

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 022**

51 Int. Cl.:

C07D 491/22 (2006.01)

A61K 31/4745 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.07.2007 PCT/EP2007/006294**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.01.2008 WO08012003**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2007 E 07786096 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2017 EP 2044080**

54 Título: **Derivados de camptotecina con actividad antitumoral**

30 Prioridad:

26.07.2006 IT MI20061474

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

01.08.2017

73 Titular/es:

**INDENA S.P.A. (100.0%)
VIA ORTLES, 12
20139 MILANO, IT**

72 Inventor/es:

**FONTANA, GABRIELE;
BOMBARDELLI, EZIO;
MANZOTTI, CARLA;
BATTAGLIA, ARTURO y
SAMORI, CRISTIAN**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 628 022 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 camptotecina con actividad antitumoral

5 La presente invención se relaciona con nuevos derivados de camptotecina que tienen actividad antitumoral, los procesos para la preparación de estos, el uso de estos como fármacos antitumorales y composiciones farmacéuticas que los contienen.

Antecedentes de la invención

10

La camptotecina es un alcaloide extraído de *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae), descrito por primera vez por Wall y Wani en 1966 (J. Am. Chem. Soc. 1966, 88, 3888-3890). La camptotecina, aunque dotada con actividad antitumoral de amplio espectro, especialmente contra tumor de colon y otros tumores sólidos y leucemias, no se usa en terapia debido a su alta toxicidad, la cual se manifiesta particularmente en forma de cistitis hemorrágica, toxicidad gastrointestinal y mielosupresión.

15

Se han sintetizado varios análogos de camptotecina con el fin de obtener compuestos que tengan baja toxicidad y alta solubilidad. En la actualidad, se usan dos fármacos en la práctica clínica, específicamente CPT-11 y topotecán. Otros derivados, tales como belotecán, rubitecán, exatecán, gimitecán, pegamotecán, lurtotecán, karenitecina, afeletecán, homocamptotecina, diflomotecán, y muchos otros, están sometidos a experimentación clínica. El compuesto CPT-11 es un profármaco altamente soluble para 10-hidroxi-7-etilcamptotecina (comúnmente conocido como SN-38), aprobado para el tratamiento de muchos tumores sólidos y ascíticos (colorrectal, piel, estómago, pulmón, cuello uterino, ovario, y linfoma no Hodgkin).

20

25 El topotecán es un compuesto soluble en solución fisiológica, activo contra los tumores de pulmón, estómago, hígado, ovario, mama, próstata, esófago, recto, sarcomas de tejidos blandos, cabeza y cuello, glioblastoma, y leucemias mielocíticas crónicas y agudas. El topotecán muestra, sin embargo, efectos secundarios importantes tales como neutropenia y trombocitopenia.

25

30 El lurtotecán es un derivado más soluble, que tiene actividad en tumores de cuello, ovario, mama, colorrectal, y microcitoma pulmonar. Sin embargo, el lurtotecán también tiene toxicidad hemática.

30

El rubitecán es un profármaco para el uso oral eficaz contra tumores de páncreas, ovario y mama.

35 La camptotecina y sus análogos, como es el caso de todos los inhibidores de la topoisomerasa I, son eficaces contra tumores resistentes a fármacos convencionales, incluyendo los inhibidores de la topoisomerasa II; mantienen altos niveles de topoisomerasa durante todo el ciclo celular; y no inducen resistencia multifármaco (Pgo o MRP) o metabolismo de detoxificación mediado por la enzima.

35

40 La investigación se enfoca ahora en nuevos inhibidores de la topoisomerasa I que tienen menor toxicidad que los fármacos usados actualmente.

40

45 Los derivados de camptotecina de anillo abierto muestran alta unión a proteínas (en particular con la albúmina) y baja distribución en los tejidos tumorales. Como consecuencia, el producto se acumula en el cuerpo y los tumores se ven poco afectados.

45

Por el contrario, la alta lipofilia de la forma lactona promueve la adhesión de los derivados de camptotecina a las membranas celulares, particularmente de los eritrocitos, lo que afecta la relación de distribución tejido/plasma. Por esta razón, la investigación se enfoca hacia dos estrategias alternativas: a) el diseño de productos de baja unión a proteínas que tienen aún buena solubilidad; b) el diseño de productos altamente potentes que tienen efecto terapéutico incluso a dosis extremadamente bajas.

50

55 Las modificaciones en las posiciones 7-, 9-, 10- y 11- usualmente demostraron tolerarse bien sin afectar la estabilidad del complejo ternario ADN-topoisomerasa I-camptotecina, cuya formación es responsable de la actividad antitumoral de los compuestos.

55

Los productos con configuración 20R demostraron ser inactivos o menos activos que los productos con configuración 20S - lo cual coincide con la configuración natural.

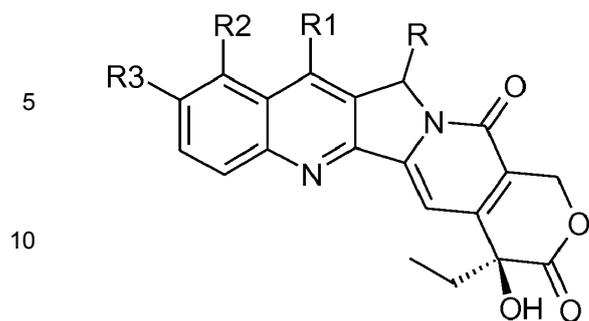
60 Por regla general, se consideran desfavorables las modificaciones en la posición 5- para la formación del complejo ternario, mientras que se ha reportado que las modificaciones en los anillos de piridona D y E son perjudiciales para la actividad del producto.

