

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 643 407**

51 Int. Cl.:

C07D 311/58 (2006.01)

C07D 311/16 (2006.01)

C07D 407/04 (2006.01)

A61K 31/353 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.02.2015 PCT/AU2015/050040**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.08.2015 WO15117202**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.02.2015 E 15746211 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.08.2017 EP 2953938**

54 Título: **Compuestos de benzopirano funcionalizados y uso de los mismos**

30 Prioridad:

07.02.2014 US 201461937368 P

01.05.2014 US 201461987323 P

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

22.11.2017

73 Titular/es:

**NOVOGEN LTD. (100.0%)
16-20 Edgeworth David Avenue
Hornsby, New South Wales 2077, AU**

72 Inventor/es:

**HEATON, ANDREW;
BROWN, DAVID y
KELLY, GRAHAM**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 643 407 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

Compuestos de benzopirano funcionalizados y uso de los mismos

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere ampliamente a agentes anticancerígenos. En particular, la presente invención reivindicada se refiere a compuestos de benzopirano seleccionados, y a dichos compuestos para su uso en métodos para tratar el cáncer y en métodos de tratamiento para reducir la incidencia o el riesgo de recidiva del cáncer y en métodos de tratamiento de una enfermedad en un sujeto provocada por células madre de cáncer.

Antecedentes de la invención

El cáncer provoca la muerte de muchos miles de personas cada año en todo el mundo. Se han producido avances significativos en el tratamiento y la prevención de una amplia variedad de cánceres. Por ejemplo, en el cáncer de mama han aparecido programas de detección temprana así como una variedad de técnicas quirúrgicas. Sin embargo, se ha comprobado a menudo que esto es física y emocionalmente debilitante. Además, los pacientes que se han sometido a cirugía y quimioterapia posterior a menudo experimentan recidiva. En los últimos años, la investigación ha indicado el potencial tumorigénico heterogéneo de las células cancerosas que ha conducido a la hipótesis de las células madre de cáncer (CSC). En resumen, esta hipótesis establece que sólo una fracción de las células dentro de un tumor tienen características del tipo de células madre, incluyendo potencial proliferativo ilimitado.

Evidencias adicionales en la bibliografía respaldan el concepto de que los tumores son sistemas similares a órganos heterogéneos complejos con una organización celular jerárquica, en vez de simplemente colecciones de células tumorales de un único linaje homogéneas. La célula tumoral iniciadora conserva la capacidad para generar una progenie diversa a diversos niveles de diferenciación, a partir de células madre pluripotentes no comprometidas, para dar células progenitoras comprometidas, hasta células de descendencia senescentes completamente diferenciadas. De este modo, la población de células tumorales por sí misma es heterogénea, añadiendo una arquitectura diversa proporcionada por las células inmunitarias, estromales y vasculares que también están presentes en los tumores. Algunas de las células dentro de este "órgano canceroso" o tumor tienen el potencial de proliferación continuada. La filogenia de estas células tumorales sugiere por tanto la existencia de una población de células que conservan la capacidad para autorrenovarse al tiempo que también presentan a menudo la capacidad para generar progenie que se diferencia. Por tanto, la célula madre de cáncer se define que es una célula dentro de un tumor que presenta la capacidad para autorrenovarse y producir los linajes heterogéneos de células cancerosas que comprende el tumor. De hecho, hallazgos de laboratorio confirman que la inyección de células de tipo madre de cáncer de ovario, cerebro, colon, mama, próstata o páncreas aisladas en ratones inmunocomprometidos da como resultado la formación de tumores que son fenotípicamente idénticos al tumor original y contienen tanto células de tipo madre como células que no son de tipo madre.

Por tanto, hay dos poblaciones distintas; un subconjunto relativamente bien diferenciado con capacidad proliferativa limitada que forma el volumen del tumor que caracteriza fenotípicamente la enfermedad, y un segundo subconjunto más pequeño, menos diferenciado que contiene CSC clonogénicas. De manera importante las CSC presentan resistencia a múltiples fármacos, una propiedad adicional que contribuye a su longevidad y potencial metastásico al permitir que sobrevivan a ataques tóxicos, incluyendo muchos de los fármacos usados actualmente para tratar el cáncer. Por tanto, existe la necesidad de desarrollar terapias que seleccionen como diana específicamente las capacidades de autorrenovación de la población de células madre, suprimiendo de ese modo la fuente de recidiva de tumores como resultado de la resistencia a terapias convencionales.

Los supuestos marcadores de CSC que se han descrito para otros tumores malignos, incluyendo leucemia mieloide aguda (positivo para CD34/negativo para CD38), de mama (positivo para CD44/negativo para CD24/-bajo/negativo para Lin), de próstata (positivo para CD44/_2_1-alto/positivo para CD133) y de cerebro (positivo para CD133/positivo para nestina), han reflejado los expresados por sus homólogos de tejido normal en estado original. Evidencias recientes confirman que células de cáncer de ovario CD44+ también presentan la capacidad para formar tumores en ratones inmunocomprometidos. Como con otros fenotipos de CSC, las células madre de cáncer de ovario son de crecimiento lento, quimiorresistentes y forman tumores en ratones inmunocomprometidos que son fenotípicamente idénticos al tumor original porque hay principalmente células negativas para CD44 que forman el volumen del tumor con pequeñas bolsas de células positivas para CD44.

Muchos cánceres avanzados presentan recidiva a pesar del uso de modalidades quimioterápicas y de radioterapia que conducen inicialmente a respuestas terapéuticas. Por ejemplo, la irradiación de glioblastomas puede conducir a respuestas radiográficas significativas, aunque estos tumores presentan recidiva invariablemente y conducen a la muerte del paciente. Frecuentemente, los glioblastomas presentan recidiva en un patrón nodular, lo que sugiere una fuente clonal o policlonal de células tumorales recidivantes que pueden soportar terapias citotóxicas convencionales, incluyendo radioterapia, provocando la recidiva de la enfermedad. Además, los tumores recidivantes también demuestran heterogeneidad dentro de la población de células tumorales con respecto a la presencia tanto de CSC

como de células distintas de CSC así como en diferencias histológicas y citogenéticas. Esto sugiere que las CSC que poblaban el tumor original pueden haber soportado la intervención terapéutica repoblando el tumor recidivante incluso después de que el volumen del tumor se haya extirpado mediante resección o quimiorradioterapia, de ahí el concepto de que las CSC son la fuente de recidiva tumoral postoperatoria. Un cambio en la estrategia terapéutica que conduzca al desarrollo de agentes dirigidos únicos que atacan a las CSC puede mejorar el cuidado del cáncer y prolongar la supervivencia de muchos pacientes.

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que una selección de compuestos de benzopirano pueden ejercer potentes efectos biológicos sobre células distintas de CSC así como CSC. Tales compuestos ofrecen estrategias quimioterápicas alternativas para tratar el cáncer y reducir la incidencia o el riesgo de recidiva del cáncer.

El documento WO2012/061409 da a conocer una composición farmacéutica que comprende al menos un isoflavonoide, y métodos de tratamiento de cáncer, sensibilización de células cancerosas e inducción de apoptosis en células cancerosas administrando tales composiciones.

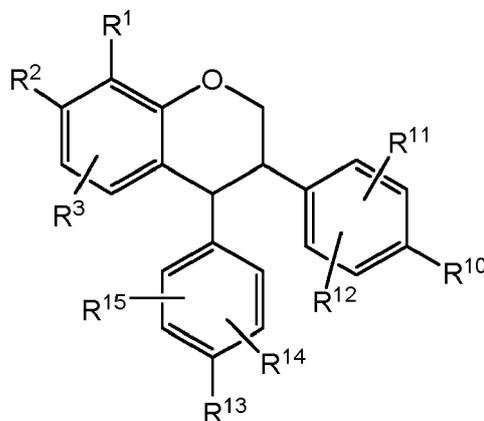
El documento US2012/251630 da a conocer un método de reducción de las incidencias de recidiva del cáncer. El método implica administrar a un individuo en remisión del cáncer un isoflavonoide. En casos específicos, el individuo tratado está en remisión de cáncer epitelial, tal como cáncer de ovario o cáncer de mama.

El documento WO2005/049008 da a conocer terapias de combinación que implican radioterapia y quimioterapia. Proporciona el uso de isoflavonas o análogos de las mismas en combinación con radioterapia o quimioterapia en el tratamiento de cáncer y enfermedades y estados relacionados.

El documento WO2006/032086 da a conocer derivados de cromano y compuestos intermedios, composiciones que contienen los mismos, métodos para su preparación y usos de los mismos como agentes terapéuticos, particularmente como agentes anticancerígenos y quimioterápicos selectivos.

Sumario de la invención

En un primer aspecto la presente invención proporciona un compuesto de fórmula general (I)



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, derivado o solvato del mismo, en la que:

R¹ se selecciona del grupo que consiste en: H y alquilo C₁-C₆,

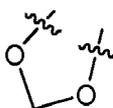
R² se selecciona del grupo que consiste en: OH y alcoxilo C₁-C₆,

R³ se selecciona del grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₆ y halo,

R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OH, alcoxilo C₁-C₆, NH₂, NHMe, NHEt, N(Me)₂ y N(Et)₂,

R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, OH, alquilo C₁-C₆ y halo, o

R¹³ y uno de R¹⁴ y R¹⁵ forman juntos la siguiente estructura:



R¹⁰ es OH, y

5 R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: OH, OMe, alquilo C₁-C₄ y F.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según el primer aspecto junto con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 En un tercer aspecto, la presente invención proporciona el compuesto de fórmula (I) según el primer aspecto para su uso en un método para el tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto de fórmula (I) según el primer aspecto.

15 El método puede comprender además la administración de otro agente quimioterápico.

El cáncer puede ser un cáncer que ha presentado recidiva.

20 El cáncer puede ser resistente a uno o más agentes quimioterápicos.

El cáncer puede ser cáncer de páncreas, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de próstata, cáncer cerebral (incluyendo infantil y de adulto), cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer uterino, neuroblastoma, mesotelioma, ascitis maligna o cáncer de peritoneo.

25 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el compuesto de fórmula (I) según el primer aspecto para su uso en un método de tratamiento, en el que el tratamiento es para reducir las incidencias de, o el riesgo de, recidiva del cáncer en un sujeto que se considera que corre el riesgo de recidiva del cáncer, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad eficaz de dicho compuesto de fórmula (I) según el primer aspecto.

El sujeto puede ser un sujeto que está en remisión del cáncer. El sujeto puede estar en remisión de cáncer de ovario, cáncer cerebral o algún otro cáncer tal como uno o más de los mencionados anteriormente.

35 Se da a conocer pero no se reivindica un método para inducir apoptosis en, o inhibir la proliferación de, una célula madre de cáncer, comprendiendo el método poner en contacto la célula madre de cáncer con una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) según el primer aspecto.

