

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 441 115**

51 Int. Cl.:

**A01N 43/76** (2006.01)

**A61K 31/42** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.11.2008 E 08850632 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2013 EP 2227087**

54 Título: **Derivados de CBI sujetos a activación reductora**

30 Prioridad:

**13.11.2007 US 987647 P**  
**13.11.2007 US 2978**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**31.01.2014**

73 Titular/es:

**THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE (100.0%)**  
**10550 NORTH TORREY PINES ROAD**  
**LA JOLLA, CA 92037, US**

72 Inventor/es:

**BOGER, DALE**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO FACES, José**

**ES 2 441 115 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

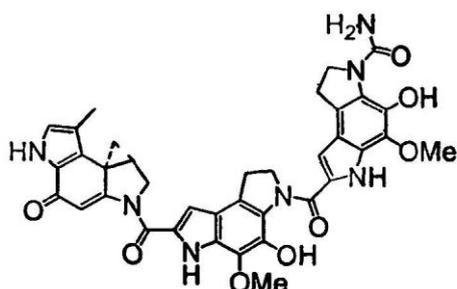
Derivados de CBI sujetos a activación reductora

## 5 CAMPO DE LA INVENCÓN

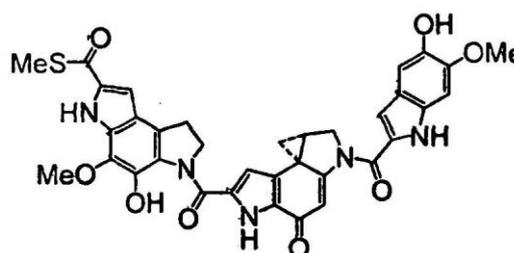
La invención se refiere a agentes antineoplásicos de profármaco y a su uso. Más particularmente, la invención se refiere a profármacos de N-acil-O-aminofenol de CBI-TMI y CBI-indol<sub>2</sub>.

## 10 ANTECEDENTES

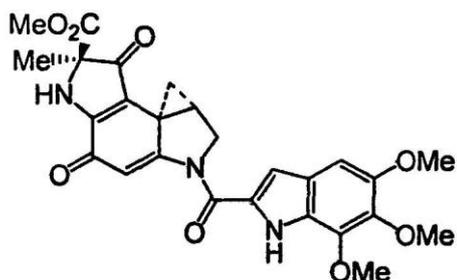
CC-1065, las duocarmicinas y yatakemicina constituyen agentes antitumorales excepcionalmente potentes que se producen naturalmente que derivan sus propiedades biológicas mediante una reacción de alquilación de ADN selectiva de secuencia característica (a continuación) (Chidester, C. G. y col. J. Am. Chem. Soc. 1981, 103, 7629; Trzupek, J. D. y col. Nature Chem. Biol. 2006, 2, 79).



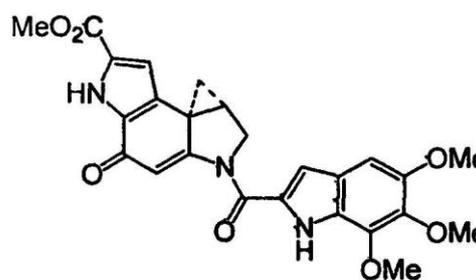
30 (+)-CC-1065



30 (+)-Yatakemycin



35 (+)-Duocarmycin A



35 (+)-Duocarmycin SA

45 El examen de los productos naturales, sus enantiómeros no naturales sintéticos, sus derivados y análogos sintéticos han definido rasgos fundamentales que controlan la selectividad de alquilación, afectan la eficiencia de alquilación y son responsables de la catálisis de alquilación de ADN que proporciona un entendimiento detallado de las relaciones entre estructura, reactividad y actividad biológica (Warpehoski, M. A.; Hurley, L. H. Chem. Res. Toxicol. 1988, 1, 315; Boger, D. L. Chem. Biol. 2004, 11, 1607).

50 Una de las clases más importantes y ampliamente exploradas de análogos es CBI (Boger, D. L. y col. J. Am. Chem. Soc. 1989, 111, 6461; Boger, D. L. y col. J. Org. Chem. 1990, 55, 5823) (1,2,9,9a-tetrahidrociclopropa[c]benz[o]indol-4-ona), siendo sintéticamente (Boger, D. L. y col. J. Am. Chem. Soc. 1989, 111, 6461; Boger, D. L. y col. J. Org. Chem. 1990, 55, 5823; Boger, D. L. y col. J. Org. Chem. 1992, 57, 2873; Boger, D. L.; McKie, J. A. J. Org. Chem. 1995, 60, 1271; Drost, K. J.; Cava, M. P. J. Org. Chem. 1991, 56, 2240; Aristoff, P. A.; Johnson, P. D. J. Org. Chem. 1992, 57, 6234; Mohamadi, F. y col. J. Med. Chem. 1994, 37, 232; Ling, L. y col. Heterocyclic Commun. 1997, 3, 405; Boger, D. L. y col. Synlett 1997, 515; Boger, D. L. y col. Tetrahedron Lett. 1998, 39, 2227; Kastrinsky, D. B.; Boger, D. L. J. Org. Chem. 2004, 69, 2284) más accesible que los productos naturales, todavía indistinguibles en su selectividad de alquilación de ADN (Figura 2) (Boger, D. L.; Munk, S. A. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 5487).

65 Además, los derivados de CBI demostraron ser cuatro veces más estables y, correspondientemente, cuatro veces más potentes que los derivados que llevan la subunidad de alquilación CC-1065 (7-MeCPI) que se aproxima a la estabilidad y potencia de los derivados de duocarmicina SA y yatakemicina, y presentan actividad antitumoral *in vivo* eficaz en modelos animales a dosis que reflejan esta potencia (Boger, D. L. y col. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1991, 1, 115; Boger, D. L. y col. Bioorg. Med. Chem. 1995, 3, 1429). Por consiguiente, CBI y sus derivados han sido

el objetivo de mucho desarrollo, además de los análogos de prototipo en los que se han explorado, desarrollado o introducido nuevos conceptos de diseño (Boger, D. L. y col. J. Am. Chem. Soc. 1989, 111, 6461; Tietze, L. F. y col. Angew. Chem. Int. Ed. 2006, 45, 6574; Wang, Y. y col. Bioorg. Med. Chem. 2003, 11, 1569; Jeffrey, S. C. y col. J. Med. Chem. 2005, 48, 1344; Kline, T. y col. Mol. Pharmaceut. 2004, 1, 9; Hay, M. P. y col. J. Med. Chem. 2003, 46, 5533; Tercel, M. y col. J. Med. Chem. 2003, 46, 2132; Gieseg, M. A. y col. Anti-Cancer Drug Design 1999, 14, 77; Hay, M. P. y col. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1999, 9, 2237; Atwell, G. J. y col. J. Med. Chem. 1999, 42, 3400; Atwell, G. J. y col. J. Org. Chem. 1998, 63, 9414; Atwell, G. J. y col. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1997, 7, 1493; Townes, H. y col. Med. Chem. Res. 2002, 11, 248; Boger, D. L.; Garbaccio, R. M. J. Org. Chem. 1999, 69, 8350).

Un rasgo único de esta clase de moléculas que incluyen los propios productos naturales es la observación de que los precursores de fenol sintéticos (por ejemplo, 1) para los productos finales, que implican una espirociclación de Ar-3' de Winstein con desplazamiento de un grupo saliente apropiado, presenta propiedades biológicas normalmente indistinguibles de los productos finales que contienen ciclopropano (tasa o eficiencia de alquilación de ADN, actividad citotóxica *in vitro* y actividad antitumoral *in vivo*). Este comportamiento fiable de los fenoles precursores ha proporcionado la base sobre la cual se ha realizado el desarrollo de profármacos útiles, estables o seguros (Carzelesin: Aristoff, P. A. Adv. Med. Chem. 1993, 2, 67. KW-2189: Kobayashi, E. y col. Cancer Res. 1994, 54, 2404; Amishiro, N. y col. Bioorg. Med. Chem. 2000, 8, 1637; Amishiro, N. y col. J. Med. Chem. 1999, 42, 669; Nagamura, S. y col. Chem. Pharm. Bull. 1996, 44, 1723; Nagamura, S. y col. Chem. Pharm. Bull. 1995, 43. CBI: Boger, D. L. y col. Síntesis 1999, 1505; documento US 2004/0002528 A1).

Una característica que limita el atractivo de esta clase de agentes citotóxicos es sus sorprendentes potencias ( $IC_{50}$  5-20 pM) que crean requisitos especiales para su preparación y manipulación. En muchos casos, esto se ha tratado por la introducción de grupos protectores de fenol químicamente estables que se escinden fácilmente en la etapa final de su preparación o tras administración *in vivo*. Tales precursores de fenol protegidos son intrínsecamente mucho menos potentes, todavía liberan fácilmente un precursor activo al fármaco tras la desprotección. Se han perseguido extensiones de esta estrategia de protección y liberación en las que la liberación del fenol libre *in vivo* se acopla a rasgos que podrían facilitar la administración selectiva al tumor o escisión (Wolkenberg, S. E.; Boger, D. L. Chem. Rev. 2002, 102, 2477. Reviews on reductive activation: Papadopoulou, M. V.; Bloomer, W. D. Drugs Future 2004, 29, 807; Jaffar, M.; Stratford, I. J. Exp. Opin. Ther. Patents 1999, 9, 1371; Patterson, L. H.; Raleigh, S. M. Biomed. Health Res. 1998, 25, 72). Tales fármacos inactivos sirven para la función dual de proporcionar productos intermedios o productos finales de manipulación más segura, además de potenciar posiblemente el índice terapéutico del fármaco.

Tan atractivo y flexible como es este enfoque para esta clase de fármacos, se ha desvelado una serie sorprendentemente pequeña de tales estudios (Chari, R. V. J. y col. Cancer Res. 1995, 55, 4079; Lillo, A. M. y col. Chem. Biol. 2004, 11, 897; Tietze, L. F. y col. Eur. J. Org. Chem. 2002, 10, 1634; Tietze, L. F. y col. Angew. Chem. Int. Ed. 2002, 41, 759; Tietze, L. F. y col. ChemBioChem 2001, 2, 758; Tietze, L. F. y col. Angew. Chem. Int. Ed. 2006, 45, 6574; Wang, Y. y col. Bioorg. Med. Chem. 2003, 11, 1569; Jeffrey, S. C. y col. J. Med. Chem. 2005, 48, 1344; Kline, T. y col. Mol. Pharmaceut. 2004, 1, 9; Hay, M. P. y col. J. Med. Chem. 2003, 46, 5533; Tercel, M. y col. J. Med. Chem. 2003, 46, 2132; Gieseg, M. A. y col. Anti-Cancer Drug Design 1999, 14, 77; Hay, M. P. y col. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1999, 9, 2237; Atwell, G. J. y col. J. Med. Chem. 1999, 42, 3400; Atwell, G. J. y col. J. Org. Chem. 1998, 63, 9414; Atwell, G. J. y col. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1997, 7, 1493; Townes, H. y col. Med. Chem. Res. 2002, 11, 248; Boger, D. L.; Garbaccio, R. M. J. Org. Chem. 1999, 69, 8350).

#### 45 BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

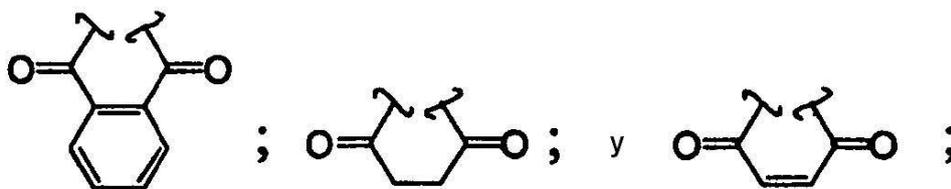
Los derivados de N-acil O-aminofenol de CBI-TMI y CBI-indol<sub>2</sub> se desvelan en el presente documento como miembros prototípicos de una nueva clase de profármacos reductoramente activados de la clase de duocarmicina y CC-1065 de agentes antitumorales. Siendo la previsión que entornos de tumores hipóxicos, con su mayor capacidad reductora, llevan una mayor concentración intrínseca de "reducir" nucleófilos (por ejemplo, tioles) que pueden activar tales derivados (escisión del enlace N-O ajustable) aumentando su sensibilidad al tratamiento con profármaco. Estudios preliminares indican que los profármacos liberan eficazmente el fármaco libre en ensayos celulares funcionales para actividad citotóxica aproximando o coincidiendo la actividad del fármaco libre, todavía siguen siendo esencialmente estables y no reactivas para condiciones de alquilación de ADN *in vitro* (< 0,1-0,01% de liberación de fármaco libre), tampón fosfato a pH 7,0, y presentan una robusta semivida en plasma humano ( $t_{1/2}$  = 3 horas). La caracterización de un profármaco de O-(acilamino) representativo *in vivo* indica que se aproxima a la potencia y superó la eficacia del propio fármaco libre (CBI-indol<sub>2</sub>) que indica que no solo es el fármaco libre eficazmente liberado del profármaco inactivo, sino que ofrecen ventajas adicionales relacionadas con una liberación controlada o elegida como diana *in vivo*.