60

Descripción de la invención

65

En un primer aspecto, la invención se relaciona con derivados de camptotecina de fórmula general I:



15 (I)

en donde:

R es F;

20 R1 es hidrógeno, alquilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, nitrilo, alcoximino, ariloximino, sililalquilo;

R2 es hidrógeno, hidroxilo, alcoxi, aminoalquilo;

R3 es hidrógeno, hidroxilo, alcoxi, aminoalquilo;

con la condición de que cuando R1 es hidrógeno, R2 y R3 son hidrógeno;

25 en donde los grupos alquilo, alcoxi, aminoalquilo o alcoximino pueden contener de 1 a 8 átomos de carbono, preferentemente de 1 a 4, en una cadena lineal o ramificada,

y los grupos ariloxi pueden contener de 5 a 10 átomos de carbono;

las sales farmacéuticamente aceptables, isómeros, enantiómeros, diastereómeros de estas, y las mezclas correspondientes.

30 Los compuestos de la invención muestran baja unión a proteínas y tienen buena solubilidad y alta potencia incluso a dosis muy bajas.

La vía de síntesis preferida para la preparación de los compuestos de la invención se ilustra en Esquema y comprende las siguientes etapas:

35 a) protección de los grupos hidroxil precursores;

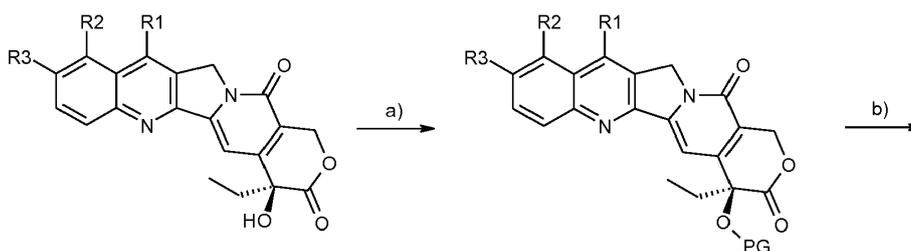
b) derivatización en 5 a través de la formación de un carbanión y la reacción con un reactivo electrofílico;

c) desprotección de los grupos hidroxil;

40

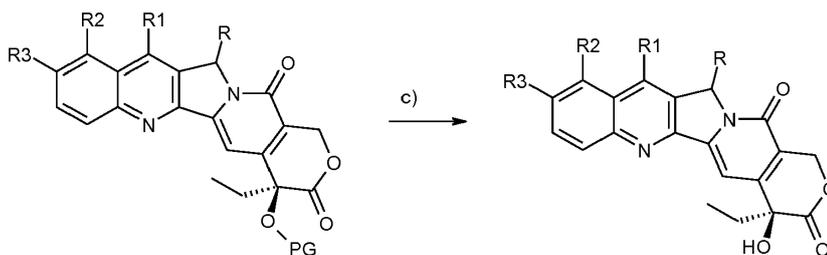
Esquema

45



50

55



60

65 En Esquema, R, R1, R2 y R3 tienen los significados descritos anteriormente, y PG es un grupo protector de hidroxil.

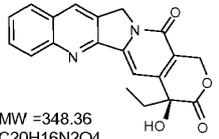
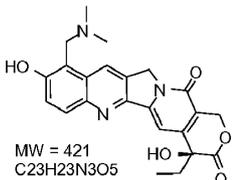
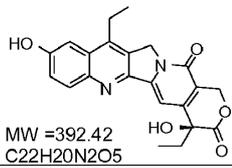
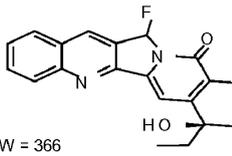
Los precursores pueden estar disponibles comercialmente u obtenidos como se describe en la literatura.

Los carbaniones en 5 pueden obtenerse por tratamiento del precursor con una base orgánica fuerte, preferentemente LiHMDS.

El carbanión reacciona *in situ* con un reactivo electrofílico, tal como una fuente de halógeno o azadicarboxilato, isocianato, derivado de clorocarbonilo, o tosílizada.

Se prefieren sililos y carbamatos o una combinación de estos como grupos protectores de hidroxilo.

Los compuestos de la invención se evaluaron en un ensayo de citotoxicidad en un amplio espectro de células tumorales. A manera de ejemplo, se reportan los datos de citotoxicidad en la línea celular NCI-H460 (cáncer de NSCL) respecto a un compuesto de fórmula (I), usando camptotecina y los fármacos Topotecán y SN-38 como referencias:

Nombre	Fórmula	Conteo de células NCI-H460 CI50 (µg/ml)
Camptotecina	 <p>MW = 348,36 C₂₀H₁₆N₂O₄</p>	0,115 ± 0,0174
Topotecan	 <p>MW = 421 C₂₃H₂₃N₃O₅</p>	0,63 ± 0,44
SN38	 <p>MW = 392,42 C₂₂H₂₀N₂O₅</p>	0,0865 ± 0,0049
5-F-camptotecina	 <p>MW = 366 C₂₀H₁₅FN₂O₄</p>	Isómero 1: 20,6 ± 6,8 Isómero 2: 20 ± 5,1

Se evaluaron los compuestos más activos en un ensayo de digestión de ADN que mide la concentración activa y la persistencia del daño (ver la sección "Ejemplos"). Los derivados de fórmula (I) muestran sorprendentemente mayor persistencia en el bloqueo de la replicación del ADN que los estándares de referencia (particularmente topotecán y camptotecina), mientras mantienen una eficaz actividad citotóxica.