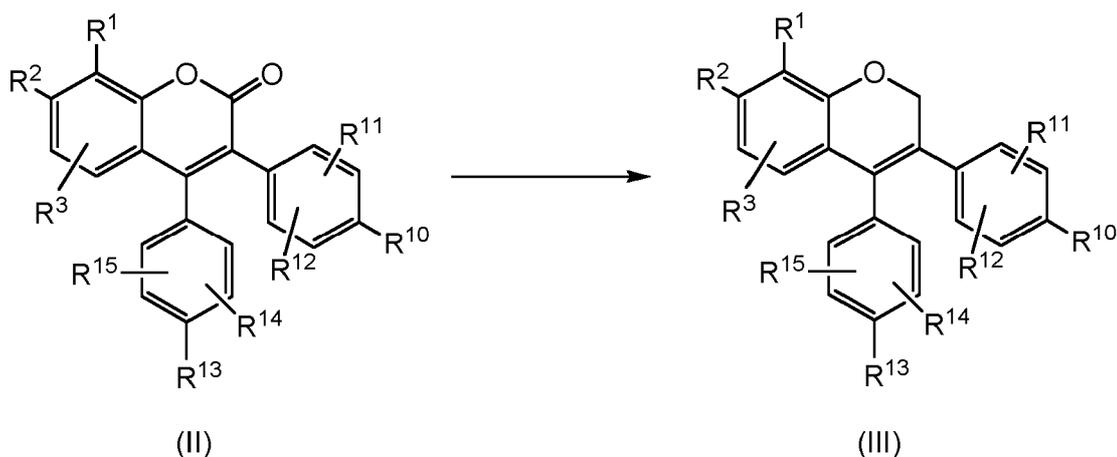
La célula madre de cáncer puede ser una célula madre de cáncer de ovario o una célula madre de cáncer cerebral.

40 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el compuesto de fórmula (I) según el primer aspecto para su uso en un método para tratar una enfermedad en un sujeto provocada por células madre de cáncer, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto de fórmula (I) según el primer aspecto.

45 La enfermedad puede ser cáncer. El cáncer puede ser un cáncer metastásico. Las células madre de cáncer pueden ser células madre de cáncer de ovario o células madre de cáncer cerebral.

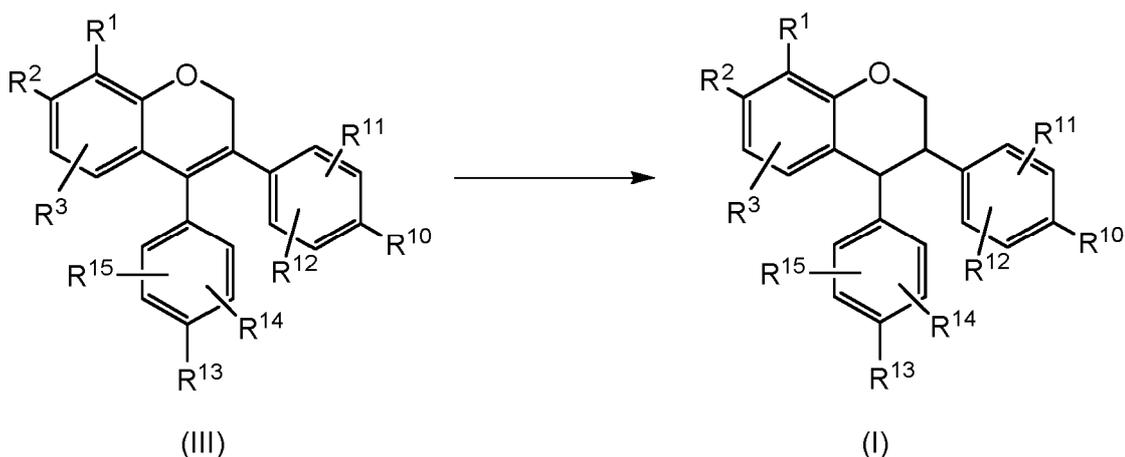
50 Se da a conocer pero no se reivindica un método para preparar un compuesto de fórmula (I) que comprende las etapas de:

(a) reducir un compuesto de fórmula (II) para producir un compuesto de fórmula (III):



5 en las que en el compuesto de fórmula (II) R^1 , R^3 , y R^{10} a R^{15} son tal como se definen en el primer aspecto, y R^2 es OAc o tal como se define en el primer aspecto, y en el compuesto de fórmula (III) R^1 a R^3 y R^{10} a R^{15} son tal como se definen en el primer aspecto, y

(b) hidrogenar un compuesto de fórmula (III) para producir un compuesto de fórmula (I),



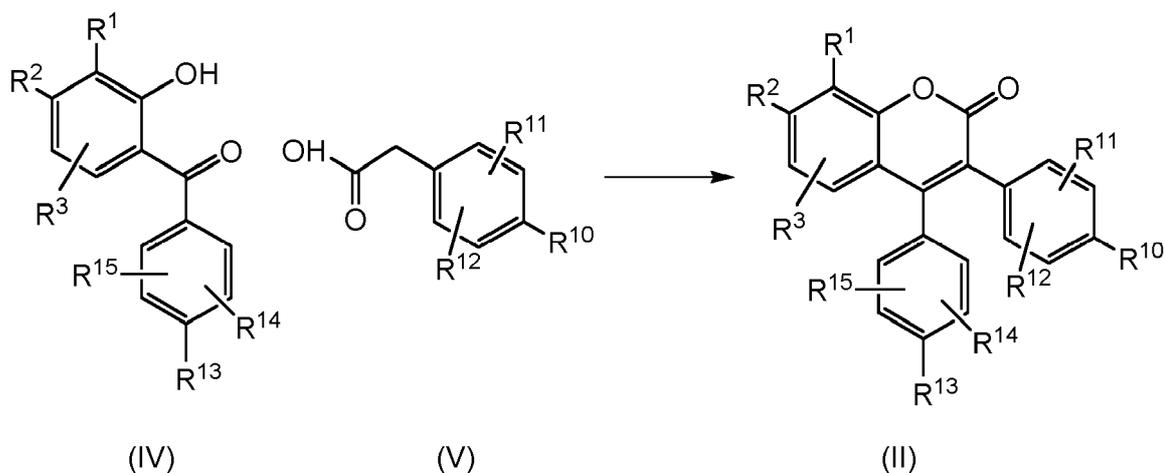
10 en las que R^1 a R^3 , y R^{10} a R^{15} son tal como se definen en el primer aspecto.

15 La etapa (a) puede llevarse a cabo haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un reactivo de borano, por ejemplo complejo borano-sulfuro de dimetilo, decaborano, 9-BBN o complejo borano-tetrahidrofurano.

La etapa (b) puede llevarse a cabo haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (III) con un catalizador de metal heterogéneo con un catalizador de metal heterogéneo bajo una atmósfera de hidrógeno.

20 En una realización, el método puede comprender además:

(c) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (IV) con un compuesto de fórmula (V) para producir un compuesto de fórmula (II)

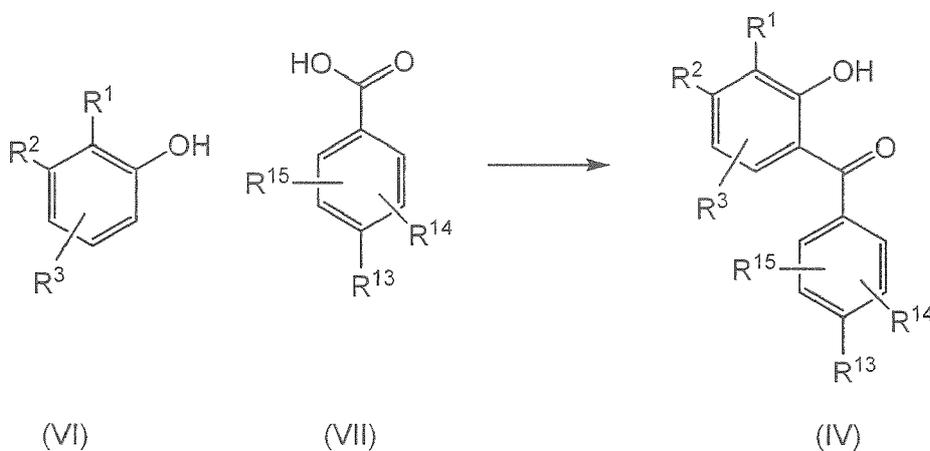


5 en las que en el compuesto de fórmula (II) R^1 , R^3 , y R^{10} a R^{15} son tal como se definen en el primer aspecto, y R^2 es OAc o tal como se define en el primer aspecto, y en el compuesto de fórmula (IV) R^1 a R^3 y R^{13} a R^{15} son tal como se definen en el primer aspecto, y en el compuesto de fórmula (V) R^{10} a R^{12} son tal como se definen en el primer aspecto.

La etapa (c) puede llevarse a cabo en presencia de una base.

10 En otra realización, el método puede comprender además:

(d) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VI) con un compuesto de fórmula (VII) para producir un compuesto de fórmula (IV)



15 en las que R^1 a R^3 , y R^{13} a R^{15} son tal como se definen en el primer aspecto.

20 La etapa (d) puede llevarse a cabo combinando los compuestos (VI) y (VII) en presencia de oxiclorigo de fósforo y clorigo de zinc. En una realización alternativa, la etapa (d) puede llevarse a cabo haciendo reaccionar el compuesto (VII) con clorigo de tionilo, seguido por la reacción con clorigo de aluminio y el compuesto (VI).

Definiciones

25 Lo siguiente son algunas definiciones que pueden ser útiles en la comprensión de la descripción de la presente invención. Éstas están previstas como definiciones generales y no deben limitar de ningún modo el alcance de la presente invención a esos términos solos, sino que se exponen para una mejor comprensión de la siguiente descripción.

30 A lo largo de toda esta memoria descriptiva, a menos que el contexto requiera otra cosa, el término “comprender”, o variaciones tales como “comprende” o “que comprende”, se entenderá que implica la inclusión de un elemento, número entero o etapa establecido, o grupo de elementos, números enteros o etapas, pero no la exclusión de ningún otro elemento, número entero o etapa, o grupo de elementos, números enteros o etapas.

35 Los términos “un(o)” y “una” se usan en el presente documento para referirse a uno o más de uno (es decir a al

menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, “un elemento” significa un elemento o más de un elemento.

En el contexto de esta memoria descriptiva, el término “alquilo” significa grupos hidrocarbonados saturados monovalentes de cadena lineal o cadena ramificada que tienen el número mencionado de átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, 1-propilo, isopropilo, 1-butilo, 2-butilo, isobutilo, *terc*-butilo, amilo, 1,2-dimetilpropilo, 1,1-dimetilpropilo, pentilo, isopentilo, hexilo, 4-metilpentilo, 1-metilpentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2,2-dimetilbutilo, 3,3-dimetilbutilo, 1,2-dimetilbutilo, 1,3-dimetilbutilo, 1,2,2-trimetilpropilo y 1,1,2-trimetilpropilo.

