

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 160**

21 Número de solicitud: 201001606

51 Int. Cl.:

C07C 309/42 (2006.01)

C07C 65/05 (2006.01)

A61K 31/095 (2006.01)

A61K 31/192 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **23.12.2010**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **19.07.2012**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
19.07.2012

71 Solicitante/s:

ITALFÁRMACO, S.A.
SAN RAFAEL, 3
28108 ALCOBENDAS, Madrid, ES

72 Inventor/es:

JIMÉNEZ BARBERO, JESÚS;
LÓPEZ RODRÍGUEZ, MARÍA LUZ;
ALONSO HERNÁNDEZ, DULCE;
CANALES MAYORDOMO, M. DE LOS ÁNGELES;
MARTÍN-FONTECHA CORRALES, M. DEL MAR;
MOSCOSO DEL PRADO CALVIN, JAIME y
BANFI TOSI, BEATRIZ

74 Agente/Representante:

BANFI, Beatriz

54 Título: **COMPUESTOS CON ACTIVIDAD INHIBITORIA DE FACTORES DE CRECIMIENTO DE FIBROBLASTOS.**

57 Resumen:

Derivados de 1,4-dihidroxibenceno útiles en la prevención y/o el tratamiento de patologías asociadas a la actividad biológica de los factores de crecimiento para fibroblastos.

ES 2 385 160 A1

DESCRIPCIÓN**COMPUESTOS CON ACTIVIDAD INHIBITORIA DE FACTORES DE CRECIMIENTO DE FIBROBLASTOS (FGFs)**

5

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a derivados de 1,4-dihidroxibenceno de fórmula (I) y a sus aplicaciones terapéuticas.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Los factores de crecimiento para fibroblastos ácido (aFGF) y básico (bFGF) son dos polipéptidos cuyas propiedades bioquímicas y biológicas son muy similares y son considerados paradigmáticos para toda la familia de factores de crecimiento para fibroblastos (FGFs) a la que pertenecen. Actualmente la familia de FGFs humanos está formada por 22 miembros que a su vez están divididos en 6 subfamilias.

Los distintos FGFs se han descrito como reguladores de procesos biológicos complejos como desarrollo embrional, angiogénesis, cicatrización de heridas, regeneración nerviosa, inflamación crónica y cáncer. Estos procesos requieren de la integración especial y temporal de varias respuestas celulares, incluyendo supervivencia celular, proliferación, migración e invasión, y diferenciación celular. Todas esas respuestas o funciones son inducidas o moduladas por la interacción de los FGFs con los receptores de tirosinquinasa FGF (FGFRs).

A diferencia de otros factores de crecimiento, los FGFs actúan en conjunto con heparina o heparansulfato proteoglicano (HSPG) para activar los FGFRs. La unión de FGF y HSPG al dominio extracelular del FGFR induce la dimerización del receptor, activación y autofosforilación de múltiples residuos de tirosina en el dominio citoplasmático del receptor [eg. Beenken, A., et al. (2009) *Nat. Rev. Drug Discov.* **8**, 235-252].

La angiogénesis es un proceso caracterizado por la formación de nuevos vasos sanguíneos en un tejido o en un órgano que tiene lugar en determinadas situaciones fisiológicas normales, por ejemplo, en la cicatrización de heridas, en el desarrollo fetal y embrionario y en la formación del *corpus luteum*, endometrio y placenta. La angiogénesis constituye, además, la base etiológica de ciertos estados patológicos, por ejemplo, cáncer, aterosclerosis, hipertensión pulmonar primaria, asma, enfermedad inflamatoria intestinal, obesidad, endometriosis, ovarios quísticos, psoriasis, dermatitis alérgica, retinopatía

diabética, artritis reumatoide, sinovitis, entre otras. [eg. Carmeliet, P. (2003) *Nat. Med.* **9**, 653-660]. Por tanto, se cree que la antiangiogénesis, puede ser una forma de tratamiento de estas enfermedades, en particular, del cáncer, y, especialmente, de los tumores sólidos. Cuando los tumores sólidos se malignizan, inducen la formación de densas redes vasculares mediante las que reciben los aportes necesarios para el crecimiento y eliminan los productos de su catabolismo. Así, inhibiendo la formación de esa red vascular se provoca el colapso del tumor por falta de nutrientes y autointoxicación.

Los FGFs son promotores muy importantes de la angiogénesis [eg. Ye-Rang, Y., et al. (2010) *J. Tissue Eng.*, 1-18; Javerzat, S. (2002) *Trends Mol Med*, **8**, 483-489] y una expresión inapropiada de FGFs podría contribuir al desarrollo de cánceres y otro tipo de patologías. Por ello, la inhibición de la actividad de FGFs tiene un efecto antiangiogénico.

Los FGFs inducen, independientemente de su actividad angiogénica, directamente la proliferación de numerosos tipos de células tumorales [eg. Bieker R., et al. (2003) *Cancer Res.* **63**, 7241-7246; Polnaszek N., et al. (2003) *Cancer Res.* **63**, 5754-5760; Kono K., et al. (2003) *J. Neurooncol.* **63**, 163-171; Rosini P., et al. (2002) *Prostate* **53**, 310-321; Yura Y., et al. (2001) *J. Oral. Pathol. Med.* **30**, 159-167]. También se ha demostrado que la actividad de FGFs está ligada a la resistencia de las células tumorales a drogas anticancerosas, siendo posible revertir dicha resistencia mediante la inactivación de FGFs [Song S., et al. (2000) *PNAS* **97**, 8658-8663, Pardo O.E., et al. (2003) *Mol. Cell. Biol.* **23**, 7600-7610; Zhang Y., et al. (2001) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **299**, 426-433; Song S., et al. (2001) *Cancer Res.* **61**, 6145-6150]. En consecuencia, además del efecto antiangiogénico, la inhibición de la actividad de FGFs tiene otros efectos potencialmente positivos en la terapia antitumoral.

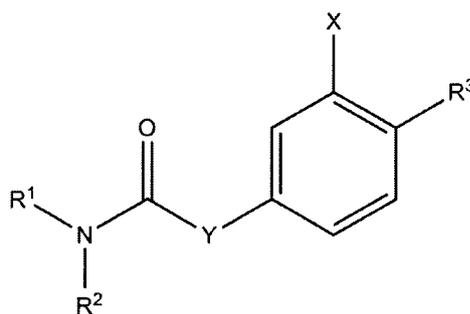
Existen numerosos agentes antiangiogénicos en diferentes estados de desarrollo clínico para oncología [Krueger E.A., et al. (2001) *Seminars in Oncology* **28**, 570-576], de los que un considerable número son polipéptidos que el organismo utiliza para contrarrestar el efecto de los reguladores positivos de la angiogénesis [Hagedorn, M. & Bikfalvi, A. (2000) *Crit. Rev. Onc. Hemat.* **34**, 89-110]. Sin embargo, cuando dichos polipéptidos se comparan con compuestos de peso molecular considerablemente inferior, se ponen de manifiesto sus inconvenientes farmacológicos.

Sigue existiendo, por tanto, la necesidad de encontrar compuestos no polipeptídicos que tengan actividad inhibitoria de la actividad de los FGFs y que sean potencialmente útiles en el tratamiento de enfermedades angiodependientes, tumorales y no tumorales.

Los inventores de la presente han observado que ciertos derivados de 1,4-dihidroxibenceno son inhibidores de la actividad proliferativa inducida por bFGF sobre

células endoteliales. Por tanto, dichos compuestos son potencialmente útiles en el tratamiento del cáncer, especialmente en el tratamiento de tumores sólidos. Asimismo, dichos derivados del ácido gentísico y del dobesilato son también potencialmente útiles en el tratamiento de otras enfermedades no-tumorales angio-dependientes, por ejemplo, artritis reumatoide, endometriosis, obesidad, arterioesclerosis, restenosis, psoriasis, etc.

Por tanto, un primer aspecto de esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos, formas polimórficas, estereoisómeros o profármacos farmacéuticamente aceptables



(I)

en donde:

X es un grupo de fórmula SO_3M o COZR^5 , donde:

M es H o un metal alcalino;

Z es un radical O o NR^4 , en el que R^4 es un H o un radical alquilo C_{1-6} ;

R^5 es un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, ciclilo $\text{C}_5\text{-C}_{10}$, arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$, alquil $\text{C}_1\text{-C}_6$ arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ o alquil $\text{C}_1\text{-C}_6$ heterociclilo $\text{C}_5\text{-C}_{10}$ opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$;

Y es un radical O o NH;

R^1 y R^2 , independientemente entre sí, representan H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ o arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$;

opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$.

R^3 es H, OR^4 o NHR^4 , en el que R^4 tiene el mismo significado que el indicado anteriormente.

Un segundo aspecto de esta invención se refiere a la composición farmacéutica que comprende al menos compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos, formas polimórficas, estereoisómeros o profármacos junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Un tercer aspecto de esta invención se refiere al uso de dichos compuestos de fórmula (I) en la prevención o el tratamiento de patologías dependientes de la actividad biológica de al menos uno de los FGFs en un mamífero.

En otros aspectos adicionales, esta invención se refiere al uso de los derivados de fórmula (I) para aumentar la sensibilidad de las células cancerosas a la quimioterapia o radioterapia, así como su utilización en la elaboración de un kit diagnóstico de patologías vinculadas con la actividad biológica de los FGFs.

5

Los términos "alquilo C₁-C₆", "alquilo C₁-C₄" y "alquilo C₁-C₃" se refieren a radicales derivados de hidrocarburos saturados, lineales o ramificados, de 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, isopropilo, etc.

El término "ciclilo C₅-C₆" se refiere a un radical derivado de un hidrocarburo cíclico, saturado o insaturado, de 5 o 6 átomos de carbono, por ejemplo ciclopentilo o ciclohexilo.

El término "arilo C₆-C₁₀" se refiere a un radical derivado de un hidrocarburo aromático de 6 a 10 átomos de carbono, por ejemplo, fenilo, naftilo, etc.

El término "heterociclilo C₅-C₁₀" se refiere a un radical derivado de un hidrocarburo cíclico, saturado, insaturado o aromático, de 5 a 10 átomos de carbono en el cual al menos uno de los átomos de carbono del ciclo es sustituido por nitrógeno, oxígeno o azufre, por ejemplo piridinilo, piperidinilo, etc.

El término "formas polimórficas" incluye cualquier forma cristalina o amorfa de un compuesto de fórmula (I) que sea farmacéuticamente aceptable.

El término "solvato" incluye cualquier forma cristalina de un compuesto de fórmula (I) que tenga moléculas de cualquier solvente incluidas en el retículo cristalino y que sea farmacéuticamente aceptable. En particular, el término "hidrato" se refiere a cualquier forma cristalina que incluye moléculas de agua.

El término "sales o profármacos farmacéuticamente aceptables" incluye cualquier sal, éster, amida, etc. susceptible de ser utilizada en formas farmacéuticas y que es capaz de proporcionar in vivo, directa o indirectamente, un compuesto de fórmula (I). La naturaleza de la sal no es crítica siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable.

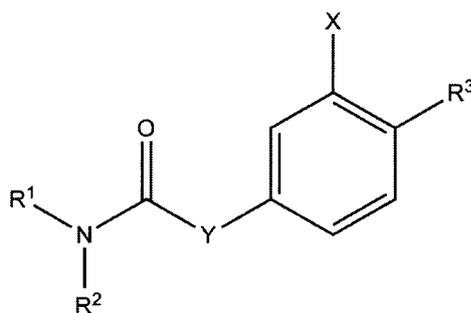
Las sales del compuesto de fórmula (I) pueden obtenerse a partir de ácidos o bases, orgánicos o inorgánicos, por métodos convencionales bien conocidos por los técnicos en la materia, haciendo reaccionar el ácido o la base apropiado con el compuesto de fórmula (I).