En otro aspecto, la invención se relaciona con composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de fórmula (I) junto con portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables. Las formas farmacéuticas adecuadas para la administración oral o parenteral de los compuestos (I) pueden ser sólidas, preferentemente cápsulas, tabletas y granulados, o líquidas, preferentemente soluciones inyectables o para infusión.

Los compuestos adecuadamente formulados de la invención pueden usarse para el tratamiento de tumores sólidos y leucemias, en particular tumores de pulmón, ovario, mama, estómago, hígado, próstata, sarcomas de tejidos blandos, cabeza y cuello, esófago, páncreas, colon, recto, glioblastoma, y leucemias mielocíticas crónicas y agudas.

EJEMPLOS

Ejemplo I - 20-OTES-camptotecina

Se suspende camptotecina (0,100 g, 0,287 mmol) en dimetilformamida anhidra (3 ml), en atmósfera inerte, y a la suspensión resultante se le añade imidazol (0,980 g, 1,44 mmol). La mezcla se agita por 10 minutos, seguidamente se gotea en ella cloruro de trietilsililo (TES-Cl) (0,193 ml, 1,15 mmol), seguido de la adición de 4-dimetilamino piridina

(DMAP) (0,040 g, 0,287 mmol). Después de 46 horas, la mezcla de reacción se evapora al vacío (control por TLC de la desaparición completa del reactivo, eluyente CH₂Cl₂/MeOH = 30/1). El sólido se redissuelve seguidamente en CH₂Cl₂ y se lava con H₂O y NH₄Cl saturado. La fase acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (2 X 10 ml). Las fases orgánicas se combinan y se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran al vacío, obteniendo de esta manera el producto deseado (0,133 g, 0,287 mmol) como un sólido amarillo pálido.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,37 (s, 1H, Ar, H-7), 8,25 (d, 1H, J = 8,4 Hz, Ar), 7,92 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar), 7,82 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Ar), 7,65 (t, 1H, J = 8,4 Hz, Ar), 7,57 (s, 1H, H-14), 5,67 (d, 1H, J = 16,4 Hz, H-17), 5,29 (s, 2H, H-5), 5,25 (d, 1H, J = 16,4 Hz, H-17), 2,00-1,84 (m, 2H, H-19), 1,03-0,93 (m, 12 H), 0,80-0,71 (m, 6 H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 171,7, 157,6, 152,5, 151,5, 149,0, 145,9, 130,9, 130,4, 130,0, 128,4, 128,1, 128,0, 127,9, 118,9, 94,4, 75,3, 66,0, 50,0, 33,2, 7,9, 7,2, 6,4.

Ejemplo II- 20-OTES SN-38

Se suspende SN-38 (0,100 g, 0,255 mmol) en dimetilformamida anhidra (5 ml), en atmósfera inerte y la suspensión resultante se añade con imidazol (0,087 g, 1,28 mmol). La mezcla se agita por 10 minutos, seguidamente se gotea en ella cloruro de trietilsililo (TES-Cl) (0,171 ml, 1,02 mmol), seguido de la adición de 4-dimetilamino piridina (DMAP) (0,031 g, 0,255 mmol). Después de 52 horas, la mezcla de reacción se evapora al vacío, monitoreando por TLC (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) la desaparición completa del reactivo. El sólido se redissuelve seguidamente en CH₂Cl₂ y se lava con H₂O y NH₄Cl saturado. La fase acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (2 X 10 ml). Las fases orgánicas se combinan y se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran al vacío, obteniendo de esta manera el producto deseado (0,121 g, 0,240 mmol, 94 %) como un sólido amarillo pálido.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 9,26 (br s, 1H, OH), 8,14 (d, 1H, J = 9,2 Hz, Ar, H-12), 7,58 (s, 1H, H-14), 7,49 (dd, 1H, J₁ = 9,2 Hz J₂ = 2,2 Hz, H-11), 7,46 (d, 1H, J = 2,2 Hz, H-9), 5,70 (d, 1H, J = 16,5 Hz, H-17), 5,28 (d, 1H, J = 16,5 Hz, H-17), 5,23 (s, 2H, H-5), 3,05 (q, 2H, J = 7,5 Hz), 1,97-1,81 (m, 2H, H-19), 1,32 (t, 3H, J = 7,5 Hz, Me), 0,98-0,88 (m, 12H), 0,77-0,68 (m, 6H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 172,1, 157,9, 156,6, 152,1, 149,0, 146,7, 144,6, 143,6, 131,9, 128,7, 126,9, 122,8, 117,9, 105,5, 98,5, 75,4, 65,9, 49,5, 32,9, 23,2, 13,5, 7,8, 7,2, 6,4.