En el contexto de esta memoria descriptiva, el término “alcoxilo” significa grupos O-alquilo en los que el alquilo es tal como se define en el presente documento. Los ejemplos de grupos alcoxilo incluyen, pero no se limitan a, metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, isopropoxilo, sec-butoxilo y *terc*-butoxilo.

En el contexto de esta memoria descriptiva, el término “cantidad eficaz” incluye una cantidad no tóxica pero suficiente de un compuesto activo para proporcionar el efecto establecido. Cuando se usa en referencia a la recidiva del cáncer “cantidad eficaz” significa una cantidad de un compuesto de fórmula (I) que se requiere para reducir la incidencia de, o el riesgo de que un individuo experimente recidiva del cáncer. Los expertos en la técnica apreciarán que la cantidad exacta de un compuesto requerido variará basándose en varios factores y, por tanto, no es posible especificar una “cantidad eficaz” exacta. Sin embargo, para cualquier caso dado una “cantidad eficaz” apropiada puede determinarla un experto habitual en la técnica.

En el contexto de esta memoria descriptiva, el término “cantidad terapéuticamente eficaz” incluye una cantidad no tóxica pero suficiente de un compuesto activo para proporcionar el efecto terapéutico deseado. Los expertos en la técnica apreciarán que la cantidad exacta de un compuesto requerido variará basándose en varios factores y, por tanto, no es posible especificar una “cantidad terapéuticamente eficaz” exacta. Sin embargo, para cualquier caso dado una “cantidad terapéuticamente eficaz” apropiada puede determinarla un experto habitual en la técnica.

En el contexto de esta memoria descriptiva, los términos “tratar”, “tratamiento”, “prevenir” y “prevención” se refieren a todos y cada uno de los usos que remedian el cáncer o síntomas del mismo, impiden el establecimiento del cáncer, o por lo demás impiden, dificultan, retardan o revierten la progresión del cáncer u otros síntomas no deseados de cualquier modo sea cual sea. Por tanto, los términos “tratar”, “tratamiento”, “prevenir” y “prevención” y similares han de considerarse en su contexto más amplio. Por ejemplo, el tratamiento no implica necesariamente que se trate un sujeto hasta su recuperación total.

En el contexto de esta memoria descriptiva, el término “sujeto” incluye seres humanos y también animales no humanos. Como tales, además de ser útiles en el tratamiento de cáncer en seres humanos, los compuestos de la presente invención también encuentran uso en el tratamiento de cáncer en animales no humanos, por ejemplo mamíferos tales como animales de compañía y animales de granja. Los ejemplos no limitativos de animales de compañía y animales de granja incluyen perros, gatos, caballos, vacas, ovejas y cerdos. Preferiblemente, el sujeto es un ser humano.

En el contexto de esta memoria descriptiva, se entiende que el término “recidiva” tal como se refiere a cáncer significa el retorno de células cancerosas y/o un tumor canceroso tras haberse tratado de manera satisfactoria anteriormente las células cancerosas y/o un tumor canceroso.

En el contexto de esta memoria descriptiva, el término “administrar” y variaciones de ese término incluyendo “administran” y “administración”, incluye poner en contacto, aplicar, suministrar o proporcionar un compuesto o una composición de la invención a un organismo mediante cualquier medio apropiado.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Actividad diferencial del compuesto 2 frente a dos explantes derivados de pacientes con GBM diferentes; GBM14-CHA (rombos) y ODA14-RAV (cuadrados).

Figura 2: Actividad diferencial del compuesto 2 y sus enantiómeros purificados frente al explante derivado de pacientes con GBM, GBM14.

Figura 3: Análisis de la eficacia del compuesto 2 frente a células OCSC-2 usando confluencia (A, B) y obtención de imágenes de daño celular (C, D). Se calculó la CI_{50} a partir de las representaciones gráficas de AUC para la confluencia e intensidad de fluorescencia frente al tiempo. Se realizaron los cálculos de CI_{50} tras 72 h de cultivo.

Figura 4: Análisis de la eficacia del compuesto 2 frente a células OCSC-2 usando confluencia. Se realizaron los cálculos de CI_{50} tras 72 h de cultivo. GAD 305 es el compuesto 9 en el presente documento y GAD 310 es el compuesto 13 en el presente documento.

Figura 5: Evaluación del racemato del compuesto 2 (A, C) y su eutómero (B, D) frente a las líneas celulares A172 (glioma) (A y B) y OVCAR-3 (cáncer de ovario) (C y D).

Figura 6: Capacidad del compuesto 2 para retardar la proliferación de células madre de cáncer de ovario.

Figura 7: Evaluación microscópica de células OCSC2 tratadas con el compuesto 2 a 1 $\mu\text{g/ml}$ a lo largo de 24 h (B) y 48 h (C) en comparación con el control, 72 h (A).

Figura 8: Microscopía de fluorescencia de células madre OCSC-2 marcadas con GFP y cocultivos de OCC2 marcados con mCherry tratados con el compuesto 2 a 1 $\mu\text{g/ml}$ a lo largo de 48 h (B) en comparación con el control (A).

Figura 9: El compuesto 2 destruye esferoides de células madre de cáncer de ovario. Se establecieron esferoides de OCSC-2 usando metodología convencional y se expusieron a una concentración creciente del compuesto 2 a lo largo de 24 h. A, control; B, 0,1 $\mu\text{g/ml}$ - 24 h; C, 1 $\mu\text{g/ml}$ - 24 h. La estructura de los esferoides se evaluó mediante microscopía.

Figura 10: Perfil PK de los compuestos 2, 6, 9 y 13 (que está marcado como 31) a 1 mg/kg administrados en formulación de Captisol® al 30%.

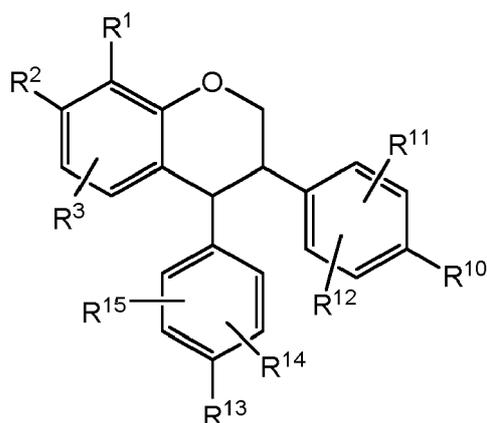
Figura 11: Eficacia *in vivo* del eutómero del compuesto 9 frente a un modelo en el costado de GBM (U87MG). Usando el modelo en el costado de U87 previamente descrito, se dividieron los ratones en dos grupos, un grupo de tratamiento (eutómero del compuesto 9) formulado en una base de supositorio de manteca de cacao y dosificado diariamente a 100 mg/kg, y un grupo de control de supositorio (n = 10 para el control y n = 4 para el compuesto 9). Se observaron diariamente los ratones, se pesaron cada tres días y se sacrificaron tras 12 días de tratamiento. Al terminar el tratamiento, se extirparon los tumores y se pesaron. Se administró diariamente el compuesto 9 a 100 mg/kg en una formulación de supositorio mientras que se les dosificó a los animales control la formulación de supositorio únicamente. Las curvas de crecimiento tumoral (media \pm EEM) para la duración del tratamiento (12 días) eran significativamente diferentes (valores de P mostrados). El peso del tumor (mediana y cuartiles) también se redujo significativamente (valores de P mostrados por encima del gráfico).

Figura 12: Eficacia *in vivo* del eutómero del compuesto 2 en un modelo animal de cáncer de ovario. Se les inoculó a los animales células OCSC1-F2 m-Cherry y luego se les dosificó en el día 4 tras la inoculación el eutómero del compuesto 2 formulado en Captisol® usando dos regímenes diferentes (100 mg/kg, i.p., cada día, 50 mg/kg, por vía i.p.) y eficacia en comparación con el control. A, intensidad de fluorescencia tumoral promedio (se visualizaron los tumores cada tres días usando un sistema de obtención de imágenes Vivo FX, ROI) ●, control de Captisol®; ■, eutómero del compuesto 2 (50 mg/kg por vía i.p. diariamente); ▲, eutómero del compuesto 2 (100 mg/kg por vía i.p. diariamente); B, se evaluó la carga tumoral terminal promedio extirpando y pesando todos los tumores tanto de los animales control como de animales tratados con el eutómero del compuesto 2 formulado en Captisol®, *, p < 0,02; **, p < 0,0001; frente a los controles respectivos.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de benzopirano seleccionados de fórmula general (I), a la preparación de tales compuestos y a su uso en el tratamiento de cáncer y la reducción de la incidencia de recidiva del cáncer. Los compuestos dados a conocer en el presente documento representan una invención de selección con respecto a los documentos US2012/0251630 y WO2012/061409.

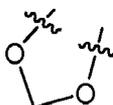
En un aspecto la presente invención proporciona un compuesto de fórmula general (I)



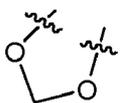
(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, derivado o solvato del mismo, en la que:

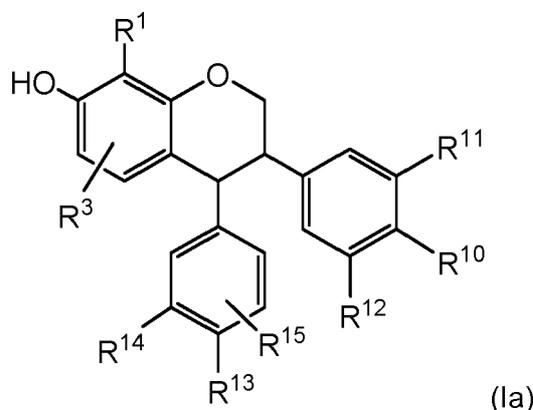
- 5 R¹ se selecciona del grupo que consiste en: H y alquilo C₁-C₆,
 R² se selecciona del grupo que consiste en: OH y alcoxilo C₁-C₆,
 R³ se selecciona del grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₆ y halo,
 10 R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OH, alcoxilo C₁-C₆, NH₂, NHMe, NHEt, N(Me)₂ y N(Et)₂,
 R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, OH, alquilo C₁-C₆ y halo, o
 15 R¹³ y uno de R¹⁴ y R¹⁵ forman juntos la siguiente estructura:



- 20 R¹⁰ es OH, y
 R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: OH, OMe, alquilo C₁-C₄ y F.
 En una realización R¹ se selecciona del grupo que consiste en: H y alquilo C₁-C₃.
 25 En otra realización R² es OH u OMe. En una realización adicional R² es OH.
 En aún otra realización R³ se selecciona del grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₃ y halo. En una realización adicional R³ se selecciona del grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₃, F y Cl.
 30 En una realización R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: OH, OMe, metilo, *terc*-butilo y F. En todavía una realización adicional R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: OMe, metilo, *terc*-butilo y F. En aún otra realización R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: OH, OMe, *terc*-butilo y F. En todavía una realización adicional R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: OMe, *terc*-butilo y F.
 35 En otra realización R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OH, OMe, NH₂, NHEt y N(Et)₂.
 En una realización adicional R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, F, Cl y metilo.
 40 En todavía una realización adicional R¹³ y uno de R¹⁴ y R¹⁵ forman la siguiente estructura:



En una realización los compuestos de fórmula (I) tienen la siguiente estructura



5 en la que R¹, R³ y R¹⁰ a R¹⁵ son tal como se definieron anteriormente.