Los profármacos pueden obtenerse, por ejemplo, a partir de un grupo hidroxilo libre que es convertido en un éster o de un grupo amino que es convertido en una amida, mediante procedimientos bien conocidos por los técnicos en la materia, haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (I) con un ácido carboxílico, un anhídrido o un haluro de ácido en presencia de una base o catalizador.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Entre los compuestos de fórmula (I) se encuentran derivados del ácido gentísico
 5 [compuestos de fórmula (I) en los que X es COZR⁵] y derivados del dobesilato
 [compuestos de fórmula (I) en los que X es SO₃M].

Una realización de la presente invención se refiere a derivados del ácido gentísico
 de fórmula (I), o una de sus sales, solvatos, formas polimórficas, estereoisómeros o
 10 profármacos farmacéuticamente aceptables,



(I)

en donde:

X es un grupo de fórmula COZR⁵;

15 Z es un radical O o NR⁴, en el que R⁴ es un H o un radical alquilo C₁₋₃;

R⁵ es un grupo alquilo C₁₋₆, alquilC₁₋₃ariloC₆₋₁₀ o alquilC₁₋₃heterocicliloC₅₋₁₀,
 opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C₁₋₃.

Y es un radical O;

R¹ y R², independientemente entre sí, representan H, alquilo C₁₋₆ o arilo C₆₋₁₀,
 20 opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C₁₋₃;

R³ es un radical H, OR⁴ o NHR⁴, en el que R⁴ tiene el mismo significado que el indicado
 anteriormente.

En una realización particular, el compuesto de fórmula (I) es un derivado del ácido
 25 gentísico en donde:

X es un grupo de fórmula COZR⁵;

Z es un radical O;

R⁵ es un grupo metilo, etilo, isopropilo, *terc*-butilo, bencilo, piridinilmetilo o piperidinilmetilo
 opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C₁₋₃;

30 Y es un radical O;

R¹ y R², independientemente entre sí, representan H, metilo, etilo o fenilo opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C₁-C₃;

R³ es OR⁴, en el que R⁴ es H o metilo;

o una de sus sales, solvatos, formas polimórficas, isómeros o profármacos
5 farmacéuticamente aceptables.

En otra realización particular, el compuesto de fórmula (I) es un derivado del ácido gentísico en donde:

X es un grupo de fórmula COZR⁵;

10 Z es un radical NR⁴, en el que R⁴ es H o metilo;

R⁵ es un grupo metilo, etilo, isopropilo, *terc*-butilo, bencilo o piridinilmetilo, opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C₁-C₃;

Y es un radical O;

R¹ y R², independientemente entre sí, representan H, metilo, etilo o fenilo opcionalmente
15 sustituido por al menos un grupo alquilo C₁-C₃;

R³ es OR⁴, en el que R⁴ es H o metilo;

o una de sus sales, solvatos, formas polimórficas, isómeros o profármacos
farmacéuticamente aceptables.

20 Compuestos preferidos de la serie de los derivados del ácido gentísico incluyen:

5-(((etilamino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo;

5-(((fenilamino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo;

5-(((amino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo;

5-(((amino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de bencilo;

25 5-(((fenil(metil)amino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo;

5-(((fenil(metil)amino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de bencilo;

5-(((fenil(metil)amino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de isopropilo;

5-(((fenil(metil)amino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de etilo;

5-(((fenil(metil)amino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de *terc*-butilo;

30 5-(((fenil(metil)amino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de 3-piridinilmetilo;

fenil(metil)carbamato de 4-hidroxi-3-((metilamino)carbonil)fenilo;

fenil(metil)carbamato de 3-((bencilamino)carbonil)-4-hidroxifenilo;

fenil(metil)carbamato de 4-hidroxi-3-(((3-piridinilmetil)amino)carbonil)fenilo;

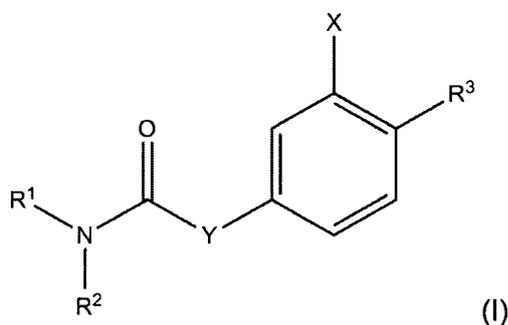
5-(((difenilamino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo;

35 5-(((fenil(metil)amino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de 1-piridin-3-iletilo;

3-(((fenil(metil)amino)carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de (1-metilpiperidin-3-il)metilo;

- fenil(metil)carbamato de 4-hidroxi-3-[[metil(piridin-3-ilmetil)amino]carbonil]fenilo;
 2-hidroxi-5-([[4-hidroxifenil](metil)amino]carbonil)oxi)benzoato de metilo;
 5-([[4-(benciloxi)fenil](metil)amino]carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo;
 2-metoxi-5-([[fenil(metil)amino]carbonil)oxi)benzoato de metilo;
 5 3-([[fenil(metil)amino]carbonil)oxi)benzoato de metilo.

Otra realización de la presente invención se refiere a derivados del dobesilato de fórmula (I), o una de sus sales, solvatos, formas polimórficas, estereoisómeros o profármacos farmacéuticamente aceptables,



10

en donde:

X es un grupo de fórmula SO_3M , donde M es H o metal alcalino;

Y es un radical O;

15 R^1 y R^2 , independientemente entre sí, representan H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ o arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$;

R^3 es un radical H, OR^4 o NHR^4 , en el que R^4 es H o un radical alquilo C_{1-3} .

Un compuesto preferido de la serie de los derivados del dobesilato es el 5-[[etilamino] carbonil)oxi]-2-hidroxibenzenosulfonato de potasio.

20

Los compuestos de fórmula (I) se pueden obtener por métodos convencionales (Ejemplo 2). Los precursores de estos compuestos se obtienen de fuentes comerciales.

25 Los compuestos de fórmula (I) tienen la capacidad de inhibir la actividad del bFGF sobre las células endoteliales (Ejemplo 1), un proceso clave para inducir la formación de la red vascular, lo que les hace potencialmente útiles en el tratamiento del cáncer y en el tratamiento de enfermedades no-tumorales angio-dependientes.

30 Dichos compuestos de fórmula (I) pueden ser empleados particularmente para el tratamiento de tumores sólidos [Rosti G., et al. (2002) *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **41**, 129-240], por ejemplo, cáncer de mama, próstata, etc. Alternativamente, los compuestos de

fórmula (I) pueden ser utilizados para el tratamiento de otras enfermedades angio-dependientes, por ejemplo, restenosis, aterosclerosis, hipertensión pulmonar primaria, asma, enfermedad inflamatoria intestinal, obesidad, endometriosis, ovarios quísticos, psoriasis, dermatitis alérgica, retinopatía diabética, artritis reumatoide, sinovitis, entre
5 otras.

El uso de los compuestos de fórmula (I) en la elaboración de una composición farmacéutica constituye un aspecto adicional de esta invención.

La composición farmacéutica proporcionada por esta invención comprende una
10 cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de fórmula (I), junto con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Dicha composición farmacéutica es útil para su administración y/o aplicación en el cuerpo de un mamífero, preferiblemente el ser humano, para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades mediadas por al menos uno de los FGFs.

15 En particular, la composición que contiene al menos uno de los compuestos de fórmula (I) se pueden administrar para tratar cáncer, particularmente tumores sólidos o, alternativamente, enfermedades no-tumorales angio-dependientes, por ejemplo artritis reumatoide, endometriosis, obesidad, arterioesclerosis, restenosis, o psoriasis, por cualquier medio que permita el contacto entre el compuesto de fórmula (I) y el sitio de
20 acción del mismo en el cuerpo de un mamífero, preferiblemente el hombre.

La cantidad de compuesto de fórmula (I) terapéuticamente eficaz que debe administrarse así como su dosificación para tratar un estado patológico con los compuestos de fórmula (I) dependerá de numerosos factores, entre los que se encuentran la enfermedad a tratar, la edad, el estado del paciente, la severidad de la enfermedad, la
25 ruta y frecuencia de administración, el compuesto de fórmula (I) a utilizar, etc.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de fórmula (I) proporcionadas por esta invención pueden presentarse en cualquier forma de administración que se considere adecuada, por ejemplo, sólida o líquida, y pueden administrarse por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por vía oral, parenteral, rectal o
30 tópica, para lo cual incluirán los excipientes farmacéuticamente aceptables necesarios para la formulación de la forma de administración deseada. Una revisión de las distintas formas farmacéuticas de administración de medicamentos y de los excipientes necesarios para la obtención de las mismas puede encontrarse, por ejemplo, en el "Tratado de Farmacia Galénica", C. Faulí i Trillo, 1993, Luzán 5, S.A. Ediciones, Madrid.

35

Otros agentes activos, por ejemplo anticancerígenos, pueden ser empleados junto con un compuesto de fórmula (I). Los distintos agentes activos pueden ser administrados simultáneamente, en una única formulación o en varias, o secuencialmente.

5 El empleo de los derivados de fórmula (I) para aumentar la sensibilidad de las células cancerosas a la quimioterapia o radioterapia así como su uso en la elaboración de un kit diagnóstico de enfermedades o condiciones vinculadas con la actividad biológica FGF, constituyen otros aspectos adicionales de esta solicitud.

10 Los siguientes ejemplos ilustran la invención y no deben ser considerados limitativos del alcance de la misma.

EJEMPLO 1

15 Inhibición de la actividad proliferativa celular inducida por bFGF

1.1 Compuestos ensayados

En la Tabla 1 se relacionan todos los compuestos ensayados, mientras que su preparación se describe en el Ejemplo 2.

20

Tabla 1

Compuestos ensayados

Código	Nombre químico
B5	5-{{(etilamino)carbonil}oxi}-2-hidroxibencenosulfonato de potasio
C3	5-{{(etilamino)carbonil}oxi}-2-hidroxibenzoato de metilo
C4	5-{{(fenilamino)carbonil}oxi}-2-hidroxibenzoato de metilo
C7	5-{{(amino)carbonil}oxi}-2-hidroxibenzoato de metilo
C9	5-{{(amino)carbonil}oxi}-2-hidroxibenzoato de bencilo
C29	5-{{[fenil(metil)amino]carbonil}oxi}-2-hidroxibenzoato de metilo
C30	5-{{[fenil(metil)amino]carbonil}oxi}-2-hidroxibenzoato de bencilo
C31	5-{{[fenil(metil)amino]carbonil}oxi}-2-hidroxibenzoato de isopropilo
C32	5-{{[fenil(metil)amino]carbonil}oxi}-2-hidroxibenzoato de etilo
C33	5-{{[fenil(metil)amino]carbonil}oxi}-2-hidroxibenzoato de <i>terc</i> -butilo
C34	5-{{[fenil(metil)amino]carbonil}oxi}-2-hidroxibenzoato de 3-piridinilmetilo
C35	fenil(metil)carbamato de 4-hidroxi-3-[(metilamino)carbonil]fenilo

C36	fenil(metil)carbamato de 3-[(bencilamino)carbonil]-4-hidroxifenilo
C37	fenil(metil)carbamato de 4-hidroxi-3-[[piridin-3-ilmetil]amino]carbonil]fenilo
C40	5-([difenilamino]carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo
C41	5-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de 1-piridin-3-iletilo
C42	3-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de (1-metilpiperidin-3-il)metilo
C45	2-metoxi-5-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi)benzoato de metilo
C46	3-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi)benzoato de metilo
C47	fenil(metil)carbamato de 4-hidroxi-3-[[metil(piridin-3-ilmetil)amino]carbonil]fenilo
C48	2-hidroxi-5-([(4-hidroxifenil)(metil)amino]carbonil)oxi)benzoato de metilo
C49	5-([(4-(benciloxi)fenil)(metil)amino]carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo

1.2 Ensayo de inhibición de la proliferación celular inducida por bFGF

Se ha evaluado la respuesta inhibitoria de la actividad proliferativa del bFGF sobre cultivos celulares de células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC), mediante el procedimiento descrito en [Gospodarowicz D., et al. (1978) *J. Cell. Biol.* **77**, 774-788] y Mohammadi M., et al. (1998) *EMBO J.* **17**, 5896-5904] que consiste, brevemente, en incubar concentraciones crecientes del compuesto a ensayar y/o el vehículo con HUVEC (1x10⁵/ml) en presencia de heparina (10 mg/ml) a 37 °C durante 48 h. A continuación, se añade colorante Calcein AM (5 mg/ml en HBSS) y se mantiene en cultivo durante un tiempo adicional de 50 min. Finalmente, se mide la fluorescencia en un lector de microplacas.