Ejemplo III - 10-OTBDMS-20-OTES SN-38

Se disuelve 20-OTES SN-38 (0,121 g, 0,240 mmol) en una mezcla anhidra CH₂Cl₂/THF = 1:1 (8 ml) en atmósfera inerte. Se le añade además imidazol (0,081 g, 1,20 mmol) seguido, después de 10 minutos, de cloruro de ter-butildimetilsililo (TBDMS-Cl) (0,144 mg, 0,957 mmol), y después por 4-dimetilamino piridina (DMAP) (0,029 g, 0,240 mmol). Después de 18 horas, la mezcla de reacción se evapora al vacío, monitoreando por TLC (Hexano/AcOEt = 1/1) la desaparición del reactivo. El sólido se redissuelve seguidamente en CH₂Cl₂ y se lava con H₂O y NH₄Cl saturado. La fase acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (2 X 10 ml), y las fases orgánicas se combinan, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran al vacío. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, Hexano/AcOEt = 1/1), obteniendo de esta manera el producto deseado (0,127 g, 0,205 mmol, 85 %) como un sólido amarillo pálido.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,14 (d, 1H, J = 8,8 Hz, Ar, H-12), 7,49 (s, 1H, H-14), 7,40 (d, 1H, J = 2,2 Hz, H-9), 7,38 (dd, 1H, J₁ = 8,8 Hz J₂ = 2,5 Hz, H-11), 5,67 (d, 1H, J = 16,5 Hz, H-17), 5,25 (d, 1H, J = 16,5 Hz, H-17), 5,23 (s, 2H, H-5), 3,11 (q, 2H, J = 7,6 Hz), 1,99-1,82 (m, 2H, H-19), 1,38 (t, 3H, J = 7,6 Hz, Me), 1,04 (s, 9H), 1,00-0,92 (m, 12H), 0,78-0,69 (m, 6H), 0,30 (s, 6H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 171,9, 157,7, 155,1, 151,5, 150,1, 146,8, 145,6, 143,5, 132,2, 128,2, 126,9, 125,9, 118,0, 110,5, 97,7, 75,4, 66,0, 49,3,) 33,2, 25,6, 23,1, 18,3, 13,7, 7,9, 7,2, 6,4, -4,3.

Ejemplo IV - 20-OTES Topotecán

Se suspende topotecán (0,100 g, 0,238 mmol) en dimetilformamida anhidra (5 ml), en atmósfera inerte, y a la suspensión resultante se le añade imidazol (0,081 g, 1,19 mmol). La mezcla se agita por 10 minutos, seguidamente se gotea en ella cloruro de trietilsililo (TES-Cl), (0,160 ml, 0,952 mmol), seguido de la adición de 4-dimetilamino piridina, (DMAP), (0,029 g, 0,238 mmol). Después de 52 horas, la mezcla de reacción se evapora al vacío, monitoreando por TLC (CH₂Cl₂/MeOH = 10/1) la desaparición completa del reactivo. El sólido se redissuelve seguidamente en CHCl₃ y H₂O y NH₄Cl saturado, y la fase acuosa se extrae con CHCl₃ (2 X 15 ml). Las fases orgánicas se combinan y se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran al vacío, obteniendo de esta manera el producto deseado (0,120 g, 0,224 mmol, 94 %) como un sólido amarillo pálido.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 9,65 (br s, 1H), 8,26 (s, 1H, Ar, H-7), 8,14 (d, 1H, J = 8,8 Hz, Ar, H-12), 7,80 (d, 1H, J = 8,8 Hz, Ar, H-11), 7,58 (s, 1H, H-14), 5,67 (d, 1H, J = 16,5 Hz, H-17), 5,25 (d, 1H, J = 16,5 Hz, H-17), 5,20 (s, 2H, H-5), 4,71 (s, 2H), 2,81 (s, 6H, 2 Me), 1,97-1,81 (m, 2H, H-19), 0,98-0,88 (m, 12H), 0,77-0,68 (m, 6H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 172,1, 157,9, 156,6, 152,1, 150,8, 146,8, 144,3, 134,3, 131,2 129,9, 127,9, 123,0, 118,9, 110,1, 98,5, 75,4, 65,9, 51,1, 50,0, 43,1, 32,9, 7,8, 7,2, 6,4.

Ejemplo V - 10-OTBDMS 20-OTES Topotecán

Se disuelve 20-OTES topotecán (0,120 g, 0,224 mmol) en una mezcla anhidra de CH₂Cl₂/THF = 1:1 (8 ml) en atmósfera inerte. Se añade imidazol (0,076 g, 1,12 mmol) seguido, después de 10 minutos, por cloruro de ter-butildimetilsililo (TBDMS-Cl), (0,135 mg, 0,896 mmol), después por 4-dimetilamino piridina (DMAP), (0,027 g, 0,224 mmol). Después de 21 horas, la mezcla de reacción se evapora al vacío, monitoreando por TLC (Hexano/AcOEt = 1/1) la desaparición del reactivo. El sólido se redissuelve seguidamente en CHCl₃ y H₂O y NH₄Cl saturado, y la fase acuosa se extrae con CHCl₃

