

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 965**

51 Int. Cl.:

A61K 31/551 (2006.01)

C07D 471/14 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.01.2013 PCT/CN2013/070919**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.08.2013 WO2013123840**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.01.2013 E 13751374 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.12.2016 EP 2818171**

54 Título: **Derivado de aza-benzo [f] azuleno antitumoral, método para su preparación, y su uso**

30 Prioridad:

24.02.2012 CN 201210043316

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

20.06.2017

73 Titular/es:

**TIANYI BIOSCIENCE CO. LTD. (100.0%)
10 Xuefu Road Hi-Tech Zone
Nanjing, Jiangsu 210061, CN**

72 Inventor/es:

**WU, XIHAN;
FU, LIWU;
ZHANG, DONGMEI y
WANG, YURONG**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 617 965 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

Derivado de aza-benzo [f] azuleno antitumoral, método para su preparación, y su uso

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de la química farmacéutica, en particular a una clase de derivados de aza-benzo [f] azuleno (I) y su efecto antitumoral.

10 Antecedentes de la invención

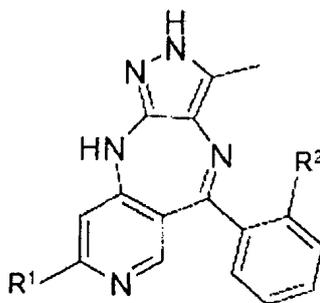
Los tumores malignos son un serio peligro para la salud de las personas. De acuerdo con estadísticas de la OMC, entre los más de 5000 millones de personas en todo el mundo, en promedio hasta 6,9 millones de personas mueren cada año de enfermedades malignas, además hay 8,7 millones de nuevos casos, y este número aumenta cada año. Por lo tanto, la investigación y desarrollo de fármacos antitumorales ya se ha convertido en la actualidad en una parte extremadamente desafiante y significativa en el campo de las ciencias de la vida. En los últimos años, con el rápido progreso de la investigación en ciencias biológicas, gradualmente se van aclarando procesos básicos como la transducción de señales en diversas células malignas, la regulación del ciclo celular, la inducción de la apoptosis, la angiogénesis y las interacciones célula-matriz extracelular. Como consecuencia, el foco de la investigación y desarrollo de fármacos antitumorales hoy día se ha desplazado de los fármacos citotóxicos tradicionales con baja selectividad y alta toxicidad al descubrimiento de nuevos fármacos antitumorales que tienen una alta eficacia, una baja toxicidad y una fuerte especificidad, y que actúan selectivamente sobre dianas específicas, utilizando algunas de las enzimas clave de la vía de transducción de señales celulares asociadas a la diferenciación de células tumorales y la proliferación como diana del fármaco.

El documento WO 00/64900 A1, el documento WO 2007/042430 A1 y la patente de EE.UU. 2006/079511 A1 desvelan derivados de aza-benzo [f] azuleno y su uso para el tratamiento de cáncer que comprende un anillo de seis miembros condensado que hace, sin embargo, no incluye un átomo de nitrógeno.

30 Sumario de la invención

La presente invención describe una clase de derivados de [f] azuleno aza-benzo. Ensayos farmacológicos demuestran que los compuestos de la invención tienen un excelente efecto antitumoral.

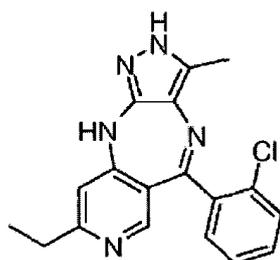
Los derivados de aza-benzo [f] azuleno de la presente invención tienen la siguiente fórmula estructural (I):

**I**

en la que, R¹ representa un grupo hidrocarbonado C₁-C₆, R² representa halógeno. R¹ representa preferentemente un grupo metilo o etilo.

R² representa preferentemente cloro o fluoro.

Un compuesto más preferido es el siguiente:



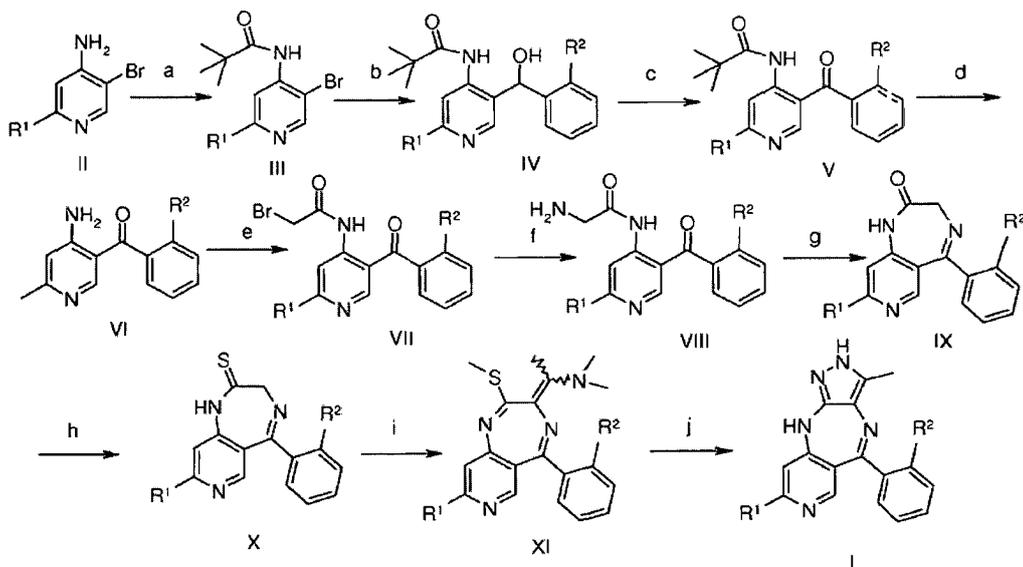
I-2

El compuesto I-2 se denomina: 9-(2-clorofenil)-6-etil-1-metil-2,4-dihidrógeno-2,3,4,7,10-pentaaza-benzo [f] azuleno.

5 El compuesto (I) de la presente invención se puede combinar con un ácido farmacéuticamente aceptable para producir una sal. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden estar en forma de ácido orgánico o inorgánico. Por ejemplo, las sales se pueden formar con ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido cítrico, ácido metanosulfónico, ácido toluenosulfónico o ácidos aceptables conocidos similares.

10

El compuesto (I) de la presente invención se puede preparar utilizando el siguiente método:



15 en las que, R¹ y R² se definen como anteriormente.

El compuesto de la presente invención se puede preparar en preparaciones farmacéuticas comunes, tales como comprimidos, cápsulas, polvo, jarabe, solución, suspensión, e inyección, mediante la adición de un vehículo farmacéuticamente aceptable, o la adición de excipientes medicinales comunes, tales como especias, edulcorantes, cargas líquidas o sólidas o diluyentes, etc.

20

En la práctica clínica, el compuesto desvelado en la presente invención se puede administrar por vía oral, por inyección, etc.

25 El compuesto de la presente invención se administra clínicamente a una dosis de 0,01 mg a 1000 mg/día, sin embargo, puede desviarse de este intervalo dependiendo de la gravedad de la afección o de la forma de dosificación.

30

Ensayos farmacológicos demuestran que los compuestos de la invención tienen una excelente actividad antitumoral, y su valor de CI₅₀ está en el intervalo de 0,03 a 12,6 μM. Por lo tanto se pueden usar los compuestos de la invención para preparar medicamentos para el tratamiento de enfermedades tumorales. Los resultados de los ensayos farmacodinámicas de algunos compuestos de la presente invención son los siguientes. Por favor, consulte las fórmulas estructurales de los compuestos I-1 y 1-3 en la forma de realización.