Un compuesto contemplado de la invención es un derivado de N-acil-O-amino-CBI que se representa por la fórmula I:

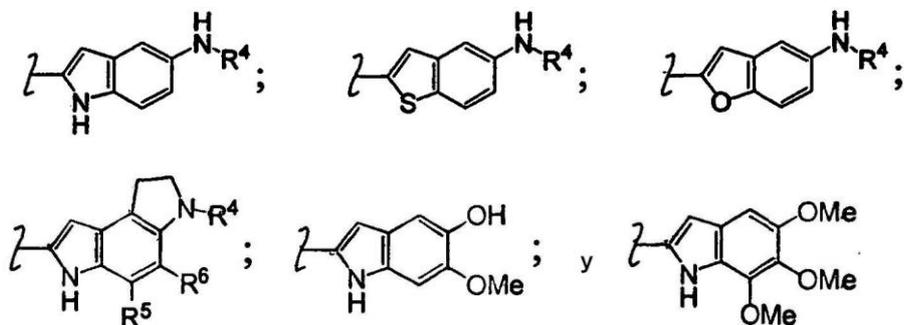


FORMULA 1

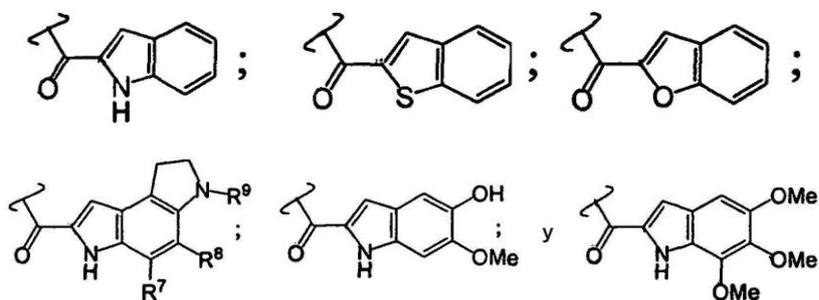
10 En la fórmula I, R<sup>1</sup> está seleccionado del grupo de radicales que consiste en -C(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), -C(O) (alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)O(alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) y -C(O)arilo. R<sup>2</sup> está seleccionado del grupo de radicales que consiste en hidrógeno, -C(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), -C(O) (alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) y -C(O)O(alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>). Provisionalmente, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se combinan para formar una estructura cíclica seleccionada del grupo que consiste en radicales divalentes representados del siguiente modo:



25 R<sup>3</sup> en la fórmula I está seleccionado de grupo que consiste en radicales representados del siguiente modo:



40 en las que R<sup>4</sup> está seleccionado de grupo que consiste en radicales representados del siguiente modo:

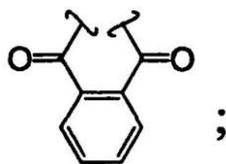


55 R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> en las fórmulas estructurales anteriores están seleccionados cada uno independientemente del grupo de radicales que consiste en -H, -OH, -O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y halógeno. R<sup>9</sup> de una fórmula anterior está seleccionado del grupo de radicales que consiste en -H, -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)NH<sub>2</sub>, -C(O)NHNH<sub>2</sub> y -C(O)NHNHC(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).

60 En un compuesto preferido, R<sup>1</sup> está seleccionado del grupo de radicales que consiste en -C(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>); R<sup>2</sup> está seleccionado del grupo de radicales que consiste en hidrógeno (hidrido; -H), -C(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>); o, alternativamente, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se combinan para formar un radical divalente cíclico representado por la siguiente estructura (ftalilo):

65

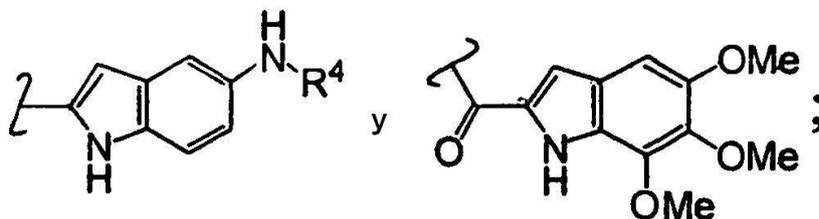
5



y  $R^3$  está seleccionado del grupo que consiste en los siguientes radicales:

10

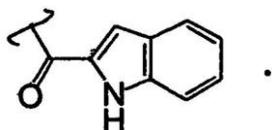
15



20 en las que:

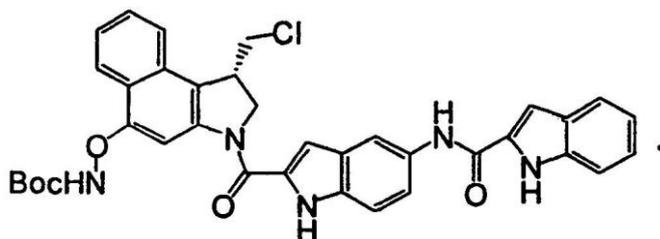
$R^4$  es

25



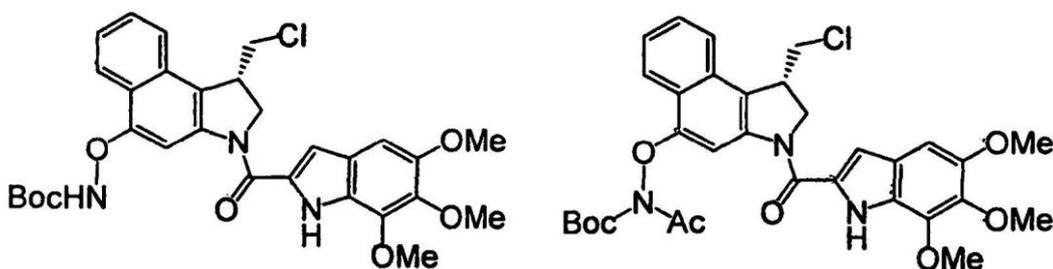
30 Compuestos particularmente preferidos incluyen aquellos con las siguientes fórmulas estructurales:

35



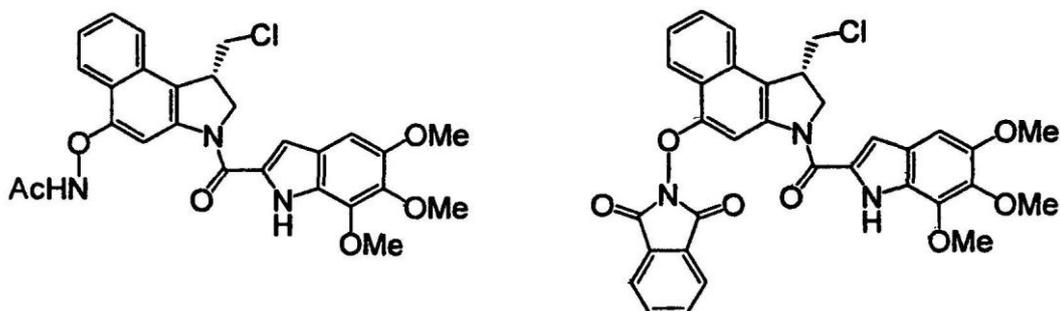
40

45



50

55



60

65 También se contempla un compuesto de fórmula I para su uso en un procedimiento para tratar una enfermedad proliferativa tal como un cáncer o leucemia en un mamífero. Según ese procedimiento, una cantidad eficaz de un

compuesto de fórmula I tal como uno de los cinco compuestos mostrados inmediatamente anteriormente se administra a un mamífero en necesidad del mismo. En otro aspecto más se contempla el uso de un compuesto de fórmula I en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad proliferativa tal como cáncer o leucemia.

5 Se observa que en las fórmulas estructurales utilizadas en el presente documento una línea ondulada indica un enlace químico con un átomo representado. También se observa que para mejorar la capacidad de lectura y minimizar la duplicación de apariencia, cualquier combinación de elementos estructurales descritos ampliamente puede estar presente en una realización específica, a menos que se establezca de otro modo.

## 10 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

En los dibujos que forman una parte de esta divulgación,

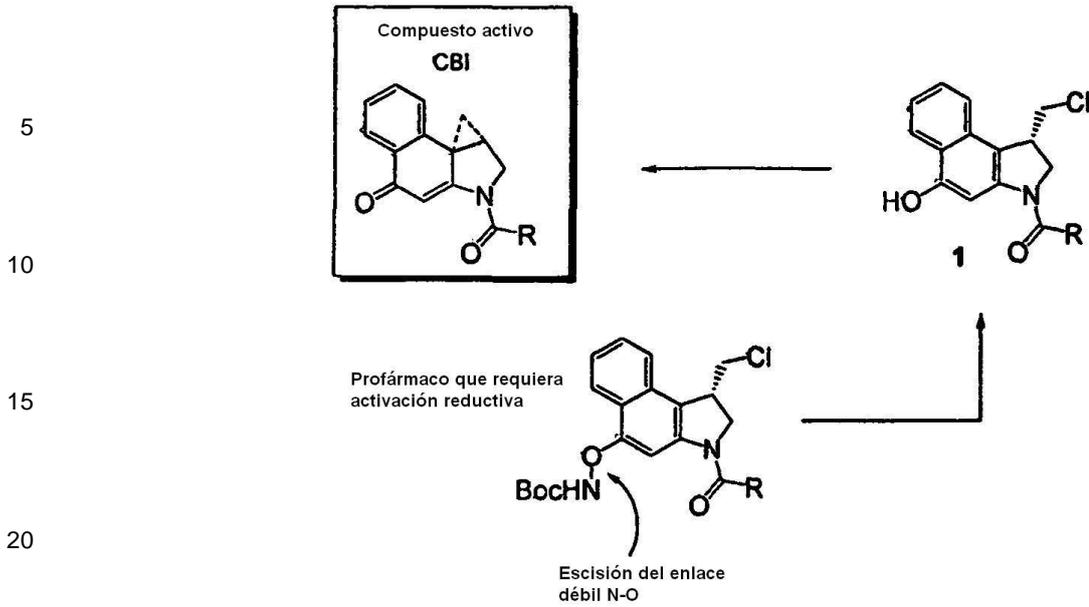
15 la Figura 1 ilustra los resultados de un gel de electroforesis con 8% de PAGE desnaturizante y autorradiografía. Escisión de hebras térmicamente inducidas de ADN de w794; incubación de agente de ADN a 4 °C durante 18 horas, eliminación de agente sin unir por precipitación con EtOH, y 30 minutos de termólisis (100 °C) seguido de 8% de PAGE desnaturizante y autorradiografía. Carril 1, ADN de control; carriles 2-5, reacciones de secuenciación de G, C, A y T de Sanger; carriles 6-8, **2** ( $1 \times 10^{-4}$  a  $1 \times 10^{-6}$ ); carriles 9-11, **10** ( $1 \times 10^{-1}$  a  $1 \times 10^{-3}$ ); carriles 12-14, **4** ( $1 \times 10^{-1}$  a  $1 \times 10^{-3}$ ), carriles 15-17, **9** ( $1 \times 10^{-1}$  a  $1 \times 10^{-3}$ ). Todos los compuestos poseen la configuración natural 1S. Se encontró que el agente 4 reductoramente activado alquilaba ADN de w794 con una selectividad por secuencia idéntica al del agente CBI-TMI parental (**2**), no obstante con una eficiencia sustancialmente reducida (1.000-10.000 veces). Similarmente, el éter O-metilico **10**, además de **9**, que carece de un sustituyente en C4 fracasó en presentar alquilación de ADN observable significativa.

## 25 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

30 Se desvela un conjunto novedoso de profármacos de fenol reductoramente activados de la clase de CC-1065 y duocarmicina de compuestos. Estos compuestos no requieren liberación enzimática y son ilustrativos de otros fármacos fenólicos que pueden beneficiarse de una activación diseñada tal. Esfuerzos alternativos y previos en la incorporación de una activación reductora en la clase de CC-1065 y duocarmicina incluyen las divulgaciones de Denny de precursores de nitro para variantes de arilamina de los precursores de fenol (Hay, M. P. y col. J. Med. Chem. 2003, 46, 5533; Tercel, M. y col. J. Med. Chem. 2003, 46, 2132; Gieseg, M. A. y col. Anti-Cancer Drug Design 1999, 14, 77; Hay, M. P. y col. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1999, 9, 2237; Atwell, G. J. y col. J. Med. Chem. 1999, 42, 3400; Atwell, G. J. y col. J. Org. Chem. 1998, 63, 9414; Atwell, G. J. y col. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1997, 7, 1493), el uso de Lee de un éster sometido a escisión tras reducción de quinona unida (Townes, H. y col. Med. Chem. Res. 2002, 11, 248), y un informe de precursores de quinona similares a mitomicina para una o-espirociclación reductoramente activada (frente a p-espirociclación) análogos a aquellos observados con las duocarmicinas o sus análogos (Boger, D. L.; Garbaccio, R. M. J. Org. Chem. 1999, 69, 8350).

40 Aunque los enfoques han proporcionado algunos aumentos en la selectividad resultante de activación reductora, ningún enfoque que se observó con mitomicina y ninguno utiliza eficazmente o claramente una actividad enzimática intrínseca que diferenciara células normales frente a tumorales. En particular, puede ser la facilidad de la reoxidación de mitomicina hidroquinona a la quinona en células normales la que las protege de los efectos del fármaco, que se produce menos fácilmente en tumores hipóxicos.

45 A continuación se muestran la estructura de CBI (1,2,9,9a-tetrahidrociclopropa[c]benz[oi]ndol-4-ona) y su precursor **1** en la que R es precisamente la porción de unión de ADN de la molécula junto con su precursor, el derivado de O-aminofenol o profármaco que requiere activación reductora por escisión del enlace N-O. Los compuestos de CBI son más accesibles que los productos naturales, todavía indistinguibles en su selectividad de alquilación de ADN (Boger, D. L.; Munk, S. A. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 5487). Además, los derivados de CBI demostraron ser cuatro veces más estables y, correspondientemente, cuatro veces más potentes que los derivados que llevan la subunidad de alquilación CC-1065 (7-MeCPI) que se aproxima a la estabilidad y potencia de derivados de duocarmicina SA y yatakemicina, y presentan actividad antitumoral *in vivo* eficaz en modelos animales a dosis que reflejan esta potencia. Por consiguiente, CBI y sus derivados han sido el objetivo de mucho desarrollo, además de los análogos prototipo en los que se han explorado, desarrollado o introducido nuevos conceptos de diseño, que incluye la presente invención.