(2 X 15 ml). Las fases orgánicas se combinan y se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran al vacío. El residuo se purifica por cromatografía rápida (SiO₂, Hexano/AcOEt = 1/1), obteniendo de esta manera el producto deseado (0,116 g, 0,179 mmol, 80 %) como un sólido amarillo pálido.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,26 (s, 1H, Ar, H-7), 8,14 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz, Ar, H-12), 7,81 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz, Ar, H-11), 7,59 (s, 1H, H-14), 5,64 (d, 1H, *J* = 16,5 Hz, H-17), 5,22 (d, 1H, *J* = 16,5 Hz, H-17), 5,19 (s, 2H, H-5), 4,71 (s, 2H), 2,81 (s, 6H, 2 Me), 1,97-1,81 (m, 2H, H-19), 1,04 (s, 9 H), 0,98-0,88 (m, 12 H), 0,77-0,68 (m, 6 H), 0,30 (s, 6 H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 171,7, 157,7, 155,1, 151,5, 150,0, 146,8, 144,3, 134,3, 131,2, 129,9, 127,9, 123,0, 118,9, 110,1, 98,5, 75,4, 65,9, 51,1, 50,0, 43,9, 32,9, 25,6, 18,3, 7,8, 7,2, 6,4, -4,3.

10 Ejemplo VI - Preparación de 20-OTES 10-hidroxycamptotecina

Se suspende 10-hidroxycamptotecina (0,100 g, 0,275 mmol) en dimetilformamida anhidra (5 ml), en atmósfera inerte y a la suspensión resultante se le añade imidazol (0,225 g, 3,31 mmol). La mezcla se agita por 10 minutos, seguidamente se gotea en ella cloruro de trietilsililo (TES-Cl) (0,460 ml, 2,75 mmol), seguido de la adición de 4-dimetilamino piridina (DMAP) (0,068 g, 0,550 mmol). Después de 24 horas, la mezcla de reacción se evapora al vacío, monitoreando por TLC la desaparición completa del reactivo (CH₂Cl₂/MeOH = 20/1). El sólido se redissuelve seguidamente en CH₂Cl₂ y se lava con H₂O y NH₄Cl saturado. La fase acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (2 X 10 ml). Las fases orgánicas se combinan, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran al vacío, obteniendo de esta manera el producto deseado (0,124 g, 0,259 mmol, 94 %) como un sólido amarillo pálido.

¹H NMR (CDCl₃ + 5 % CD₃OD, 400 MHz) δ 8,10 (s, 1H, Ar, H-7), 8,05 (d, 1 H, *J* = 9,2 Hz, Ar), 7,50 (s, 1 H, H-14), 7,39 (dd, 1 H, *J*₁ = 9,2 Hz *J*₂ = 2,4 Hz, H-11), 7,11 (d, 1 H *J* = 2,2 Hz, H-9), 5,60 (d, 1 H, *J* = 16,4 Hz, H-17), 5,21 (d, 1H, *J* = 16,4 Hz, H-17), 5,15 (s, 2H, H-5), 1,97-1,81 (m, 2H, H-19), 0,98-0,88 (m, 12 H), 0,76-0,68 (m, 6H). ¹³C NMR (CDCl₃ + 5 % CD₃OD, 100 MHz) δ 172,2, 157,8, 156,7, 151,8, 149,2, 146,1, 144,1, 130,9, 129,8, 129,0, 128,6, 123,2, 117,8, 108,8, 98,1, 75,4, 65,8, 50,0, 32,9, 7,7, 7,1, 6,3.

25

Ejemplo VII - 10-OTBMS-20-OTES Camptotecina

Se disuelve 10-hidroxi-20-OTES-camptotecina (0,105 g, 0,219 mmol) en una mezcla anhidra de CH₂Cl₂/THF = 1:1 (4 ml) y en atmósfera inerte. Se añade imidazol (0,097 g, 1,42 mmol) seguido, después de 10 minutos, por cloruro de terbutildimetilsililo (TBDMS-Cl) (0,164 mg, 1,10 mmol), después por 4-dimetilamino piridina (DMAP) (0,040 g, 0,329 mmol). Después de 18 horas, la mezcla de reacción se evapora al vacío, monitoreando por TLC la desaparición completa del reactivo (Ciclohexano/AcOEt = 1/3). El sólido se redissuelve seguidamente en CH₂Cl₂ y se lava con H₂O y NH₄Cl saturado, la fase acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (2 X 10 ml). Las fases orgánicas se combinan, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran al vacío. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, Ciclohexano/AcOEt = 1/3), obteniendo de esta manera el producto deseado (0,117 g, 0,197 mmol, 90 %) como un sólido amarillo pálido.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,22 (s, 1H, Ar, H-7), 8,13 (d, 1H, *J* = 9,2 Hz, Ar, H-12), 7,51 (s, 1H, H-14), 7,39 (dd, 1H, *J*₁ = 9,2 Hz *J*₂ = 2,8 Hz, H-11), 7,22 (d, 1 H, *J* = 2,8 Hz, H-9), 5,66 (d, 1 H, *J* = 16,5 Hz, H-17), 5,25 (s, 2H, H-5), 5,24 (d, 1H, *J* = 16,5 Hz, H-17), 1,99-1,82 (m, 2H, H-19), 1,03 (s, 9 H), 1,00-0,92 (m, 12 H), 0,78-0,69 (m, 6 H), 0,29 (s, 6 H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 172,0, 157,7, 155,1, 151,5, 150,6, 146,1, 145,1, 131,4, 129,4, 129,3, 128,7, 126,7, 118,3, 114,5, 97,7, 75,3, 66,0, 49,9, 33,1, 25,6, 18,3, 7,9, 7,2, 6,4, -4,3.