Una estimulación de proliferación celular inducida por el compuesto ensayado mayor o igual al 50%, relativa a la respuesta del control bFGF 1 nM, indica una significativa actividad agonista. Una supresión inducida por el compuesto ensayado de la proliferación celular inducida por bFGF 0,1 nM mayor o igual al 50%, indica una significativa actividad antagonista. Los compuestos son ensayados a concentraciones de 10, 1, 0,1, 0,01 y 0,001 mM.

20 1.3 Resultados

En la Tabla 2 se resumen los resultados de los ensayos de inhibición de proliferación celular inducida por bFGF sobre células endoteliales en cultivo antes descrito.

Tabla 2

Código	IC ₅₀ (µM)
B5	61.1
C3	17.6
C4	120
C7	184
C9	24.3
C29	41.3
C30	22.8
C31	26.2
C32	38.2
C33	24.5
C34	7.9
C35	111.0
C36	70.2
C37	40.8
C40	25.1
C41	28.6
C42	43.6
C45	69.0
C46	170.0
C47	65.9
C48	70.0
C49	79.0

Brevemente, estos resultados ponen de manifiesto que todos los compuestos ensayados inhiben la proliferación de células endoteliales inducida por bFGF.

5

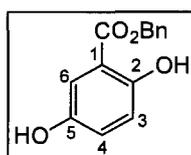
EJEMPLO 2

Preparación de los compuestos ensayados

Síntesis de 2,5-dihidroxi benzoato de bencilo (1)

10 A una disolución de ácido 2,5-dihidroxi benzoico (2.00 g, 13 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (DMF) anhidra (17 mL), se añade KHCO₃ (1.60 g, 16 mmol) bajo atmósfera de argón, y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante

- 15 min. Posteriormente se añade bromuro de bencilo (2.3 mL, 19 mmol) y se agita a 40 °C durante 3 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añade agua (10 mL) y la mezcla se extrae con AcOEt (3 x 40 mL). Los extractos orgánicos se lavan sucesivamente con disoluciones acuosas saturadas de NaHCO₃ y NaCl, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se evaporan a presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 9:1) para obtener el éster **1** como un sólido con un rendimiento del 88%.



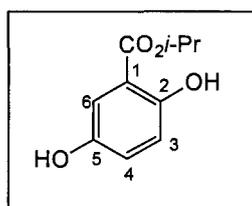
R_f (hexano/AcOEt, 7:3): 0.57.

- 10 ¹H-RMN (CDCl₃, δ) (200 MHz): 4.62 (s a, 1H, OH), 5.36 (s, 2H, CH₂), 6.88 (d, 1H, *J* = 8.9 Hz, H₃), 7.01 (dd, 1H, *J* = 8.9, 2.9 Hz, H₄), 7.31 (d, 1H, *J* = 2.9 Hz, H₆), 7.36-7.44 (m, 5H, Ar), 10.34 (s a, 1H, OH).
- 15 ¹³C-RMN (CDCl₃, δ) (50 MHz): 67.1 (CH₂), 112.2 (C), 114.9 (CH), 118.6 (CH), 124.2 (CH), 128.3 (2CH), 128.6 (CH), 128.8 (2CH), 135.2 (C), 147.7 (C), 156.0 (C), 169.5 (C).

Procedimiento general de síntesis de los ésteres **2** y **3**

- Una disolución de ácido 2,5-dihidroxibenzoico (1.00 g, 6.5 mmol) y 1,1'-carbonil-diimidazol (CDI, 1.00 g, 6.5 mmol) en DMF anhidra (16 mL) se calienta a 40 °C durante 1 h bajo atmósfera de argón. A continuación, se añaden isopropanol o *tert*-butanol (13 mmol) y 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU, 1 mL, 6.5 mmol) y la mezcla de reacción se agita a 40 °C durante 24 h adicionales. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añade Et₂O (60 mL) y la mezcla se lava con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (3 x 40 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se evaporan a presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna para obtener los ésteres **2** y **3**.

2,5-Dihidroxibenzoato de isopropilo (**2**)



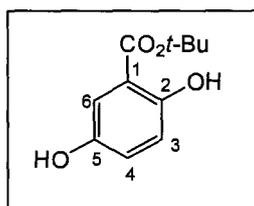
- 30 Cromatografía: hexano/AcOEt, 7:3.
Rendimiento: 17%.

Rf (hexano/AcOEt, 7:3): 0.48.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 1.38 (d, 6H, $J = 6.3$ Hz, 2CH_3), 4.63 (s a, 1H, OH), 5.27 (sept, 1H, $J = 6.3$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 6.87 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz, H_3), 6.99 (dd, 1H, $J = 8.9, 3.1$ Hz, H_4), 7.29 (d, 1H, $J = 3.1$ Hz, H_6), 10.48 (s a, 1H, OH).

5 $^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 22.0 (2CH_3), 69.5 (CH), 112.9 (C), 115.0 (CH), 118.6 (CH), 123.9 (CH), 147.7 (C), 156.1 (C), 169.4 (C).

2,5-Dihidroxibenzoato de *terc*-butilo (3)



10 Cromatografía: hexano/AcOEt, 8:2.

Rendimiento: 61%.

Rf (hexano/AcOEt, 7:3): 0.50.

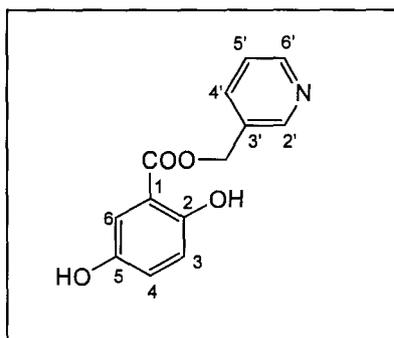
15 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (200 MHz): 1.53 (s, 9H, 3CH_3), 4.47 (s a, 1H, OH), 6.78 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz, H_3), 6.90 (dd, 1H, $J = 8.9, 3.1$ Hz, H_4), 7.16 (d, 1H, $J = 3.1$ Hz, H_6), 10.54 (s a, 1H, OH).

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (50 MHz): 28.2 (3CH_3), 83.2 (C), 113.9 (C), 115.4 (CH), 118.3 (CH), 123.6 (CH), 147.8 (C), 155.4 (C), 169.5 (C).

Síntesis de 2,5-dihidroxibenzoato de 3-piridinilmetilo (4)

20 A una disolución de ácido 2,5-dihidroxibenzoico (700 mg, 4.5 mmol) en DMF anhidra (20 mL), se añaden 3-piridinilmetanol (491 mg, 4.5 mmol), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC, 1.30 g, 6.8 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP, 832 mg, 6.8 mmol) bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se calienta a 50 °C y se agita durante 12 h. Los disolventes se evaporan a presión

25 reducida y el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (diclorometano/MeOH, 98:2) para obtener el éster 4 como un sólido con un rendimiento del 27%.



Rf (diclorometano/MeOH, 95:5): 0.33.

Punto de fusión: 173-174 °C.

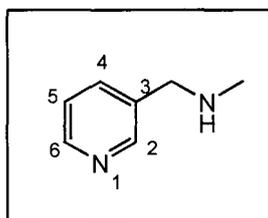
IR (KBr, cm^{-1}): 3429, 3245 (OH), 1678 (COO), 1627, 1589, 1485 (Ar).

5 $^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD , δ) (300 MHz): 5.35 (s, 2H, CH_2), 6.71 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz, H_3), 6.89 (dd, 1H, $J = 8.9, 3.0$ Hz, H_4), 7.15 (d, 1H, $J = 3.0$ Hz, H_6), 7.40 (dd, 1H, $J = 7.8, 4.9$ Hz, H_5), 7.89 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz, H_4), 8.45 (dd, 1H, $J = 4.9, 1.4$ Hz, H_6), 8.58 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz, H_2).

10 $^{13}\text{C-RMN}$ (CD_3OD , δ) (75 MHz): 65.3 (CH_2), 113.0 (C), 115.2 (CH), 119.2 (CH), 125.4 (CH), 125.5 (CH), 133.9 (C), 138.4 (CH), 150.1 (2CH), 150.9 (C), 156.3 (C), 170.8 (C).

Síntesis de *N*-metil-*N*-(3-piridinilmetil)amina (5)

A una disolución de nicotinaldehído (557 mg, 5.2 mmol) en MeOH (7 mL), se añade gota a gota una disolución de metilamina (2 M en THF, 16 mL) a 0 °C y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 3 h bajo atmósfera de argón. A 15 continuación, se añade NaBH_4 (315 mg, 8.3 mmol) a 0 °C y la reacción se agita a temperatura ambiente durante 20 h. Después de enfriar a 0 °C, se añade agua (20 mL) y se eliminan los disolventes orgánicos a presión reducida. La mezcla se extrae con AcOEt (3 x 50 mL), los extractos orgánicos se secan sobre Na_2SO_4 , se filtran y se evaporan a presión reducida para obtener la amina 5 como un aceite con rendimiento 20 cuantitativo.



Rf (diclorometano/EtOH, 7:3): 0.15.

IR (film, cm^{-1}): 3290 (NH), 1643, 1582, 1476 (Ar).

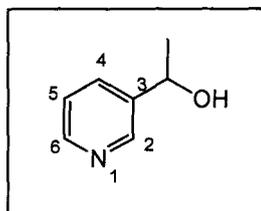
25 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 1.73 (s, 3H, NCH_3), 2.46 (s, 2H, CH_2), 7.25 (dd, 1H, $J = 5.3, 4.7$ Hz, H_5), 7.68 (dt, 1H, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H_4), 8.50 (dd, 1H, $J = 4.7, 1.6$ Hz, H_6), 8.52 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H_2).

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 36.0 (CH_2), 53.3 (CH_3), 123.4 (CH), 135.3 (C), 135.8 (CH), 148.6 (CH), 149.8 (CH).

30 Síntesis de 1-piridin-3-iletanol (6)

A una disolución de 3-acetilpiridina (700 mg, 5.8 mmol) en THF anhidro (10 mL) se añade NaBH_4 (877 mg, 23.1 mmol) bajo atmósfera de argón y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 4 h. Después de enfriar a 0 °C, se añade agua y la mezcla se extrae con AcOEt (3 x 40 mL). Los extractos orgánicos se secan

sobre Na_2SO_4 , se filtran y se evaporan a presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (diclorometano/EtOH, 9:1) para obtener el alcohol **6** como un aceite con un rendimiento del 51%.



5 R_f (AcOEt/MeOH, 9:1): 0.24.

IR (film, cm^{-1}): 3230 (OH), 1581, 1426 (Ar).

^1H -RMN (Acetona- d_6 , δ) (300 MHz): 1.44 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, CH_3), 4.44 (d, 1H, $J = 4.1$ Hz, OH), 4.88-4.94 (m, 1H, CHOH), 7.30 (dd, 1H, $J = 7.8, 4.7$ Hz, H_5), 7.77 (dt, 1H, $J = 7.8, 2.0$ Hz, H_4), 8.43 (dd, 1H, $J = 4.7, 1.6$ Hz, H_6), 8.59 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz, H_2).

10 ^{13}C -RMN (Acetona- d_6 , δ) (75 MHz): 26.0 (CH_3), 67.8 (CH), 124.2 (CH), 133.9 (CH), 143.3 (C), 148.3 (CH), 148.9 (CH).