En una realización R¹ se selecciona del grupo que consiste en: H y alquilo C₁-C₃.

10 En una realización adicional R³ se selecciona del grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₃, F y Cl.

En aún otra realización, R¹¹ se selecciona del grupo que consiste en: *tert*-butilo, OMe, metilo y F.

En todavía otra realización adicional R¹² se selecciona del grupo que consiste en: OMe, metilo, *tert*-butilo y F.

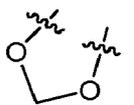
15 En aún otra realización, R¹¹ se selecciona del grupo que consiste en: *tert*-butilo, OMe y F.

En todavía otra realización adicional R¹² se selecciona del grupo que consiste en: OMe, *tert*-butilo y F.

20 En aún otra realización R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OH, OMe, NH₂, NHEt y NEt₂.

En otra realización R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, halo y metilo. En otra realización R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, F, Cl y metilo.

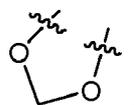
25 En todavía otra realización adicional R¹³ y uno de R¹⁴ y R¹⁵ forman la siguiente estructura:



30 En una realización, R¹ se selecciona del grupo que consiste en: H y alquilo C₁-C₃, R³ se selecciona del grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₃, F y Cl, R¹⁰ se selecciona del grupo que consiste en: OMe, OH y F, R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: *tert*-butilo, metilo, OMe y F, R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OMe y OH y R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, F, Cl y metilo.

35 En otra realización, R¹ se selecciona del grupo que consiste en: H y alquilo C₁-C₃, R³ se selecciona del grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₃, F y Cl, R¹⁰ es OH, R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: *tert*-butilo, metilo, OMe y F, R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OMe y OH y R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, F, Cl y metilo, o R¹³ y uno de R¹⁴ y R¹⁵ forman la siguiente estructura:

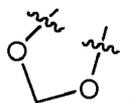
40



45 En una realización adicional, R¹ y R³ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, metilo o etilo, R¹⁰ es OH, R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: *tert*-butilo, metilo, OMe y F, R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OMe y OH y R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que

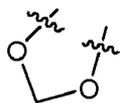
consiste en: H, F y metilo. En esta realización R¹⁵ puede estar en orto o meta con respecto a R¹³.

- 5 En otra realización, R¹ y R³ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, metilo o etilo, R¹⁰ es OH, R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: *tert*-butilo, metilo, OMe y F, R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OMe y OH y R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, F y metilo, o R¹³ y uno de R¹⁴ y R¹⁵ forman la siguiente estructura:



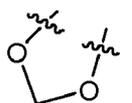
- 10 En una realización, R¹ y R³ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, metilo o etilo, R¹⁰ es OH, R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: *tert*-butilo, OMe y F, R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OMe y OH y R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, F y metilo. En esta realización R¹⁵ puede estar en orto con respecto a R¹³.

- 15 En otra realización, R¹ y R³ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, metilo o etilo, R¹⁰ es OH, R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: *tert*-butilo, OMe y F, R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OMe y OH y R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, F y metilo, o R¹³ y uno de R¹⁴ y R¹⁵ forman la siguiente estructura:

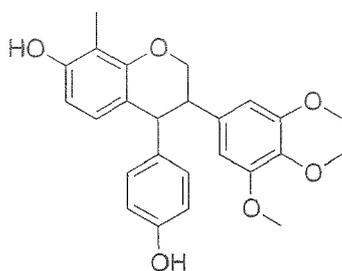


- 20 En una realización, R¹ se selecciona del grupo que consiste en: H y alquilo C₁-C₃, R³ se selecciona del grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₃, F y Cl, R¹⁰ es OH, R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: *tert*-butilo, metilo, OMe y F, R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OMe, OH, NH₂, NHEt y NEt₂ y R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, F, Cl y metilo.

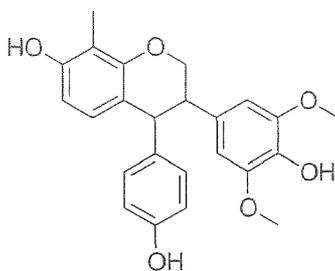
- 25 En otra realización, R¹ se selecciona del grupo que consiste en: H y alquilo C₁-C₃, R³ se selecciona del grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₃, F y Cl, R¹⁰ es OH, R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: *tert*-butilo, metilo, OMe y F, R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OMe, OH, NH₂, NHEt y NEt₂ y R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, F, Cl y metilo, o R¹³ y uno de R¹⁴ y R¹⁵ forman la siguiente estructura:



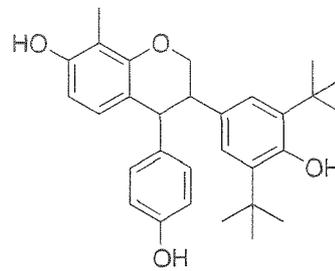
- 30 Los compuestos a modo de ejemplo según la fórmula (I) incluyen los compuestos 2, 3, 6, 9, 11, 13 y 15 a 41 (a continuación en el presente documento denominados "los compuestos numerados según la invención"):



