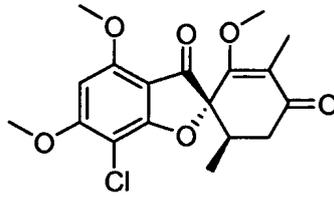


Figura 11

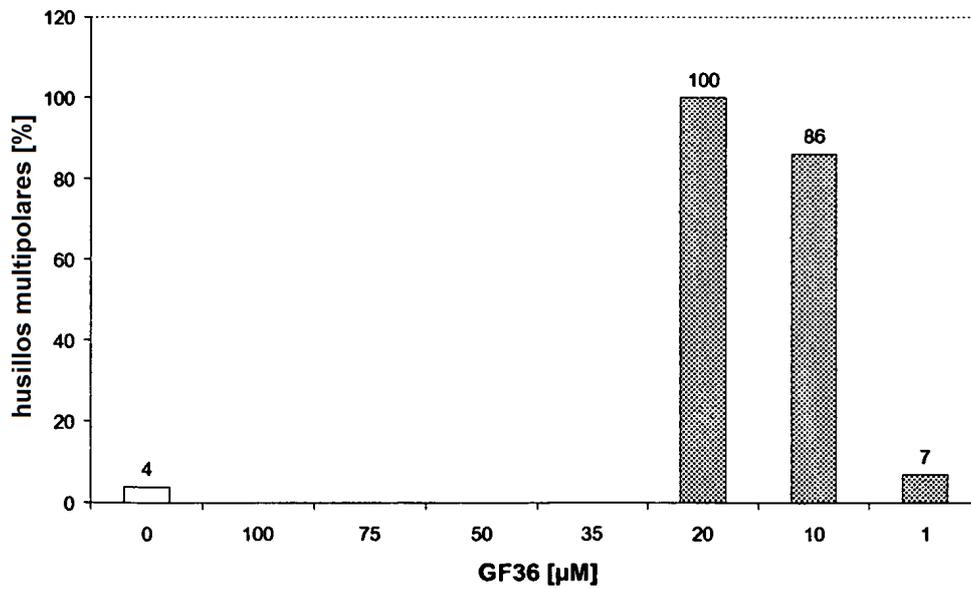
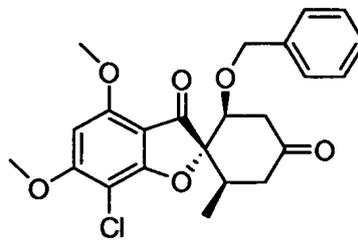


Figura 12

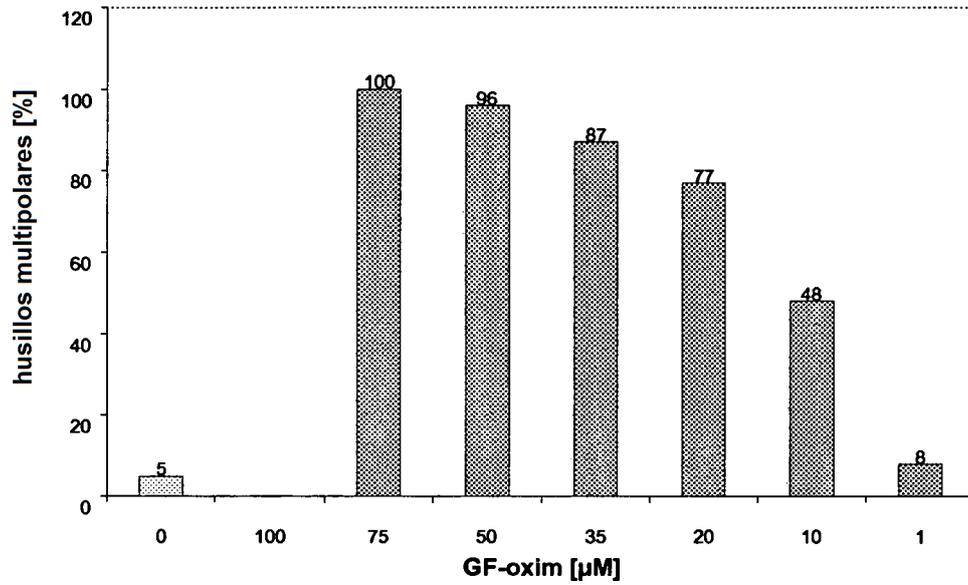
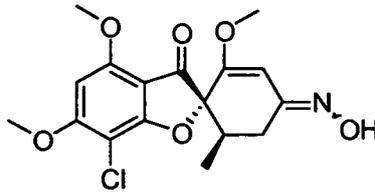