40

Ejemplo VIII - 5-F-20-OTES-Camptotecina

Se disuelve camptotecina 20-OTES (0,100 g, 0,216 mmol) en THF anhidro (6 ml) con agitación en atmósfera inerte, después se enfría a una temperatura de -78 °C, y se gotea una solución de LiHMDS 1,0 M en THF (0,260 ml, 0,260 mmol). Después de 20 minutos, se añade NFSI (0,089 g, 0,281 mmol) en THF anhidro (2 ml). Después de 2 horas a -78 °C, se deja que la temperatura se eleve hasta 25 °C y se monitorea la desaparición del reactivo por TLC (Hexano/AcOEt = 1/2). Se observa la formación de dos diastereómeros. Después de 3 horas a temperatura ambiente, la reacción se detiene por la adición de NH₄Cl saturado. La fase acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (3 x 15 ml), y las fases orgánicas se combinan, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se concentran al vacío. El residuo se purifica por cromatografía rápida (SiO₂, Hexano/AcOEt = 3/1, después 2/1 y por último 1/1), obteniendo de esta manera una mezcla de los dos isómeros (0,101 g, 0,210 mmol, 97 %) (relación de isómeros de 1:1) como un sólido amarillo pálido. Los dos isómeros se separan después por cromatografía. Por orden de elución:

55 1^{er} diastereómero: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,52 (s, 1 H, Ar, H-7), 8,25 (d, 1 H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,96 (d, 1 H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,87 (t, 1 H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,69 (t, 1 H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,47 (d, 1 H, ¹*J*_{HF} = 61,2 Hz, H-5), 7,45 (s, 1 H, H-14), 5,62 (d, 1H, *J* = 16,8 Hz, H-17), 5,22 (d, 1H, *J* = 16,8 Hz, H-17), 2,02-1,84 (m, 2H, H-19), 1,03-0,93 (m, 12 H), 0,80-0,71 (m, 6 H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 171,4, 157,5, 152,3, 151,1, 150,2 (d, *J* = 1,5 Hz), 150,3 (d, *J* = 1,5 Hz), 143,6 (d, *J* = 5,3 Hz), 133,7, 131,7, 130,2, 128,9, 128,4, 127,9 (d, *J* = 15,0 Hz), 126,3 (d, *J* = 15,0 Hz), 121,8, 98,9, 93,8 (d, ¹*J*_{CF} = 213,2 Hz, C-5), 75,1, 65,7, 33,1, 7,8, 7,2, 6,4.

60

2^{do} diastereómero: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,51 (s, 1H, Ar, H-7), 8,25 (d, 1 H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,96 (d, 1 H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,87 (t, 1 H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,68 (t, 1 H, *J* = 8,4 Hz, Ar), 7,51 (d, 1 H, ¹*J*_{HF} = 60,8 Hz, H-5), 7,42 (s, 1H, H-14), 5,62 (d, 1H, *J* = 17,2 Hz, H-17), 5,20 (d, 1H, *J* = 17,2 Hz, H-17), 2,02-1,82 (m, 2H, H-19), 1,04-0,93 (m, 12 H), 0,80-0,71 (m, 6 H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 171,2, 157,8, 152,5, 151,2, 150,3, 143,7, 133,7 (d, *J* = 2,4 Hz), 131,7, 130,2, 128,9, 128,3, 127,9 (d, *J* = 2,3 Hz), 126,3 (d, *J* = 16,7 Hz), 121,8 (d, *J* = 1,5 Hz), 99,0, 93,8 (d, ¹*J*_{CF} = 214,8 Hz, C-5), 75,0, 65,8, 33,3, 7,9, 7,1, 6,4.

65

Ejemplo IX - Preparación de 5-F-camptotecina 1^{er} diastereómero

5 El primer diastereómero de 5-F-20-OTES-camptotecina (0,025 g, 0,052 mmol) se disuelve en THF anhidro (5 ml) con agitación en atmósfera inerte. Seguidamente se gotea Et₃N·3HF (0,060 ml, 0,368 mmol). La mezcla de reacción se hace reaccionar por 28 horas a temperatura ambiente, monitoreando por TLC la desaparición del reactivo (Hexano/AcOEt = 1/2). El solvente se evapora al vacío, y el residuo se somete a cromatografía (SiO₂, Hexano/AcOEt = 1/1), obteniendo de esta manera el producto deseado (0,019 g, 0,051 mmol, 98 %) como un sólido amarillo pálido.

10 ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,52 (s, 1H, Ar, H-7), 8,25 (d, 1H, J = 8,4 Hz, Ar), 7,96 (d, 1 H, J = 8,4 Hz, Ar), 7,87 (t, 1 H, J = 8,4 Hz, Ar), 7,69 (t, 1H, J = 8,4 Hz, Ar), 7,59 (s, 1H, H-14), 7,46 (d, 1H, ¹J_{HF} = 61,2 Hz, H-5), 5,69 (d, 1 H, J = 16,8 Hz, H-17), 5,26 (d, 1 H, J = 16,8 Hz, H-17), 3,87 (br s, 1 H, OH), 2,01-1,81 (m, 2H, H-19), 1,05 (t, 3 H, J = 7,6 Hz, Me). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 173,5, 157,6, 151,1, 151,0, 150,2, 144,1, 133,9, 131,9, 130,0, 129,0, 128,5, 127,8, 126,4, 121,7, 98,8, 93,8 (d, ¹J_{CF} = 214,0 Hz, C-5), 72,5, 66,0, 31,5, 7,8.