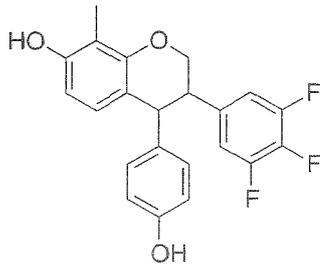
1



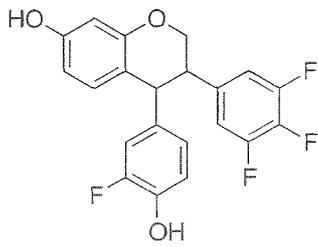
2



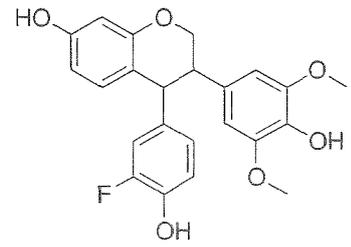
3



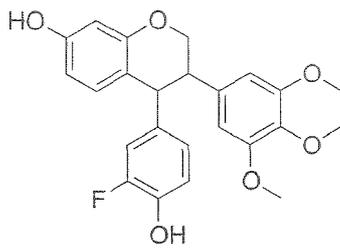
4



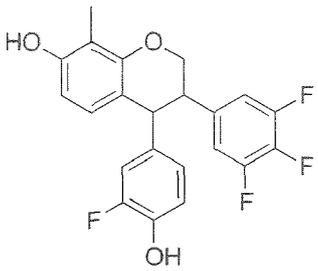
5



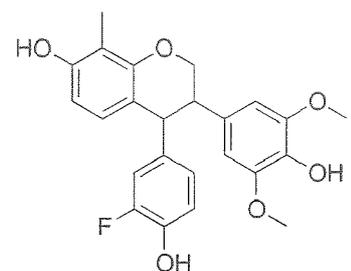
6



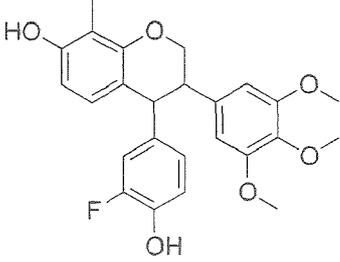
7



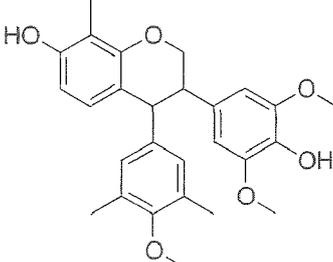
8



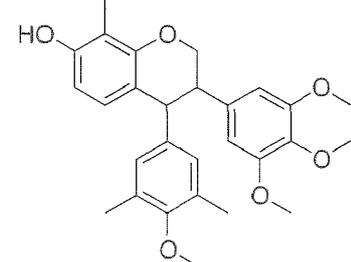
9



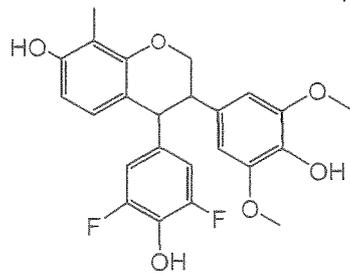
10



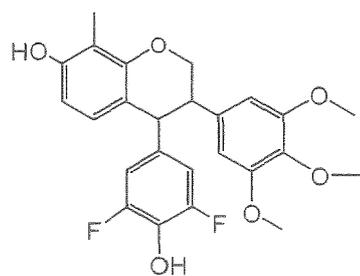
11



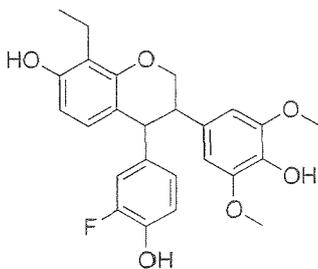
12



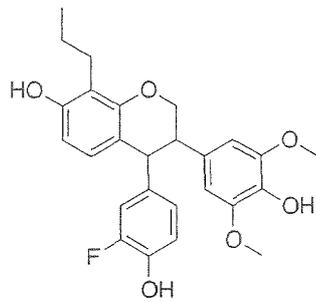
13



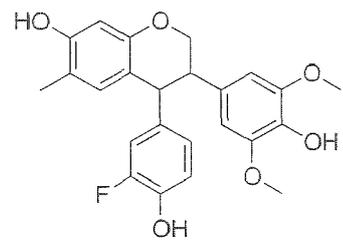
14



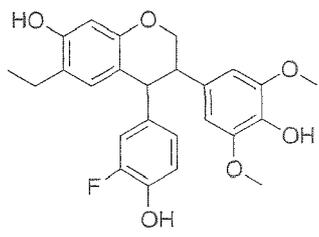
15



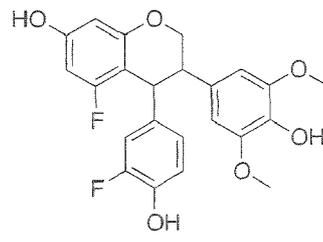
16



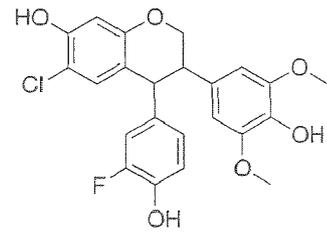
17



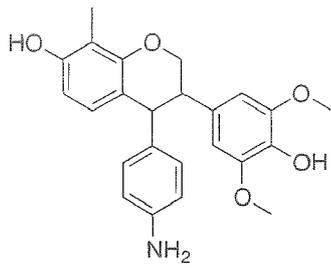
18



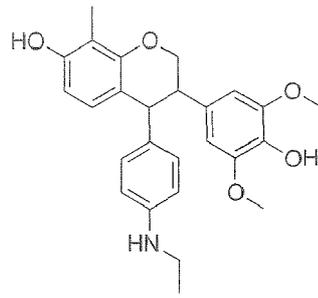
19



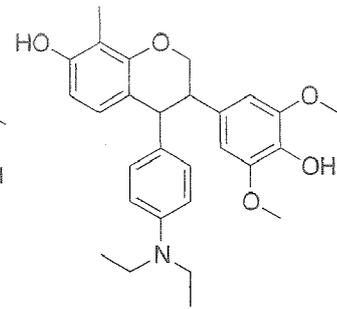
20



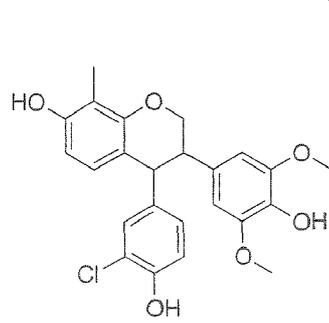
21



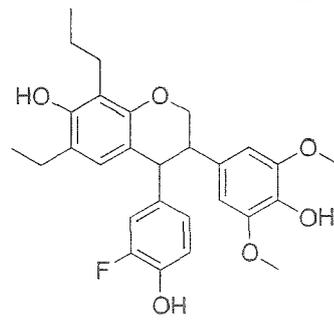
22



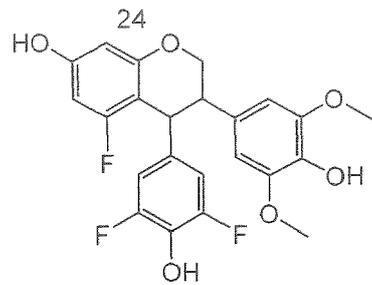
23



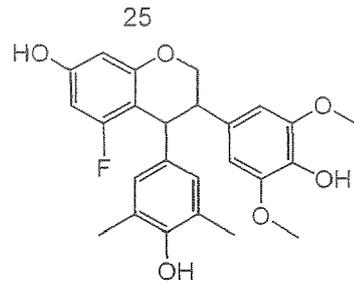
24



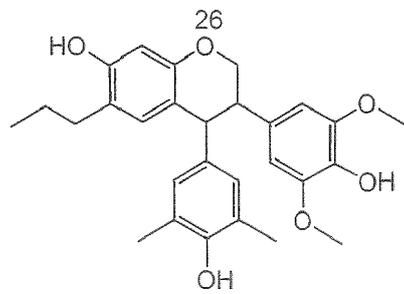
25



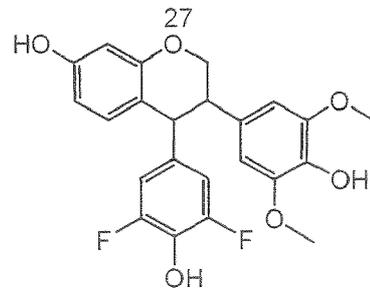
26



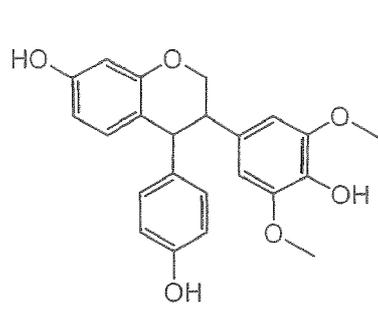
27



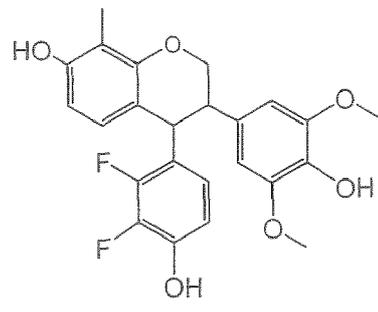
28



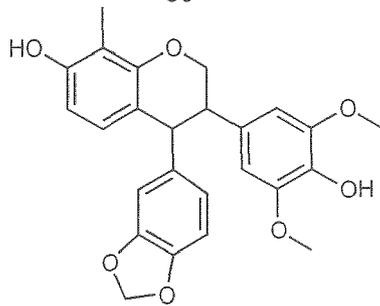
29



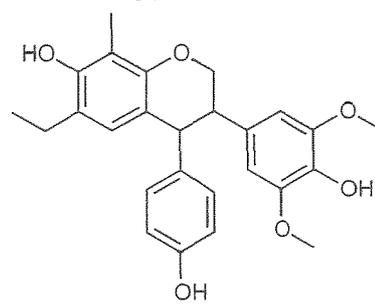
30



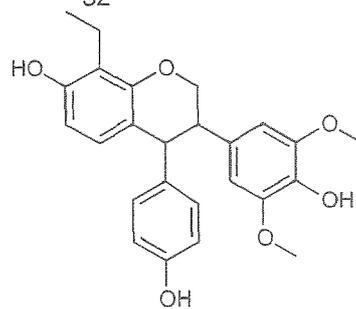
31



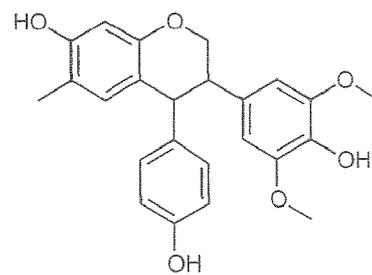
32



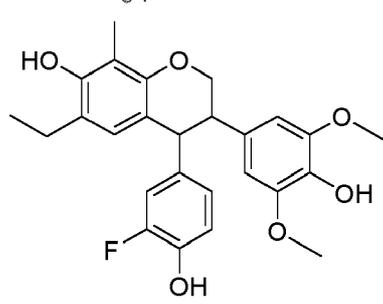
33



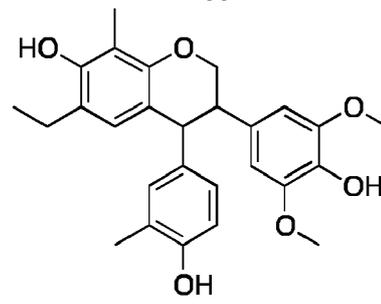
34



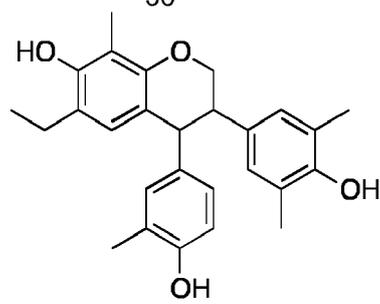
35



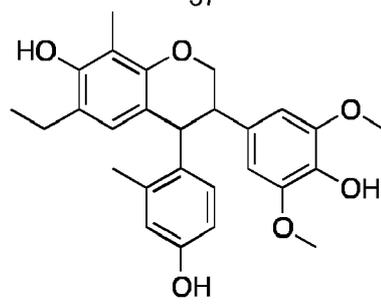
36



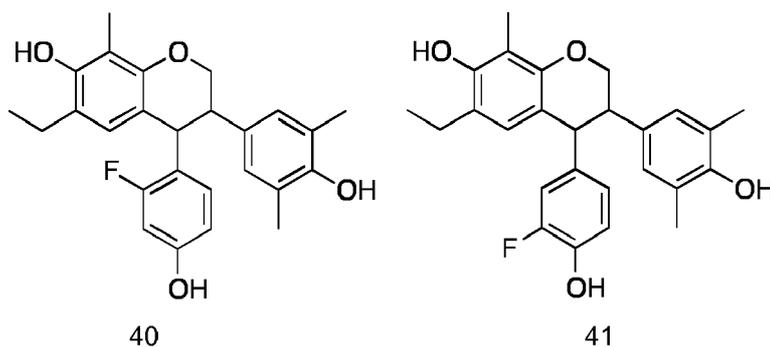
37



38



39

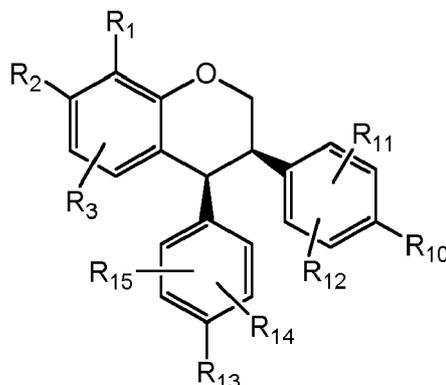


En una realización el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en: los compuestos 2, 6, 9, 13, 16, 18-22, 24 y 32-41. En otra realización el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en: los compuestos 2, 6, 9, 13, 16, 18-22, 24 y 32-40. En una realización adicional el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en los compuestos 2, 6, 9, 13, 16, 18-22, 24 y 32-36. En una realización adicional el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en los compuestos 2, 6, 9, 13, 16, 18-22, 24 y 32-35. En una realización adicional el compuesto de fórmula (I) se selecciona de los compuestos 33 y 36 a 41. En una realización adicional el compuesto de fórmula (I) se selecciona de los compuestos 33, 36, 37 y 39. En otra realización el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en los compuestos 2, 9 y 36. En otra realización el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en los compuestos 2, 9, 20, 33 y 36. En otra realización el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en los compuestos 2, 9, 33 y 36. En otra realización el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en los compuestos 2, 6, 9, 13 y 36 a 41. En otra realización el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en los compuestos 2, 6, 9, 13 y 36 a 40. En otra realización el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en los compuestos 2, 6, 9, 13, 36, 37 y 39. En otra realización el compuesto de fórmula (I) es el compuesto 2. En otra realización el compuesto de fórmula (I) es el compuesto 9. En otra realización el compuesto de fórmula (I) es el compuesto 36. En realizaciones alternativas el compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención.

Los compuestos de fórmula (I) incluyen al menos dos centros quirales. La presente invención incluye todos los enantiómeros y diaestereoisómeros así como mezclas de los mismos en cualquier proporción. La invención también se extiende a enantiómeros aislados o pares de enantiómeros. Los expertos en la técnica conocen bien métodos de separación de enantiómeros y diaestereoisómeros. En algunas realizaciones los compuestos de fórmula (I) son mezclas racémicas. En otras realizaciones los compuestos de fórmula (I) están presentes en forma ópticamente pura.