Figura 13

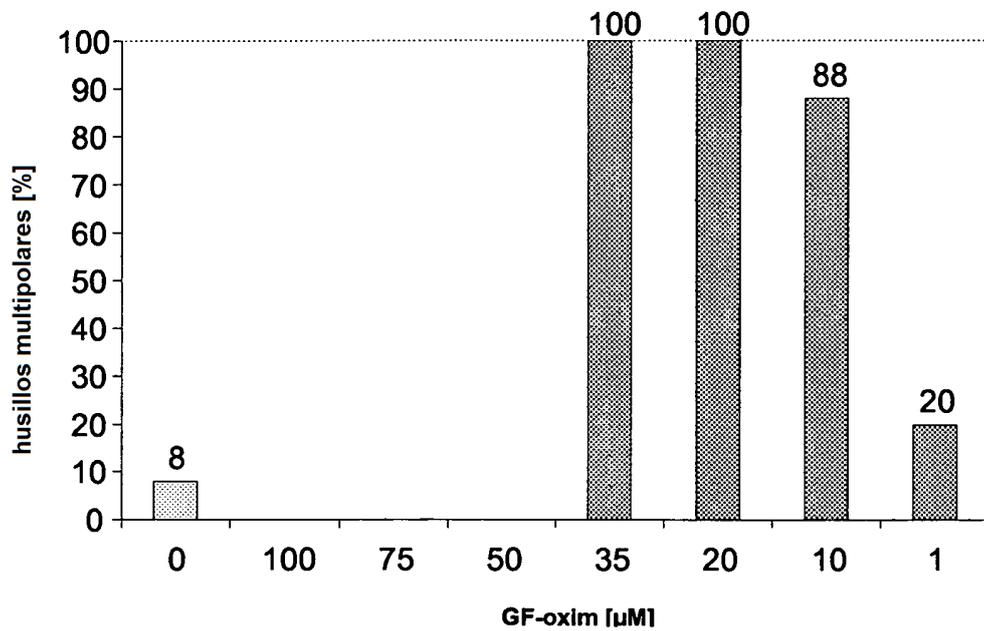
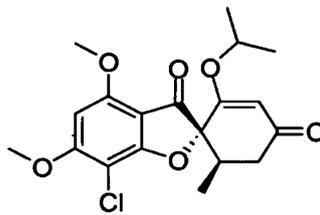


Figura 14

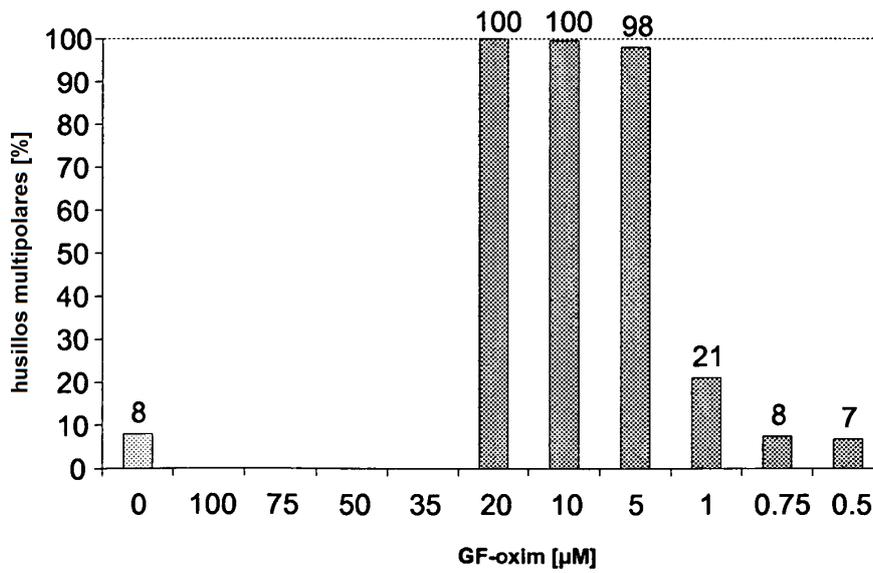
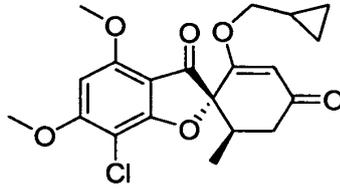


Figura 15

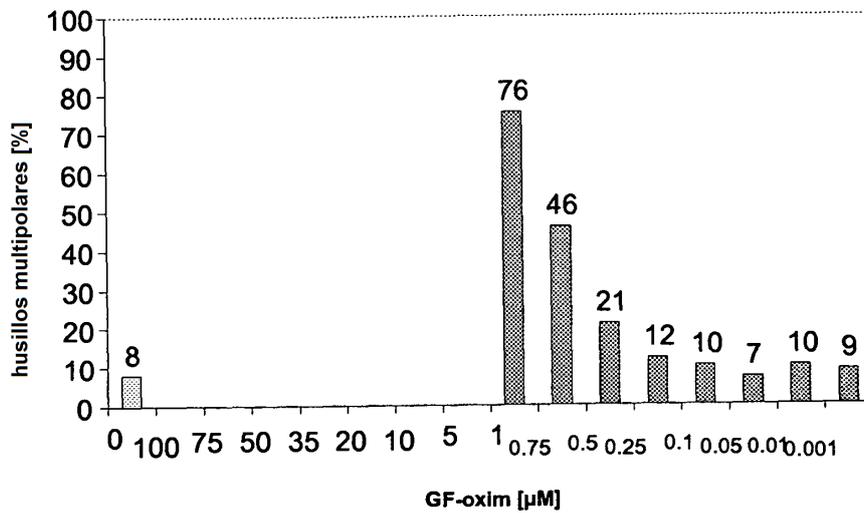
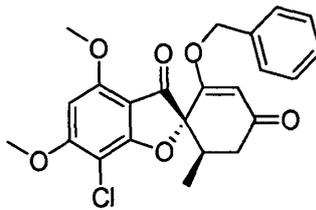