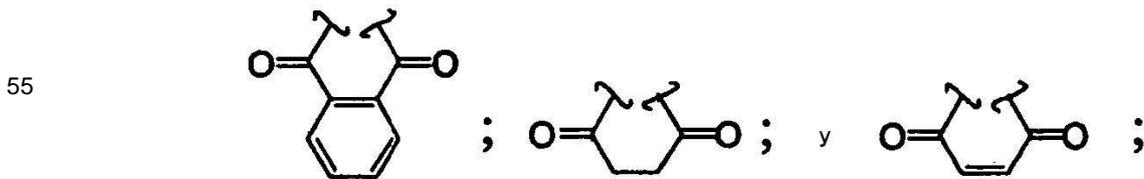


25 El enfoque detallado en el presente documento no se diseñó para activación reductora enzimática, sino para activación por escisión de un débil enlace N-O que reduce nucleófilos. Siendo la previsión de este enfoque que células tumorales hipóxicas, con su mayor capacidad reductora, contengan una concentración intrínsecamente mayor de nucleófilos "reductores" (es decir, tioles) que pueden activar tales derivados que los hacen más sensibles al tratamiento con profármaco (Wolkenberg, S. E.; Boger, D. L. Chem. Rev. 2002, 102, 2477. Reviews on reductive activation: Papadopoulou, M. V.; Bloomer, W. D. Drugs Future 2004, 29, 807; Jaffar, M.; Stratford, I. J. Exp. Opin. Ther. Patents 1999, 9, 1371; Patterson, L. H.; Raleigh, S. M. Biomed. Health Res. 1998, 25, 72). Además, como se detalla más adelante, el diseño se presta a un ajuste racional de la facilidad de reducción del derivado que permite la experiencia empírica con las series para guiar el futuro diseño.

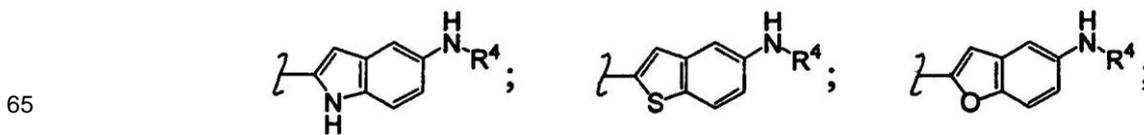
35 Un compuesto contemplado de la invención es un derivado de N-ácil-O-amino-CBI que se representa por la fórmula I:

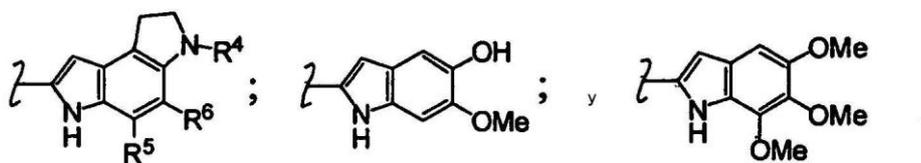


50 En la fórmula I, R<sup>1</sup> está seleccionado del grupo de radicales que consiste en -C(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), -C(O)(alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)O(alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) y -C(O)arilo. R<sup>2</sup> está seleccionado del grupo de radicales que consiste en hidrógeno, -C(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), -C(O)(alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) y -C(O)O(alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>). Provisionalmente, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se combinan para formar una estructura cíclica seleccionada del grupo que consiste en radicales divalentes representados del siguiente modo:

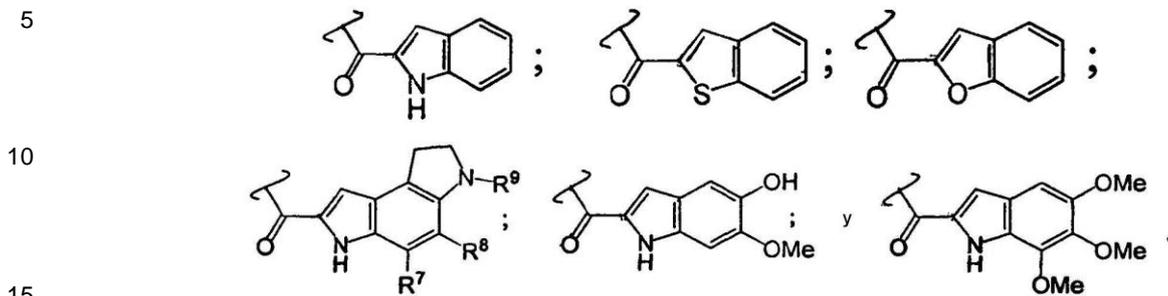


60 R<sup>3</sup> en la fórmula I está seleccionado de grupo que consiste en radicales representados del siguiente modo:





en las que R<sup>4</sup> está seleccionado de grupo que consiste en radicales representados del siguiente modo:



R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> en las fórmulas estructurales anteriores están seleccionados cada uno independientemente del grupo de radicales que consiste en -H, -OH, -O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y halógeno. R<sup>9</sup> de una fórmula anterior está seleccionado del grupo de radicales que consiste en -H, -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)NH<sub>2</sub>, -C(O)NHNH y -C(O)NHNHC(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).

En cualquiera de las fórmulas en el presente documento, el término "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" indica un radical de cadena lineal o ramificado tal como un grupo metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, amilo, terc-amilo, hexilo y similares.

El término "alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>" indica un radical tal como un grupo vinilo, alilo, 2-butenilo, 3-butenilo, 2-pentenilo, 3-pentenilo, 4-pentenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 4-hexenilo, 5-hexenilo y similares, además de dienos y trienos de cadenas lineales y ramificadas que contienen hasta seis átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono a carbono (etilénico).

El término "halógeno" incluye flúor, cloro, bromo y yodo, siendo cloro el preferido.

El término "arilo" pretende incluir un radical aromático monocíclico o dicíclico que contiene 5 a 10 átomos en el sistema de anillo y cero, uno o tres átomos distintos de carbono en los anillos. Los átomos distintos de carbono pueden seleccionarse de oxígeno, nitrógeno y azufre. Radicales arilo ilustrativos incluyen fenilo, 1- y 2-naftilo, piridilo, pirazinilo, pirimidilo, imidazilo, tiofenilo, furanilo, pirrolilo, 1,3,5-triazinilo, 1,2,4-triazinilo y 1,2,3-triazinilo, quinazolinilo, quinolinilo, sus diversos isómeros de posición, y similares.

### Composiciones farmacéuticas y procedimientos de tratamiento

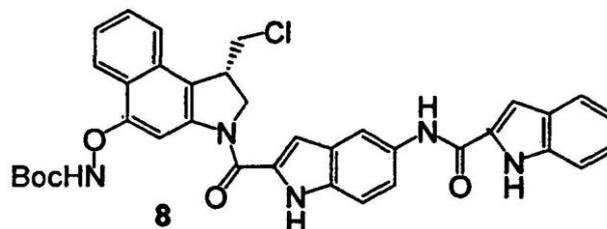
También se contempla una composición farmacéutica para tratar una enfermedad proliferativa tal como un cáncer o leucemia en un mamífero. Una composición tal contiene una cantidad farmacéuticamente eficaz de una molécula anteriormente tratada de fórmula I disuelta o dispersa en un diluyente farmacéuticamente aceptable.

Un compuesto de fórmula I contemplado puede usarse en una composición farmacéutica para tratar y preferentemente destruir células cancerosas o células de otra enfermedad proliferativa tales como leucemia *in vitro* o *in vivo* en un sujeto mamífero. Así, una composición anterior se pone en contacto con las células que van a tratarse. Las células así tratadas se mantienen en contacto con un compuesto de fórmula I hasta que son eliminadas por el cuerpo cuando es un estudio *in vivo*, o diversas veces, según se desee, en un estudio *in vitro*. El tratamiento se repite generalmente varias veces.

Un mamífero al que se administra un compuesto de composición de fórmula I puede ser un primate tal como un ser humano, un simio superior tal como un chimpancé o gorila, un mono tal como un mono cinomolgo o un macaco, un animal de laboratorio tal como una rata, ratón o conejo, un animal de compañía tal como un perro, gato, caballo, o una animal para alimentos tal como una vaca o cabestro, oveja, cordero, cerdo, cabra, llama o similares en necesidad de tratamiento para una afección cancerosa.

Una composición contemplada se administra a un mamífero en necesidad de la medicación a un nivel de dosificación eficaz proliferativa. Ese nivel es normalmente una cantidad suficiente que proporciona aproximadamente 10 a aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal al plasma o suero del receptor, usando el peso molecular del propio Compuesto 8 de profármaco tipo duocarmicina activada por escisión como base para el cálculo en vista de

los



15 diferentes pesos moleculares de los otros compuestos de profármaco contemplados en el presente documento. La cantidad puede variar dependiendo del receptor y carga de células proliferativas. Aquellas concentraciones en plasma o en suero pueden normalmente obtenerse por administración i.v. usando una forma líquida de dosificación que contiene aproximadamente 200 mg a aproximadamente 1000 mg de compuesto de quimera por día. La determinación de dosificaciones óptimas para una situación particular está dentro de la habilidad de la materia.

20 Un compuesto de composición de fórmula I se administra repetidamente, en un programa adaptado para una carga y necesidad de cáncer del receptor, como es muy conocido en la técnica. Administraciones típicas se administran múltiples veces dentro de un periodo de tiempo de un mes, normalmente seguido de un periodo de descanso y luego posteriores administraciones y periodos de descanso hasta que el receptor esté libre de la enfermedad, o más tiempo para fines profilácticos.

25 Para preparar composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de quimera de la invención se usa un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable inerte. El diluyente está normalmente en forma líquida.

30 Composiciones farmacéuticas líquidas incluyen, por ejemplo, disoluciones adecuadas para administración parenteral. Disoluciones de agua estéril de la quimera activa o disoluciones estériles del componente activo en disolventes que comprenden agua, etanol o propilenglicol son ejemplos de composiciones líquidas adecuadas para administración parenteral.

35 Las disoluciones estériles pueden prepararse disolviendo el componente activo en el sistema de disolventes deseado, y luego pasando la disolución resultante a través de un filtro de membrana para esterilizarla o, alternativamente, disolviendo el compuesto estéril en un disolvente previamente esterilizado bajo condiciones estériles.

40 Preferentemente, la composición farmacéutica está en forma de dosificación unitaria. En tal forma, la composición se divide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas de la urea activa. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el envase cantidades discretas de la preparación, por ejemplo, en viales o ampollas.

### Síntesis química

45 Se examinaron una gama de procedimientos para la conversión directa de un fenol precursor en el O-aminofenol correspondiente (O-amidación) y se explotaron varias vías para los compuestos finales. Se anticipó que esto podría realizarse mejor en un derivado de seco-N-Boc-CBI que carece de las capacidades de espirociclación (por ejemplo, 11). Sin embargo, la inestabilidad de los derivados de N-acil-O-aminofenol resultantes a posteriores transformaciones químicas demostró ser significativa y este enfoque demostró ser menos viable que una reacción de O-amidación directa sorprendentemente eficaz de seco-CBI-TMI o seco-CBI-indol<sub>2</sub>.

50 Los Esquemas 1A y 1B, a continuación, muestran la síntesis de los N-acil-O-aminofenoles directamente a partir de los precursores 2 y 3. Así, la desprotonación de fenol a baja temperatura de 2 (3 equiv de LiHMDS, 0 °C, éter-dioxano), seguido de tratamiento con los reactivos amidantes TsONHBoc (Greck, C. y col. Bull. Soc. Chim. Fr. 1994, 131, 429) o TsONPhth (Neumann, U.; Gütschow, M. J. Biol. Chem. 1994, 269, 21561) proporcionó 4 y 8 directamente con buenas conversiones. La espirociclación competitiva de 2 al propio CBI-TMI se observó si la desprotonación se llevó a cabo a mayores temperaturas de reacción o en disolventes más polares. Disminuyó a medida que se redujo la polaridad del disolvente (glima > THF > dioxano-éter > éter, insoluble) y fue menos importante con LiHMDS frente a NaHMDS.

60 En la mayoría de los casos, el fenol de partida recuperado estuvo presente en el producto de reacción en bruto y fue suficiente cromatográficamente próximo a los N-acil-O-aminofenoles ya que se tomaron precauciones especiales para garantizar su eliminación. Esto implicó la exposición de la mezcla de producto a condiciones que promueven la espirociclación deliberada de los derivados de seco-fenol [NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado-THF (1:1), 23 °C, 2 horas (h)] y posterior separación cromatográfica del CBI-TMI o CBI-indol<sub>2</sub> mucho más polar. La N-acetilación de 4 (Ac<sub>2</sub>O, DMAP cat., CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 23 °C, 12 h, 81%) proporcionó 6 y la posterior desprotección de Boc (TFA-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1), 23 °C, 3 horas, 88%) dio 5. De una manera análoga, seco-CBI-indol<sub>2</sub> (3) se convirtió directamente en 8 (45%) tras la

desprotonación con LiHMDS (3 equiv de LiHMDS, éter-dioxano, 0 °C, 30 minutos) y posterior O-amidación con TsONHBoc (Greck, C. y col. Bull. Soc. Chim. Fr. 1994, 131, 429).