I. Evaluación de la inhibición del crecimiento de los compuestos I-1, I-2 y I-3 en diversas cepas de células tumorales humanas con el ensayo de MTT

Método: Las células en la fase de crecimiento logarítmico (líneas celulares de cáncer gástrico humano SGC-7901, MGC-803, la línea celular de carcinoma epidermoide oral humana KB, línea celular de cáncer de pulmón de células no microcíticas humano A549, la línea celular de cáncer ductal de mama humano BT-549, la línea celular de cáncer de próstata humana PC-3, la línea celular de cáncer de colon humano HT-29, la línea celular de glioblastoma de astrocitos cerebro humano U-87MG y una línea celular de hepatoma humano SMMC-7721) a una concentración de $1,5 \times 10^4$ se inocularon en placas de 96 pocillos. El medio original se retiró después del cultivo celular durante 24 horas hasta la adherencia. Los ensayos incluyeron un grupo de control en blanco y el grupo de tratamiento farmacológico. Para el grupo de control, el medio se reemplazó con medio 1640 que contenía suero fetal bovino al 10 %; para el grupo de tratamiento farmacológico, el medio se reemplazó con medio que contiene los compuestos I-1, I-2 y I-3 a analizar a concentraciones de 100 μM , 50 μM , 10 μM , 1 μM , 0,1 μM , 0,01 μM , 0,001 μM , 0,0001 μM y 0,00001 μM . Después de incubar durante 96 horas se añade MTT a una concentración de 5 mg/ml, y se reanuda la incubación en una incubadora de CO_2 durante 4 horas. A continuación, de la parte superior de la solución de cultivo, se retiran 100 μl de sobrenadante, se añaden 100 μl de DMSO, y se pone en oscuridad durante 10 minutos. Con un lector de microplacas (un producto de la empresa Sunrise), se midió la absorbancia (longitud de onda de 570 nm), y se calcula la situación de la supervivencia celular en base a la absorbancia. Se establecieron seis pocillos duplicados para cada tratamiento. La viabilidad celular (%) = $\Delta\text{OD}_{\text{tratamiento farmacológico}}/\Delta\text{OD}_{\text{control en blanco}} \times 100$.

Resultados: Los tres compuestos mostraron cierto efecto inhibitor sobre el crecimiento de una variedad de líneas celulares tumorales humanas, en el que los compuestos I-1 y I-2 tenía una inhibición muy significativa. El valor de CI_{50} de estos tres compuestos que inhiben el crecimiento de una variedad de líneas de células tumorales humanas se calculó usando el software Sigmaplot 10.0 (véase la Tabla 1).

Tabla 1. Valor de CI_{50} de tres compuestos en una variedad de líneas celulares tumorales humanas

Líneas celulares	$\text{CI}_{50} \pm \text{SD} (\mu\text{M})$		
	I-1	I-2	I-3
SGC-7901	0,29 \pm 0,13	0,09 \pm 0,01	1,63 \pm 0,13
MGC-803	0,98 \pm 0,04	0,70 \pm 0,02	4,86 \pm 0,39
KB	1,35 \pm 0,05	0,09 \pm 0,01	7,27 \pm 0,59
A549	0,69 \pm 0,24	0,25 \pm 0,14	3,25 \pm 0,25
BT-549	0,39 \pm 0,23	0,07 \pm 0,03	1,95 \pm 0,23
PC-3	1,90 \pm 0,39	0,85 \pm 0,10	11,3 \pm 1,30
HT-29	0,16 \pm 0,04	0,09 \pm 0,01	0,74 \pm 0,08
T-89Mg	0,4 \pm 0,02	0,06 \pm 0,04	1,94 \pm 0,24
SMMC-7721	0,14 \pm 0,03	0,09 \pm 0,01	0,82 \pm 0,19

II. Los experimentos en vivo con animales que verifican efecto de inhibición de los compuestos de la presente invención sobre el crecimiento del tumor de cáncer gástrico SGC-7901 humano trasplantado en ratones sin pelo

Método: 1. El establecimiento de modelo del tumor de cáncer gástrico SGC-7901 humano trasplantado en ratones sin pelo, y grupos de animales: Se cultivaron líneas celulares SGC_7901 con medio RPMI1640 que contiene suero fetal bovino al 10 %. Células SGC-7901 en fase de crecimiento logarítmico se trataron con tripsina en suspensión de células individuales. La concentración final de células se ajustó con medio RPMI1640 en $5 \times 10^7/\text{ml}$. Se inyectaron 0,2 ml de suspensión de células por vía subcutánea en la axila anterior derecha de cada ratón sin pelo. 14 días después de la inoculación, cuando el tamaño del tumor hubo aumentado de aproximadamente 130 a 180 mm^3 , los ratones sin pelo se asignaron al azar en cinco grupos de acuerdo con el tamaño del tumor y el peso corporal de los ratones, con 8 a 12 ratones en cada grupo. 5 grupos eran: un grupo de control en blanco (agua purificada que contiene el 0,5 % de hidroxipropil metilcelulosa y el 0,1 % de Tween 80, administrado a través de una sonda, cada uno por la mañana y por la noche, durante 10 días), 12,5, 25 y 50 mg/kg del grupo de tratamiento I-1 (administrado a través de sonda, cada uno por la mañana y por la noche, durante 10 días), y el grupo de 100 mg/kg de ciclofosfamida (CYP) (por inyección intraperitoneal, una vez cada 5 días, durante 2 semanas), respectivamente.

2. Se observó la situación de crecimiento del tumor subcutáneo de cáncer gástrico humano trasplantado en ratones sin pelo y efecto inhibitor: desde el día de dosificación, se observaron el peso corporal del ratón sin pelo, así como el diámetro máximo (D) y el diámetro mínimo (d) del tumor cada dos días. El tamaño del tumor se calculó de acuerdo con la fórmula $V = Dd^2/2$, y se representó gráficamente la curva de crecimiento del tumor. Al final del experimento, el tumor se extirpó en su totalidad y se tomó una imagen. Tasa de crecimiento del peso corporal del ratón sin pelo antes y después del tratamiento = $[(\text{peso corporal después del tratamiento} - \text{peso corporal antes del tratamiento})/\text{peso corporal antes del tratamiento}] \times 100 \%$; tasa de inhibición del tumor = $[1 - (\text{tamaño del tumor después del tratamiento en el grupo de experimentación} - \text{tamaño del tumor antes del tratamiento en el grupo de experimentación})/(\text{tamaño del tumor después del tratamiento en el grupo de control} - \text{tamaño del tumor antes del tratamiento en el grupo de control})] \times 100 \%$

Resultados: Se puede observar a partir de la Figura 1 y la Figura 2 que el compuesto I-1 producía una inhibición más alta sobre el crecimiento de células de tumor de cáncer gástrico humano SGC-7901 trasplantado en ratones sin pelo. En el grupo de tratamiento I-1, el crecimiento del tumor trasplantado se inhibió de manera significativa, especialmente en el grupo que recibió la dosis más alta. La tasa de inhibición final de crecimiento del tumor en los grupos de tratamiento I-1 de 12,5, 25 y 50 mg/kg alcanzó el 67,5 %, el 83 % y el 88,6 %, respectivamente (véase Tabla 2). Se puede observar a partir de la Figura 3 que el compuesto I-1 tenía un efecto leve sobre la ganancia de peso de ratón sin pelo solo para la dosis más alta de 50 mg/kg, lo que indica que el compuesto I-1 tenía un efecto tóxico secundario insignificante y una alta seguridad, y valor potencial de convertirse en un fármaco antitumoral.