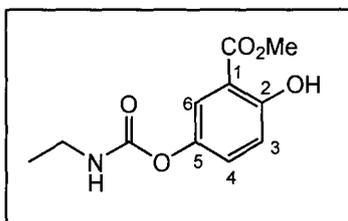
Procedimiento general de síntesis de los compuestos **C3** y **C4**

15 A una disolución de 2,5-dihidroxibenzoato de metilo (650 mg, 3.9 mmol) en THF anhidro (15 mL), se añaden gota a gota *N*-etil-diisopropilamina (DIEA, 0.7 mL, 3.9 mmol) y el isocianato correspondiente (3.9 mmol) bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 24 h. A continuación, el disolvente se elimina a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía en columna para obtener los compuestos finales **C3** y **C4** como sólidos.

20

5-[[Etilamino)carbonil]oxi]-2-hidroxibenzoato de metilo (**C3**)

Se obtiene a partir de isocianato de etilo (0.31 mL, 3.9 mmol) con un rendimiento del 70%.



25 Cromatografía: hexano/AcOEt, 8:2.

R_f (hexano/AcOEt, 8:2): 0.34.

Punto de fusión: 84-85 °C.

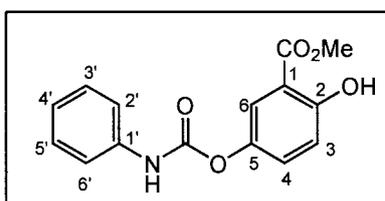
IR (KBr, cm^{-1}): 3331, 3254 (NH), 1697 (NHCOO), 1653 (COO), 1622, 1593, 1533, 1488 (Ar).

^1H -RMN (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 1.15 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, CH_3), 3.25 (qt, 2H, $J = 7.2$ Hz, CH_2), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 4.89 (s a, 1H, NH), 6.91 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H_3), 7.15 (dd, 1H, $J = 9.0, 2.9$ Hz, H_4), 7.54 (d, 1H, $J = 2.9$ Hz, H_6), 10.56 (s a, 1H, OH).

^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 15.2 (CH_3), 36.3 (CH_2), 52.5 (CH_3), 112.3 (C), 118.4 (CH), 122.4 (CH), 129.7 (CH), 142.9 (C), 150.1 (C), 159.1 (C), 170.1 (C).

5-[[**(Fenilamino)carbonil]oxi]-2-hidroxi**benzoato de metilo (C4)

Se obtiene a partir de isocianato de fenilo (0.42 mL, 3.9 mmol) con un rendimiento del 71%.



10

Cromatografía: hexano/AcOEt, 8:2.

R_f (hexano/AcOEt, 7:3): 0.44.

Punto de fusión: 130-131 °C.

IR (KBr, cm^{-1}): 3354, 3325 (NH), 1724 (NHCOO), 1683 (COO), 1602, 1541, 1485, 1439 (Ar).

15

^1H -RMN (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 3.96 (s, 3H, CH_3), 6.92 (s a, 1H, NH), 7.02 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H_3), 7.12 (t, 1H, $J = 7.9$ Hz, H_4), 7.29 (dd, 1H, $J = 9.0, 2.9$ Hz, H_4), 7.34 (t, 2H, $J = 7.9$ Hz, H_3, H_5), 7.44 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz, H_2, H_6), 7.68 (d, 1H, $J = 2.9$ Hz, H_6), 10.69 (s a, 1H, OH).

20

^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 52.4 (CH_3), 112.2 (C), 118.3 (CH), 118.4 (2CH), 122.3 (CH), 123.9 (CH), 129.0 (2CH), 129.4 (CH), 137.1 (C), 142.1 (C), 151.7 (C), 159.1 (C), 169.8 (C).

Procedimiento general de síntesis de los compuestos C7 y C9

25

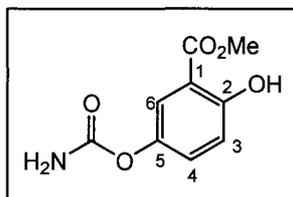
A una disolución de 2,5-dihidroxi

benzoato de metilo o de bencilo (1.8 mmol) en diclorometano anhidro (4 mL), se añade gota a gota clorosulfonilisocianato (0.2 mL, 1.8 mmol) bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 2 h. A continuación, el sólido resultante se aísla por filtración y se trata con agua fría (4 mL). La disolución se agita a temperatura ambiente durante 16 h,

30 obteniéndose un precipitado blanco que se filtra y se lava con agua para obtener los compuestos como sólidos.

5-[(Aminocarbonil)oxi]-2-hidroxi-benzoato de metilo (C7)

Se obtiene a partir de 2,5-dihidroxi-benzoato de metilo (303 mg, 1.8 mmol) con un rendimiento del 30%.



5 R_f (DCM/EtOH, 9:1): 0.39.

IR (KBr, cm⁻¹): 3423, 3305 (OH, NH₂), 1728, 1705 (NH₂COO, COO), 1610, 1560, 1493, 1443 (Ar).

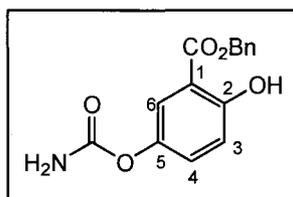
¹H-RMN (Acetona-d₆, δ) (300 MHz): 3.75 (s, 3H, CH₃), 6.65 (d, 1H, J = 8.9 Hz, H₃), 6.89 (dd, 1H, J = 8.9, 3.0 Hz, H₄), 7.09 (d, 1H, J = 3.0 Hz, H₆), 7.96 (s a, 2H, NH₂), 10.01 (s a, 1H, OH).

10

¹³C-RMN (Acetona-d₆, δ) (75 MHz): 51.9 (CH₃), 123.4 (CH), 124.5 (C), 124.7 (CH), 126.8 (CH), 146.8 (C), 147.5 (C), 154.3 (C), 164.2 (C).

5-[(Aminocarbonil)oxi]-2-hidroxi-benzoato de bencilo (C9)

15 Se obtiene a partir del éster bencilico 1 (439 mg, 1.8 mmol) con un rendimiento del 34%.



R_f (hexano/AcOEt, 6:4): 0.36.

Punto de fusión: 153-154 °C.

20 IR (KBr, cm⁻¹): 3429, 3310 (OH, NH₂), 1709, 1677 (NH₂COO, COO), 1610, 1490, 1430 (Ar).

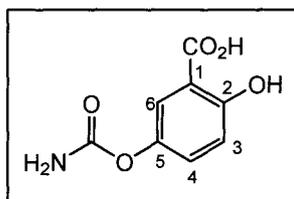
¹H-RMN (CDCl₃, δ) (300 MHz): 5.04 (s a, 2H, NH₂), 5.29 (s, 2H, CH₂), 6.90 (d, 1H, J = 9.0 Hz, H₃), 7.16 (dd, 1H, J = 9.0, 2.8 Hz, H₄), 7.31-7.36 (m, 5H, Ph), 7.54 (d, 1H, J = 2.8 Hz, H₆), 10.60 (s a, 1H, OH).

25

¹³C-RMN (CDCl₃, δ) (75 MHz): 67.2 (CH₂), 112.2 (C), 118.4 (CH), 122.2 (CH), 128.4 (2CH), 128.6 (2CH), 128.7 (CH), 129.7 (CH), 134.9 (C), 142.4 (C), 155.1 (C), 159.3 (C), 169.2 (C).

Síntesis del ácido 5-[(aminocarbonil)oxi]-2-hidroxi-benzoico (C8)

A una disolución del éster bencílico **C9** (117 mg, 0.41 mmol) en EtOH absoluto (15 mL), se le añade Pd/C 10% (25 mg) y la mezcla de reacción se hidrogena a temperatura ambiente durante 3 h con una presión inicial de hidrógeno de 10 p.s.i. A continuación, se filtra sobre celita y se evapora el disolvente a presión reducida para obtener el ácido **C9** como un sólido con rendimiento cuantitativo.



R_f (diclorometano/EtOH, 8:2): 0.28.

Punto de fusión: 216-217 °C.

IR (KBr, cm⁻¹): 3450, 3305 (OH, NH₂), 1708, 1673 (NH₂COO, COO), 1602, 1485, 1400 (Ar).

¹H-RMN (DMSO, δ) (300 MHz): 6.90 (d, 1H, J = 8.9 Hz, H₃), 7.15 (s a, 2H, NH₂), 7.20 (dd, 1H, J = 8.9, 2.9 Hz, H₄), 7.41 (d, 1H, J = 2.9 Hz, H₆).

¹³C-RMN (DMSO, δ) (75 MHz): 113.6 (C), 117.2 (CH), 122.3 (CH), 128.9 (CH), 142.3 (C), 154.9 (C), 158.1 (C), 171.0 (C).

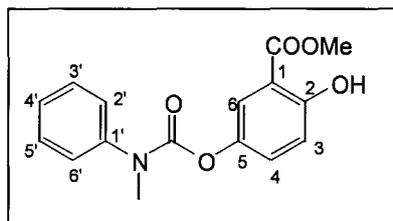
15

Procedimiento general de síntesis de compuestos **C29-C34**, **C39**, **C40**, **C43**, **C45** y **C46**.

A una disolución de 1 equivalente del éster correspondiente en acetonitrilo anhidro (4 mL/mmol) se añaden 1.3 equivalentes de NaH (al 60% en aceite mineral) y 1 equivalente del cloruro de carbamoilo apropiado bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 3 h y el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna para obtener el compuesto final.

25 **5-({[fenil(metil)amino]carbonil}oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo (C29)**

Se obtiene a partir de 2,5-dihidroxibenzoato de metilo (400 mg, 2.4 mmol) y cloruro de *N*-fenil-*N*-metilcarbamoilo (400 mg, 2.4 mmol) como un aceite con un rendimiento del 46%



Cromatografía: hexano/AcOEt, 9:1.

R_f (hexano/AcOEt, 7:3): 0.38.

IR (film, cm⁻¹): 3168 (OH), 1724 (NCOO), 1680 (COO), 1620, 1597, 1487 (Ar).

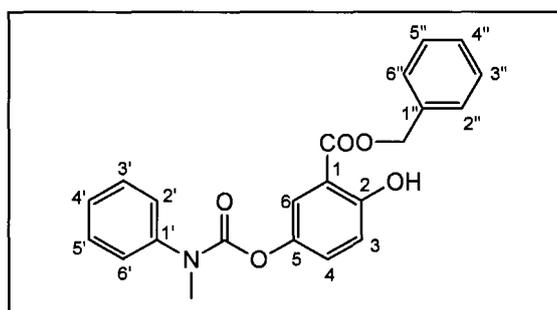
5 ¹H-RMN (CDCl₃, δ) (300 MHz): 3.43 (s, 3H, NCH₃), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 6.96 (d, 1H, J = 9.0 Hz, H₃), 7.27-7.45 (m, 7H, H₄, H₂-H₆), 7.53 (m, 1H, H₆), 10.62 (s, 1H, OH).

¹³C-RMN (CDCl₃, δ) (75 MHz): 38.7 (CH₃), 52.8 (CH₃), 112.6 (C), 118.6 (3CH), 122.7 (CH), 126.3 (CH), 127.1 (CH), 129.5 (CH), 130.0 (2CH), 143.2 (CH), 143.5 (C), 154.5 (C), 159.4 (C), 170.4 (C).

10

5-({[fenil(metil)amino]carbonil}oxi)-2-hidroxibenzoato de bencilo (C30)

Se obtiene a partir del éster bencílico **1** (630mg, 2.6 mmol) y cloruro de *N*-fenil-*N*-metilcarbamoilo (437 mg, 2.6 mmol) como un sólido con un rendimiento del 28%.



15 Cromatografía: hexano/AcOEt, 9:1.

R_f (hexano/AcOEt, 7:3): 0.80.

Punto de fusión: 103-105 °C.

IR (KBr, cm⁻¹): 3194 (OH), 1726 (NCOO), 1679 (COO), 1622, 1599, 1489 (Ar).