Figura 16

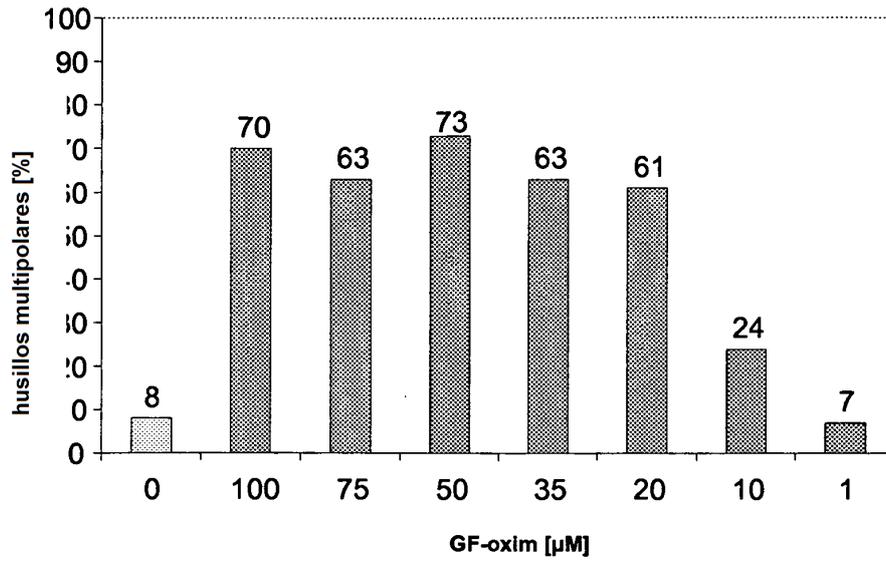
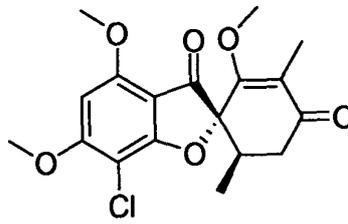


Figura 17

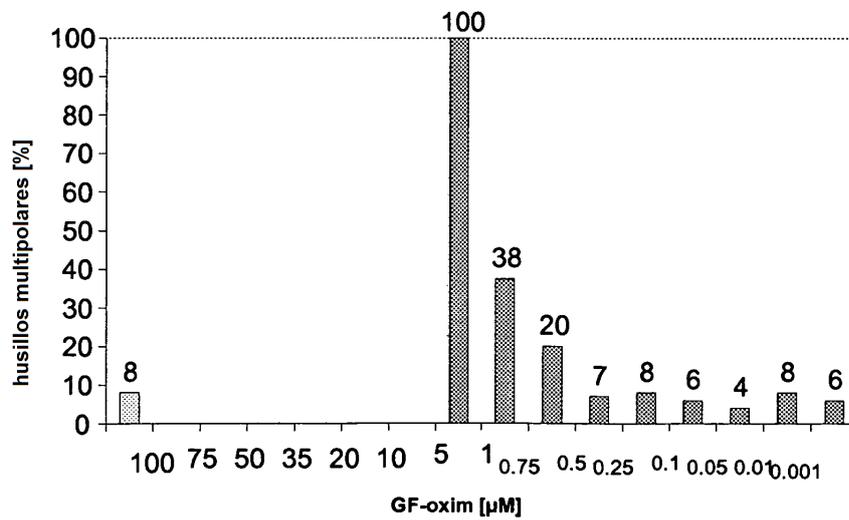
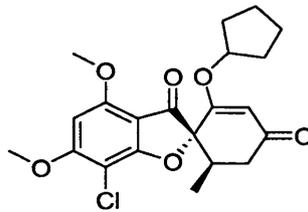


Figura 18

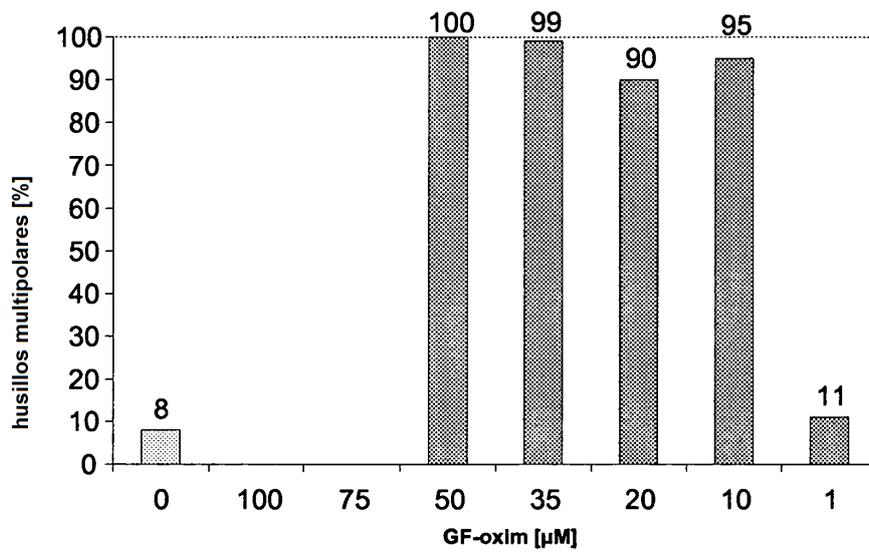
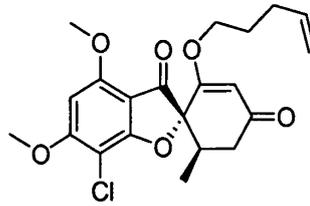