10 Tabla 2. Tasa de inhibición tumoral entre los ratones después del tratamiento en cada grupo

Grupos	Número de ratones en cada grupo	Dosis	Inhibición de la tasa de inhibición	Valor P
Grupo de control en blanco	12	-	-	-
Grupo CYP	8	100 mg/kg	39,5	0,0395
I-1	11	12,5 mg/kg	67,5	0,0053
I-1	10	25 mg/kg	83,0	0,0015
I-1	10	50 mg/kg	88,6	0,0008

III. Experimentos en vivo con animales que verifican el efecto de inhibición de los compuestos de la presente invención sobre el crecimiento del tumor de cáncer gástrico MGC-803 humano trasplantado en ratones sin pelo

15 Método: 1. Establecimiento de modelo de tumor de cáncer gástrico MGC-803 humano trasplantado en ratones sin pelo, y grupos de animales: líneas de células MGC-803 se cultivaron con medio RPMI 1640 que contenía suero fetal bovino al 10 %. Células MGC-803 en fase de crecimiento logarítmico se trataron con tripsina en suspensión de células individuales. La concentración final de las células se ajustó con medio RPMI1640 en 5×10^7 /ml. Se inyectaron 0,2 ml de suspensión de células por vía subcutánea en la axila anterior derecha de cada ratón sin pelo. 8 días después de la inoculación, cuando el tamaño del tumor creció a aproximadamente 110 mm^3 , los ratones se distribuyeron aleatoriamente en cinco grupos de acuerdo con el tamaño del tumor y el peso corporal de los ratones, con 10 ratones en cada grupo. 5 grupos eran: un grupo de control en blanco (agua purificada que contiene el 0,5 % de hidroxipropil metilcelulosa y el 0,1 % de Tween 80, administrado a través de sonda esofágica, una vez al día, durante 10 días), 4, 6 y 9 mg/kg de grupo de tratamiento I-2 (administrado a través de sonda esofágica, una vez al día, durante 17 días), y 100 mg/kg de grupo de ciclofosfamida (por inyección intraperitoneal, una vez cada 7 días, durante 3 semanas), respectivamente.

2. Se observó la situación de crecimiento de tumor subcutáneo de cáncer gástrico humano trasplantado en ratones sin pelo y el efecto inhibitorio: desde el día de dosificación, se observaron el peso corporal del ratón sin pelo, así como el diámetro máximo (D) y el diámetro mínimo (d) del tumor cada 3-4 días. El tamaño del tumor se calculó de acuerdo con la fórmula $V = Dd^2/2$, y se representó gráficamente la curva de crecimiento del tumor. Al final del experimento, el tumor se extirpó completamente y se tomó una imagen. Tasa de crecimiento del peso corporal del ratón sin pelo antes y después del tratamiento = $[(\text{peso corporal después del tratamiento} - \text{peso corporal antes del tratamiento}) / \text{peso corporal antes del tratamiento}] \times 100 \%$; tasa de inhibición del tumor = $[1 - (\text{tamaño del tumor después del tratamiento en el grupo de experimentación} - \text{tamaño del tumor antes del tratamiento en el grupo de experimentación}) / (\text{tamaño del tumor después del tratamiento en el grupo de control} - \text{tamaño del tumor antes del tratamiento en el grupo de control})] \times 100 \%$

Resultados: Se puede observar a partir de la Figura 4 y la Figura 5 que el compuesto I-2 tenía una excelente inhibición sobre el crecimiento de células de tumor de cáncer gástrico MGC-803 humano trasplantado en ratones sin pelo. Se puede observar a partir de la Tabla 3 que el crecimiento de tumor de cáncer gástrico humano trasplantado se inhibió de manera significativa en el grupo de tratamiento del compuesto I-2, y la tasa de inhibición del tumor final en los grupos de tratamiento I-2 de 4, 6 y 9 mg/kg alcanzó el 72,5 %, 97,3 % y 100 %, respectivamente. Se puede observar a partir de la Figura 6 que el compuesto I-2 tuvo un efecto leve sobre la ganancia de peso del sin pelo solo para el grupo que recibió la dosis más alta de 9 mg/kg los días de tratamiento 3-6, lo que indica que el compuesto I-2 tenía efecto tóxico secundario insignificante y una alta seguridad, y valor potencial de convertirse en un fármaco antitumoral con una alta eficacia y baja toxicidad.

Tabla 3. Tasa de inhibición tumoral entre los ratones después del tratamiento en cada grupo

Grupos	Número de ratones en cada grupo	Dosis	La inhibición de la tasa de inhibición	Valor P
Grupo de control en blanco	10	-	-	-
Grupo CYP	10	100 mg/kg	62,4	0,0017
I-2	10	4 mg/kg	72,5	0,0004
I-2	10	6 mg/kg	97,3	0,0000
I-2	10	9 mg/kg	100	0,0000

50

Los ensayos mencionados anteriormente demostraron que los compuestos de la presente invención tenían una actividad anti-proliferativa significativa contra varias líneas de células tumorales humanas. Los experimentos con animales mostraron que los compuestos I-2 no solo tenía una alta actividad de inhibición en vivo del crecimiento del tumor, sino también efectos secundarios tóxicos insignificantes y una alta seguridad. Estos resultados del experimento indicaban que los compuestos de esta invención son útiles para el tratamiento del cáncer, en particular para el tratamiento de tumores sólidos, tales como cáncer gástrico, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de la cavidad oral, y otras enfermedades.

Descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra el efecto de los compuestos I-1 sobre el crecimiento de tumor de cáncer gástrico humano trasplantado SGC-7901

La Figura 2 muestra el tamaño del tumor de cáncer gástrico SGC-7901 humano trasplantado en cinco grupos después del tratamiento

La Figura 3 muestra el cambio de peso corporal de los ratones sin pelo en cada grupo después del tratamiento farmacológico

La Figura 4 muestra el efecto de los compuestos I-2 sobre el crecimiento de tumor de cáncer gástrico MGC-803 humano trasplantado

La Figura 5 muestra el tamaño del tumor de cáncer gástrico MGC-803 humano trasplantado en cinco grupos después del tratamiento

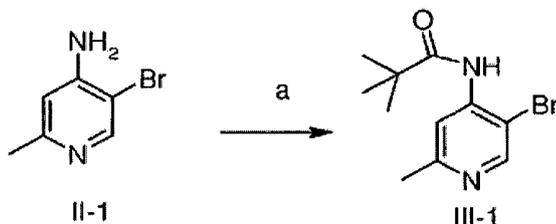
La Figura 6 muestra el cambio de peso corporal de los ratones sin pelo en cada grupo después del tratamiento farmacológico.

Descripción detallada de las formas de realización

Forma de realización 1

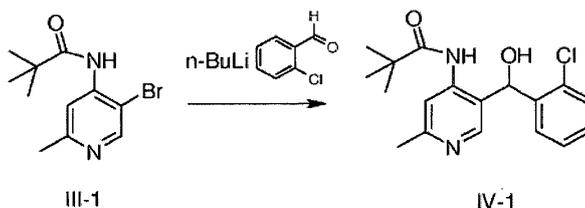
Preparación del compuesto I-1

Síntesis del compuesto III-1:



Se añade trietilamina (Et_3N) (56 g, 553,5 mmol, 1,5 eq.) a la solución del compuesto II-1 (69 g, 369 mmol, 1,0 eq.) en solución de diclorometano (DCM) (1 l), y a continuación, se enfría a 0°C . A la solución resultante, se le añade cloruro de pivaloilo (53,4 g, 442,8 mmol, 1,2 eq.) en solución de DCM (170 ml) gota a gota. A continuación se calienta a 15°C . La reacción se agita durante 10 horas. A continuación, la mezcla de reacción se lava con agua, solución salina, se seca sobre sulfato de sodio anhidro y se concentra, para proporcionar 76 g de un sólido blanco de compuesto III-1, con un rendimiento del 76,0 %.