## Esquema 1A

5

10

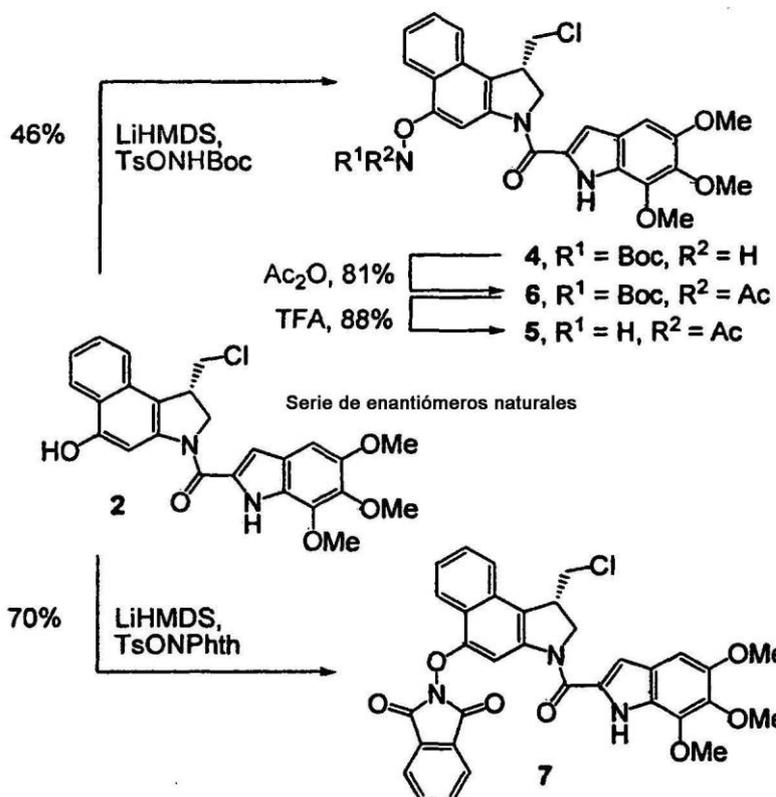
15

20

25

30

35



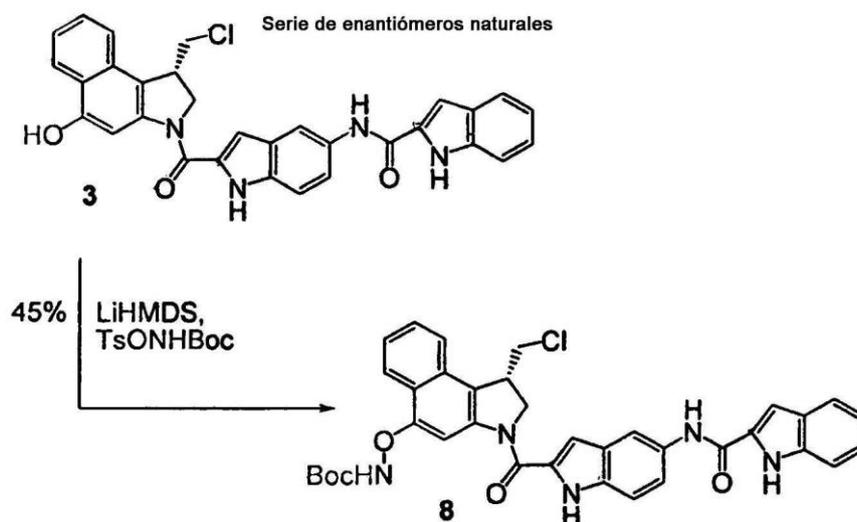
## Esquema 1B

40

45

50

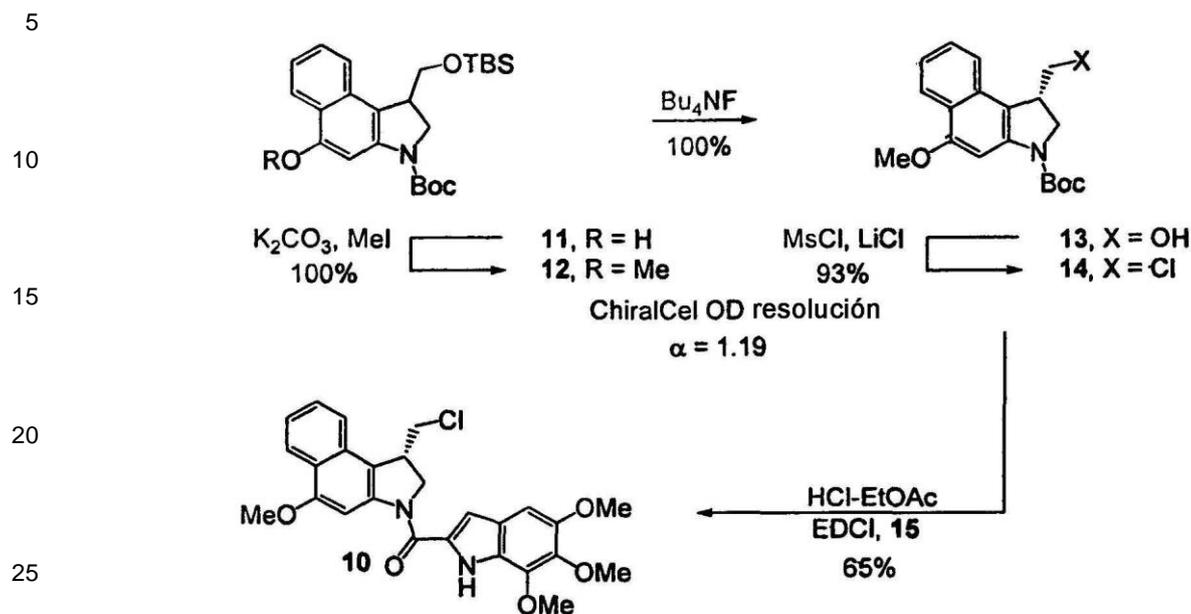
55



Para fines de comparación se prepararon dos análogos de seco-CBI-TMI que fueron incapaces de espirociclación con el propio CBI-TMI. El primero incorpora el fenol en C4 protegido como su éter metílico (10) y el segundo no contiene sustituyente en C4 (9). El primero se preparó a partir de 11 (Kastrinsky, D. B.; Boger, D. L. J. Org. Chem. 2004, 69, 2284) por O-metilación de fenol, desprotección de OTBS de alcohol primario y posterior conversión en el cloruro 14 primario, seguido de desprotección de N-Boc y acoplamiento con ácido 5,6,7-trimetoxiindol-2-carboxílico (15) proporcionando 10. Véase el Esquema 2, a continuación.

65

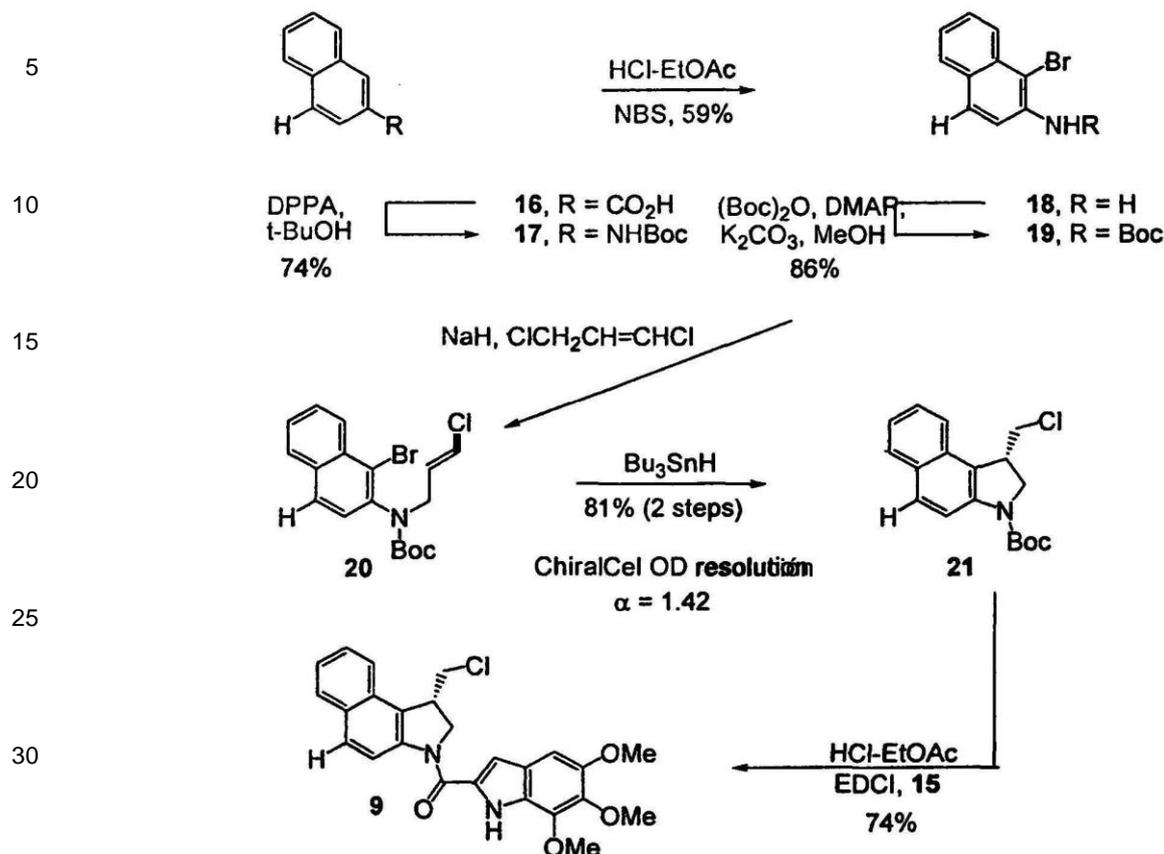
## Esquema 2



En toda esta secuencia y como resultado de las múltiples purificaciones, las posibilidades de que el fenol contaminante residual (**2**) esté presente en el producto final **10** son remotas. Sin embargo, debido a que incluso pueden detectarse engañosamente cantidades traza de **2** en las posteriores evaluaciones biológicas (por ejemplo, 0,01%), el análogo inactivo **9** también se preparó para comparación y por un enfoque que excluye la presencia de un fenol contaminante tal debido a que no hay funcionalidad en C-4 en el material de partida **16**.

Así, tras una ruta análoga a la usada para el propio CBI (Boger, D. L. y col. J. Org. Chem. 1992, 57, 2873; Boger, D. L.; McKie, J. A. J. Org. Chem. 1995, 60, 1271; Drost, K. J.; Cava, M. P. J. Org. Chem. 1991, 56, 2240; Aristoff, P. A.; Johnson, P. D. J. Org. Chem. 1992, 57, 6234; Mohamadi, F. y col. J. Med. Chem. 1994, 37, 232; Ling, L. y col. Heterocyclic Commun. 1997, 3, 405; Boger, D. L. y col. Synlett 1997, 515; Boger, D. L. y col. Tetrahedron Lett. 1998, 39, 2227; Kastrinsky, D. B.; Boger, D. L. J. Org. Chem. 2004, 69, 2284), **20** se preparó a partir de **16** y se convirtió en **21** empleando una ciclación de 5-*exo-trig*-radical arilo-alqueno clave (Boger, D. L. y col. Tetrahedron Lett. 1998, 39, 2227). Véase el Esquema 3, a continuación, que también ilustra la síntesis del análogo de CBI-TMI, **9**.

## Esquema 3



35 El compuesto **20** se convirtió en **21** empleando una ciclación de 5-*exo-trig*-radical arilo-alqueno clave (Boger, D. L. y col. Tetrahedron Lett. 1998, 39, 2227). El producto **21**, al igual que **14** ( $\alpha = 1,19$ ), se resolvió cromatográficamente en una columna ChiralCel OD semipreparativa ( $\alpha = 1,42$ ) proporcionando cada enantiómero, y **21** se acopló con ácido 5,6,7-trimetoxiindol-2-carboxílico (**15**) tras la desprotección de N-Boc proporcionando **9**.

40 Estabilidad y reactividad de los derivados de *N*-acil-*O*-aminofenol

45 Evidente de los esfuerzos dirigidos a su preparación, los profármacos de *N*-acilaminofenol mostraron un intervalo de estabilidad útil, aunque fueron susceptibles a escisión del enlace N-O crítico. Como podría anticiparse, su estabilidad relativa siguió el orden de **4** > **5** > **6** > **7** resistiendo **4** y **5** eficazmente incluso almacenamiento a largo plazo, pero deteriorándose **7** visiblemente con el tiempo. Los derivados **4** y **6**, además de **7**, demostraron ser sorprendentemente robustos a condiciones ácidas (TFA-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, HCl-EtOAc 4 N), y estables a tratamiento con base suave en disolventes apróticos no polares (Et<sub>3</sub>N o DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), pero presentaron una estabilidad reducida a medida que aumentaba la polaridad del disolvente: estable a NaHCO<sub>3</sub> en THF o THF-H<sub>2</sub>O, pero se escindió en NaHCO<sub>3</sub>/DMF-H<sub>2</sub>O o H<sub>2</sub>O y DBU/CH<sub>3</sub>CN. Similarmente, **4** demostró ser estable en MeOH, pero **2** se liberó lentamente tras el tratamiento con NaHCO<sub>3</sub> o Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en MeOH (2 horas, 23 °C). Lo más apropiado a la posible fuente de escisión bajo condiciones fisiológicas, **4** fue estable al tratamiento con BnSH en THF (2-72 horas, 23 °C) o MeOH (2-72 horas, 23 °C), y estable al tratamiento con BnSH en THF incluso en presencia de NaHCO<sub>3</sub> insoluble (2 horas, 23 °C), pero se escinde para liberar **2** tras el tratamiento con BnSH en MeOH en presencia de NaHCO<sub>3</sub> (2 horas, 23 °C). Significativamente, la estabilidad de **4** se evaluó en tampón fosfato a pH 7,0 y dentro de los límites de detección (HPLC, UV) no se observó escisión significativa del profármaco con el tiempo monitorizado (72 horas). La estabilidad de **4** se monitorizó en plasma humano (50 µg/100 µl, 10% de DMSO) en el que mostró una semivida de 3 horas con liberación del fármaco **2** libre.

60 Propiedades biológicas

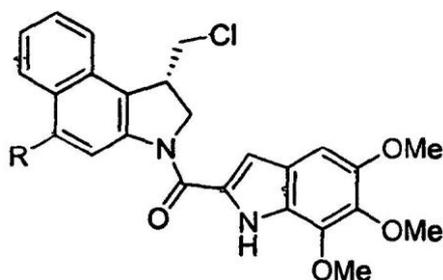
60 Actividad citotóxica

65 Los derivados de *O*-aminofenol que llevan los enlaces de profármaco N-O y los diversos sustituyentes de *N*-acilo se ensayaron para actividad citotóxica junto a los fármacos parentales CBI-TMI (**2**) (Boger, D. L.; Yun, W. J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 7996) y mitomicina C (Boger, D. L. y col. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1991, 1, 115; Boger, D. L. y col. Bioorg. Med. Chem. 1995, 3, 1429), además de los dos patrones **9** y **10** de control incapaces de liberar

fenol libre. Se examinaron tres líneas celulares que incluyen una línea celular L1210 convencional (leucemia de ratón), además de las líneas celulares de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) sensibles a mitomicina (H460, expresa altos niveles de DT-diaforasa) y resistentes (H596, carece de DT-diaforasa), con resultados mostrados en la siguiente tabla.