Figura 19

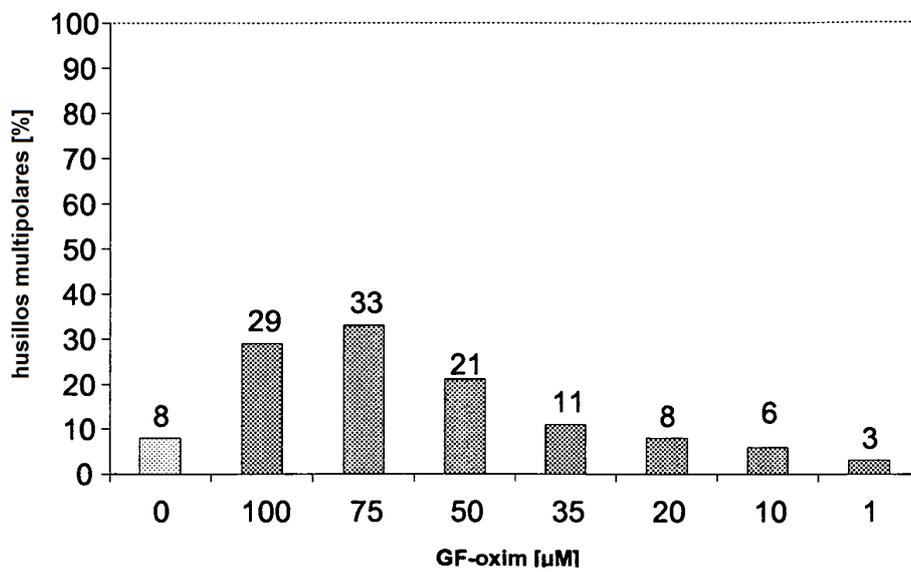
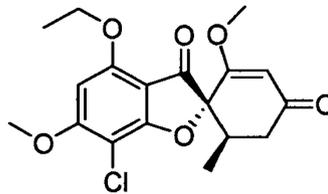


Figura 20

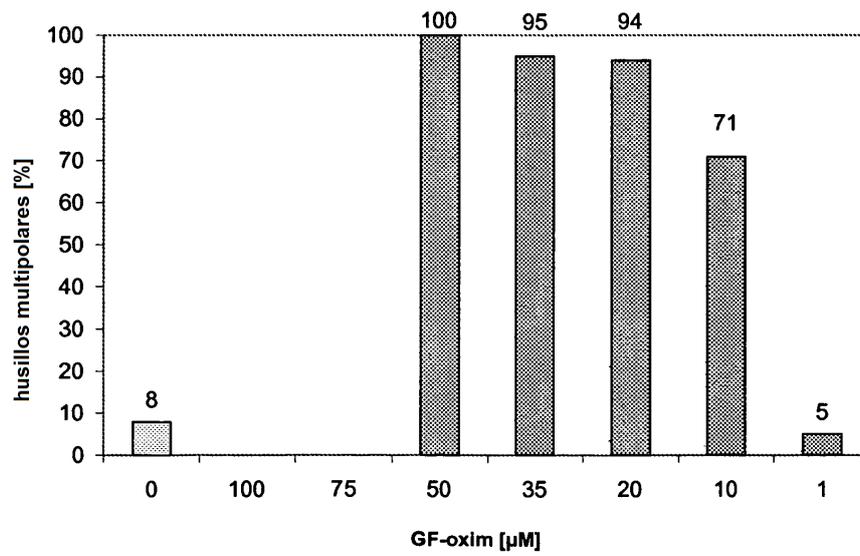
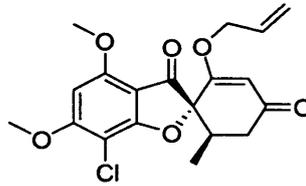


Figura 21

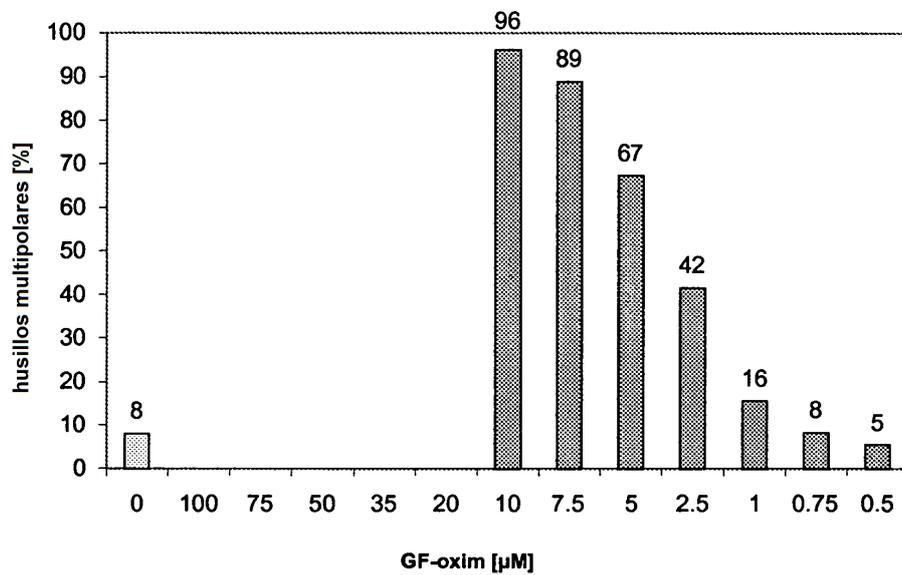
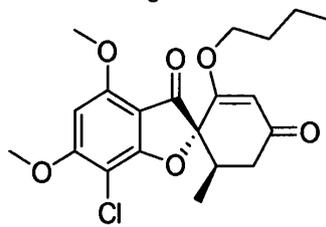