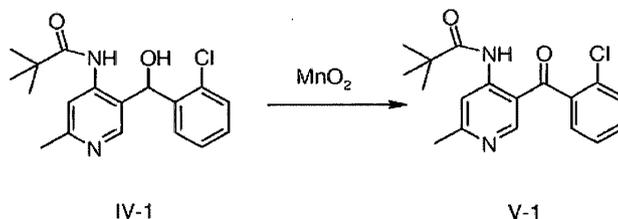
Síntesis del compuesto IV-1:



Bajo condiciones de N_2 , a -78°C , se añade n-BuLi (2,5 M de solución de n-hexano) (300 ml, 0,75 mol, 3,0 eq.) al compuesto III-1 (67,8 g, 0,25 mol, 1,0 eq.) y tetrametiletilendiamina (TMEDA) (87,15 g, 0,75 mol, 3,0 eq.) en solución de THF (600 ml) gota a gota. Después de eso, la reacción se agita durante 2 horas a -78°C . A -78°C , se añade 2-clorobenzaldehído (70,28 g, 0,5 mol, 2,0 eq.) en solución de tetrahidrofurano (THF) (200 ml) gota a gota. Después

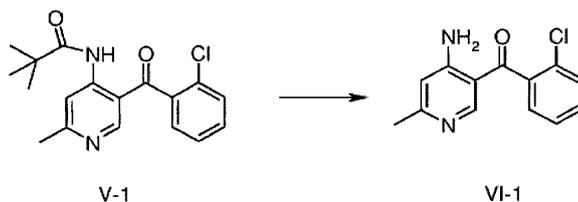
de la adición, la reacción se agita durante 4 horas a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se añade H_2O (20 ml) lentamente a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, gota a gota, y a continuación se calienta a temperatura ambiente. Se añade acetato de etilo (AE), la fase orgánica se lava con agua y, a continuación con solución salina. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentra. Con éter de petróleo (PE):AE = 3:1 como eluyente, se lleva a cabo la cromatografía en columna para proporcionar 70,0 g de un sólido blanco de compuesto IV-1, con un rendimiento del 84,1 %.

Síntesis del compuesto V-1:



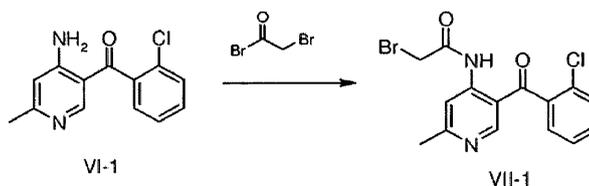
10 Se añade MnO_2 (127,9 g, 1,47 mol, 7,0 eq.) al compuesto IV-1 (70 g, 0,21 mol, 1,0 eq.) en solución de AE (1300 ml). Bajo atmósfera de N_2 , se calienta a reflujo durante 15 horas. Se filtra, y el filtrado se concentra para dar 49,8 g de un sólido blanco de compuesto V-1, con un rendimiento del 71,7 %.

15 Síntesis del compuesto VI-1:



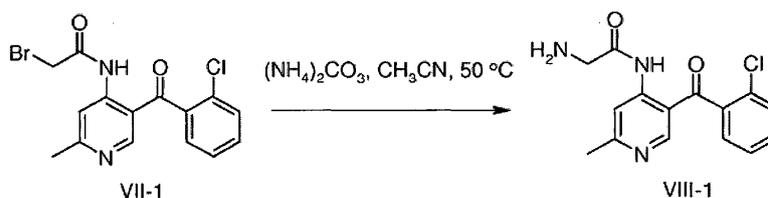
20 Se disuelve el compuesto V-1 (49,8 g, 0,15 mol, 1,0 eq.) en metanol (MeOH) (1 l). Se añade 2 M de solución acuosa de NaOH (150 ml), y se calienta a reflujo durante 5 horas. Se deja enfriar y se concentra para dar 35,4 g de un sólido de color blanco del compuesto VI-1. Rendimiento: 95,6 %.

Síntesis del compuesto VII-1:



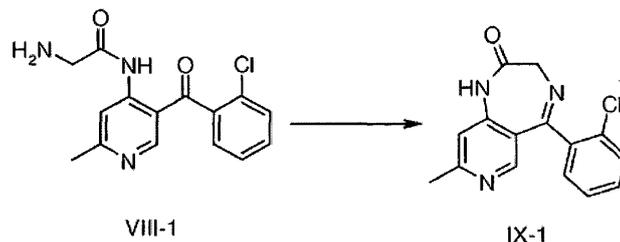
25 Se añade Et_3N (15,9 g, 0,157 mol, 1,1 eq.) al compuesto VI-1 (35,3 g, 0,143 mol, 1,0 eq.) en THF (500 ml), y a continuación se enfría a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un baño de hielo, y a continuación se añade bromuro de bromoacetilo (31,6 g, 0,157 mol, 1,1 eq.) gota a gota a la misma. Después de la adición, se agita a temperatura ambiente durante 5 horas. La mezcla de reacción a continuación se vierte en 100 ml de agua con hielo, y se extrae con AE. Después de las fases orgánicas se combinan, se lavan con agua y solución salina, se seca sobre sulfato de sodio anhidro y se concentra. Se usa cromatografía en columna de PE:AE = 2:1 para dar 34,2 g de un sólido de color amarillo pálido del compuesto VII-1, con un rendimiento del 65,1 %.

35 Síntesis del compuesto VIII-1:



40 El compuesto VII-1 (14,8 g, 40,25 mmol, 1,0 eq.), $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (30,9, 322 mmol, 8,0 eq.), y acetonitrilo (1400 ml) se calientan a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se dejan reaccionar durante 10 horas. A continuación, se enfría y se filtra, y el filtrado se concentra para dar 12,2 g de un sólido blanco de compuesto VIII-1, con un rendimiento del 100 %.

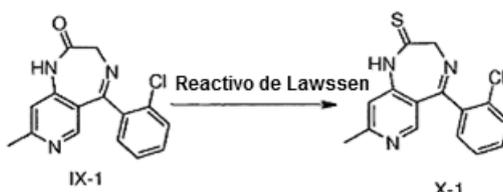
Síntesis del compuesto IX-1:



- 5 Se añade el compuesto VIII-1 (12,2 g, 40,25 mmol, 1,0 eq.) a etanol (EtOH) (450 ml), y se calienta a reflujo durante 24 horas. El producto bruto se concentra, y se recrystaliza con PE/AE para dar 10,0 g de un sólido blanco de compuesto IX-1, con un rendimiento del 87,0 %.

Síntesis del compuesto X-1:

10

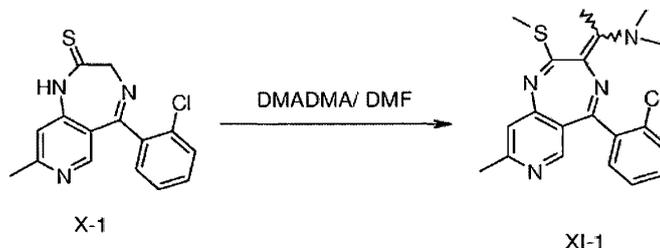


15

Se añade el compuesto IX-1 (12,0 g, 42 mmol, 1,0 eq.) y reactivo de Lawesson (20,38 g, 50,4 mmol, 1,2 eq.) en dimetoxietano (DME) (1,200 ml), y se calienta a 85 °C y se deja reaccionar durante 3 horas. El disolvente se concentra hasta la mitad y el residuo se vierte en una solución acuosa fría de Na₂CO₃. Se extrae con AE (300 ml x 2) y las fases orgánicas se combinan, se lavan con agua y solución salina, se secan sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentra. El producto bruto obtenido se recrystaliza con AE para dar 8,31 g de un sólido de color amarillo pálido del compuesto X-1, con un rendimiento del 65,5 %.