15 Ejemplo X - Preparación de 5-F-camptotecina 2^{do} diastereómero

El segundo diastereómero de 5-F-20-OTES-camptotecina (0,025 g, 0,052 mmol) se disuelve en THF anhidro (5 ml) con agitación en atmósfera inerte, seguidamente se gotea Et₃N·3HF (0,060 ml, 0,368 mmol). La mezcla de reacción se hace reaccionar por 28 horas a temperatura ambiente, monitoreando por TLC la desaparición del reactivo (Hexano/AcOEt = 1/2). El solvente se evapora bajo vacío, y el residuo es cromatografiado (SiO₂, Hexano/AcOEt = 1/1), obteniendo de esta manera el producto deseado (0,018 g, 0,050 mmol, 97 %) como un sólido amarillo pálido.

20 ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,52 (s, 1H, Ar, H-7), 8,24 (d, 1H, J = 8,4 Hz, Ar), 7,96 (d, 1 H, J = 8,4 Hz, Ar), 7,88 (t, 1 H, J = 8,4 Hz, Ar), 7,69 (t, 1H, J = 8,4 Hz, Ar), 7,56 (s, 1H, H-14), 7,51 (d, 1H, ¹J_{HF} = 60,4 Hz, H-5), 5,69 (d, 1 H, J = 16,4 Hz, H-17), 5,25 (d, 1 H, J = 16,4 Hz, H-17), 3,87 (br s, 1 H, OH), 1,98-1,78 (m, 2H, H-19), 1,04 (t, 3 H, J = 7,6 Hz, Me). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 173,3, 157,7, 151,2, 151,2, 150,2, 144,2, 133,8, 131,9, 130,0, 129,0, 128,5, 127,8, 126,4, 121,6, 98,9, 93,7 (d, ¹J_{CF} = 214,0 Hz, C-5), 72,5, 66,1, 31,6, 7,8.

Ejemplo XI - Ensayo de inhibición del crecimiento celular

30 Se cultivaron células H460 humanas de cáncer de pulmón de células grandes en medio RPMI 1640 que contiene suero bovino fetal al 10 %. Se determinó la sensibilidad celular por el ensayo de inhibición del crecimiento celular después de 1 ó 72 horas de exposición al fármaco. Las células en crecimiento logarítmico se colectaron y se sembraron por duplicado en placas de 6 pozos. Veinticuatro horas después de la siembra, las células se expusieron a los fármacos y se contaron con un contador Coulter 72 horas después de la exposición a los fármacos para la determinación de la CI₅₀.

35 Se define la CI₅₀ como la concentración que inhibe el crecimiento de las células al 50 % en comparación con el crecimiento de los controles no tratados.

Ejemplo XII - Ensayo de ruptura del ADN dependiente de Topoisomerasa-I

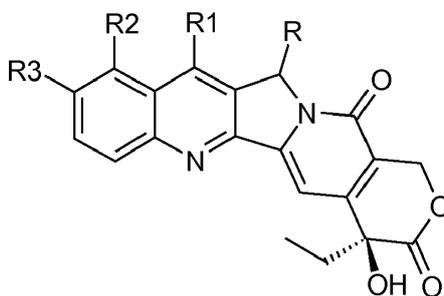
40 Las rupturas del ADN se determinaron usando un gel purificado BamHI-EcoRI DNA SV40 de 751-bp (Beretta GL, Binaschi M, Zagni AND, Capuani L, Capranico G. Tethering a type IB topoisomerase to a DNA site by enzyme fusión to a heterologous site-selective DNA-binding protein domain. Cancer Res 1999; 59:3689-97). Los fragmentos de ADN se marcaron sólo en 3'. La reacción de ruptura del ADN (20.000 cpm/muestra) se llevó a cabo en 20 ml de Tris-HCl 10 mM (pH 7,6), KCl 150 mM, MgCl₂ 5 mM, 15 µg/ml de BSA, tiotretol 0,1 mM y la enzima recombinante humana (top1 de longitud completa) por 30 minutos a 37 °C. Las reacciones fueron bloqueadas usando SDS al 0,5 % y 0,3 mg/ml de proteinasa K por 45 minutos a 42 °C. Se evaluó la persistencia del daño del ADN en diferentes tiempos añadiendo NaCl 0,6 M después de 30 minutos de incubación con 10 µM del fármaco. Después de la precipitación, el ADN se resuspendió en tampón de desnaturalización (formamida al 80 %, NaOH 10 mM, EDTA 0,01 M y colorante 1 mg/ml) antes de la siembra en gel desnaturalizante (poliacrilamida al 7 % en tampón TBE). Todos los niveles de ruptura del ADN se midieron por medio de un Phosphorimager modelo 425 (Molecular Dynamics) (Dallavalle S, Ferrari A, Biasotti B, y otros, Novel 7-oxyiminomethyl camptothecin derivatives with potent in vitro and in vivo antitumor activity. J Med Chem 2001; 44:3264-74).