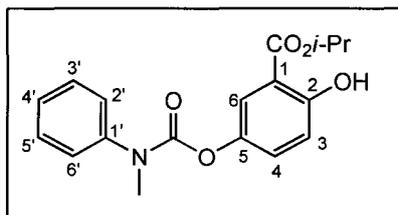
20 ¹H-RMN (CDCl₃, δ) (300 MHz): 3.41 (s, 3H, NCH₃), 5.38 (s, 2H, CH₂), 6.96 (d, 1H, J = 9.0 Hz, H₃), 7.20-7.46 (m, 11H, H₄, H₂-H₆, H₂''-H₆''), 7.60 (m, 1H, H₆), 10.66 (s, 1H, OH).

¹³C-RMN (CDCl₃, δ) (75 MHz): 38.3 (CH₃), 67.3 (CH₂), 112.2 (C), 118.3 (CH), 122.3 (CH), 126.0 (CH), 126.7 (CH), 128.6 (2CH), 128.7 (CH), 128.8 (3CH), 129.1 (2CH), 129.9 (CH), 135.1 (C), 142.9 (C), 143.2 (C), 154.2 (C), 159.3 (C), 169.5 (C).

25

5-({[fenil(metil)amino]carbonil}oxi)-2-hidroxibenzoato de isopropilo (C31)

Se obtiene a partir del éster isopropílico **2** (211mg, 1.1 mmol) y cloruro de *N*-fenil-*N*-metilcarbamoilo (183 mg, 1.1 mmol) como un aceite con un rendimiento del 28%.



Cromatografía: hexano/AcOEt, 9:1.

R_f (hexano/AcOEt, 7:3): 0.57.

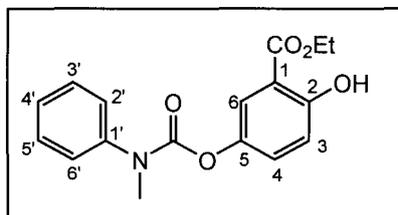
IR (film, cm⁻¹): 3178 (OH), 1728 (NCOO), 1675 (COO), 1622, 1599, 1489 (Ar).

5 ¹H-RMN (CDCl₃, δ) (300 MHz): 1.42 (d, 6H, J = 6.3 Hz, 2CH₃), 3.47 (s, 3H, NCH₃), 5.30 (sept, 1H, J = 6.3 Hz, CH), 6.98 (d, 1H, J = 9.0 Hz, H₃), 7.23-7.33 (m, 2H, Ar), 7.39-7.48 (m, 4H, Ar), 7.61 (m, 1H, H₆), 10.97 (s a, 1H, OH).

10 ¹³C-RMN (CDCl₃, δ) (75 MHz): 21.8 (CH₃), 38.3 (NCH₃), 69.6 (CH), 112.8 (C), 118.2 (CH), 122.3 (CH), 126.0 (CH), 126.7 (CH), 129.1 (3CH), 129.5 (CH), 142.9 (C), 143.0 (C), 154.2 (C), 159.3 (C), 169.2 (C).

5-({[fenil(metil)amino]carbonil}oxi)-2-hidroxibenzoato de etilo (C32)

Se obtiene a partir de 2,5-dihidroxibenzoato de etilo (433 mg, 2.4 mmol) y cloruro de N-fenil-N-metilcarbamoilo (404 mg, 2.4 mmol) como un aceite con un rendimiento del 14%.



Cromatografía: hexano/AcOEt, 9:1.

R_f (hexano/AcOEt, 7:3): 0.55.

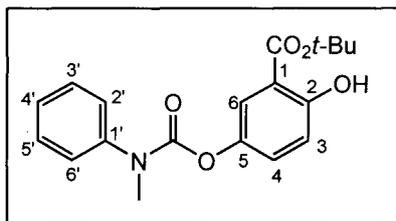
IR (film, cm⁻¹): 3163 (OH), 1726 (NCOO), 1677 (COO), 1619, 1597, 1487 (Ar).

20 ¹H-RMN (CDCl₃, δ) (300 MHz): 1.44 (t, 3H, J = 7.1 Hz, CH₃), 3.46 (s, 3H, NCH₃), 4.43 (q, 2H, J = 7.1 Hz, CH₂), 6.96 (d, 1H, J = 8.9 Hz, H₃), 7.19-7.45 (m, 6H, H₄, H₂-H₆), 7.62 (m, 1H, H₆), 10.77 (s, 1H, OH).

25 ¹³C-RMN (CDCl₃, δ) (75 MHz): 14.2 (CH₃), 38.3 (NCH₃), 61.7 (CH₂), 112.4 (C), 118.2 (CH), 122.3 (CH), 125.9 (CH), 126.7 (CH), 129.1 (3CH), 129.5 (CH), 142.9 (C), 143.0 (C), 154.2 (C), 159.2 (C), 169.6 (C).

5-({[fenil(metil)amino]carbonil}oxi)-2-hidroxibenzoato de terc-butilo (C33)

Se obtiene a partir del éster *terc*-butílico **3** (500 mg, 2.4 mmol) y cloruro de N-fenil-N-metilcarbamoilo (404 mg, 2.4 mmol) como un aceite con un rendimiento del 32%.



Cromatografía: hexano/AcOEt, 9:1.

R_f (hexano/AcOEt, 7:3): 0.61.

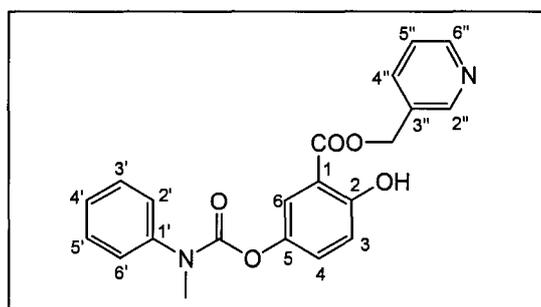
IR (film, cm⁻¹): 3070 (OH), 1727 (NCOO), 1673 (COO), 1620, 1599, 1457 (Ar).

5 ¹H-RMN (CDCl₃, δ) (300 MHz): 1.61 (s, 9H, 3CH₃), 3.43 (s, 3H, NCH₃), 6.93 (d, 1H, J = 8.9 Hz, H₃), 7.17-7.19 (m, 1H, H₄), 7.26-7.30 (m, 2H, Ar), 7.36-7.45 (m, 3H, Ar), 7.49 (m, 1H, H₆), 10.95 (s, 1H, OH).

10 ¹³C-RMN (CDCl₃, δ) (75 MHz): 28.1 (3CH₃), 38.2 (NCH₃), 83.2 (C), 113.6 (C), 118.1 (CH), 122.4 (CH), 125.8 (CH), 126.6 (CH), 129.0 (3CH), 129.1 (CH), 142.8 (2C), 154.2 (C), 159.3 (C), 169.1 (C).

5-({[fenil(metil)amino]carbonil}oxi)-2-hidroxibenzoato de 3-piridinilmetilo (C34)

Se obtiene a partir del éster de piridina **4** (272 mg, 1.1 mmol) y cloruro de *N*-fenil-*N*-metilcarbamoilo (188 mg, 1.1 mmol) como un sólido con un rendimiento del 22%.



15

La amina libre fue caracterizada (rendimiento, R_f, IR, RMN), disuelta en Et₂O anhidro y tratada con una disolución comercial de ácido clorhídrico (g) 1 M en Et₂O (HCl(g)/Et₂O; 0.6 mL). El clorhidrato se aísla por evaporación de los disolventes y se caracteriza (punto de fusión, análisis elemental).

20

Cromatografía: diclorometano/MeOH, 99:1.

R_f (diclorometano/MeOH, 95:5): 0.56.

Punto de fusión: 183-185 °C.

IR (KBr, cm⁻¹): 3170 (OH), 1724 (NCOO), 1680 (COO), 1595, 1488 (Ar).

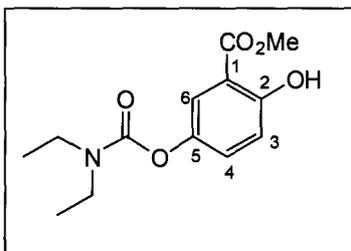
25 ¹H-RMN (CDCl₃, δ) (300 MHz): 3.42 (s, 3H, NCH₃), 5.40 (s, 2H, CH₂), 6.97 (d, 1H, J = 9.0 Hz, H₃), 7.22-7.44 (m, 7H, H₄, H_{2''}-H_{6''}, H_{5''}), 7.58 (m, 1H, H₆), 7.84 (d, 1H, J = 7.8 Hz, H_{4''}), 8.66 (m, 1H, H_{2''}/H_{6''}), 8.76 (m, 1H, H_{2''}/H_{6''}), 10.51 (s, 1H, OH).

¹³C-RMN (CDCl₃, δ) (75 MHz): 38.8 (CH₃), 64.9 (CH₂), 112.1 (C), 118.8 (CH), 122.6 (CH), 124.3 (CH), 126.3 (CH), 127.2 (CH), 129.5 (3CH), 130.6 (CH), 132.0 (C), 137.4

(CH), 143.1 (C), 143.5 (C), 149.7 (CH), 149.8 (CH), 154.5 (C), 159.7 (C), 169.6 (C).

5-[[di(etilamino)carbonil]oxi]-2-hidroxi benzoato de metilo (C39)

Se obtiene a partir de 2,5-dihidroxi benzoato de metilo (500 mg, 3.0 mmol) y cloruro de dietilcarbamoilo (0.4 mL, 3.0 mmol) como un aceite con un rendimiento del 16%.



Cromatografía: hexano/AcOEt, 9:1.

Rf (hexano/AcOEt, 7:3): 0.46.

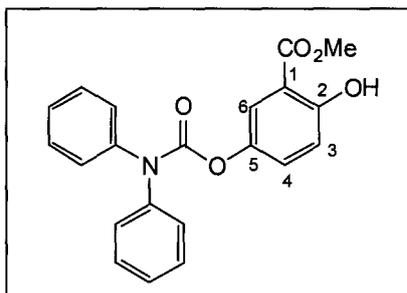
IR (KBr, cm^{-1}): 3191 (OH), 1719 (NCOO), 1683 (COO), 1620, 1480 (Ar).

10 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 1.18-1.28 (m, 6H, 2CH_3), 3.38-3.45 (m, 4H, 2CH_2), 3.94 (s, 3H, OCH_3), 6.97 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H_3), 7.23 (dd, 1H, $J = 9.0, 2.9$ Hz, H_4), 7.60 (d, 1H, $J = 2.9$ Hz, H_6), 10.62 (s, 1H, OH).

15 $^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 13.8 (CH_3), 14.6 (CH_3), 42.2 (CH_2), 42.7 (CH_2), 52.8 (CH_3), 112.5 (C), 118.5 (CH), 122.8 (CH), 130.2 (CH), 143.7 (C), 154.7 (C), 159.2 (C), 170.4 (C).

5-[[di(fenilamino)carbonil]oxi]-2-hidroxi benzoato de metilo (C40)

Se obtiene a partir de 2,5-dihidroxi benzoato de metilo (500 mg, 3.0 mmol) y cloruro de difenilcarbamoilo (688 mg, 3.0 mmol) como un aceite con un rendimiento del 36%.



20

Cromatografía: hexano/AcOEt, 9:1.

Rf (hexano/AcOEt, 8:2): 0.24.

Punto de fusión: 121-123 °C.

IR (KBr, cm^{-1}): 3179 (OH), 1729 (NCOO), 1682 (COO), 1594, 1488 (Ar).

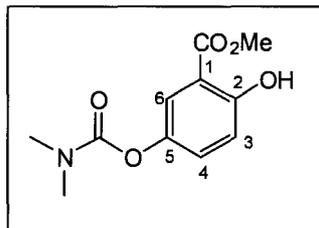
25 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 3.95 (s, 3H, OCH_3), 6.97 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H_3), 7.23-7.30 (3H, m, H_4 , Ph), 7.35-7.42 (8H, m, Ph), 7.66 (d, 1H, $J = 2.9$ Hz, H_6), 10.64 (s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 52.9 (CH_3), 112.6 (C), 118.7 (CH), 122.6 (CH), 127.1

(2CH), 127.3 (4CH), 129.6 (4CH), 129.9 (CH), 142.6 (C), 143.3 (2C), 153.7 (C), 159.6 (C), 170.4 (C).