20

Síntesis del compuesto XI-1:

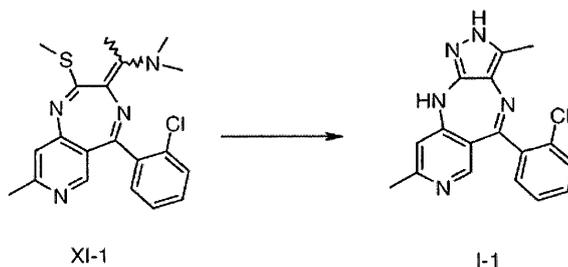


25

Se añaden el compuesto X (4,27 g, 14,14 mmol, 1,0 eq.) y dimetilacetil de N,N-dimetilacetamida (DMA-DMA) (7,53 g, 56,56 mmol, 4,0 eq.) en N,N-dimetilformamida (DMF) (60 ml). Se agita a 20 °C durante 2 horas, a continuación se calienta a 110 °C y se deja reaccionar durante 10 horas. Se concentra para dar 4,57 g de sólido de color rojo del compuesto XI-1, con un rendimiento del 100 %.

30

Síntesis del compuesto I-1:



35

Se añaden el compuesto XI-1 (4,57 g, 14,14 mmol, 1,0 eq.) e hidrazino anhidro (2,26 g, 70,7 mmol, 5,0 eq.) en MeOH (26 ml) y DCM (72 ml) y se dejan reaccionar a 20 °C durante 24 horas. Se concentra para dar el producto bruto, que se recrystaliza con AE para dar 3,5 g de sólido naranja del compuesto I-1. Rendimiento: 76,5 %, pureza:

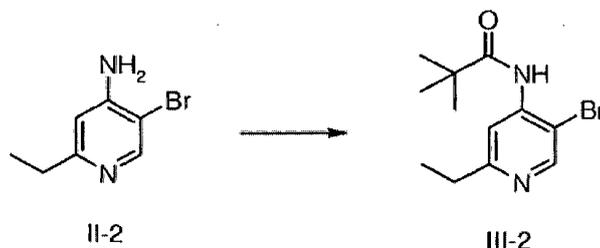
99 %. RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 11,7 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 7,36-7,49 (m, 4H), 7,06 (s, 1H), 6,35 (s, 1H), 2,13 (s, 3H), 1,98 (s, 3H); EM (ES + APCI) $M + 1 = 324$.

Forma de realización 2

5

Preparación del compuesto 1-2

Síntesis de compuestos III-2:

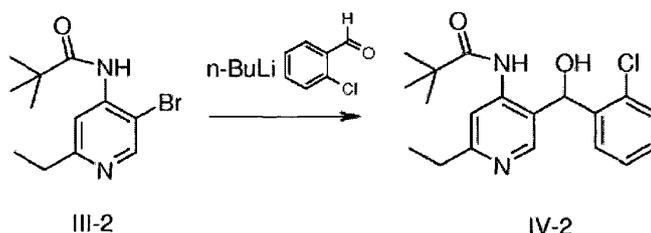


10

Se añade el compuesto II-2 (54,6 g, 272,9 mmol, 1,0 eq.) y Et_3N (153,3 ml, 1,09 mol, 4,0 eq.) en 700 ml de DCM. En un baño de hielo y agua, se enfría a menos de 5°C . Se añade cloruro de pivaloilo (98,7 g, 818,7 mmol, 3,0 eq.) disuelto en 170 ml de DCM en la mezcla de reacción gota a gota. Después de la adición, la solución de reacción se calienta a temperatura ambiente y se agita durante aproximadamente 10 horas. A continuación, la solución de reacción se lava con agua y solución salina, se seca sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentra para proporcionar 58,1 g de un sólido blanco de compuesto III-2 58,1 g, con un rendimiento del 74,7 %. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,55 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,16 (a, 1H), 2,76-2,81 (q, $J = 7,56$, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,28 a 1,32 (t, $J = 7,56$, 3H).

15

20 Síntesis del compuesto IV-2:



25

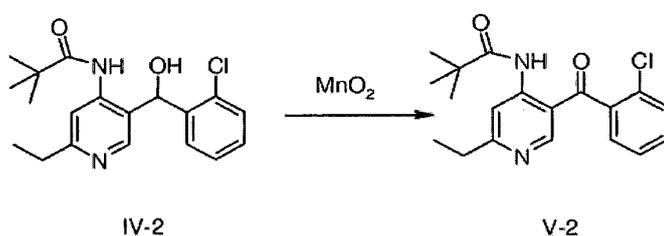
Bajo la protección de N_2 , el compuesto III-2 (58,1 g, 203,7 mmol, 1,0 eq.) y TMEDA (71,0 g, 611,2 mmol, 3,0 eq.) se disuelven en 600 ml de THF. La solución de reacción se enfría a -78°C . Se añade $n\text{-BuLi}$ (2,5 M de solución de $n\text{-hexano}$, 244,5 ml, 611,2 mmol, 3,0 eq.) gota a gota. La temperatura de reacción se mantiene por debajo de -78°C . Después de finalizar la adición, se deja que la solución de reacción continúe la reacción con agitación a -78°C durante 1 hora. A continuación, se disuelve $o\text{-clorobenzaldehído}$ (57,8 g, 407,4 mmol, 2,0 eq.) en 200 ml de THF y se añade gota a gota a la solución de reacción. La temperatura de reacción se mantiene por debajo de -78°C . Después de finalizar la adición, se deja que la solución de reacción continúe la reacción con agitación a -78°C durante 2,5 horas. Después de la terminación de la reacción, a 78°C , se añade ácido acético (AcOH) (36,7 g, 611,2 mmol, 3,0 eq.) gota a gota para extinguir la reacción. Después la solución de reacción se calienta a temperatura ambiente, y la solución de reacción se diluye con agua y AE. La fase orgánica se obtiene por separación de la mezcla, y la fase acuosa se extrae una vez con AE. La fase orgánica se combina, se lava una vez con solución salina saturada, y se seca sobre sulfato de sodio anhidro. La fase orgánica se concentra, y se lleva a cabo cromatografía en columna (PE: AE = 5:1 a 3:1) para proporcionar 60,1 g de un sólido blanco de compuesto IV-2, con un rendimiento del 85,2 %. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9,66 (a, 1H), 8,30 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,43 (d, $J = 7,76$, 1H), 7,22-7,32 (m, 1H), 6,21 (s, 1H), 4,94 (a, 1H), 2,74-2,80 (q, $J = 7,56$, 2H), 1,27 (s, 9H), 1,28-1,30 (t, $J = 7,56$, 3H).