5

Series de enantiómeros naturales



10

15

20

25

30

Compd, R	IC <sub>50</sub> (nM)		
	L1210	H460	H596
mitomycin C	40	20	5000
<b>9</b> , H	>100	>100	>100
<b>10</b> , OMe	50	>100	>100
<b>2</b> , OH	0.04	0.5	5
<b>4</b> , ONHBoc	0.5	1	6
<b>5</b> , ONHAc	0.3	0.7	7
<b>6</b> , ON(Ac)Boc	0.2	0.6	5
<b>7</b> , ONPhth	0.06	0.5	5

35

Aparecieron varias tendencias importantes de estos estudios. Primero, los patrones **9** y **10** de control de enantiómeros naturales, incapaces de liberar fenol libre, fueron inactivos contra las tres líneas celulares (IC<sub>50</sub> >100 nM) que eran  $\geq 10.000$  veces menos activas que el fármaco **2** libre (seco-CBI-TMI). En profundo contraste, los enantiómeros naturales de los profármacos de *O*-aminofenol presentaron potente actividad citotóxica que se aproximaba a la del propio fármaco libre (1-0,1 veces la actividad de **2**) que indica su liberación satisfactoria bajo las condiciones de ensayo.

40

45

Incluso más significativamente, la potencia relativa de los profármacos, cuando era distinguible, refleja la facilidad esperada de la escisión del enlace N-O (por ejemplo, L1210: **7** > **6** > **5** > **4**) sugiriendo que pueden usarse principios químicos fundamentales para "ajustar" la liberación de fármaco libre reductor. Provocativamente, las diferencias de potencia entre el fármaco libre **2** y los profármacos disminuyen a medida que aumenta el carácter hipóxico de la línea celular; **4** es 10 veces menos potente que **2** contra L1210, pero **2** y **4** son esencialmente equipotentes contra H460/H596.

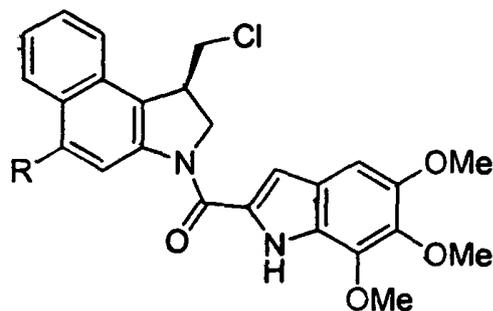
50

Más significativamente y a diferencia de la mitomicina C, esta activación reductora no está ligada a los niveles de expresión de DT-diaforasa debido a que **2** y **4-7** siguen siendo equipotentes en las líneas celulares H460 o H596, aunque H596 es 10 veces menos sensible que H460 al propio seco-CBI-TMI. Este resultado ilustra que DT-diaforasa no está mediando en la liberación reductora del fármaco de los profármacos de *O*-aminofenol, que indica que su utilidad es ortogonal a la de la mitomicina. Más bien, su comportamiento está de acuerdo con la sugerencia de que la activación no es enzimática y probablemente está mediada *in situ* por nucleófilos apropiados.

55

También se observan tendencias análogas con los enantiómeros no naturales de CBI-TMI, sin embargo a concentraciones que son aproximadamente 100 a 1000 veces superiores a las de los enantiómeros naturales como se observa en la siguiente tabla.

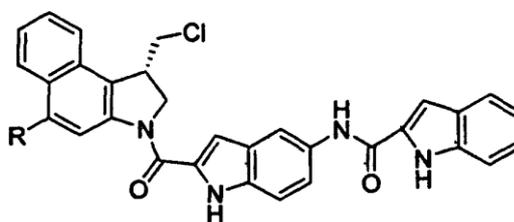
## Serie de enantiómeros no naturales



Compd, R	IC <sub>50</sub> (nM)		
	L1210	H460	H596
mitomycin C	40	20	5000
<b>9</b> , H	900	5500	>10000
<b>10</b> , OMe	800	5000	>100 00
<b>2</b> , OH	5	50	300
<b>4</b> , ONHBoc	160	900	6400
<b>5</b> , ONHAc	100	700	6300
<b>6</b> , ON(Ac)Boc	70	600	6300
<b>7</b> , ONPhth	60	600	6000

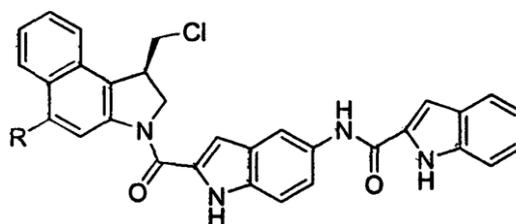
Especialmente interesante y fascinantes fue el comportamiento del profármaco de CBI-indol<sub>2</sub>. Para este análogo de CBI, solo el derivado de NHBoc se examinó debido a que era el más estable de los profármacos de *N*-acil-*O*-aminofenol examinados como se observa a partir de los siguientes datos.

## Serie de enantiómeros naturales



Compd, R	IC <sub>50</sub> (nM)		
	L1210	H460	H596
mitomycin C	40	20	5000
<b>3</b> , OH	0.03	0.2	2
<b>8</b> , ONHBoc	0.04	0.3	4

## Serie de enantiómeros no naturales



Compd, R	IC <sub>50</sub> (nM)		
	L1210	H460	H596
mitomycin C	40	20	5000
<b>3</b> ,OH	0.7	6	40
<b>8</b> , ONHBoc	2	10	60

En cada línea celular examinada, el profármaco **8** fue esencialmente equipotente con el propio CBI-indol<sub>2</sub> (**3**), que indica liberación eficaz del fármaco libre en las condiciones de ensayo. Además, el profármaco **8** demostró ser excepcionalmente potente, siendo 100-1000 veces más activo que la mitomicina C (CI<sub>50</sub> = 30-200 pM frente a 20-40 nM) y siguió siendo sorprendentemente activo contra la línea celular H596 resistente a mitomicina (CI<sub>50</sub> = 4 nM frente a 5 μM). Incluso el enantiómero no natural del profármaco **8**, que se encontró que era 10-100 veces menos activo que el enantiómero natural, demostró ser más activo que la mitomicina C. Dada la eficacia de (+)-CBI-indol<sub>2</sub> en modelos de tumor animal (Boger, D. L.; Ishizaki, T.; Sakya, S. M.; Munk, S. A.; Kitos, P. A.; Jin, Q.; Besterman, J. M. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1991, 1, 115; Boger, D. L.; Yun, W.; Han, N. Bioorg. Med. Chem. 1995, 3, 1429), fue especialmente interesante comparar **8** con **3** *in vivo*.

## Selectividad y eficiencia de alquilación de ADN

Las propiedades de alquilación de ADN de **4** se examinaron junto con el fármaco parental CBI-TMI (**2**), y los dos patrones **9** y **10** de control (incapaces de espirociclación) dentro del ADN de dúplex de w794 (Boger, D. L. y col. Tetrahedron 1991, 47, 2661) para los que se han informado resultados para una amplia serie de análogos de duocarmicina. Los sitios de alquilación de ADN y su eficiencia se evaluaron directamente por escisión de hebra de ADN de dúplex marcado en el extremo 5' individualmente térmicamente inducida tras la incubación con los agentes (Figura 8, enantiómeros naturales examinados).

Se encontró que el agente **4** reductoramente activado alquilaba ADN de w794 con una selectividad de secuencia idéntica al del agente parental CBI-TMI (**2**), sin embargo con una eficiencia sustancialmente reducida (1.000-10.000 veces). Similarmente, el éter O-metilico **10**, además de **9**, que carece de un sustituyente en C4 dejó de presentar alquilación de ADN observable significativa. En realidad, **9** no mostró alquilación de ADN apreciable incluso bajo condiciones forzadas (37 °C, 18 horas, datos no mostrados), mientras que el éter O-metilico **10** posiblemente más reactivo (mediante formación de iones de fenonio asistida) mostró quizás una cantidad traza de alquilación de ADN (<0,01% que de **2**) que podría atribuirse a tanto su alquilación de ADN directa, pero mucho menos fácil, como a fenol libre contaminante presente en la muestra sintética de **10**.

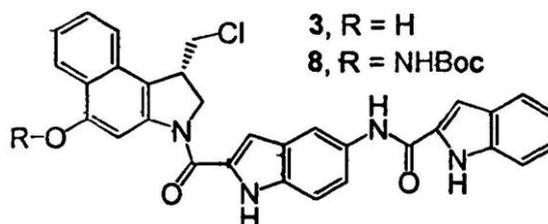
Con detección de alquilación de ADN por el profármaco **4** al nivel observado (0,1-0,01% de **2**), no puede distinguirse si esto es debido o no a dirigir la alquilación por el propio **4**, liberación de trazas de **2** de **4** bajo las condiciones de incubación de ADN (escisión de N-O *in situ*), o atribuible a contaminante **2** traza en las muestras sintéticas de **4**. Lo que los resultados indican es que **4** es incapaz de alquilación de ADN significativa en su propio derecho (requiere escisión del enlace N-O), y que **4** es esencialmente estable para las condiciones de alquilación de ADN examinadas que requieren escisión del enlace N-O deliberada para iniciar alquilación de ADN eficaz. Estas observaciones están de acuerdo con la estabilidad de **4** observada en tampón fosfato a pH 7,0. Significativamente, los resultados sugieren entonces que la actividad citotóxica *in vitro* de **4**, y por analogía, la de los profármacos de O-aminofenol relacionados, que todas se aproximan a la del fármaco parental CBI-TMI (**2**), se deriva de escisión intracelular *in situ* del enlace NO y liberación productiva del fármaco activo bajo las condiciones de cultivo celular.

Actividad antitumoral *in vivo*

El profármaco **8** se examinó para eficacia *in vivo* junto con el fármaco parental **3** en un modelo antitumoral convencional que utiliza leucemia murina L1210 implantada i.p. en ratones DBA/2J. Se ha informado que este modelo responde bien a los fármacos parentales de compuestos relacionados (Li, L. H. y col. Invest. New Drugs 1991, 9, 137) y es un sistema que han usado los colaboradores a lo largo de los años para evaluar una amplia serie

de análogos de (+)-CBI-indol<sub>2</sub>. Aunque no está publicado, estos últimos estudios proporcionaron los cimientos sobre los que se basa el examen de **8**.

Con uso del intervalo de dosis (10-100 µg/kg) y el programa de dosificación (administrado tres veces i.p. en los días 1, 5 y 9) encontrado adecuado para fármacos parentales relacionados que incluyen (+)-CBI-indol<sub>2</sub> (**3**) (Boger, D. L. y col. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1991, 1, 115; Boger, D. L. y col. Bioorg. Med. Chem. 1995, 3, 1429), el profármaco **8** se examinó como se muestra en la siguiente tabla.



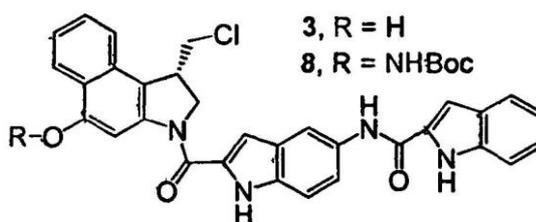
Compuesto	Dosis µg/Kg	Periodo de supervivencia medio (MSP) (Días)	Tratado/control (MSPx100)	Ratones sobrevivientes
ninguno	0	20	100	0/6
8	10	25	120	0/6
8	30	>145	>730	2/6
8	100	>310	>1550	5/6
3	10	34	170	0/6
3	30	>115	>580	1/6
3	100	125	625	0/6

La dosis a la que se observó la máxima respuesta para **8** se correspondió estrechamente con la de (+)-CBI-indol<sub>2</sub> (**3**) mientras que su eficacia mejoró significativamente. Este resultado indica que el profármaco **8** (a) libera eficientemente y eficazmente el fármaco libre **3** en el modelo *in vivo* (activación reductora), y (b) que tanto la tasa de liberación como el sitio de liberación potencian la eficacia del fármaco. Además, la eficacia de **8** es extraordinaria proporcionando 5/6 supervivientes a largo plazo a las 52 semanas (365 días, T/C >1550) a la dosificación óptima examinada (100 µg/kg). En particular, se observó poca distinción entre **3** y **8** en los días 30-100, excepto que los animales tratados con el profármaco parecieron más sanos, presentando poca o ninguna pérdida de peso que fuera evidente con **3** a la mayor dosificación.

Con la gestión prolongada de los animales tratados en el presente documento que superaba el marco de tiempo normalmente asignado para una evaluación antitumoral *in vivo* tal, se observó que los ratones supervivientes en el día 90 tratados con el fármaco libre **3**, pero no con el profármaco **8**, murieron eventualmente debido a complicaciones relacionadas con el fármaco (esto parece producirse a partir de la lesión a la cavidad intraperitoneal o sus órganos que se originan con la administración del bolo de fármaco). Aunque estos efectos de la administración serían probablemente capaces de ser gestionados con un programa de dosificación optimizado, esta distinción entre **3** y **8** en las curas a largo plazo (>90 días) sugieren que el profármaco **8** ofrece ventajas significativas con respecto a la administración libre de fármaco.

También merece la pena que estos compuestos sean extraordinariamente potentes, requiriendo menos de 1 mg de muestra para realizar la prueba antitumoral *in vivo* entera, sugiriendo que los suministros clínicos de tales agentes podrían suministrarse fácilmente por síntesis química.

Confirmando estas observaciones, una evaluación antitumoral análoga se llevó a cabo independientemente en un segundo sitio que utiliza un protocolo ligeramente diferente y más riguroso para la administración de fármacos (DMSO puro frente a 30% de DMSO en 0,1% de glucosa). Aunque esta evaluación se terminó después de 120 días, indica similarmente que la administración del profármaco **8** es significativamente menos tóxica que el fármaco libre **3**, y que es comparable o superior en términos de reducir muertes debido a la enfermedad, cifras de tumores y volumen tumoral como se observa de la siguiente tabla. De nuevo, se observaron 7/10 supervivientes a largo plazo con el profármaco **8** en el día 120 a la dosificación óptima (60 µg/kg).