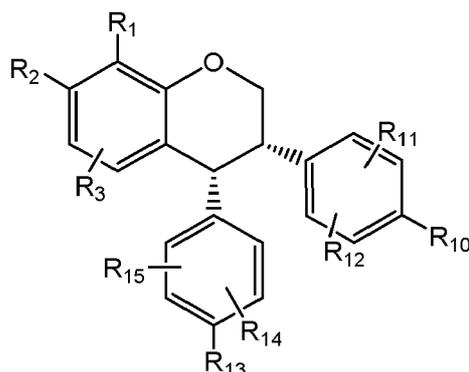
Los expertos en la técnica reconocerán también que en los compuestos de fórmula (I) los sustituyentes de fenilo unidos al anillo heterocíclico pueden estar o bien en *cis* o bien en *trans* en relación uno con otro. Preferiblemente, en los compuestos de fórmula (I) estos sustituyentes estarán en *cis* en relación uno con otro. Alternativamente, en los compuestos de fórmula (I) estos sustituyentes pueden estar en *trans* en relación uno con otro.

En algunas realizaciones los compuestos de fórmula (I) incluyendo los compuestos numerados según la invención tienen la siguiente estructura:



En otras realizaciones los compuestos de fórmula (I) incluyendo los compuestos numerados según la invención tienen la siguiente estructura:

40



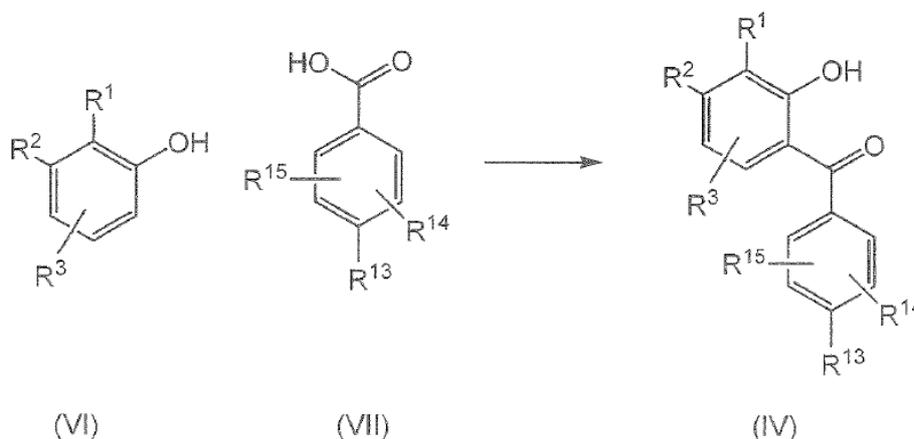
Los compuestos de fórmula (I) también incluyen hidratos y solvatos. Los solvatos son complejos formados por la asociación de moléculas de un disolvente con un compuesto de fórmula (I). En el caso de compuestos de fórmula (I) que son sólidos, los expertos en la técnica entenderán que tales compuestos pueden existir en diferentes formas cristalinas o polimórficas, todas de las cuales se pretende que estén dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos de fórmula (I) pueden estar en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Tales sales las conocen bien los expertos en la técnica. S. M. Berge *et al.* describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66:1-19. Pueden prepararse sales farmacéuticamente aceptables *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales de los compuestos de fórmula (I), o por separado haciendo reaccionar el compuesto de base libre con un ácido orgánico adecuado. Pueden prepararse sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de la presente invención a partir de un ácido inorgánico o a partir de un ácido orgánico. Ejemplos de tales ácidos inorgánicos son ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Pueden seleccionarse ácidos orgánicos apropiados de las clases alifática, cicloalifática, aromática, heterocíclica carboxílica y sulfónica de ácidos orgánicos, ejemplos de los cuales son ácidos fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, fumárico, maleico, pirúvico, alquilsulfónico, arilsulfónico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, mesílico, salicílico, p-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, ambónico, pamoico, pantoténico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, esteárico, algénico, β -hidroxibutírico, galactárico y galacturónico. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de la presente invención incluyen sales metálicas preparadas a partir de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio, aluminio y zinc, y sales orgánicas preparadas a partir de bases orgánicas tales como colina, dietanolamina, morfina. Alternativamente, sales orgánicas preparadas a partir de N,N'-dibenciletildiamina, clorprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina), procaína, sales de amonio, sales cuaternarias tales como sal de tetrametilamonio, sales de adición de aminoácidos tales como sales con glicina y arginina.

Los compuestos de fórmula (I) también incluyen todos los derivados con grupos salientes fisiológicamente escindibles que pueden escindirse *in vivo* para proporcionar los compuestos de fórmula (I). Los grupos salientes adecuados incluyen acilo, fosfato, sulfato, sulfonato, y preferiblemente son compuestos sustituidos con mono-, di- y per-aciloxilo, en los que uno o más de los grupos hidroxilo colgantes se protegen mediante un grupo acilo, preferiblemente un grupo acetilo. Normalmente, los compuestos sustituidos con aciloxilo pueden escindirse fácilmente para dar los compuestos sustituidos con hidroxilo correspondientes.

Pueden sintetizarse compuestos de fórmula (I) representativos tal como se describe a continuación.

En la primera etapa de la síntesis, se prepara producto intermedio de benzofenona (IV) a partir de un fenol adecuadamente funcionalizado (VI) y un ácido benzoico adecuadamente funcionalizado (VII) según el esquema 1.



Esquema 1: Preparación de un producto intermedio de benzofenona

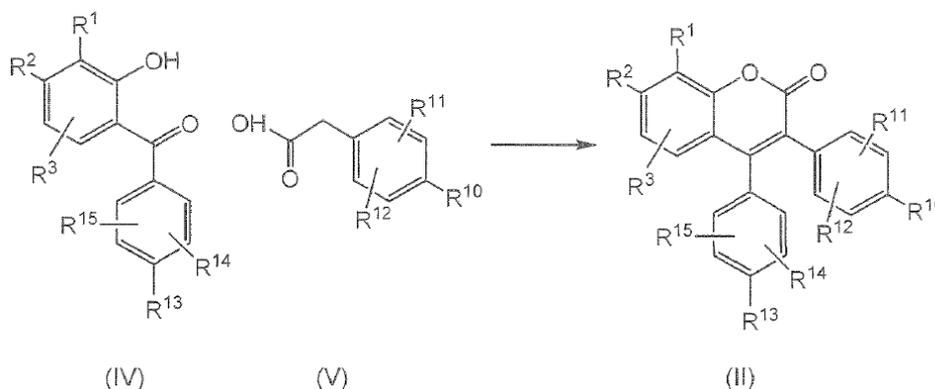
5 La ubicación relativa de los sustituyentes R_{14} y R_{15} en el anillo de fenilo del compuesto (VII) puede seleccionarse basándose en el patrón de sustitución requerido en el anillo de 4-fenilo del compuesto de fórmula (I) que está preparándose. Cuando sea apropiado o necesario, pueden emplearse grupos protectores. Los expertos en la técnica conocen grupos protectores convencionales e incluyen los descritos, por ejemplo, en 'Protective Groups in Organic

10 Synthesis' de Theodora Greene y Peter Wuts (tercera edición, 1999, John Wiley and Sons).
 Normalmente, en la reacción representada en el esquema 1, el compuesto fenólico (VI) y el compuesto de ácido benzoico (VII) se hacen reaccionar en condiciones de acilación. Por ejemplo, en un método descrito en el Indian Journal of Chemistry, 1971, 619-62, el compuesto fenólico (VI) y el compuesto de ácido benzoico (VII) pueden combinarse con oxiclورو de fósforo y cloruro de zinc y calentarse la mezcla durante un periodo de tiempo suficiente para que la reacción avance sustancialmente hasta su finalización. El periodo de tiempo preciso dependerá de la escala de la reacción, sin embargo, los expertos en la técnica podrán determinar fácilmente el tiempo y las condiciones de temperatura adecuados. En una reacción típica, los reactivos se calientan a una temperatura de aproximadamente 70°C durante de aproximadamente 1 a 3 horas. Cuando se considera que la reacción se ha completado suficientemente, la mezcla de reacción se enfría, por ejemplo, vertiéndola sobre hielo, tras lo cual puede aislarse el producto intermedio de benzofenona (IV) y purificarse usando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica.

25 En un método alternativo, el compuesto de ácido benzoico (VII) puede agitarse en cloruro de tionilo a reflujo durante de aproximadamente 2 a 6 horas, seguido por la adición de *N,N*-dimetilformamida catalítica en un disolvente orgánico adecuado (por ejemplo diclorometano), durante de aproximadamente 20 min a 1 hora. Tras retirar el cloruro de tionilo residual, la mezcla se enfría normalmente (por ejemplo, en un baño de hielo), luego se añaden cloruro de aluminio y el compuesto fenólico (VI) y la mezcla se agita durante un periodo de tiempo adecuado, normalmente de aproximadamente 18 a 36 horas, al tiempo que se calienta lentamente hasta temperatura ambiente, luego se calienta a reflujo durante de aproximadamente 2 a 8 horas. La reacción puede realizarse bajo una atmósfera inerte.

30 El producto intermedio de benzofenona (IV) puede purificarse usando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica. Por ejemplo, el producto intermedio de benzofenona (IV) puede recogerse mediante filtración, lavarse (por ejemplo, con agua), luego recristalizarse en un sistema de disolventes adecuado. Los ejemplos de disolventes de recristalización incluyen metanol, etanol, agua y mezclas de los mismos. Alternativamente, el producto intermedio de benzofenona (IV) puede purificarse mediante cromatografía en columna.

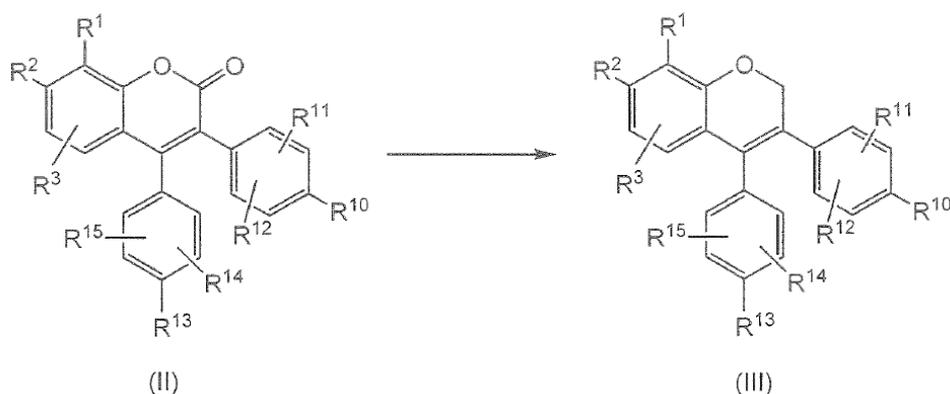
40 La siguiente etapa de la síntesis implica la reacción del producto intermedio de benzofenona (IV) con un ácido fenilcarboxílico adecuadamente funcionalizado (V) para proporcionar benzopiranoona funcionalizada (II) (véase el esquema 2). La ubicación relativa de los sustituyentes R_{11} y R_{12} en el anillo de fenilo del compuesto (V) puede seleccionarse basándose en el patrón de sustitución requerido en el anillo de 3-fenilo del compuesto de fórmula (I) que está preparándose. Cuando sea apropiado o necesario, pueden emplearse grupos protectores.