30

35

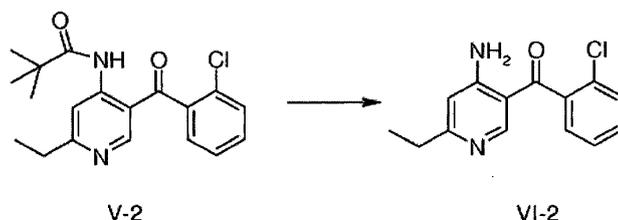
40

Síntesis del compuesto V-2:



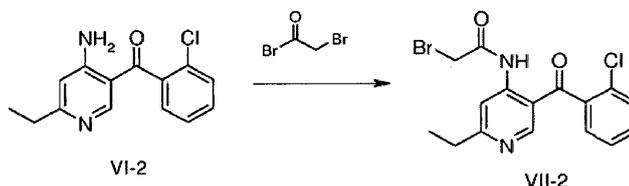
Se disuelve el compuesto IV-2 (22,3 g, 64,3 mmol, 1,0 eq.) en 500 ml de AE, y a continuación se añade MnO₂ (55,9 g, 643,0 mmol, 10,0 eq.) una vez cada media hora, un total de 10 veces. Después de la adición, se deja que la solución de reacción continúe la reacción con agitación a temperatura ambiente durante 8 horas. La reacción se completa. La solución de reacción se filtra y el filtrado se concentra a sequedad para proporcionar 22,2 g de un aceite incoloro del compuesto V-2, con un rendimiento del 100,0 %. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 11,95 (a, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 7,46-7 0,52 (m, 2H), 7,36-7 0,44 (m, 2H), 2,83-2,89 (q, J = 7,56, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,32 a 1,36 (t, J = 7,56, 3H).

Síntesis del compuesto VI-2:



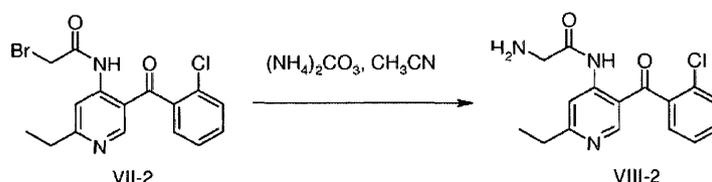
Se disuelve el compuesto V-2 (22,2 g, 64,3 mmol, 1,0 eq.) en un disolvente mixto de solución acuosa 1 N de NaOH (140 ml, 2,0 eq.) y 500 ml de MeOH. La solución de reacción se calienta a reflujo y se deja reaccionar con agitación durante 4 horas. Cuando el material XV1-2 desaparece por detección CL-EM, se completa la reacción. La solución de reacción se concentra y la fase acuosa residual se extrae varias veces con AE. La fase orgánica se combina y se lava una vez con solución salina saturada, se seca sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentra para proporcionar 17,5 g de aceite de color marrón del compuesto VI-2, con un rendimiento del 100,0 %. ¹⁴NOR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8,24 (s, 1H), 7,33-7,49 (m, 4H), 6,46 (s, 1H), 2,69-2,74 (q, J = 7,56, 2H), 1,60 (a, 2H), 1,29 a 1,31 (t, J = 7,56, 3H).

Síntesis del compuesto VII-2:



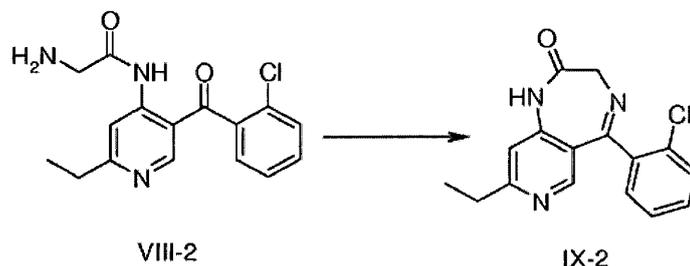
Se disuelven el compuesto VI-2 (17,5 g, 67,1 mmol, 1,0 eq.) y Et₃N (15,9 g, 73,8 mmol, 1,1 eq.) en 400 ml de THF, y la solución de reacción se enfría a 0 °C. A continuación, se añade lentamente bromuro de bromoacetilo (14,9 g, 73,8 mmol, eq.) gota a gota a la solución de reacción. La temperatura se mantiene por debajo de 0 °C. Después de finalizar la adición, la solución de reacción se calienta a temperatura ambiente y se deja reaccionar con agitación durante toda la noche. Después de que la reacción se haya completado, la solución de reacción se vierte en 100 g de agua con hielo, y la solución mezclada resultante se separa para dar la fase orgánica. La fase acuosa se extrae con AE. La fase orgánica se combina y se lava una vez con solución salina saturada, se seca sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentra para dar 16,5 g de sólido de color amarillo del compuesto VII-2, con un rendimiento del 64,7 %. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 11,67 (a, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,60-7,64 (m, 3H), 7,52-7,55 (m, 1H), 4,35 (s, 2H), 2,78-2,84 (q, J = 7,56, 2H), 1,21-1,25 (t, J = 7,56, 3H).

Síntesis del compuesto VIII-2:



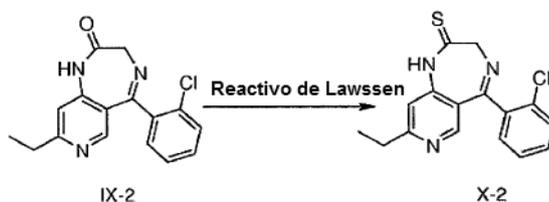
Se disuelve el compuesto VII-2 (14,0 g, 36,7 mmol, 1,0 eq.) en 1400 ml de CH₃CN, y a continuación se añade (NH₄)₂CO₃ (35,2 g, 366,8 mmol, 8,0 eq.). Se deja que la solución de reacción reaccione con agitación a temperatura ambiente durante toda la noche. Después de la terminación de la reacción, la solución de reacción se filtra y el filtrado se concentra para obtener 11,7 g de aceite de color rojo del compuesto VIII-2, con un rendimiento del 100 %.

Síntesis del compuesto IX-2:



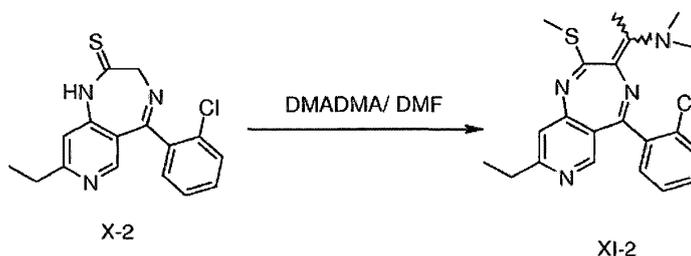
- 5 Se disuelve el compuesto VIII-2 (11,7 g, 36,7 mmol, 1,0 eq.) en 200 ml de EtOH, y la solución se calienta a reflujo con agitación durante aproximadamente 3 horas. Después de que la reacción se haya completado, la solución de reacción se concentra para dar el producto bruto, que se recristaliza con PE y AE para dar 9,4 g de sólido de color amarillo del compuesto IX-2, con un rendimiento del 85,4 %. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9,27 (a, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,53-7,56 (m, 1H), 7,37-7,45 (m, 3H), 6,89 (s, 1H), 4,47 (s, 2H), 2,85-2,90 (q, J = 7,56, 2H), 1,32-1,36 (t, J = 7,56, 3H).
- 10

Síntesis del compuesto X-2:



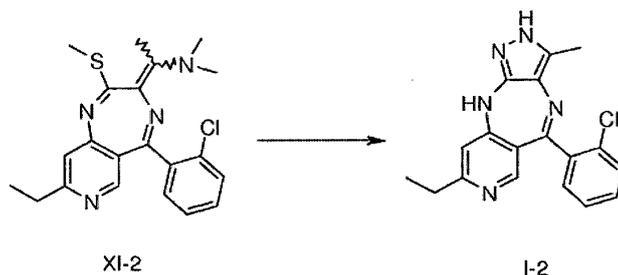
- 15 Se disuelve el compuesto IX-2 (5,0 g, 16,7 mmol, 1,0 eq.) en 500 ml de DME, y después se añade reactivo de Lawesson (8,1 g, 20,0 mmol, 1,2 eq.). La solución de reacción se calienta a reflujo con agitación durante aproximadamente 3 horas. Después de la terminación de la reacción, la solución de reacción se concentra para eliminar la mitad del disolvente, y a continuación, la solución de reacción residual se vierte en una solución acuosa en hielo de Na₂CO₃ saturado. La fase acuosa resultante se extrae con THF varias veces. La fase orgánica se combina y se lava una vez con solución salina saturada, se seca sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentra para dar el producto bruto. A continuación, se recristaliza con AE para dar 3,5 g de un sólido de color amarillo pálido del compuesto X-2, con un rendimiento del 66,5 %.
- 20 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9,88 (a, 1H), 8,25 (s, 1H), 7,55-7,57 (m, 1H), 7,37-7,44 (m, 3H), 6,86 (s, 1H), 4,88 (s, 2H), 2,86-2,92 (q, J = 7,56, 2H), 1,32-1,36 (t, J = 7,56, 3H).
- 25