10

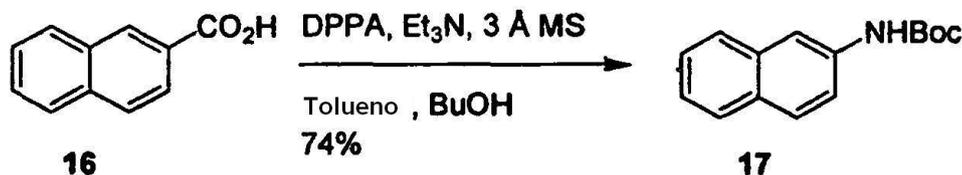
Compuesto	Dosis µg/Kg	Periodo de supervivencia medio (MSP) (Días)	Tratado/control (MSPx100)	Ratones sobrevivientes
ninguno	0	22	100	0/10
8	10	>46	>210	2/10
8	30	>51	>232	2/10
15	8	60	>93	7/10
8	100	>63	>288	3/10
3	10	>60	>271	3/10
3	30	>65	>395	3/10
20	3	60	>324	3/10
3	100	11	52	0/10

25 En la tabla anterior, la segunda columna es la dosis en mg/kg de peso corporal del animal que se administra i.p. (en la cavidad intraperitoneal) en los días 1, 5 y 9. Los ratones supervivientes son el número de ratones que están todavía vivos después de 120 días y el experimento se terminó entonces.

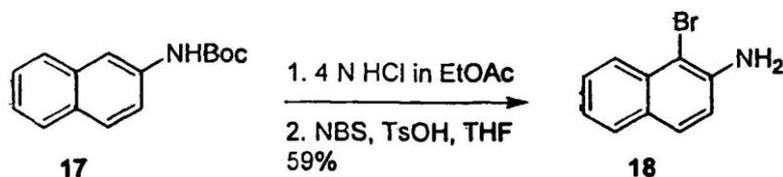
#### Parte experimental

#### Selectividad y eficiencia de la alquilación de ADN

30 Las reacciones de alquilación de ADN se realizaron por tratamiento de 4,5 µl de ADN de w794 bicatenario individualmente marcado en el extremo 5' con <sup>32</sup>P (Boger, D. L. y col. Tetrahedron 1991, 47, 2661) en tampón TE (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7,6) con 0,5 µl de agente en EtOH (a la concentración especificada). Las muestras se incubaron durante 18 h a 4 °C. El agente sin unir se eliminó por precipitación con EtOH de ADN (0,5 µl de acetato sódico 3,0 M y 12,5 µl de EtOH absoluto frío) y las disoluciones se almacenaron a -78 °C durante 1 hora o más. El ADN se sedimentó por centrifugación a 4 °C (13000 rpm, 25 minutos), se secó en un concentrador Savant Speed Vac y se resuspendió en 5 µl de tampón TE (pH 7,6). Se realizó despurinización térmica (3 x 10 minutos a 100 °C) y luego se añadieron 2,5 µl de disolución de colorante de formamida a las muestras enfriadas. Las muestras térmicamente desnaturizadas se ensayaron por electroforesis en gel [8% de gel desnaturizante con urea 8 M en tampón TBE (Tris-borato 89 mM, EDTA 2 mM)] seguido de autorradiografía del gel secado usando película Kodak BIOMAX XAR y una pantalla intensificadora Picker Spectra™.

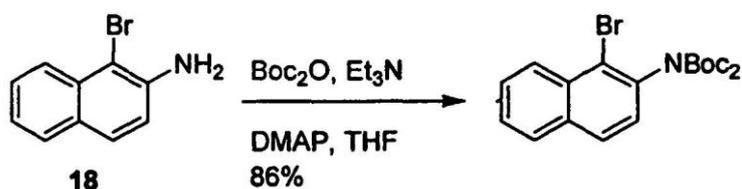


50 Una disolución de ácido 2-naftoico (**16**, 1,5 g, 8,7 mmoles) en t-BuOH (50 ml) y tolueno (50 ml) se trató con Et<sub>3</sub>N (1,44 ml, 10 mmoles), tamices moleculares de 3 Å (10 g) y difenilfosforilazida (2,1 ml, 10 mmoles). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 24 h y luego se enfrió a 23 °C. El sólido se separó por filtración a través de Celite y el disolvente se eliminó a vacío. El residuo se disolvió en EtOAc (75 ml), y la fase orgánica se lavó con HCl acuoso 1 N (50 ml x 2), NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (50 ml x 2), se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. La cromatografía (SiO<sub>2</sub>, 10% de EtOAc/hexano) dio **17** como un sólido amarillo pálido (1,56 g, 74%): ESI-TOF HRMS *m/z* 266,1150 (M+Na<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub> requiere 266,1151).

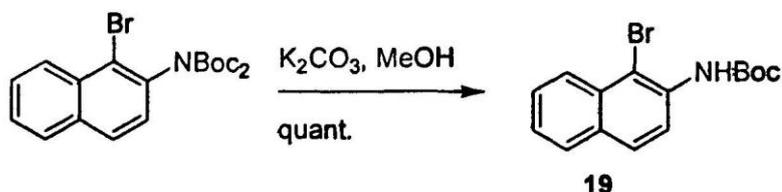


65 El compuesto **17** (1,5 g, 6,2 mmoles) se trató con HCl-EtOAc 4 N (50 ml) durante 1 hora antes de eliminar el disolvente dando un polvo blanco. La sal de HCl en bruto (790 mg, 5,5 mmoles) y TsOH (170 mg, 1,1 mmoles) en

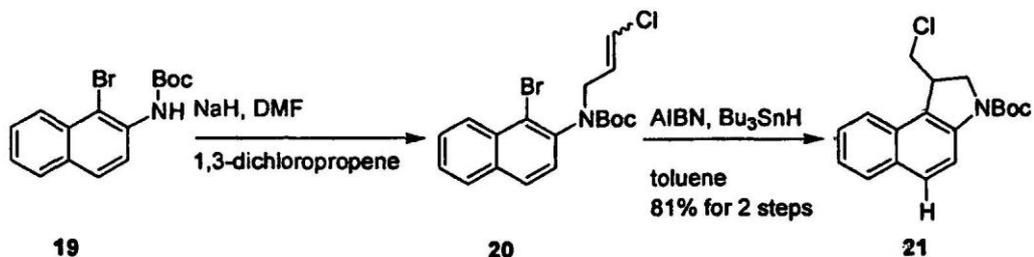
THF (50 ml) enfriada a 0 °C se trató con NBS (982 mg, 5,5 mmoles) en THF (30 ml), y la disolución se dejó calentar a 23 °C. Después de agitar durante 5 horas, la mezcla de reacción se lavó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (30 ml x 2). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. La cromatografía (SiO<sub>2</sub>, 10% de EtOAc/hexano) dio **18** (863 mg, 59% para dos etapas): ESI-TOF HRMS *m/z* 221,9910 (M+H<sup>+</sup>, C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>BrN requiere 221,9913).



Una disolución de **18** (800 mg, 3,6 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> se trató con Et<sub>3</sub>N (496 μl, 3,6 mmoles), DMAP (36 mg, 0,36 mmoles) y Boc<sub>2</sub>O (830 mg, 3,8 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó a 55 °C durante 36 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 23 °C y se lavó con HCl 1 N acuoso (30 ml x 2), y NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (30 ml x 2). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. La cromatografía (SiO<sub>2</sub>, 10% de EtOAc/hexanos) proporcionó el producto como un sólido blanco (1,25 g, 83%): ESI-TOF HRMS *m/z* 444,0780 (M+Na<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>BrNO<sub>4</sub> requiere 444,0781).

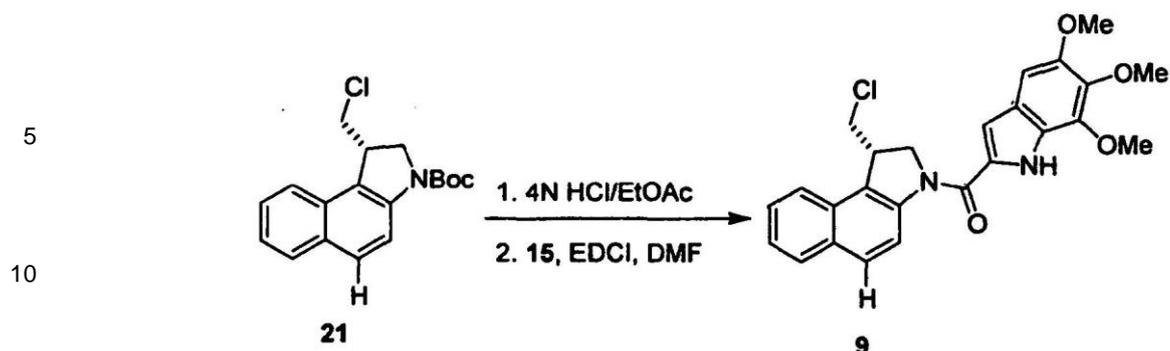


Una disolución del producto anterior (516 mg, 1,18 mmoles) en MeOH (20 ml) se trató con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (490 mg, 3,6 mmoles), y la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 1,5 horas. La mezcla de reacción se dejó enfriar a 23 °C y se filtró a través de Celite para eliminar el residuo sólido. El disolvente se eliminó dando **19** como un sólido blanco (448 mg, cuant.), que fue suficientemente puro para la siguiente etapa sin más purificación: ESI-TOF HRMS *m/z* 344,0250 (M+Na<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>BrNO<sub>2</sub> requiere 344,0257).

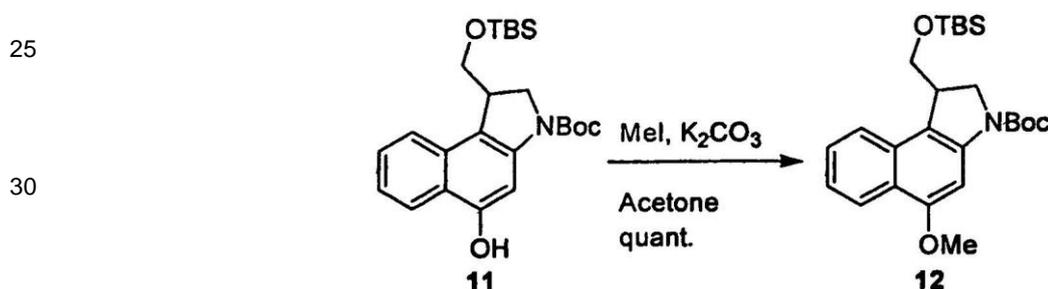


Una disolución de **19** (980 mg, 3 mmoles) en DMF (20 ml) se trató con NaH (60%, 304 mg, 7,5 mmoles) y Bu<sub>4</sub>Ni (11 mg, 0,3 mmoles) a 0 °C. Después de agitar durante 15 minutos se añadió 1,3-dicloropropeno (0,8 ml, 9 mmoles), y la mezcla resultante se calentó hasta 23 °C y se agitó durante otras 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (50 ml) y se lavó con NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado (30 ml x 2). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. El producto en bruto **20** se usó para la siguiente etapa sin más purificación.

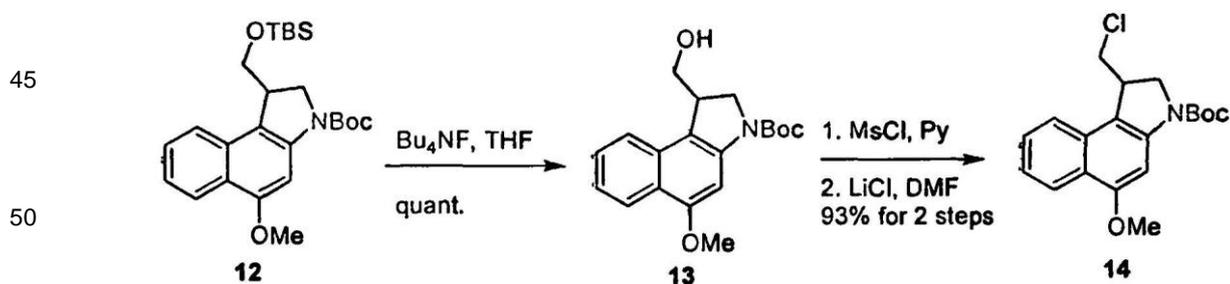
Una disolución de **20** en bruto (1,0 g, 2,52 mmoles) y AIBN (41 mg, 0,25 mmoles) en tolueno desgasificado (40 ml) se trató con Bu<sub>3</sub>SnH (0,75 ml, 2,77 mmoles). La disolución resultante se purgó con gas N<sub>2</sub> durante 10 minutos y luego se calentó a reflujo durante la noche (aproximadamente 18 horas). El disolvente se eliminó y el producto en bruto se purificó por cromatografía (SiO<sub>2</sub>, 10% de EtOAc/hexanos) dando **21** racémico como un sólido blanco (780 mg, 97%). Los dos enantiómeros se separaron por cromatografía (columna Chiral OD de 2 x 25 cm semiprep, 10% de iPrOH/hexanos, velocidad de flujo = 0,5 ml/min, t<sub>R</sub> = 35,5 min (natural), 25,0 min (no natural), α = 1,42): ESI-TOF HRMS *m/z* 340,1076 (M+H<sup>+</sup>, C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>2</sub> requiere 340,1075). 1S-**21**: [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> -0,38 (c 0,18, CH<sub>3</sub>OH), enantiómero natural; 1R-**21**: [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> +0,46 (c 0,13, CH<sub>3</sub>OH), enantiómero no natural.