Figura 22

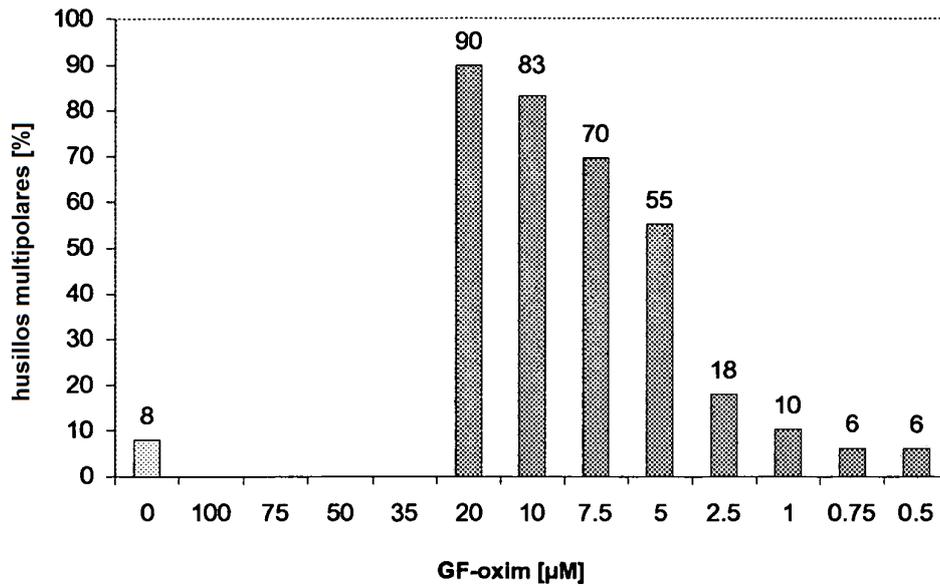
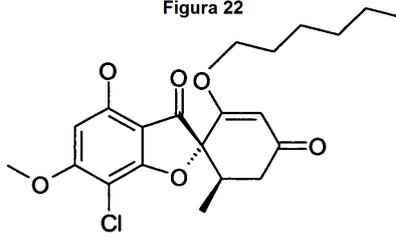


Figura 23

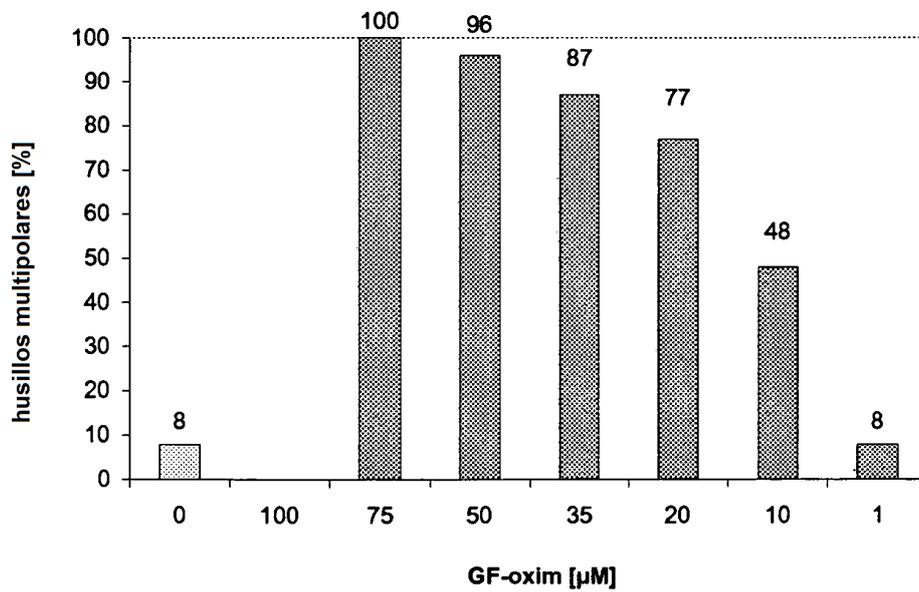
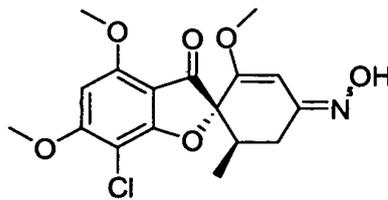


Figura 24

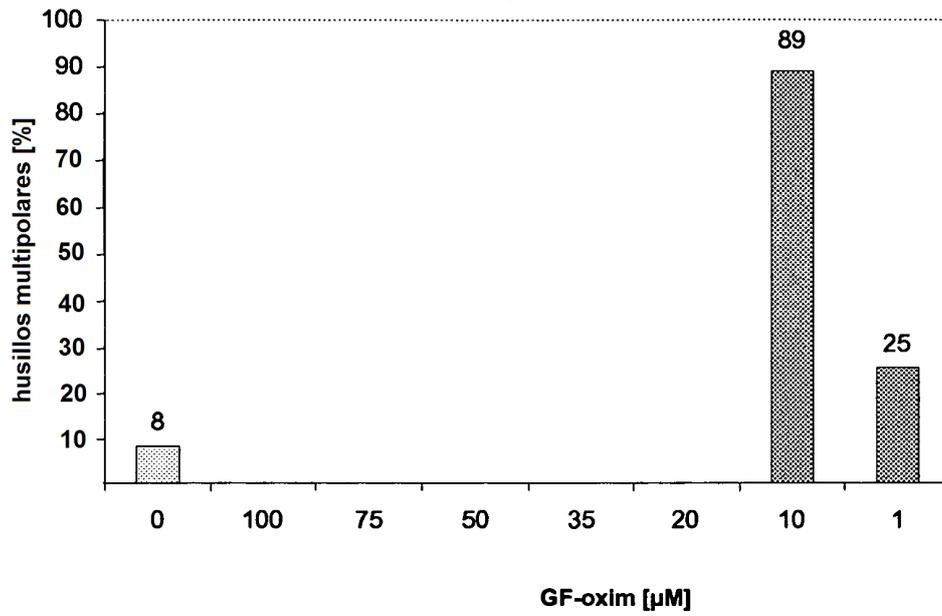
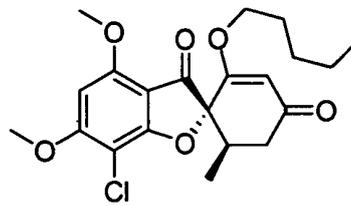