Esquema 2: Preparación de una benzopirano funcionalizada

- 5 Normalmente, en la reacción de condensación representada en el esquema 2, el producto intermedio de benzofenona (IV) se hace reaccionar con un ácido fenilacético adecuadamente funcionalizado (V) en presencia de una base y anhídrido acético. Normalmente, la base es una base no nucleófila, tal como *N,N*-diisopropiletilamina (DIEA), *N*-metilmorfolina o trietilamina. Durante esta reacción cualquier sustituyente de hidroxilo presente en los anillos de fenilo puede convertirse en el acetato correspondiente. La reacción se lleva a cabo normalmente con calentamiento a una temperatura y durante un periodo de tiempo hasta que se considere que la reacción se ha completado sustancialmente (por ejemplo, mediante análisis de CCF o CG). Los expertos en la técnica sabrán que los periodos de tiempo adecuados dependerán de la escala de la reacción y los reactivos particulares empleados. Normalmente, los reactivos pueden calentarse a una temperatura de aproximadamente 40-60°C (por ejemplo, aproximadamente 50°C) durante de aproximadamente 20 a 30 minutos para garantizar que todos los reactivos estén en disolución, luego calentarse a una temperatura superior, tal como aproximadamente 130-150°C (por ejemplo, aproximadamente 135°C), durante de aproximadamente 6 a 48 horas (por ejemplo, aproximadamente 18 horas). La benzopirano funcionalizada (II) puede aislarse por medios convencionales, tales como extracción con disolvente (por ejemplo, usando un disolvente orgánico tal como acetato de etilo, cloroformo, o similar), y lavando con disolución alcalina acuosa (por ejemplo, disolución de carbonato de sodio o hidrogenocarbonato de sodio), seguido por purificación convencional usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica, tales como cromatografía en columna, recristalización en un disolvente adecuado (por ejemplo, etanol o una mezcla de etanol/agua), o valoración con un disolvente adecuado (por ejemplo, metanol, etanol o mezclas de los mismos).

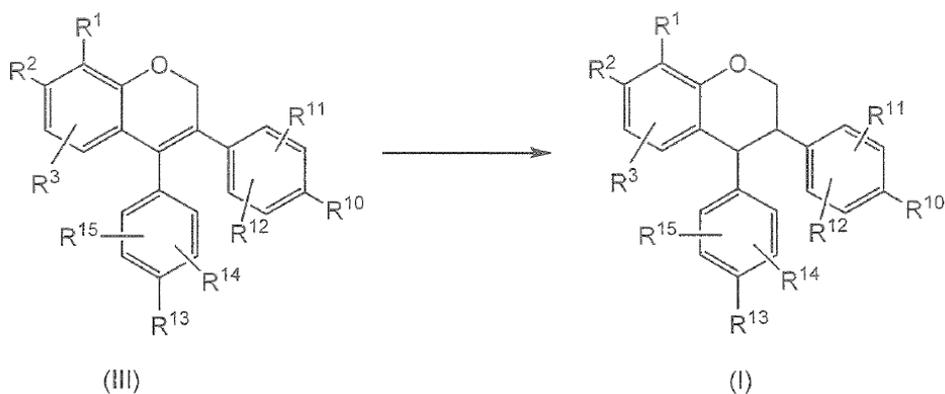
25 La siguiente etapa de la síntesis implica la reducción de la lactona de la benzopirano funcionalizada (II) para proporcionar compuesto de cromeno funcionalizado (III) (véase el esquema 3).



Esquema 3. Preparación de un cromeno funcionalizado

- 30 Normalmente, la reacción de reducción se lleva a cabo tratando la benzopirano (II) con un agente reductor adecuado que puede reducir el resto cetona del anillo de pirano. Preferiblemente, el reactivo reductor reduce selectivamente el resto cetona del anillo de pirano pero no reduce el doble enlace 3,4. La reducción también puede desproteger cualquier grupo hidroxilo acilado presente en los anillos de fenilo. Los expertos en la técnica conocerán agentes reductores adecuados e incluyen reactivos de borano, tales como, por ejemplo, complejo borano-sulfuro de dimetilo, decaborano, 9-BBN y complejo borano-tetrahidrofurano. En algunas realizaciones el agente reductor es borano-sulfuro de dimetilo. La reducción puede facilitarse mediante el uso de un agente auxiliar quiral. Por ejemplo, el borano-sulfuro de dimetilo es propenso a reducción de cetonas asimétrica usando catalizador de oxazaborolidina quiral (Corey, E.J.; Helal, C. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, 1986). La reacción puede llevarse a

- 5 cabo en un disolvente orgánico, tal como tetrahidrofurano, tolueno o cloroformo. La reacción puede realizarse bajo una atmósfera inerte a una temperatura por debajo de la temperatura ambiente, normalmente a una temperatura de desde aproximadamente -10°C hasta aproximadamente 10°C, o a de aproximadamente -5°C a aproximadamente 0°C, o a aproximadamente 0°C, durante de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 4 horas, normalmente
- 10 durante de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 2 horas. Cuando se considera que la reacción de reducción se ha completado (o completado sustancialmente), el producto puede aislarse mediante tratamiento final ácido usando métodos convencionales conocidos por el experto, luego purificarse usando técnicas convencionales tales como cromatografía en columna.
- 10 Con el compuesto de cromo globalmente desprotegido (III) a mano, la etapa final de la síntesis implica reducción cisoide catalítica de la olefina del compuesto de cromo (III) para dar compuestos de fórmula (I) (véase el esquema 4).



15 Esquema 4. Reducción catalítica para proporcionar compuestos de fórmula (I)

- La reducción del doble enlace puede realizarse mediante hidrogenación usando reactivos y condiciones que conocen bien los expertos en la técnica. Los reactivos adecuados incluyen catalizadores de metal heterogéneos, tales como catalizadores de paladio y platino en presencia de una atmósfera de hidrógeno. Los catalizadores preferidos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, catalizadores de Pd/C, Pd(OH)₂/C, Pt/C, níquel Raney, catalizadores de Rh, incluyendo catalizadores de Rh quirales, tales como Rh DIPAMP y catalizadores de Wilkinson. Los ejemplos de disolventes adecuados incluyen metanol y etanol. La reacción puede realizarse a temperatura ambiente o la mezcla de reacción puede calentarse (por ejemplo, hasta de aproximadamente 50 a 60°C). Alternativamente, la reacción de hidrogenación puede realizarse a presión. Los expertos en la técnica podrán determinar fácilmente cuándo se ha completado la reacción (o completado sustancialmente) usando técnicas convencionales (por ejemplo, CCF, CG-EM). El producto puede purificarse usando técnicas convencionales (por ejemplo, cromatografía).

- 30 Tras la purificación, los compuestos de fórmula (I) pueden ser sustancialmente puros. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) pueden aislarse en una forma que es al menos aproximadamente el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98%, el 99%, el 99,5% o el 99,9% pura.

- Los compuestos de fórmula (I) pueden obtenerse como mezclas racémicas. Pueden aislarse enantiómeros usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica, incluyendo resolución quiral, cromatografía de fluidos supercríticos y síntesis enantioselectivas. Pueden aislarse enantiómeros individuales en una forma sustancialmente pura o en un exceso enantiomérico (ee). Por ejemplo, en realizaciones preferidas un enantiómero puede aislarse en un exceso enantiomérico de aproximadamente el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 92%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o mayor del 99%.

- 40 Los presentes inventores han descubierto que los compuestos de fórmula (I) pueden ejercer efectos biológicos sorprendentemente poderosos sobre células cancerosas diferenciadas así como sobre células cancerosas no diferenciadas, que se denominan de manera diversa "células madre de cáncer" o "células progenitoras de cáncer". Los efectos biológicos pueden incluir inhibición de la proliferación celular, inducción de muerte celular, inducción de diferenciación celular y reversión de comportamiento aberrante.

- Los compuestos de fórmula (I) encuentran uso, por tanto, en el tratamiento de cáncer. En particular, los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en el tratamiento de cáncer cuando es deseable seleccionar como diana células cancerosas tanto no diferenciadas como diferenciadas, y cuando el efecto sobre ambos tipos de células cancerosas podría ser diferente o incluso opuesto. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) pueden inducir muerte celular en células cancerosas diferenciadas e inducir diferenciación celular en células cancerosas no diferenciadas. En otras realizaciones los compuestos de fórmula (I) pueden inhibir la proliferación de células madre de cáncer y células

madre de cáncer diferenciadas, tales como células cancerosas somáticas.

Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse conjuntamente con, o alternativamente en ausencia de, otros agentes quimioterápicos.

5 Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en el tratamiento de cáncer que es resistente a uno o más agentes quimioterápicos.

10 En virtud de sus efectos biológicos sobre células cancerosas no diferenciadas, los compuestos de fórmula (I) encuentran uso particular en el tratamiento de cáncer que ha presentado recidiva en un sujeto y en la reducción de la incidencia de, o el riesgo de, recidiva de cáncer en un sujeto que se considera que corre el riesgo de recidiva del cáncer, por ejemplo, un sujeto que está en remisión del cáncer. El sujeto puede estar en remisión de un tumor sólido tal como se define en el presente documento. Los compuestos de fórmula (I) también encuentran uso particular en la inducción de la apoptosis en, o la inhibición de la proliferación de, células madre de cáncer. Los compuestos de
15 fórmula (I) también encuentran uso particular en el tratamiento de enfermedades provocadas por células madre de cáncer, tales como cáncer. El cáncer puede ser un cáncer metastásico.

Además, los compuestos de fórmula (I) pueden presentar propiedades farmacéuticas superiores, tales como resistencia mejorada a la conjugación por medio de glucuronil transferasas y otras transferasas de solubilización en
20 agua tales como sulfasas, que pueden sobreexpresarse en células proliferativas, tales como células cancerosas. Esto puede conferir ventajosamente propiedades farmacéuticas superiores, tales como un perfil farmacocinético potenciado a través de una conjugación y eliminación reducidas.

En todos los aspectos de la invención el cáncer puede ser un tumor sólido, tal como, por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de pulmón (NSCLC y SCLC), cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer uterino, cáncer de peritoneo, cáncer cerebral (incluyendo, por ejemplo, gliomas tales como glioblastoma, glioma pontino intrínseco difuso (DIPG) y meduloblastoma), cáncer de piel, cáncer de colon, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, melanoma, ascitis maligna, mesotelioma o neuroblastoma. El cáncer cerebral puede ser de adulto o infantil. El glioma puede ser resistente a temozolomida (TMZ) o susceptible
30 a TMZ.