Síntesis del compuesto XI-2:



- 30 Se disuelven el compuesto X-2 (4,1 g, 13,1 mmol, 1,0 eq.) y DMA-DMA (8,7 g, 65,5 mmol, 5,0 eq.) en 85 ml de DMF. La reacción se agita a temperatura ambiente durante 2 horas, después se calienta a 80 °C y se agita durante toda la noche. La solución de reacción se concentra directamente hasta sequedad para proporcionar 5,2 g de aceite de color marrón del compuesto XI-2 en bruto, con un rendimiento del 100 %. Se utiliza directamente en la siguiente
- 35 etapa.

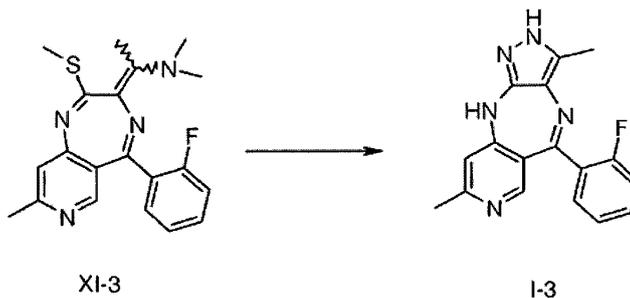
Síntesis del compuesto I-2:



- 5 El compuesto XI-2 (5,2 g, 13,1 mmol, 1,0 eq.) e hidrazino anhidro (2,1 g, 65,5 mmol, 5,0 eq.) se disuelven en un disolvente mixto de 60 ml de MeOH y 120 ml de DCM. Se deja que la solución de reacción reaccione a temperatura ambiente con agitación durante 24 horas. La solución de reacción se concentra para dar un producto bruto, que a continuación se recristaliza por AE para dar 3,1 g de un sólido de color amarillo de producto puro I-2. Rendimiento: 71,8 %, pureza: 98 %.
- 10 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 11,7 (ancho, 1H), 8,44 (s, 1H), 7,46-7,50 (m, 1H), 7,37-7,44 (m, 3H), 7,10 (s, 1H), 6,39 (s, 1H), 2,38-2,44 (q, J = 7,56, 2H), 1,98 (s, 3H), 1,6 hasta 1,10 (t, J = 7,56, 3H); EM (ES + APCI) M + 1 = 338.

Forma de realización 3

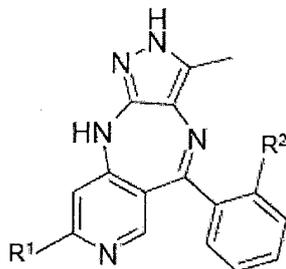
- 15 Preparación del compuesto I-3



- 20 El método de síntesis específica se refiere a la Forma de realización 1 y Forma de realización 2.
 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 11,6 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 7,30-7,49 (m, 4H), 7,06 (s, 1H), 6,35 (s, 1H), 2,13 (s, 3H), 1,98 (s, 3H); EM (ES + APCI) M + 1 = 308.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula estructural (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



5

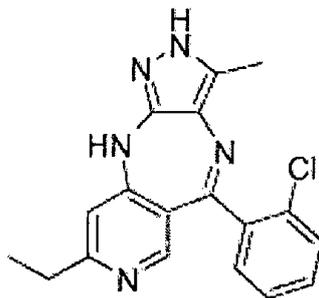
I

en la que R¹ representa un grupo hidrocarbonado C₁-C₆, R² representa halógeno.

10 2. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ representa un grupo metilo o etilo.

3. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R² representa cloro o flúor.

15 4. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, compuesto que es de la siguiente estructura o sales farmacéuticamente aceptables del mismo:



20 5. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de arginina, clorhidrato, sulfato, fosfato, maleato, fumarato, citrato, metanosulfonato, p-toluenosulfonato, o tartrato de compuesto de acuerdo con la reivindicación 1.

25 6. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en el tratamiento de una enfermedad tumoral.

30 8. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la enfermedad tumoral es un cáncer gástrico, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de próstata o cáncer de la cavidad oral.