5-[[[(Dimetilamino)carbonil]oxi]-2-hidroxi]benzoato de metilo (C43)

- 5 Se obtiene a partir de 2,5-dihidroxi-benzoato de metilo (500 mg, 3.0 mmol) y cloruro de dimetilcarbamoilo (0.3 mL, 3.0 mmol) como un aceite con un rendimiento del 21%.



Cromatografía: hexano/AcOEt, 9:1.

Rf (hexano/AcOEt, 7:3): 0.24.

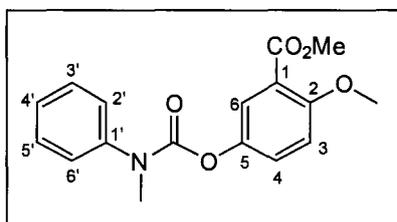
- 10 IR (film, cm^{-1}): 3173 (OH), 1725 (NCOO), 1681 (COO), 1621, 1483 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 3.02 (s, 3H, NCH_3), 3.10 (s, 3H, NCH_3), 3.94 (s, 3H, OCH_3), 6.97 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H_3), 7.22 (dd, 1H, $J = 9.0, 3.0$ Hz, H_4), 7.61 (d, 1H, $J = 3.0$ Hz, H_6), 10.62 (s, 1H, OH).

- 15 $^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 36.8 (NCH_3), 37.1 (NCH_3), 52.8 (OCH_3), 112.5 (C), 118.5 (CH), 122.8 (CH), 130.2 (CH), 143.7 (C), 155.4 (C), 159.3 (C), 170.4 (C).

2-metoxi-5-[[[fenil(metil)amino]carbonil]oxi]benzoato de metilo (C45)

- 20 Se obtiene a partir de 5-hidroxi-2-metoxibenzoato de metilo [sintetizado siguiendo el procedimiento descrito por Hatari, T., et al. (2003) *J. Org. Chem.* **68**, 2099-2108] (273 mg, 1.5 mmol) y cloruro de *N*-fenil-*N*-metilcarbamoilo (254 mg, 1.5 mmol) como un aceite con un rendimiento del 58%.



Chromatografía: diclorometano/AcOEt, 9:1.

Rf (diclorometano/AcOEt, 95:5): 0.37.

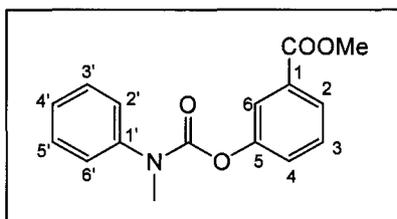
- 25 IR (film, cm^{-1}): 1723 (NCOO, COO), 1596, 1497, 1437 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 3.43 (s, 3H, NCH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 6.95 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H_3), 7.27-7.44 (m, 6H, $\text{H}_4, \text{H}_2\text{-H}_6$), 7.58 (m, 1H, H_6).

- 30 $^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 38.3 (CH_3), 52.1 (CH_3), 56.5 (CH_3), 112.8 (CH), 120.3 (C), 124.8 (CH), 125.9 (2CH), 126.8 (CH), 129.1 (3CH), 142.8 (C), 144.1 (C), 154.0 (C), 156.7 (C), 165.7 (C).

3-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi)benzoato de metilo (C46)

Se obtiene a partir de 5-hidroxibenzoato de metilo (477 mg, 3.1 mmol) y cloruro de *N*-fenil-*N*-metilcarbamoilo (533 mg, 3.1 mmol) como un aceite con un rendimiento del 64%.



Cromatografía: hexano/AcOEt, 9:1.

R_f (hexano/AcOEt, 9:1): 0.23.

IR (film, cm⁻¹): 1723 (NCOO, COO), 1593, 1495 (Ar).

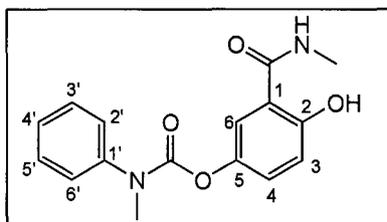
¹H-RMN (CDCl₃, δ) (300 MHz): 3.47 (s, 3H, NCH₃), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 7.30-7.48 (m, 7H, H₃, H₄, H₂-H₆'), 7.81 (m, 1H, H₆), 7.91 (d, 1H, J = 7.6 Hz, H₂).

¹³C-RMN (CDCl₃, δ) (75 MHz): 38.3 (CH₃), 52.2 (CH₃), 122.9 (CH), 126.0 (CH), 126.4 (CH), 126.5 (CH), 126.8 (CH), 129.1 (3CH), 129.2 (CH), 131.5 (C), 142.8 (C), 151.3 (C), 153.6 (C), 166.2 (C).

15

Síntesis de fenil(metil)carbamoato de 4-hidroxi-3-[(metilamino)carbonil]fenilo (C35)

A una disolución del éster **C29** (200 mg, 0.7 mmol) en MeOH (2 mL) se añade gota a gota una disolución de metilamina (40% en H₂O) (0.5 mL, 10 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agita durante 3 h a temperatura ambiente. Los disolventes se evaporan a presión reducida y el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 7:3) para obtener el compuesto **C35** como un sólido con un rendimiento del 76%.



R_f (diclorometano/EtOH, 95:5): 0.43.

Punto de fusión: 69-70 °C.

IR (KBr, cm⁻¹): 3366 (NH, OH), 1705 (NCOO), 1647 (CON), 1602, 1552, 1494 (Ar).

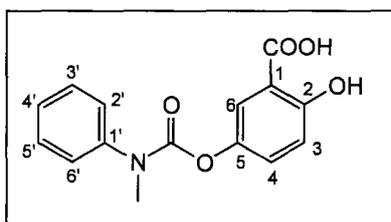
¹H-RMN (CDCl₃, δ) (300 MHz): 2.92 (d, 3H, J = 4.8 Hz, NHCH₃), 3.43 (s, 3H, NCH₃), 6.41 (s a, 1H, NH), 6.95 (d, 1H, J = 8.8 Hz, H₃), 7.10-7.44 (m, 7H, H₄, H₆, H₂-H₆'), 12.22 (s, 1H, OH).

30

^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 26.5 (CH_3), 38.4 (CH_3), 114.2 (C), 118.8 (CH), 119.1 (CH), 126.1 (CH), 127.0 (CH), 127.3 (CH), 129.3 (3CH), 142.5 (C), 142.7 (C), 154.8 (C), 159.2 (C), 169.8 (C).

5 **Síntesis del ácido 5-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi-2-hidroxibenzoico (C38)**

A una disolución del éster bencílico **C30** (120 mg, 0.3 mmol) en EtOH absoluto (20 mL), se añade Pd/C 10% (50 mg) y la mezcla se hidrogena a temperatura ambiente durante 4 h, con una presión inicial de hidrogeno de 30 p.s.i. La mezcla de reacción se filtra a través de celita y se lava con EtOH. El disolvente se evapora a presión reducida para obtener el compuesto **C38** como un sólido con rendimiento cuantitativo.



Rf (diclorometano/EtOH, 95:5): 0.20.

Punto de fusión: 157-158 °C.

IR (KBr, cm^{-1}): 3071 (OH), 1699 (NCOO, COO), 1596, 1489 (Ar).

15 ^1H -RMN (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 3.44 (s, 3H, NCH_3), 6.95 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz, H_3), 7.22-7.45 (m, 6H, H_4 , H_2 - H_6), 7.61 (m, 1H, H_6).

^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 38.4 (NCH_3), 114.2 (C), 118.8 (CH), 119.1 (CH), 126.1 (CH), 127.0 (CH), 127.3 (CH), 129.3 (3CH), 142.5 (C), 142.7 (C), 154.8 (C), 159.2 (C), 169.8 (C).

20

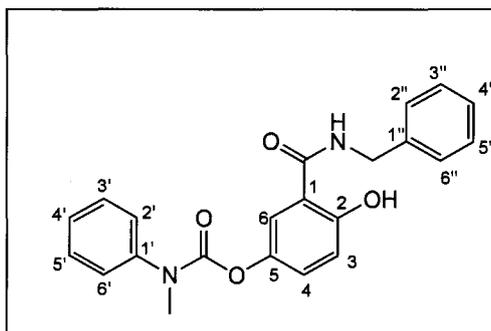
Procedimiento general de síntesis de los compuestos C36, C37, C41, C42 y C47.

A una disolución del ácido **C38** (228 mg, 0.8 mmol) en DMF anhidra (10 mL), se añaden EDC (228 mg, 1.2 mmol) y DMAP (23 mg, 0.3 mmol), bajo atmósfera de argón, y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 15 min. A continuación, se añade una disolución de la correspondiente amina o alcohol (0.8 mmol) en DMF (5 mL) a 0 °C, y la mezcla de reacción se agita durante 2 h a esta temperatura y posteriormente a temperatura ambiente durante 14 horas adicionales. Los disolventes se evaporan a presión reducida y el residuo se purifica mediante cromatografía en columna para dar el compuesto final.

30

Fenil(metil)carbamato de 3-[(bencilamino)carbonil]-4-hidroxifenilo (C36)

Se obtiene a partir de bencilamina (0.09 mL, 0.8 mmol) como un aceite con un rendimiento del 27%.



Cromatografía: hexano/AcOEt, 8:2.

R_f (hexano/AcOEt, 95:5): 0.40.

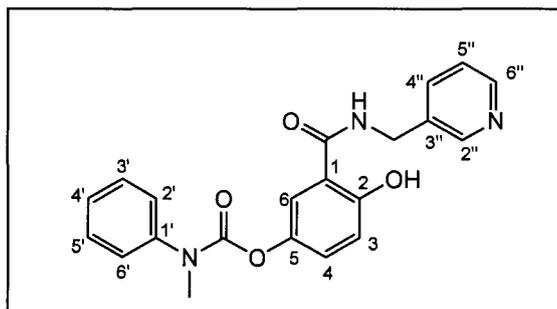
5 IR (film, cm⁻¹): 3358, 3068 (NH, OH), 1706 (NCOO), 1646 (CON), 1599, 1545, 1493 (Ar).

¹H-RMN (CDCl₃, δ) (300 MHz): 3.45 (s, 3H, NCH₃), 4.62 (d, 2H, J = 5.6 Hz, CH₂), 6.56 (s a, 1H, NH), 6.97 (d, 1H, J = 9.0 Hz, H₃), 7.14-7.43 (m, 12H, H₄, H₆, H₂-H₆', H₂''-H₆''), 12.14 (s, 1H, OH).

10 ¹³C-RMN (CDCl₃, δ) (75 MHz): 38.3 (CH₃), 43.6 (CH₂), 114.1 (C), 118.9 (CH), 125.8 (CH), 126.9 (CH), 127.5 (CH), 127.6 (CH), 127.9 (3CH), 128.7 (2CH), 129.2 (3CH), 137.6 (C), 142.5 (C), 142.6 (C), 154.5 (C), 159.1 (C), 169.1 (C).

Fenil(metil)carbamato de 4-hidroxi-3-[[[3-piridinilmetil]amino]carbonil]fenilo (C37)

15 Se obtiene a partir de 3-piridinilmetilamina (0.08 mL, 0.8 mmol) como un sólido con un rendimiento del 37%.



20 La amina libre se caracteriza (rendimiento, R_f, IR, RMN), se disuelve en diclorometano anhidro (4.5 mL) y se trata con una disolución comercial de ácido clorhídrico (g) 1 M en Et₂O (HCl(g)/Et₂O; 0.7 mL). El clorhidrato se aísla por evaporación de los disolventes y se caracteriza (Punto de fusión, análisis elemental).

Cromatografía: diclorometano/EtOH, 95:5.

R_f (diclorometano/EtOH, 9:1): 0.32.