Figura 25

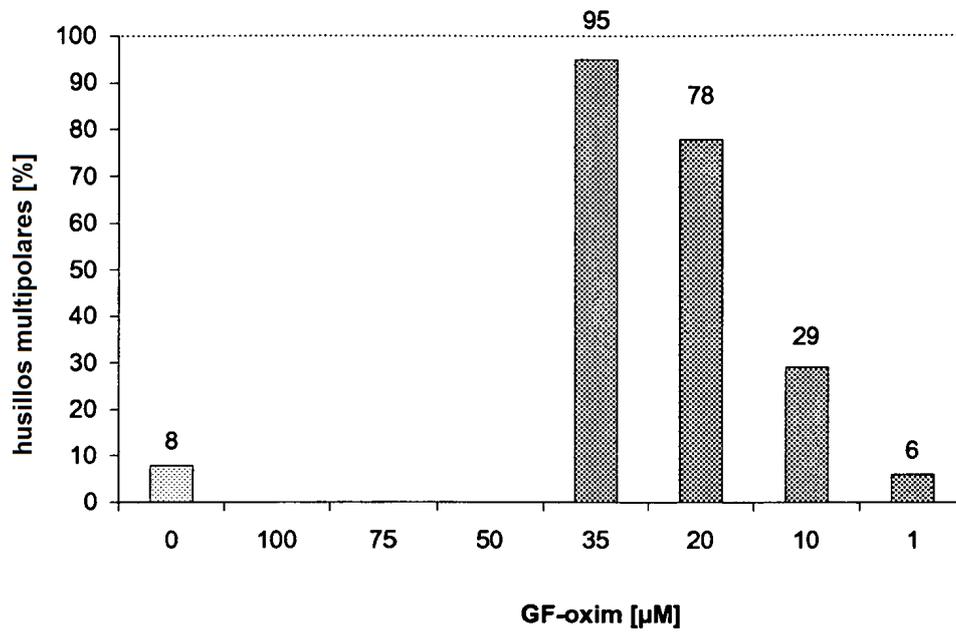
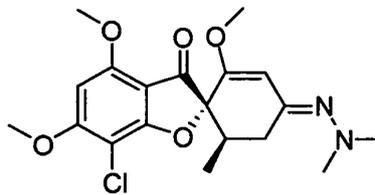


Figura 26

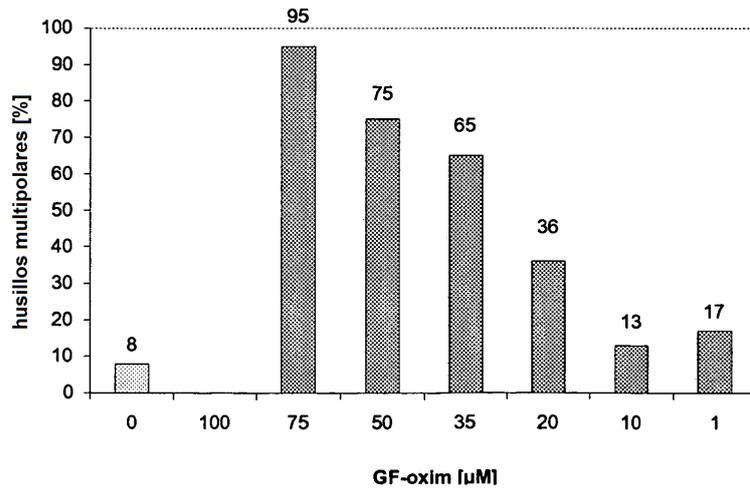
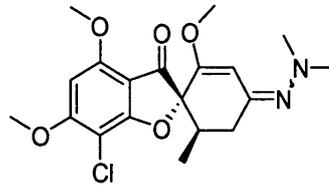


Figura 27

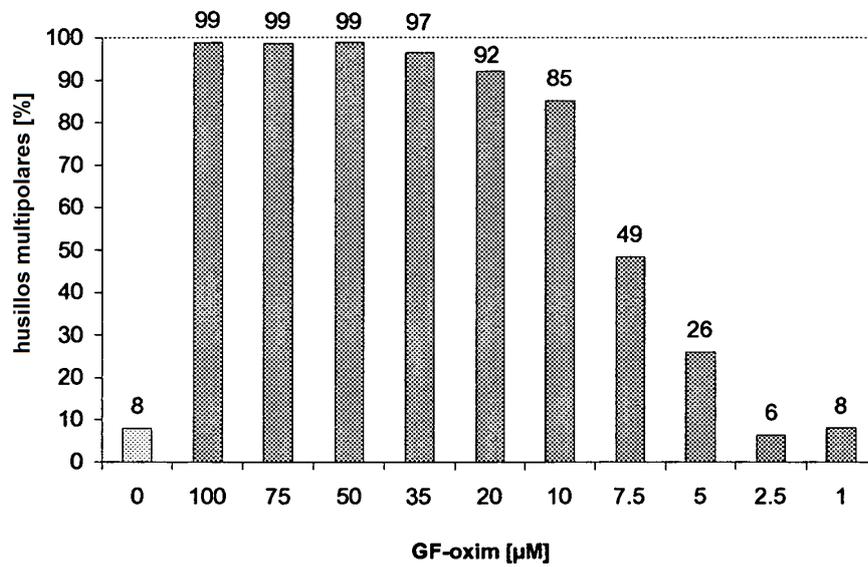
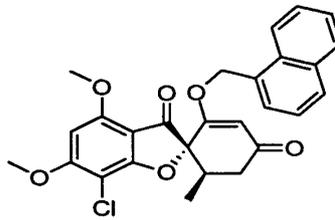