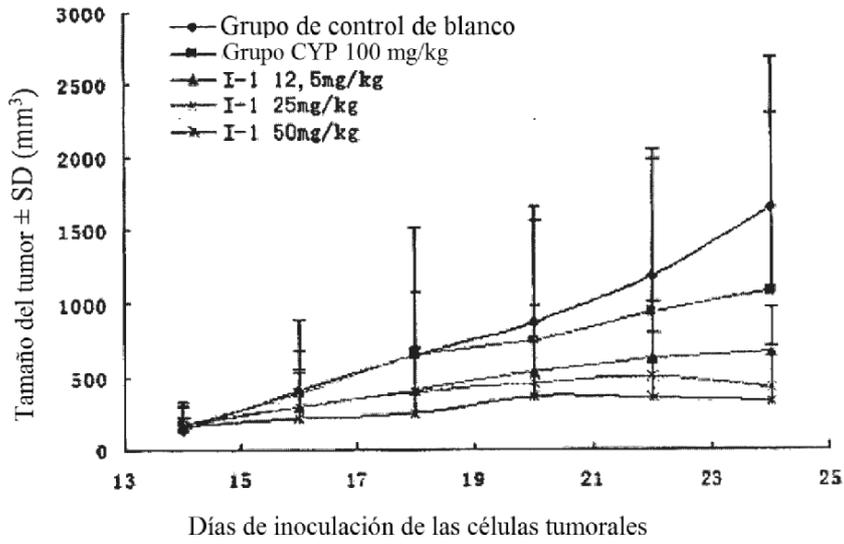


Figura 1

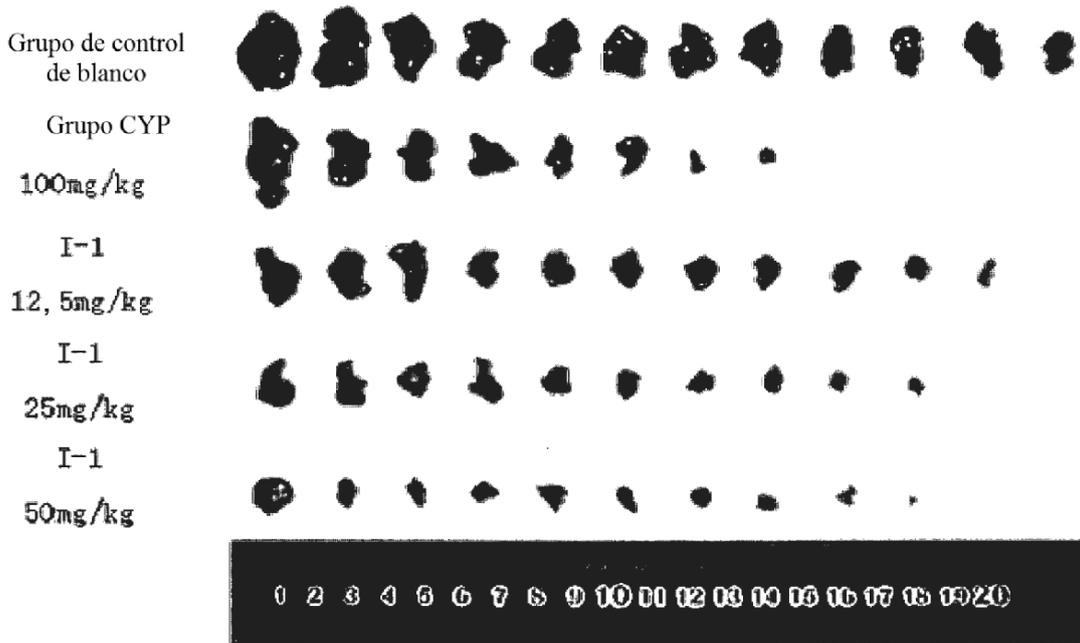


Figura 2

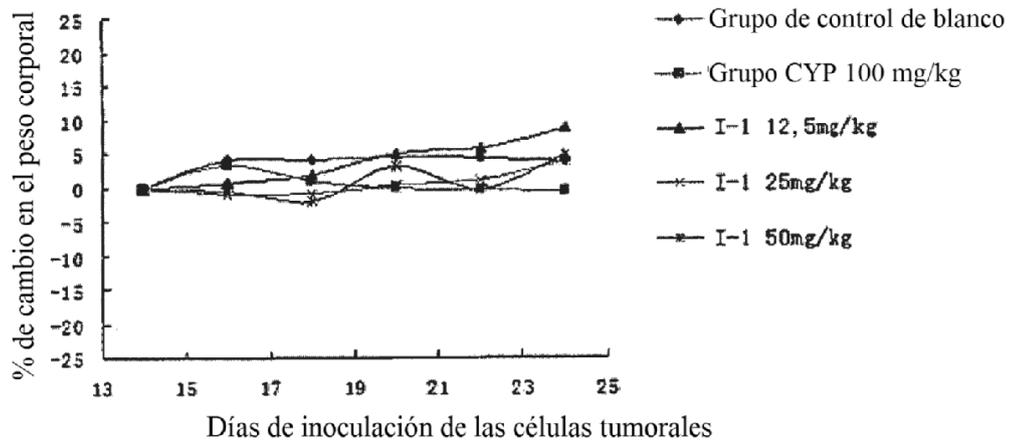


Figura 3

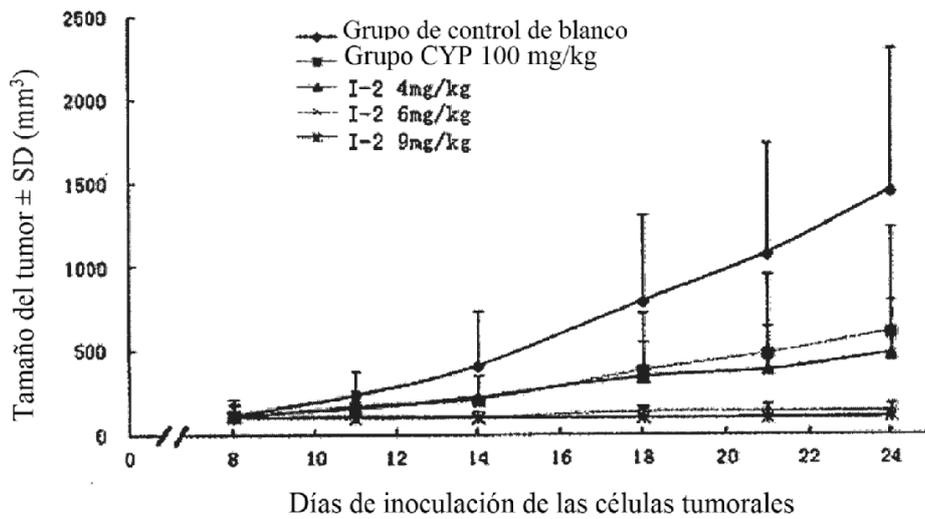


Figura 4

Grupo de control
de blanco

Grupo CYP 100mg/kg

I-2 4mg/kg

I-2 6mg/kg

I-2 9mg/kg

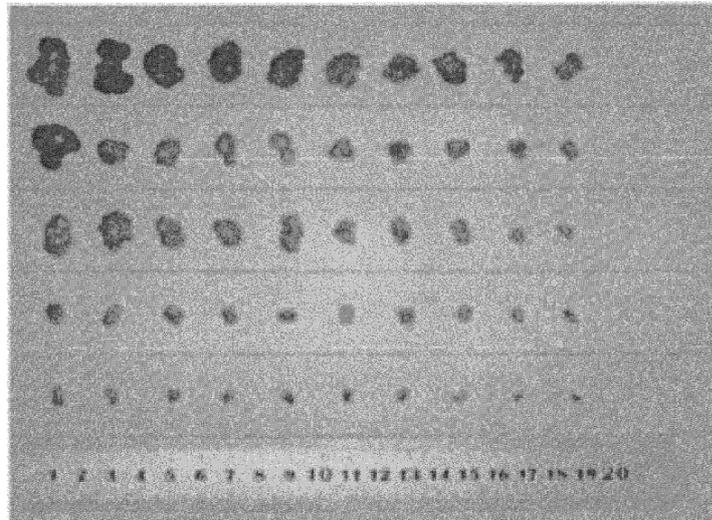


Figura 5

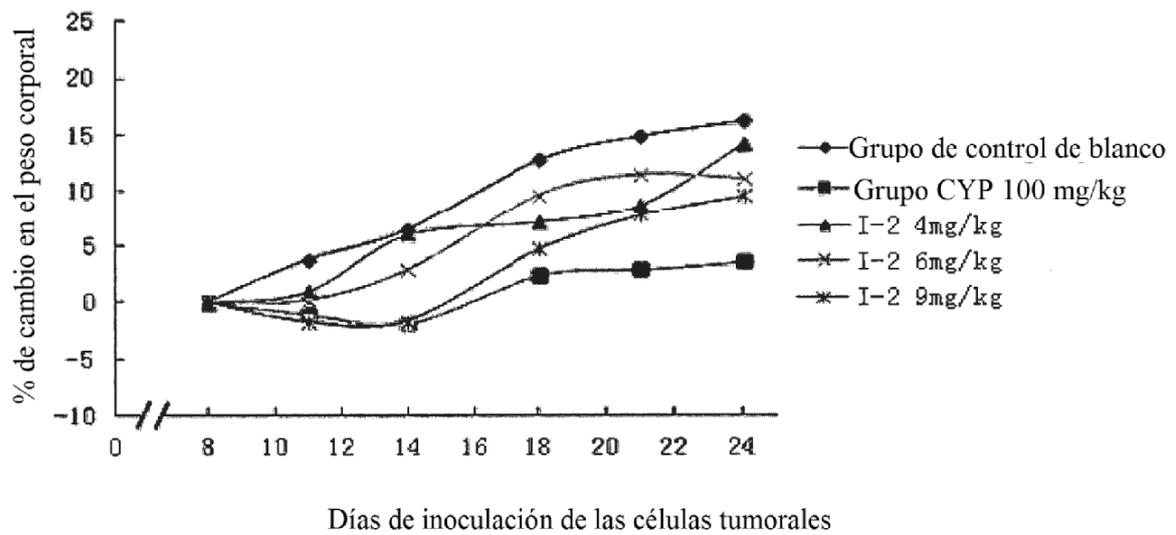


Figura 6