15 Una muestra de **21** (13 mg, 41  $\mu$ moles) se trató con HCl-EtOAc 4 N (3 ml) durante 30 min antes de eliminar el disolvente por una corriente de  $N_2$ . La sal de HCl en bruto resultante, ácido 5,6,7-trimetoxiindol-2-carboxílico (**15**, 10,3 mg, 41  $\mu$ moles) y EDCI (24 mg, 0,12 mmoles) se disolvieron en DMF (3 ml), y la disolución resultante se agitó a 23 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (15 ml) y se lavó con HCl 1 N acuoso (5 ml  $\times$  2), y  $NaHCO_3$  acuoso saturado (5 ml  $\times$  2). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. PTLC ( $SiO_2$ , 50% de EtOAc/hexanos) dio **9** como un sólido blanco (13,6 mg, 74%): ESI-TOF HRMS  $m/z$  451,1420 ( $M+H^+$ ,  $C_{25}H_{23}ClN_2O_4$  requiere 451,1419). 1 S-**9**:  $[\alpha]_D^{23}$  -0,26 (c 0,46, THF), enantiómero natural; 1 R-**9**:  $[\alpha]_D^{23}$  +0,27 (c 0,73, THF), enantiómero no natural.

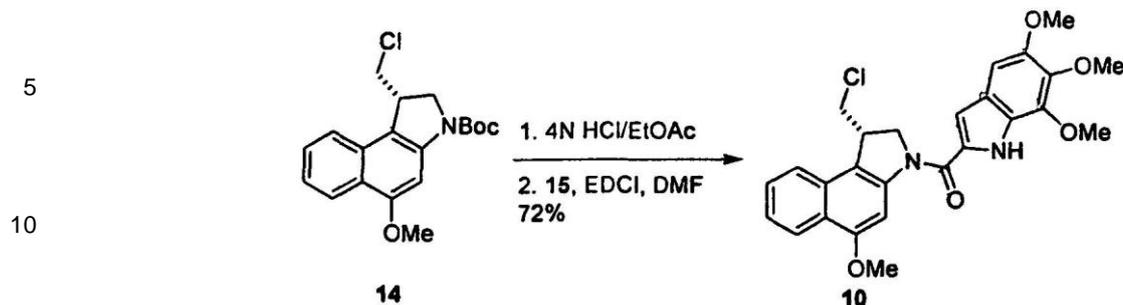


35 Una disolución de **11** (Kastrinsky, D. B.; Boger, D. L. J. Org. Chem. 2004, 69, 2284) (50 mg, 0,116 mmoles) y yoduro de metilo (14,5  $\mu$ l, 0,233 mmoles) en acetona (12 ml) se trató con  $K_2CO_3$  (48 mg, 0,349 mmoles) a 23 °C, y la mezcla resultante se agitó a 23 °C durante 3 horas. La reacción se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con EtOAc (15 ml  $\times$  2). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (15 ml  $\times$  2), NaCl acuoso saturado (15 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se eliminó y el producto en bruto **12** fue suficientemente puro para su uso sin más purificación (55 mg, cuant.).



55 Una disolución de **12** (51 mg, 0,115 mmoles) en THF (5 ml) se trató con  $Bu_4NF$  (1 M en THF, 575  $\mu$ l, 0,575 mmoles) a 23 °C. Después de agitar a 23 °C durante 1 hora, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con agua (10 ml) y NaCl acuoso saturado (10 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró proporcionando **13** puro (40 mg, cuant.). El compuesto **13** en bruto anterior (40 mg, 0,121 mmoles) se disolvió en piridina (2 ml). Se añadió cloruro de metanosulfonilo (59  $\mu$ l, 0,607 mmoles) a 0 °C. Después de agitar a 23 °C durante 6 horas, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con agua (10 ml  $\times$  2) y NaCl acuoso saturado (10 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. El residuo en bruto se disolvió en DMF (2 ml) y se trató con LiCl (26 mg, 0,607 mmoles). Después de agitar a 23 °C durante 3 días, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con agua (10 ml), NaCl acuoso saturado (10 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. La cromatografía ( $SiO_2$ , 20% de EtOAc/hexanos) dio **14** (37,5 mg, 93% para dos etapas). Los dos enantiómeros se separaron por cromatografía (columna Chiral OD de 2  $\times$  25 cm semiprep, 10% de *i*PrOH/hexanos, velocidad de flujo = 0,5 ml/min,  $t_R$  = 14,4 min (natural), 12,1 min (no natural),  $\alpha$  = 1,19): 1 S-**14**:  $[\alpha]_D^{23}$  -0,43 (c 0,28, THF), enantiómero natural; 1 R-**14**:  $[\alpha]_D^{23}$  +0,45 (c 0,53, THF),

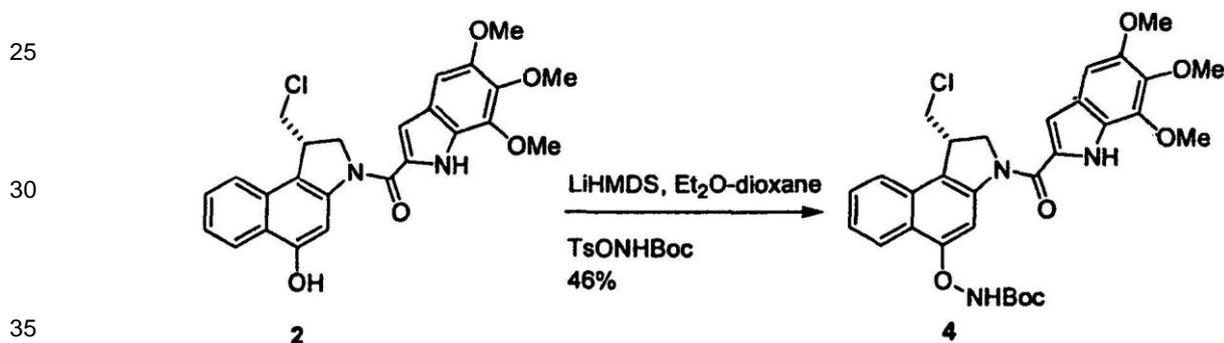
enantiómero no natural.



15 Una muestra de **14** (6,1 mg, 17  $\mu$ moles) se trató con HCl-EtOAc 4 N (0,6 ml) durante 30 minutos antes de eliminar el disolvente por una corriente de  $N_2$ . La sal de HCl en bruto resultante, ácido 5,6,7-trimetoxiindol-2-carboxílico (**15**, 4,8 mg, 19  $\mu$ moles) y EDCI (10,1 mg, 0,05 mmoles) se disolvieron en DMF (0,15 ml) y la disolución resultante se agitó a 23 °C durante 3 horas. Se añadió EtOAc (10 ml) a la mezcla de reacción y la disolución resultante se lavó con HCl 1 N acuoso (5 ml  $\times$  2),  $NaHCO_3$  acuoso saturado (5 ml  $\times$  2), se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. PTLC ( $SiO_2$ , 50% EtOAc/hexanos) dio **10** como un sólido blanco (5,5 mg, 65%): ESI-TOF HRMS  $m/z$  481,1521 ( $M+H^+$ ,  $C_{26}H_{25}ClN_2O_5$  requiere 481,1525). 1S-**10**:  $[\alpha]^{23}_D$  -0,50 (c 0,31, THF), enantiómero natural; 1R-**10**:  $[\alpha]^{23}_D$  +0,86 (c 0,14, THF), enantiómero no natural.

20

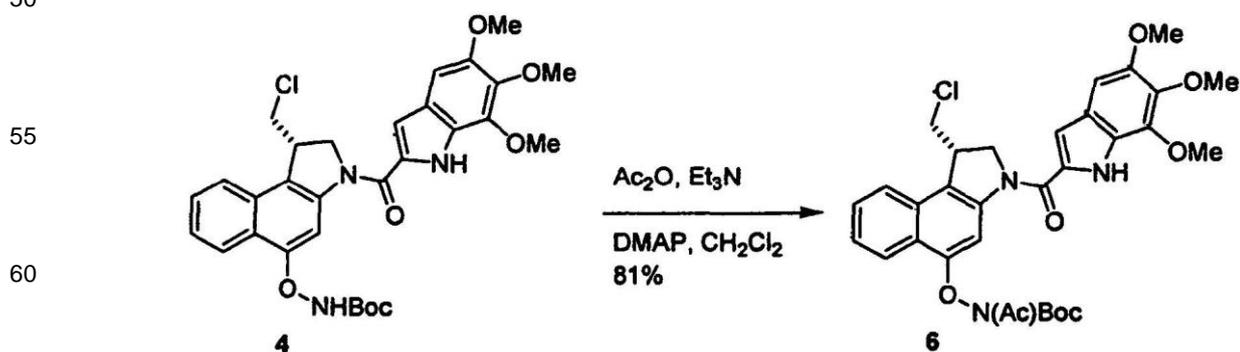
25



40 Una disolución de seco-CBI-TMI (Boger, D.L.; Yun, W. J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 7996) (**2**, 30 mg, 0,064 mmoles) en éter-dioxano (1:1, 3 ml) se trató con LiHMDS (1 M en THF, 193  $\mu$ l, 0,193 mmoles) a 0 °C, y la mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 30 minutos. La disolución resultante se trató con N-tosiloxicarbamato de *t*-butilo (55 mg, 0,193 mmoles). La mezcla de reacción se dejó calentar a 23 °C y se agitó durante 4 horas adicionales. La disolución se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con agua (10 ml) y NaCl acuoso saturado (10 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. PTLC ( $SiO_2$ , 50% de EtOAc/hexanos) dio producto en bruto (31,2 mg). Para garantizar la eliminación completa de cualquier **2**, el producto (12 mg) se disolvió en THF (6 ml) y se añadió  $NaHCO_3$  acuoso saturado (6 ml). Después de agitar a 23 °C durante 2 horas para promover la espirociclación de cualquier **2** residual al CBI-TMI mucho más polar y fácilmente separable, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (20 ml), se lavó con agua (10 ml) y NaCl acuoso saturado (10 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. PTLC ( $SiO_2$ , 20% de EtOAc/hexanos) dio **4** (6,6 mg, 46%) como un sólido amarillo pálido: ESI-TOF HRMS  $m/z$  582,2000 ( $M+H^+$ ,  $C_{30}H_{32}ClN_3O_7$  requiere 582,2001). 1S-**4**:  $[\alpha]^{23}_D$  -0,39 (c 0,31, THF), enantiómero natural; 1R-**4**:  $[\alpha]^{23}_D$  +0,68 (c 0,44, THF), enantiómero no natural.

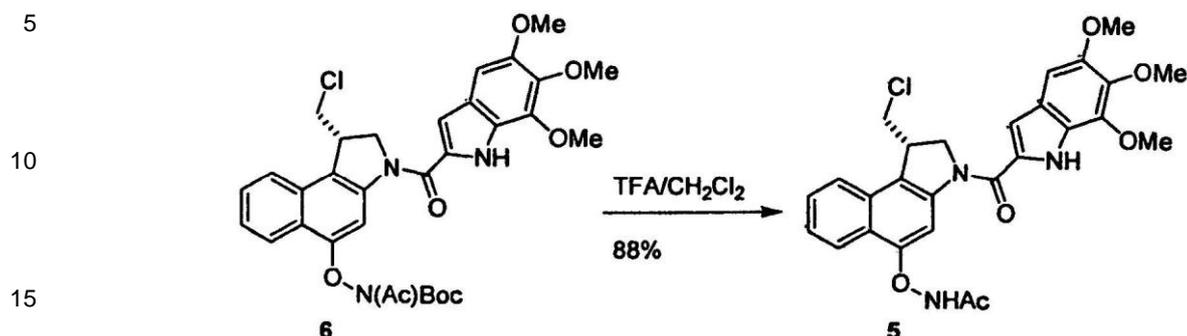
45

50

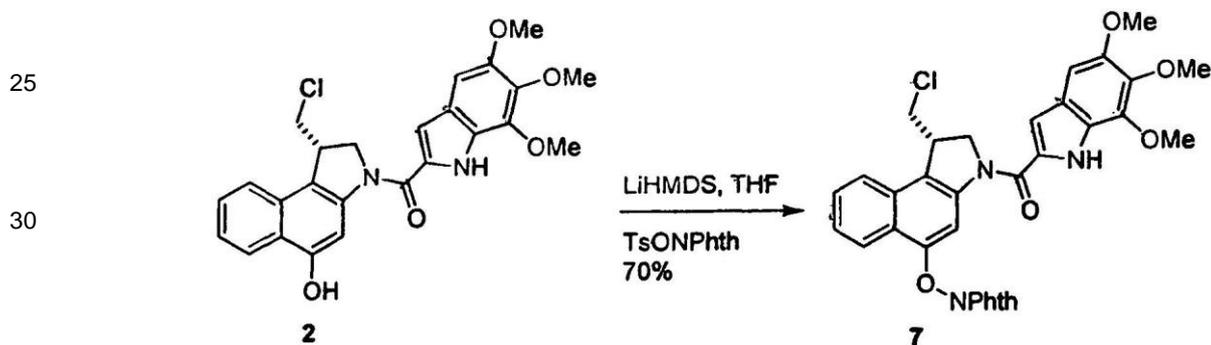


65 Una disolución de **4** (3,4 mg, 0,00584 mmoles) en  $CH_2Cl_2$  (0,34 ml) se trató con anhídrido acético (2,7  $\mu$ l, 0,0292 mmoles),  $Et_3N$  (4,1  $\mu$ l, 0,0292 mmoles) y DMAP (cat). Después de agitar la mezcla resultante a 23 °C durante

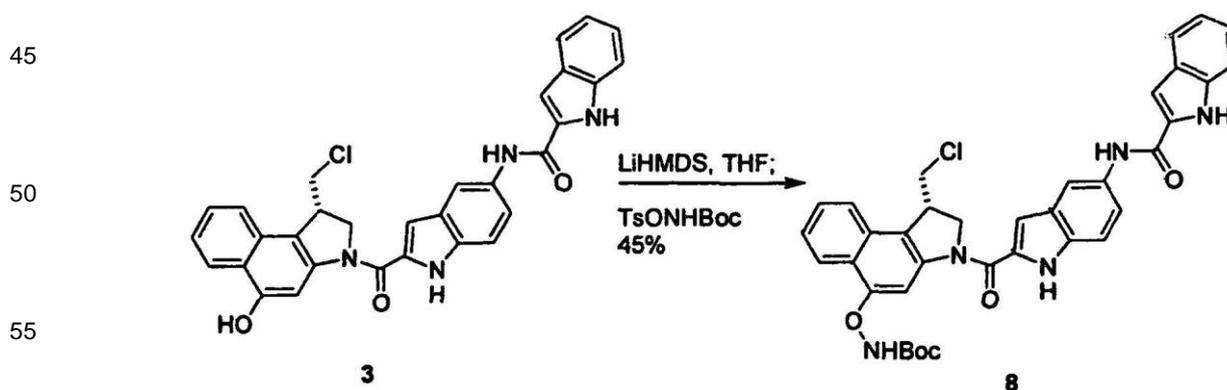
12 horas, el disolvente se eliminó y el residuo se purificó por PTLC (SiO<sub>2</sub>, 50% de EtOAc/hexanos) proporcionando **6** (2,9 mg, 81%): ESI-TOF HRMS  $m/z$  642,2102 (M+H<sup>+</sup>, C<sub>32</sub>H<sub>34</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>8</sub> requiere 642,2107). 1S-**6**: [ $\alpha$ ]<sup>23</sup><sub>D</sub> -0,43 (c 0,23, THF), enantiómero natural; 1R-**6**: [ $\alpha$ ]<sup>23</sup><sub>D</sub> +0,54 (c 0,52, THF), enantiómero no natural.