25 Punto de fusión: 110-112 °C.

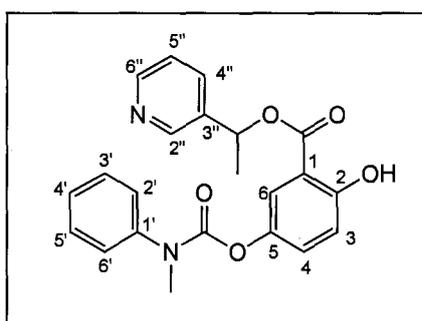
IR (KBr, cm⁻¹): 3348 (NH, OH), 1719 (NCOO), 1646 (CON), 1599, 1545, 1492 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 3.35 (s, 3H, NCH_3), 4.40 (d, 2H, $J = 5.7$ Hz, CH_2), 6.87 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H_3), 7.04-7.06 (m, 1H, H_4), 7.19-7.36 (m, 6H, $\text{H}_{5''}$, H_2 - H_6'), 7.41 (m, 1H, H_6), 7.60 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, $\text{H}_{4''}$), 8.12 (s a, 1H, NH), 8.44 (s a, 2H, $\text{H}_{2''}$, $\text{H}_{6''}$).

5 $^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 38.7 (CH_3), 41.3 (CH_2), 115.0 (C), 119.1 (CH), 120.2 (CH), 124.1 (CH), 126.3 (CH), 127.2 (CH), 127.8 (CH), 129.5 (3CH), 134.3 (C), 136.5 (CH), 142.9 (C), 143.0 (C), 148.8 (CH), 149.3 (CH), 154.9 (C), 159.0 (C), 169.4 (C).

5-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi-2-hidroxi benzoato de 1-Piridin-3-iletilo (C41)

10 Se obtiene a partir del alcohol 6 (99 mg, 0.8 mmol) como un sólido con un rendimiento del 52%.



15 La amina libre se caracteriza (rendimiento, R_f , IR, RMN), se disuelve en diclorometano anhidro (4 mL) y se trata con una disolución comercial de ácido clorhídrico (g) 1 M en Et_2O ($\text{HCl(g)}/\text{Et}_2\text{O}$; 0.6 mL). El clorhidrato se aísla por evaporación de los disolventes y se caracteriza (Punto de fusión, análisis elemental).

Cromatografía: diclorometano/ EtOH , 99:1.

R_f (diclorometano/ MeOH , 95:5): 0.20.

Punto de fusión: 80-82 °C.

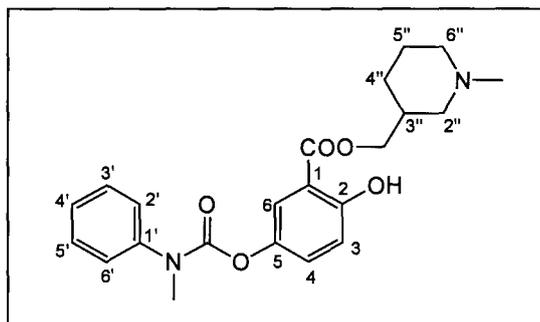
IR (KBr , cm^{-1}): 3177 (OH), 1723 (NCOO), 1677 (COO), 1620, 1596, 1487 (Ar).

20 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 1.73 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz, CH_3), 3.44 (s, 3H, NCH_3), 6.17 (q, 1H, $J = 6.7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 6.96 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H_3), 7.25-7.45 (m, 7H, H_4 , H_2 - H_6' , $\text{H}_{5''}$), 7.61 (m, 1H, H_6), 7.76 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, $\text{H}_{4''}$), 8.60 (dd, 1H, $J = 4.8, 1.6$ Hz, $\text{H}_{6''}$), 8.73 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz, $\text{H}_{2''}$).

25 $^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 22.3 (CH_3), 38.7 (CH_3), 72.1 (CH), 112.4 (C), 118.8 (CH), 122.5 (CH), 124.0 (CH), 126.3 (CH), 127.1 (CH), 129.5 (3CH), 130.5 (CH), 134.2 (C), 136.6 (CH), 143.2 (C), 143.5 (C), 148.4 (CH), 150.1 (CH), 154.5 (C), 159.8 (C), 169.1 (C).

30 3-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi-2-hidroxi benzoato de (1-metilpiperidin-3-il) metilo (C42)

Se obtiene a partir de (1-metilpiperidin-3-il)metanol (0.1 mL, 0.8 mmol) como un sólido con un rendimiento del 34%.



La amina se caracteriza (rendimiento, Rf, IR, RMN), se disuelve en diclorometano anhidro (4.5 mL) y se trata con una disolución comercial de ácido clorhídrico (g) 1 M en Et₂O (HCl(g)/Et₂O; 0.6 mL). El clorhidrato se aísla por evaporación de los disolventes y se caracteriza (Punto de fusión, análisis elemental).

Cromatografía: diclorometano/EtOH, 9:1.

Rf (diclorometano/EtOH, 8:2): 0.55.

Punto de fusión: 75-77 °C.

10 IR (KBr, cm⁻¹): 3168 (OH), 1726 (NCOO), 1678 (COO), 1596, 1489 (Ar).

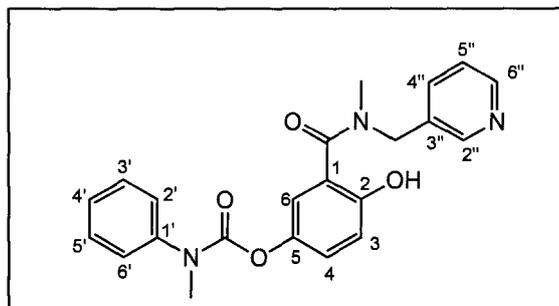
¹H-RMN (CDCl₃, δ) (300 MHz): 1.00-1.14 (m, 1H, H_{4''}), 1.62-1.86 (m, 4H, H_{4''}, 2H_{5''}, H_{6''}), 1.99 (td, 1 H, J = 11.0, 2.7 Hz, H_{2''}), 2.10-2.23 (m, 1H, H_{3''}), 2.32 (s, 3H, NCH₃), 2.81 (d, 1H, J = 10.9 Hz, H_{6''}), 2.94 (d, 1H, J = 10.1 Hz, H_{2''}), 3.44 (s, 3H, PhNCH₃), 4.15-4.24 (m, 2H, CH₂), 6.96 (d, 1H, J = 9.0 Hz, H₂), 7.22-7.45 (m, 6H, H₄, H₂-H₆), 7.54 (m, 1H, H₆), 10.67 (s a, 1H, OH).

15 ¹³C-RMN (CDCl₃, δ) (75 MHz): 24.7 (CH₂), 26.6 (CH₂), 35.8 (CH₃), 38.3 (CH), 46.7 (CH₃), 56.1 (CH₂), 59.0 (CH₂), 68.2 (CH₂), 112.2 (C), 118.3 (CH), 122.2 (CH), 126.0 (CH), 126.8 (CH), 129.1 (3CH), 129.8 (CH), 142.8 (C), 143.1 (C), 154.2 (C), 159.2 (C), 169.5 (C).

20

Fenil(metil)carbamato de 4-hidroxi-3-{[metil(piridin-3-ilmetil)amino]carbonil}-fenilo (C47)

Se obtiene a partir de la amina **5** (100 mg, 0.8 mmol) como un sólido con un rendimiento del 64%.



25

La amina se caracteriza (rendimiento, Rf, IR, RMN), se disuelve en diclorometano anhidro (2 mL) y se trata con una disolución comercial de ácido clorhídrico (g) 1 M en Et₂O (HCl(g)/Et₂O; 0.6 mL). El clorhidrato se aísla por evaporación de los disolventes y

se caracteriza (Punto de fusión, análisis elemental).

Cromatografía: diclorometano/EtOH, 95:5.

Rf (dichloromethane/EtOH, 95:5): 0.14.

Melting point: 207-209 °C

5 IR (KBr, cm^{-1}): 3062 (OH), 1721 (NCOO), 1629 (CON), 1601, 1493 (Ar).

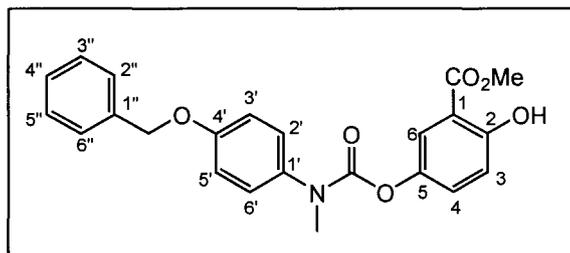
$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 3.05 (s, 3H, NCH_3), 3.39 (s, 3H, PhNCH_3), 4.73 (s, 2H, CH_2), 6.93 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, H_3), 7.02-7.09 (m, 2H, H_4 , $\text{H}_{5''}$), 7.26-7.41 (m, 6H, H_6 , H_2 - H_6), 7.69 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, $\text{H}_{4''}$), 8.56 (d, 1H, $J = 4.1$ Hz, $\text{H}_{6''}$), 8.62 (m, 1H, $\text{H}_{2''}$).

10 $^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 37.0 (CH_3), 38.7 (CH_3), 60.8 (CH_2), 118.3 (CH), 119.2 (C), 121.6 (CH), 124.3 (CH), 125.8 (CH), 126.3 (CH), 127.1 (CH), 129.5 (3CH), 132.8 (C), 136.5 (CH), 143.2 (2C), 149.1 (CH), 149.4 (CH), 154.5 (C), 155.3 (C), 171.4 (C).

Síntesis de 5-({[4-(benciloxi)fenil](metil)amino]carbonil}oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo (C49)

15 A una suspensión de CDI (750 mg, 3.5 mmol) en THF anhidro (20 mL), se añade 4-(benciloxi)-*N*-metilanilina (627 mg, 3.9 mmol), bajo una atmósfera de argón, y la mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 16 h. A continuación, se evapora el disolvente a presión reducida, el residuo se disuelve en diclorometano (20 mL) y se lava con agua (2 x 30 mL). La fase orgánica se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se
20 evapora a presión reducida para obtener *N*-[4-(benciloxi)fenil]-*N*-metil-1-imidazol-1-carboxamida.

A una disolución de *N*-[4-(benciloxi)fenil]-*N*-metil-1-imidazol-1-carboxamida (937 mg, 3.1 mmol) en acetonitrilo (8 mL) se añade yoduro de metilo (0.9 mL, 12.2 mmol), bajo
25 atmósfera de argón, y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 24 h. El disolvente y el yoduro de metilo en exceso se evaporan a presión reducida. El residuo se disuelve en acetonitrilo y se añaden gota a gota 2,5-dihidroxibenzoato de metilo (506 mg, 3.0 mmol) y trietilamina (0.4 mL, 3.0 mmol) bajo atmósfera de argón. La reacción se calienta a reflujo durante 18 h. El disolvente se evapora a presión
30 reducida, el residuo se disuelve en diclorometano y se añade una disolución acuosa de HCl 0.1 M (50 mL). La fase acuosa se extrae con diclorometano (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre Na_2SO_4 , se filtran y se evaporan a presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 8:2) para obtener el compuesto final como un aceite con un rendimiento del 36%.



Rf (hexano/AcOEt, 7:3): 0.28.

IR (film, cm^{-1}): 3172 (OH), 1722 (CON), 1681, 1618, 1541, 1484 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (300 MHz): 3.36 (s, 3H, NCH_3), 3.94 (s, 3H, OCH_3), 5.08 (s, 2H, CH_2), 6.95 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz, H_3), 7.01 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H_2 , H_6), 7.14-7.27 (m, 3H, H_4 , H_3 , H_5), 7.35-7.46 (m, 5H, H_2'' - H_6''), 7.57 (m, 1H, H_6), 10.63 (s a, 1H, OH).

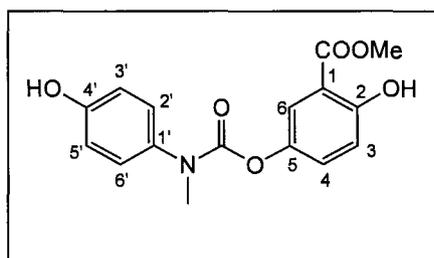
$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , δ) (75 MHz): 37.8 (CH_3), 53.6 (CH_3), 70.7 (CH_2), 110.7 (C), 113.7 (CH), 116.5 (CH), 120.4 (CH), 125.4 (3CH), 125.4 (C), 125.9 (2CH), 126.5 (2CH), 127.4 (2CH), 134.2 (C), 140.3 (C), 151.0 (C), 155.4 (2C), 165.9 (C).