Figura 28

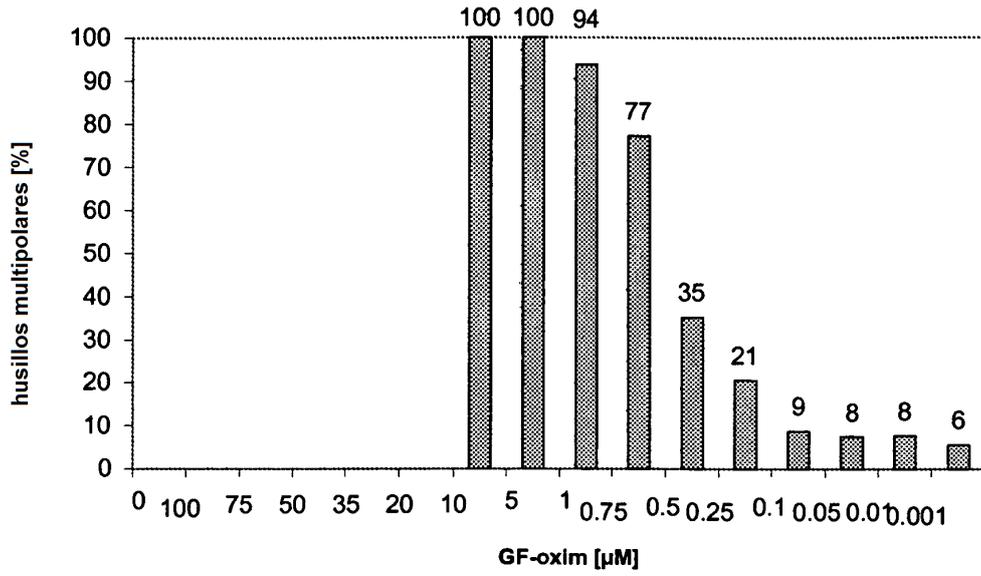
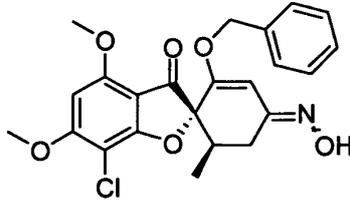


Figura 29

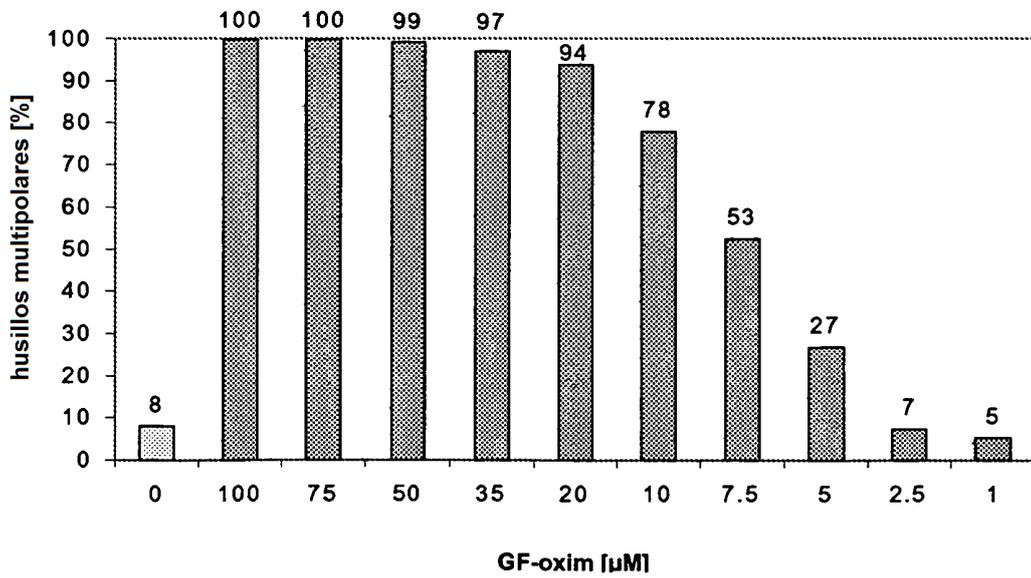
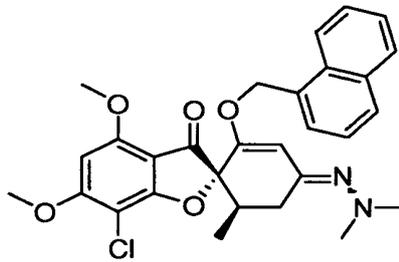