55 Persistencia del daño al ADN (%)

Compuestos	Tiempo (min)			
	0	1	5	10
Topotecan	100	65	20	10
Camptotecina	100	58	23	20
SN38	100	60	33	28
5-F CPT isómeros 1	100	18	18	10
5-F CPT isómeros 2	100	10	10	13

REIVINDICACIONES

1. Compuestos de fórmula general (I):



(I)

en donde:

R es F;

R1 es hidrógeno, alquilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, nitrilo, alcoxi-amino, ariloxiamino, sililalquilo;

R2 es hidrógeno, hidroxilo, alcoxi, aminoalquilo;

R3 es hidrógeno, hidroxilo, alcoxi, aminoalquilo;

con la condición de que cuando R1 es hidrógeno, R2 y R3 son hidrógenos;

en donde los grupos alquilo, alcoxi, aminoalquilo o alcoximino pueden contener de 1 a 8 átomos de carbono, en una cadena lineal o ramificada, y los grupos ariloxi pueden contener de 5 a 10 átomos de carbono;

las sales farmacéuticamente aceptables, enantiómeros, diastereómeros de estas, y las mezclas correspondientes.

2. Un compuesto de fórmula (I) como se reivindicó en la reivindicación 1, el cual es:

a) 5-F-camptotecina.

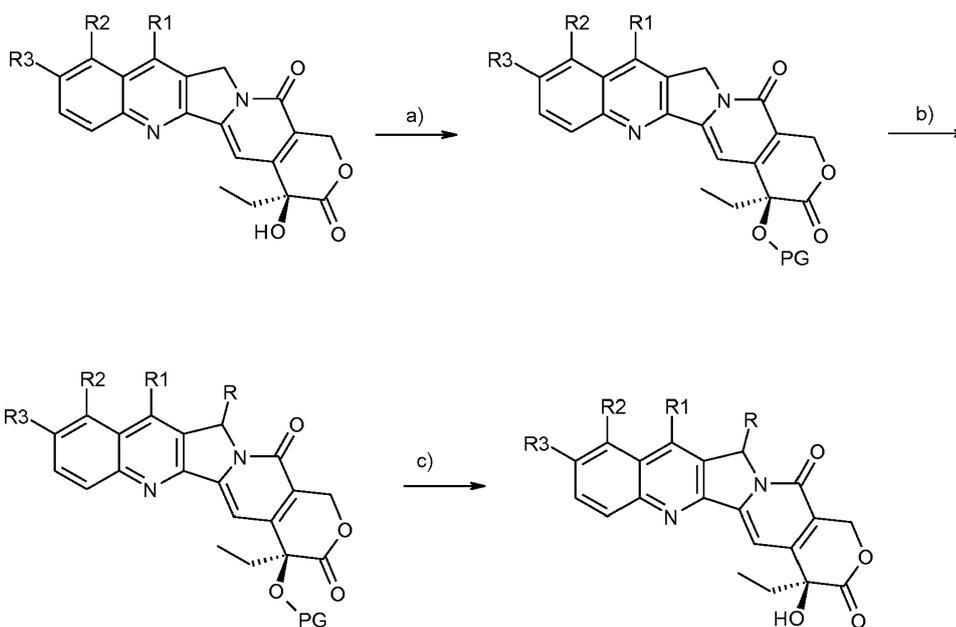
3. Un proceso para la preparación de compuestos de fórmula (I), como se reivindicó en la reivindicación 1, que comprende las etapas mostradas en el siguiente Esquema, en donde:

a) protección de los grupos hidroxilo precursores;

b) derivatización en 5 a través de la formación de un carbanión y reacción con un reactivo electrofílico;

c) desprotección de los grupos hidroxilo;

Esquema



en donde R, R1, R2 y R3 tienen los significados descritos anteriormente y PG es un grupo protector de OH.

4. Una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula (I) como se reivindicó en la reivindicación 1 junto con portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables.
5. Una composición farmacéutica como se reivindicó en la reivindicación 4, la cual está en una forma adecuada para la administración oral o parenteral.
6. El uso de un compuesto como se reivindicó en las reivindicaciones 1 o 2 o de una composición como se reivindicó en las reivindicaciones 4 ó 5 para la preparación de un fármaco para el tratamiento de tumores.
- 10 7. El uso como se reivindicó en la reivindicación 6, en donde dicho fármaco se usa para el tratamiento de tumores sólidos y leucemias.
8. El uso como se reivindicó en la reivindicación 6 o 7, en donde dicho fármaco se usa para el tratamiento de tumores de pulmón, ovario, mama, estómago, hígado, próstata, sarcomas de tejidos blandos, esófago, páncreas, de cabeza y cuello, glioblastoma, y leucemias mielocíticas crónicas y agudas.
- 15 9. Un compuesto de fórmula general (I) como se reivindicó en la reivindicación 1 o 2 para su uso en el tratamiento de tumores.
- 20 10. Un compuesto para su uso como se reivindicó en la reivindicación 9, en donde los tumores son tumores sólidos o leucemias.
11. Un compuesto para su uso como se reivindicó en la reivindicación 9 o 10, en donde los tumores se seleccionan del grupo que consiste en tumores de pulmón, ovario, mama, estómago, hígado, próstata, sarcomas de tejidos blandos, esófago, páncreas, cabeza y cuello, glioblastoma, leucemias mielocíticas crónicas y agudas.
- 25