Una disolución de **6** (3,1 mg, 0,0053 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 ml) se trató con TFA (1 ml) a 23 °C durante 3 horas. El disolvente y el TFA en exceso se eliminaron y el residuo se purificó por PTLC (SiO<sub>2</sub>, 50% de EtOAc/hexanos) proporcionando **5** (2,3 mg, 88%): ESI-TOF HRMS  $m/z$  522,1431 (M-H<sup>-</sup>, C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>6</sub> requiere 522,1437). 1S-**5**: [ $\alpha$ ]<sup>23</sup><sub>D</sub> -1,2 (c 0,10, THF), enantiómero natural; 1R-**5**: [ $\alpha$ ]<sup>23</sup><sub>D</sub> +0,76 (c 0,21, THF), enantiómero no natural.



Una disolución de seco-CBI-TMI (**2**, 5,0 mg, 0,011 mmoles) en THF (0,5 ml) se trató con LiHMDS (1 M en THF, 13  $\mu$ l, 0,013 mmoles) a -78 °C y la mezcla resultante se agitó a -78 °C durante 30 minutos. La disolución resultante se trató con N-*p*-tolilsulfonoxifalimida (5,1 mg, 0,016 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a 23 °C durante 60 minutos adicionales. La disolución se diluyó con EtOAc (10 ml) y se lavó con agua (5 ml) y NaCl acuoso saturado (5 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. PTLC (SiO<sub>2</sub>, 50% de EtOAc/hexanos) dio **7** (4,6 mg, 70%) como un sólido amarillo pálido: 1S-**7**: [ $\alpha$ ]<sup>23</sup><sub>D</sub> -0,42 (c 0,28, THF), enantiómero natural; 1R-**7**: [ $\alpha$ ]<sup>23</sup><sub>D</sub> +0,53 (c 0,36, THF), enantiómero no natural.



Una disolución de seco-CBI-indol<sub>2</sub> (Boger, D. L.; Yun, W.; Han, N. Bioorg. Med. Chem. 1995, 3, 1429) (**3**, 16,5 mg, 0,031 mmoles) en THF (1,5 ml) se trató con LiHMDS (1 M en THF, 93  $\mu$ l, 0,093 mmoles) a 0 °C y la mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos. La disolución resultante se trató con N-tosiloxicarbamato de *t*-butilo (26,6 mg, 0,093 mmoles), y la mezcla de reacción se dejó calentar a 23 °C y se agitó durante 4 horas adicionales. La disolución se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con agua (10 ml), y NaCl acuoso saturado (10 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. PTLC (SiO<sub>2</sub>, 50% THF/hexanos) dio **8** (12,0 mg). El producto (12 mg) se disolvió en THF (6 ml) y se trató con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (6 ml) para promover la espirociclación de

5 cualquier **3** residual. Después de agitar a 23 °C durante 2 horas, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (20 ml), se lavó con agua (10 ml) y NaCl acuoso saturado (10 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. PTLC (SiO<sub>2</sub>, 20% THF/hexanos) dio **8** (9,0 mg, 45%): ESI-TOF HRMS *m/z* 650,2150 (M+H<sup>+</sup>, C<sub>36</sub>H<sub>32</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>5</sub> requiere 650,2165). 1S-**8**: [α]<sup>23</sup><sub>D</sub> +2,1 (c 0,50, THF), enantiómero natural; 1R-**8**: [α]<sup>23</sup><sub>D</sub> - 2,0 (c 0,89, THF), enantiómero no natural.

Actividad antitumoral *in vivo*

10 Ratones DBA/2J se compraron de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME) y se alojaron en el animalario en el The Scripps Research Institute. Células tumorales L1210, originalmente aisladas de ratones DBA/2, se cultivaron en medio DMEM que contenía 5% de suero bovino fetal. Para la implantación tumoral, ratones DBA/2J se inyectaron i.p. con 1 x 10<sup>5</sup> células L1210 en el día 0.

15 Los compuestos **3** y **8** se formularon con 30% de DMSO más 0,1% de disolución de glucosa. Las dosis de tratamiento de fármacos (0, 10, 30, 100 1g/kg de peso del animal) se inyectaron i.p. consecutivamente en el día 1, 5 y 9. El estudio se realizó con seis ratones por grupo. El crecimiento tumoral en la cavidad peritoneal se monitorizó diariamente y se registró la muerte de los animales. Si fuera necesario, los pesos de los animales se midieron una vez a la semana. Hasta la fecha esta monitorización de los animales ha durado 365 días.

20 Se realizó un estudio análogo con 10 ratones por grupo en la Universidad de Kansas con la distinción de que los compuestos se administraron en DMSO puro (0, 10, 30, 60, 100 1g/kg de peso de animal) y el estudio se terminó después de 120 días.

25 El uso del artículo “un” o “una” pretende incluir uno o más.

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de N-acil-O-amino-CBI representado por la fórmula I:

5



10

FORMULA 1

15

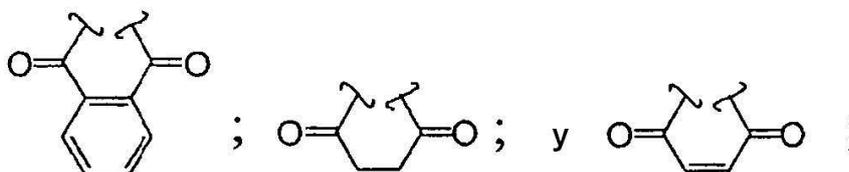
en la que:

R<sup>1</sup> está seleccionado del grupo de radicales que consiste en -C(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), -C(O)(alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)O(alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) y -C(O)arilo;

20

R<sup>2</sup> está seleccionado del grupo de radicales que consiste en hidrógeno, -C(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), -C(O)(alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) y -C(O)O(alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>); o, alternativamente, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se combinan para formar una estructura cíclica seleccionada del grupo que consiste en radicales divalentes representados del siguiente modo:

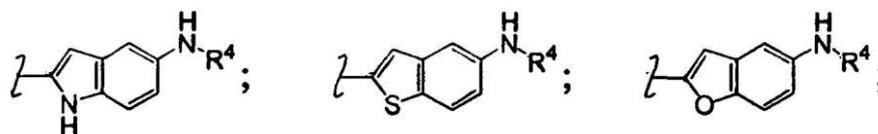
25



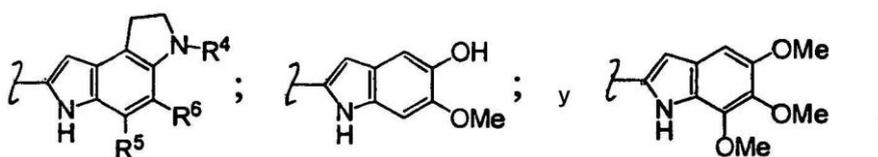
30

y R<sup>3</sup> está seleccionado de grupo que consiste en radicales representados del siguiente modo:

35



40



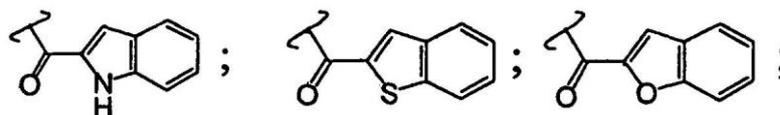
45

en los que:

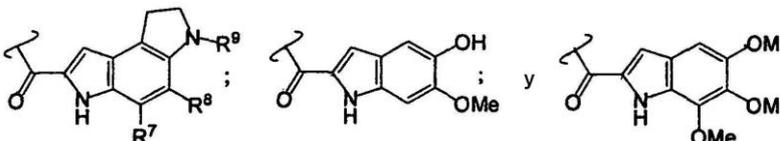
50

R<sup>4</sup> está seleccionado de grupo que consiste en radicales representados del siguiente modo:

55



60



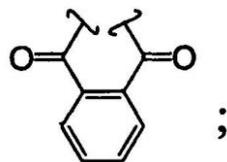
65

R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> están seleccionados cada uno independientemente del grupo de radicales que consiste en -H, -OH, -O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y halógeno; y

R<sup>9</sup> está seleccionado del grupo de radicales que consiste en -H, -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)NH<sub>2</sub>, -C(O)NHNH<sub>2</sub> y -C(O)NHNHC(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).

2. Un derivado de N-acil-O-amino-CBI según la reivindicación 1, en el que R<sup>1</sup> está seleccionado del grupo de radicales que consiste en -C(O) (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>); R<sup>2</sup> está seleccionado del grupo de radicales que consiste en hidrógeno, -C(O) (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y -C(O)O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>); o, alternativamente, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden combinarse para formar un radical divalente cíclico representado por la siguiente estructura:

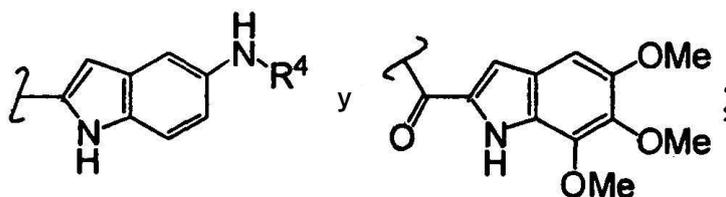
5



10

y R<sup>3</sup> está seleccionado del grupo que consiste en los siguientes radicales:

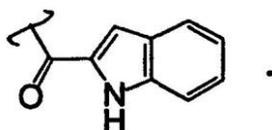
15



20

en los que:  
R<sup>4</sup> se representa por la siguiente estructura:

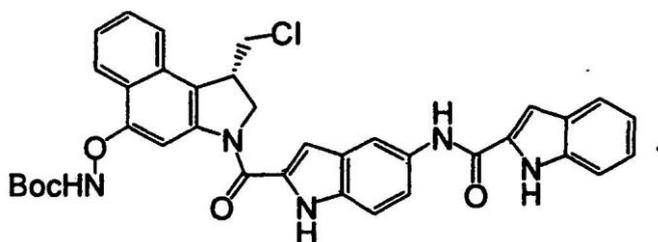
25



30

3. Un derivado de N-acil-O-amino-CBI según la reivindicación 2 representado por la siguiente estructura:

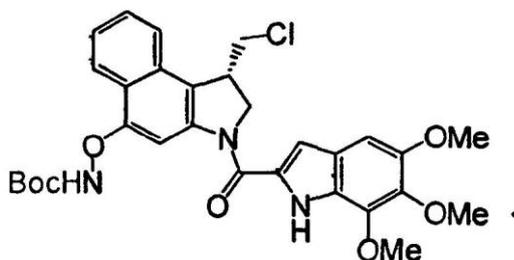
35



40

4. Un derivado de N-acil-O-amino-CBI según la reivindicación 2 representado por la siguiente estructura:

45

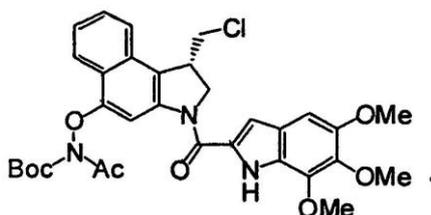


50

55

5. Un derivado de N-acil-O-amino-CBI según la reivindicación 2 representado por la siguiente estructura:

60

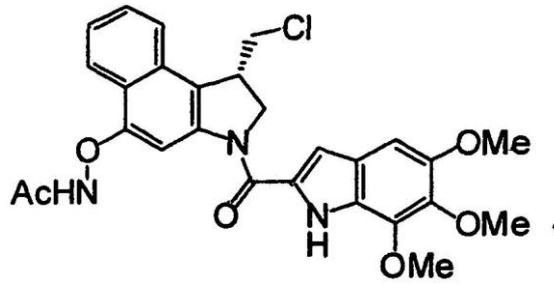


65

6. Un derivado de N-acil-O-amino-CBI según la reivindicación 2 representado por la siguiente estructura:

5

10

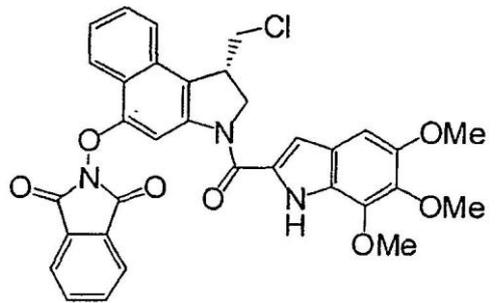


7. Un derivado de N-acil-O-amino-CBI según la reivindicación 2 representado por la siguiente estructura:

15

20

25



8. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en un procedimiento para tratar una enfermedad proliferativa en un mamífero que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz del compuesto.

30

Figura 1