Figura 30

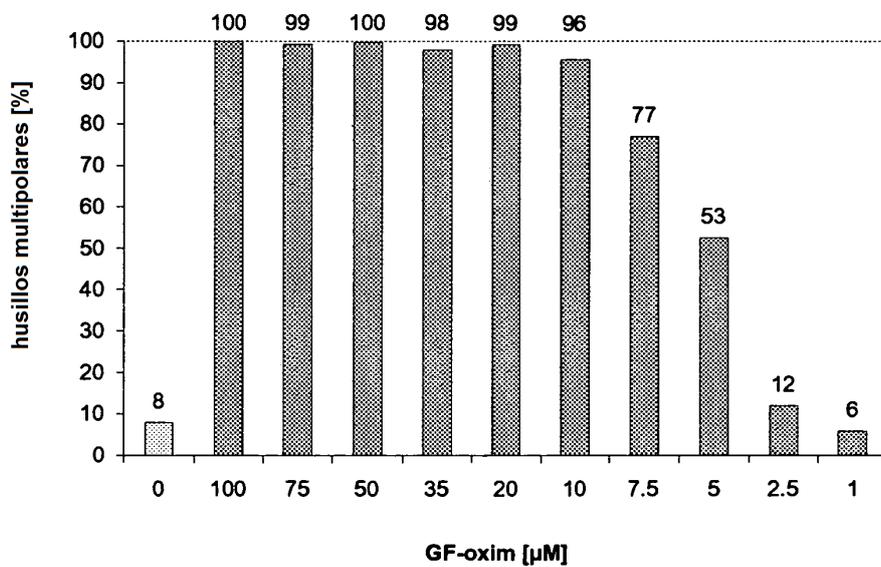
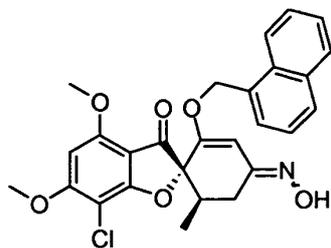


Figura 31

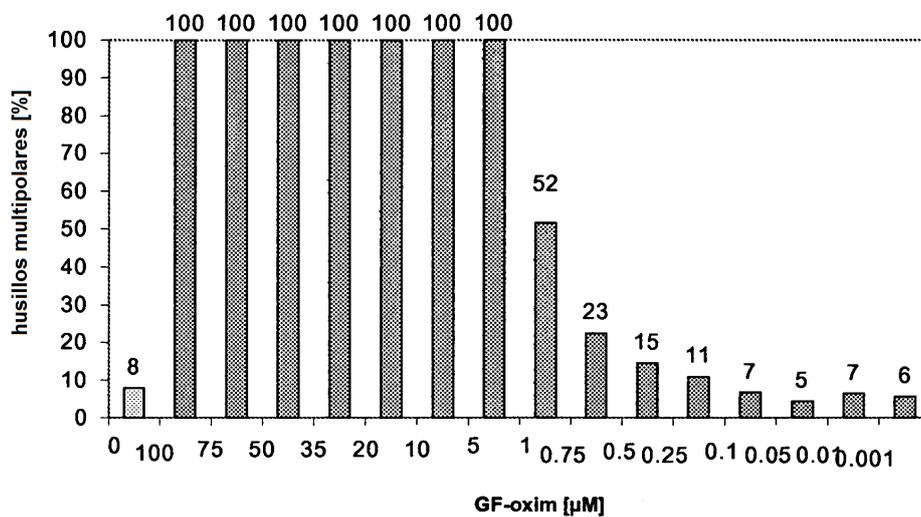
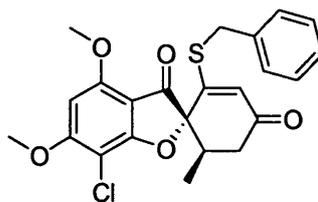
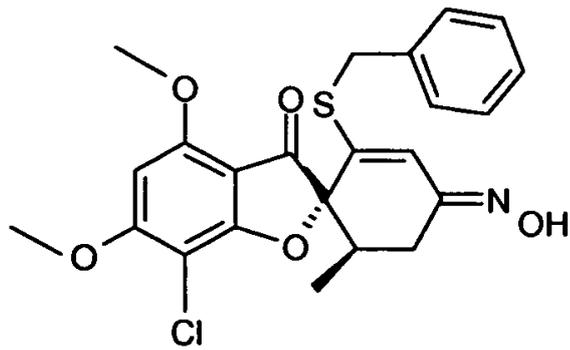
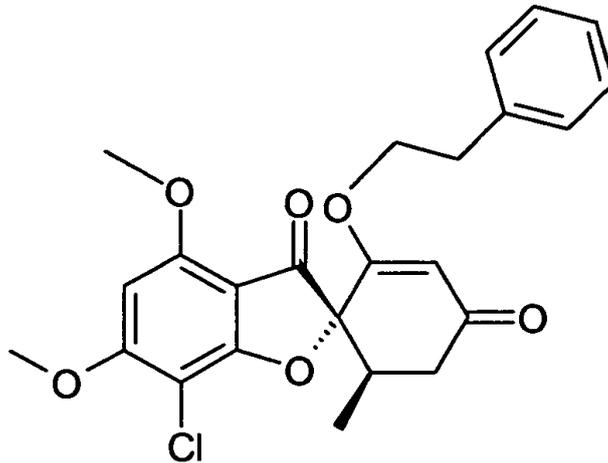


Figura 32



Se espera que el compuesto de acuerdo con la figura 32, proporcione valores de IC₅₀ de 0,05 a 1,0 μ M.

Figura 33



Se espera que el compuesto de acuerdo con la figura 33, proporcione valores de IC₅₀ de 0,1 a 5 μ M.