10

Síntesis de 2-hidroxi-5-(((4-hidroxifenil)(metil)amino)carbonil)oxi)benzoato de metilo (C48)

A una disolución del compuesto **C49** (100 mg, 0.3 mmol) en EtOH absoluto (10 mL), se añade Pd/C 10% (39 mg) y la mezcla se hidrogena a temperatura ambiente durante 5 h, con una presión inicial de hidrogeno de 57 p.s.i. La mezcla de reacción se filtra a través de celita y el disolvente se evapora a presión reducida para obtener el compuesto final como un sólido con rendimiento cuantitativo.

15



Rf (hexano/AcOEt, 7:3): 0.23.

20 Punto de fusión: 54-56 °C.

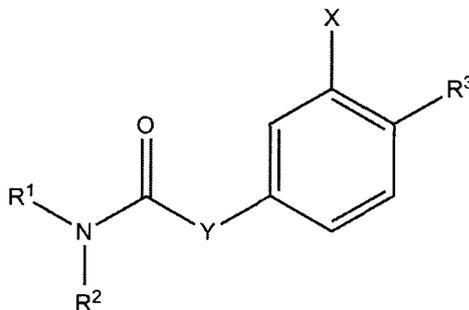
IR (KBr, cm^{-1}): 3352 (OH), 1687 (NCOO), 1619, 1515, 1485 (Ar).

$^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD , δ) (300 MHz): 3.32 (s, 3H, NCH_3), 3.95 (s, 3H, OCH_3), 6.82 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, H_3 , H_5), 6.93 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz, H_3), 7.19 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, H_2 , H_6), 7.36 (m, 1H, H_4), 7.49 (m, 1H, H_6).

25 $^{13}\text{C-RMN}$ (CD_3OD , δ) (75 MHz): 39.1 (NCH_3), 53.1 (OCH_3), 113.5 (C), 116.8 (2CH), 119.1 (2CH), 123.4 (CH), 128.7 (CH), 130.8 (CH), 135.9 (C), 144.7 (C), 156.3 (C), 157.7 (C), 160.1 (C), 171.1 (C).

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I)



5

(I)

o una de sus sales, solvatos, formas polimórficas, estereoisómeros o profármacos farmacéuticamente aceptables

en donde:

10 X es un grupo de fórmula SO₃M o COZR⁵, donde:

M es H o un metal alcalino;

Z es un radical O o NR⁴, en el que R⁴ es un H o un radical alquilo C₁₋₆;

R₅ es un grupo alquilo C₁₋₆, ciclilo C₅₋₁₀, arilo C₆₋₁₀, alquilC₁₋₆ariloC₆₋₁₀ o alquilC₁₋₆heterociclilo C₅₋₁₀ opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo

15 C₁₋₄;

Y es un radical O o NH;

R¹ y R², independientemente entre sí, representan H, alquilo C₁₋₆ o arilo C₆₋₁₀; opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C₁₋₄.

20 R³ es H, OR⁴ o NHR⁴, en el que R⁴ tiene el mismo significado que el indicado anteriormente.

2. Compuesto según reivindicación 1 en el que:

X es un grupo de fórmula COZR⁵;

25 Z es un radical O o NR⁴, en el que R⁴ es un H o un radical alquilo C₁₋₃;

R⁵ es un grupo alquilo C₁₋₆, alquilC₁₋₃ariloC₆₋₁₀ o alquilC₁₋₃heterocicliloC₅₋₁₀, opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C₁₋₃.

Y es un radical O;

30 R¹ y R², independientemente entre sí, representan H, alquilo C₁₋₆ o arilo C₆₋₁₀, opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C₁₋₃;

R³ es un radical H, OR⁴ o NHR⁴, en el que R⁴ tiene el mismo significado que el indicado

anteriormente.

3. Compuesto según la reivindicación 2 en el que:

- 5 X es un grupo de fórmula COZR⁵;
 Z es un radical O;
 R⁵ es un grupo metilo, etilo, isopropilo, *terc*-butilo, bencilo, piridinilmetilo o piperidinilmetilo opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C₁-C₃;
 Y es un radical O;
- 10 R¹ y R², independientemente entre sí, representan H, metilo, etilo o fenilo opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C₁-C₃;
 R³ es OR⁴, en el que R⁴ es H o metilo;
 o una de sus sales o profármacos farmacéuticamente aceptables.

15 4. Compuesto según la reivindicación 2 en el que:

- X es un grupo de fórmula COZR⁵;
 Z es un radical NR⁴, en el que R⁴ es H o metilo;
 R⁵ es un grupo metilo, etilo, isopropilo, *terc*-butilo, bencilo o piridinilmetilo, opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C₁-C₃;
- 20 Y es un radical O;
 R¹ y R², independientemente entre sí, representan H, metilo, etilo o fenilo opcionalmente sustituido por al menos un grupo alquilo C₁-C₃;
 R³ es OR⁴, en el que R⁴ es H o metilo;
 o una de sus sales o profármacos farmacéuticamente aceptables.

25

5. Compuesto según la reivindicación 3 o 4 seleccionado del grupo formado por:

- 5-[[etilamino]carbonil]oxi]-2-hidroxibenzoato de metilo;
 5-[[fenilamino]carbonil]oxi]-2-hidroxibenzoato de metilo;
 5-[[amino]carbonil]oxi]-2-hidroxibenzoato de metilo;
- 30 5-[[amino]carbonil]oxi]-2-hidroxibenzoato de bencilo;
 5-[[fenil(metil)amino]carbonil]oxi]-2-hidroxibenzoato de metilo;
 5-[[fenil(metil)amino]carbonil]oxi]-2-hidroxibenzoato de bencilo;
 5-[[fenil(metil)amino]carbonil]oxi]-2-hidroxibenzoato de isopropilo;
 5-[[fenil(metil)amino]carbonil]oxi]-2-hidroxibenzoato de etilo;
- 35 5-[[fenil(metil)amino]carbonil]oxi]-2-hidroxibenzoato de *terc*-butilo;
 5-[[fenil(metil)amino]carbonil]oxi]-2-hidroxibenzoato de 3-piridinilmetilo;
 fenil(metil)carbamato de 4-hidroxi-3-[[metilamino]carbonil]fenilo;

- fenil(metil)carbamato de 3-[(bencilamino)carbonil]-4-hidroxifenilo;
 fenil(metil)carbamato de 4-hidroxi-3-[[3-piridinilmetil]amino]carbonil]fenilo;
 5-([difenilamino]carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo;
 5-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de 1-piridin-3-iletilo;
 5 3-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de (1-metilpiperidin-3-il)metilo;
 fenil(metil)carbamato de 4-hidroxi-3-[[metil(piridin-3-ilmetil)amino]carbonil]fenilo;
 2-hidroxi-5-([4-hidroxifenil](metil)amino]carbonil)oxi)benzoato de metilo;
 5-([4-(benciloxi)fenil](metil)amino]carbonil)oxi)-2-hidroxibenzoato de metilo;
 2-metoxi-5-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi)benzoato de metilo;
 10 3-([fenil(metil)amino]carbonil)oxi)benzoato de metilo.

6. Compuesto según reivindicación 1 en el que:

X es un grupo de fórmula SO_3M , donde M es H o metal alcalino;

Y es un radical O;

- 15 R^1 y R^2 , independientemente entre sí, representan H, alquilo C_1-C_6 o arilo C_6-C_{10}
 opcionalmente sustituidos por al menos un grupo alquilo C_1-C_4 ;
 R^3 es un radical H, OR^4 o NHR^4 , en el que R^4 es H o un radical alquilo C_{1-3} .

- 20 7. Compuesto según la reivindicación 6 que es 5-[[etilamino]carbonil]oxi)-2-hidroxibencenosulfonato de potasio.

8. Composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de al menos un compuesto de fórmula (I), según se ha definido en las reivindicaciones anteriores, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25

9. Uso de un compuesto de fórmula (I), según se ha definido en las reivindicaciones 1 a 7, en la preparación de una composición farmacéutica para la prevención o el tratamiento de una patología mediada por al menos un FGF en un mamífero.

30

10. Uso según la reivindicación 9 en la preparación de una composición farmacéutica para la prevención o el tratamiento de cáncer.

- 35 11. Uso según la reivindicación 9 en la preparación de una composición farmacéutica para la prevención o el tratamiento de enfermedades no tumorales angio-dependientes.



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201001606

②② Fecha de presentación de la solicitud: 23.12.2010

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WO 2008020031 A1 (ACTION MEDICINES) 21.02.2008, resumen; reivindicaciones.	1-11
A	WO 2008020039 A2 (ACTION MEDICINES) 21.02.2008, resumen; reivindicaciones.	1-11
A	WO 2008020040 A2 (ACTION MEDICINES) 21.02.2008, resumen; reivindicaciones.	1-11
A	I S FERNÁNDEZ et al., Journal of Biological Chemistry abril 2010, vol 285, nº 15 págs 11714-11729. "Gentisic acid heads a new class of in vivo fibroblast growth factor inhibitors"	1-11

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
03.04.2012

Examinador
M. P. Fernández Fernández

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07C309/42 (2006.01)

C07C65/05 (2006.01)

A61K31/095 (2006.01)

A61K31/192 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07C, A61K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, CAS, REGISTRY

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 03.04.2012

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-11	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-11	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 2008020031 A1 (ACTION MEDICINES)	21.02.2008
D02	WO 2008020039 A2 (ACTION MEDICINES)	21.02.2008
D03	WO 2008020040 A2 (ACTION MEDICINES)	21.02.2008
D04	I S FERNÁNDEZ et al., Journal of Biological Chemistry abril 2010, vol 285, nº 15 págs 11714-11729. "Gentisic acid heads a new class of in vivo fibroblast growth factor inhibitors"	04.2010

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La solicitud se refiere a los compuestos de fórmula (I) de las reivindicaciones 1-7, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) y el uso farmacéutico de estos compuestos para el tratamiento de patologías mediadas por FGFs (factores de crecimiento de fibroblastos).

Los documentos D1, D2 y D3 son los más próximos del estado de la técnica. Divulgan derivados del ácido gentísico (ácido 2,5-dihidroxibenzoico) y de dobesilato (2,5-DHPS o 2,5-dihidroxifenilsulfonato) para el tratamiento de enfermedades relacionadas con FGFs, tales como fibrosis, cáncer y trastornos dependientes de angiogénesis. Los compuestos de fórmula (I) de la solicitud presentan el H del grupo 5-OH sustituido por CON, lo que los diferencia de los divulgados en D1, D2 y D3, ver por ejemplo páginas 24 y 25 de D1, 21,27 y 28 de D2 y 18,24 y 25 de D3, además no se han encontrado descritos con anterioridad por lo que son nuevos; por otra parte se considera que tienen actividad inventiva pues un técnico en la materia no podría deducir el efecto de estas sustituciones en la actividad inhibitoria de FGFs sin disponer de los datos experimentales de los estudios de inhibición.

El documento D4 divulga como inhibidores de FGFs el ácido gentísico (ácido 2,5-dihidroxibenzoico) y dobesilato (2,5-DHPS o 2,5-dihidroxifenilsulfonato), ver página 11717 y página 11728 columna izquierda último párrafo. Los compuestos que se reivindican en la solicitud son derivados del ácido gentísico cuando en la fórmula (I) de la reivindicación 1 X es COOH y de dobesilato cuando X es SO₃H, pero el H del grupo hidroxilo de la posición 5 está sustituido por CON.

En conclusión, se considera que las reivindicaciones 1-11 de la solicitud cumplen los requerimientos de novedad y actividad inventiva previstos en los Art. 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes 11/1986.