En realizaciones particulares el cáncer es cáncer de ovario, neuroblastoma, cáncer de próstata o cáncer cerebral (incluyendo, por ejemplo, gliomas tales como glioblastoma, DIPG y meduloblastoma). En otras realizaciones el cáncer es cáncer de ovario, cáncer de próstata o cáncer cerebral (incluyendo, por ejemplo, gliomas tales como glioblastoma, DIPG y meduloblastoma). En realizaciones adicionales el cáncer es cáncer de ovario, glioma, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma o ascitis maligna. En otras realizaciones el cáncer puede ser cáncer de páncreas, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de próstata, cáncer cerebral (incluyendo infantil y de adulto), cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer uterino, neuroblastoma, mesotelioma, ascitis maligna o cáncer de peritoneo.
40

Los compuestos de fórmula (I) pueden encontrar uso en la inducción de la apoptosis en, o la inhibición de la proliferación de células madre de cáncer de ovario. Por consiguiente, en una realización la invención proporciona un método para inducir apoptosis en, o inhibir la proliferación de células madre de cáncer de ovario, comprendiendo el método poner en contacto las células madre de cáncer de ovario con una cantidad eficaz de un compuesto de
45 fórmula (I). El compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9, 13 y 36, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9 y 13. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 2. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+). Las células madre de cáncer de ovario pueden ser resistentes a cisplatino y/o paclitaxel. El compuesto de fórmula (I) puede administrarse por vía intraperitoneal.
50

Los compuestos de fórmula (I) pueden encontrar uso en el tratamiento de cáncer de ovario en un sujeto. Por consiguiente, en una realización la invención proporciona un método para el tratamiento de cáncer de ovario en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I). El cáncer puede ser un cáncer que ha presentado recidiva. El compuesto de
55 fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9, 13 y 36, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9 y 13. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 2. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+). El cáncer de ovario puede ser resistente a cisplatino y/o paclitaxel. El compuesto de fórmula (I) puede administrarse por vía intraperitoneal.
60

Los compuestos de fórmula (I) pueden encontrar uso en la reducción de la incidencia de, o el riesgo de, recidiva del cáncer en un sujeto que se considera que corre el riesgo de recidiva del cáncer. Por consiguiente, en una realización la invención proporciona un método para reducir las incidencias de, o el riesgo de, recidiva del cáncer en un sujeto que se considera que corre el riesgo de recidiva del cáncer, comprendiendo el método la administración al sujeto de
65

- una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I). El sujeto que se considera que corre el riesgo de recidiva del cáncer puede ser un sujeto en remisión de cáncer de ovario o un sujeto en remisión de cáncer cerebral, tal como glioma. El método puede implicar la reducción de las incidencias de, o el riesgo de, recidiva de cáncer de ovario o recidiva cáncer cerebral en el sujeto. El compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9 y 13. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 2 o el compuesto 9. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+).
- 10 Los compuestos de fórmula (I) pueden encontrar uso en el tratamiento de una enfermedad en un sujeto provocada por células madre de cáncer de ovario. Por consiguiente, en una realización la invención proporciona un método para tratar una enfermedad en un sujeto provocada por células madre de cáncer de ovario, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I). La enfermedad puede ser cáncer. El cáncer puede ser cáncer de ovario o algún otro cáncer, por ejemplo un cáncer metastásico. El cáncer puede ser resistente a cisplatino y/o paclitaxel. El compuesto de fórmula (I) puede administrarse por vía intraperitoneal. El compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9 y 13. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 2. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+).
- 15 Los compuestos de fórmula (I) pueden encontrar uso en la inducción de la apoptosis en, o la inhibición de la proliferación de células madre de cáncer cerebral, tales como células madre de glioma. Por consiguiente, en una realización la invención proporciona un método para inhibir la proliferación de células madre de cáncer cerebral, tales como células madre de glioma, comprendiendo el método poner en contacto las células madre de cáncer cerebral con una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I). El compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9 y 36, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6 y 9, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9 y 13, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2 y 9. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 9. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+).
- 20 Los compuestos de fórmula (I) pueden encontrar uso en el tratamiento de una enfermedad en un sujeto provocada por células madre de cáncer cerebral, tales como células madre de glioma. Por consiguiente, en una realización la invención proporciona un método para tratar una enfermedad en un sujeto provocada por células madre de cáncer cerebral, tales como células madre de glioma, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I). La enfermedad puede ser cáncer. El cáncer puede ser cáncer cerebral o algún otro cáncer, por ejemplo un cáncer metastásico. El compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9 y 36, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6 y 9, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9 y 13, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2 y 9. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 9. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+).
- 25 En otra realización la invención proporciona un método para tratar cáncer en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I). El cáncer puede ser cáncer colorrectal, cáncer cerebral (tal como, por ejemplo, glioma, DIPG o meduloblastoma), cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma, neuroblastoma o ascitis maligna. El cáncer cerebral puede ser de adulto o infantil. El cáncer puede ser cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer cerebral o neuroblastoma. El cáncer puede ser cáncer de ovario, cáncer de próstata o cáncer cerebral. El compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9, 13 y 36, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9 y 13. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+).
- 30 En otra realización la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente para su uso en un método para tratar cáncer cerebral en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto de fórmula (I). El cáncer cerebral puede ser glioma, por ejemplo, glioblastoma, DIPG o meduloblastoma. El cáncer cerebral puede ser de adulto o infantil. El cáncer puede ser un cáncer que ha presentado recidiva. El compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9 y 36, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6 y 9, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9 y 13, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2 y 9. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 9. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de

otros agentes quimioterápicos. El glioma puede ser resistente a TMZ o susceptible a TMZ. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+).

5 En todavía otra realización adicional la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente para su uso en un método para tratar cáncer de próstata en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto de fórmula (I). El compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9, 19-22, 24 y 32 a 41, o
10 alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9, 19-22, 24 y 32 a 40. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 33 a 41 o de los compuestos 33 a 40. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 33 ó 36. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 36. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+). El compuesto de fórmula (I) puede administrarse por vía rectal.

15 En todavía otra realización adicional la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente para su uso en un método para tratar neuroblastoma en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto de fórmula (I). El compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9, 19-22, 24 y 32 a 41, o
20 alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9, 19-22, 24 y 32 a 40. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 9 o el compuesto 36. El neuroblastoma puede ser neuroblastoma infantil. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+).

25 En todavía otra realización adicional la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente para su uso en un método para tratar melanoma en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto de fórmula (I). El compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9, 19-22, 24 y 32 a 41, o
30 alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9, 19-22, 24 y 32 a 40. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 9. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+).

35 En aún otra realización la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente para su uso en un método para tratar ascitis maligna en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto de fórmula (I). El compuesto de fórmula (I) puede ser cualquier combinación de uno o más de los compuestos numerados según la invención. El compuesto de fórmula (I) puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9, 19-22, 24 y 32 a 41, o alternativamente puede seleccionarse de los compuestos 2, 6, 9, 19-22, 24 y 32 a 40. El compuesto de fórmula (I) puede ser el
40 compuesto 2 o el compuesto 9. El compuesto de fórmula (I) puede ser el compuesto 2. Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+).

45 En otra realización la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente para su uso en un método para tratar cáncer de ovario, cáncer de peritoneo, ascitis maligna, cáncer uterino, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer colorrectal, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de pulmón o cáncer de próstata, en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto 2. El compuesto puede usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. El compuesto puede estar en forma del enantiómero (+).
50

En otra realización la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente para su uso en un método para tratar cáncer cerebral, neuroblastoma, melanoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer colorrectal o cáncer de próstata, en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto 9. El
55 cáncer cerebral puede ser glioma, por ejemplo, DIPG. El compuesto puede usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. El compuesto puede estar en forma del enantiómero (+).

60 En otra realización la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente para su uso en un método para tratar cáncer de próstata, cáncer cerebral, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de mama, melanoma, cáncer de páncreas, cáncer de ovario o cáncer colorrectal, en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto 36. El cáncer cerebral puede ser glioma, por ejemplo, DIPG. El compuesto puede usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. El compuesto puede estar en forma del enantiómero (+).

65 En otra realización la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente para su uso en un método para tratar cáncer de hígado en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la

administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto 20 o del compuesto 33. Los compuestos pueden usarse en ausencia de otros agentes quimioterápicos. Los compuestos pueden estar en forma del enantiómero (+).

5 Los expertos en la técnica reconocerán que los compuestos y las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse por medio de cualquier vía que administre una cantidad eficaz de los compuestos al tejido o sitio que va a tratarse. En general, los compuestos y las composiciones pueden administrarse por la vía parenteral (por ejemplo intravenosa, intraespinal, subcutánea o intramuscular), oral o tópica. La administración puede ser sistémica, regional o local. En una realización la administración puede ser rectal.

10 La vía de administración particular que va a usarse en cualquier circunstancia dada dependerá de varios factores, incluyendo la naturaleza del cáncer que va a tratarse, la gravedad y extensión del cáncer, la dosis requerida del compuesto particular que va a administrarse y los posibles efectos secundarios del compuesto.

15 En general, pueden prepararse composiciones adecuadas según métodos que conocen los expertos habituales en la técnica y pueden incluir portadores, diluyentes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los portadores, diluyentes y excipientes deben ser "aceptables" en cuanto a ser compatibles con los otros componentes de la composición, y no perjudiciales para los receptores de la misma.

20 Ejemplos de portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables son agua desmineralizada o destilada; solución salina; aceites de base vegetal tales como aceite de cacahuete, aceite de cártamo, aceite de oliva, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz o aceite de coco; aceite de silicona, incluyendo polisiloxanos, tales como metilpolisiloxano, fenilpolisiloxano y metilfenilpolisiloxano; siliconas volátiles; aceites minerales tales como parafina líquida, parafina blanda o escualano; derivados de celulosa tales como metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio o hidroxipropilmetilcelulosa; Cremaphor; ciclodextrinas; alcoholes inferiores, por ejemplo, etanol o *i*-propanol; aralcoholes inferiores; polialquilenglicoles inferiores o alquilenglicoles inferiores, por ejemplo, polietilenglicol, polipropilenglicol, etilenglicol, propilenglicol, 1,3-butilenglicol o glicerina; ésteres de ácidos grasos tales como palmitato de isopropilo, miristato de isopropilo u oleato de etilo; polivinilpirridona; agar; carragenano; goma tragacanto o goma arábiga y vaselina. Normalmente, el portador o portadores formarán desde el 10% hasta el 99,9% en peso de las composiciones.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar en una forma adecuada para la administración mediante inyección, en forma de una formulación adecuada para ingestión oral (tal como, por ejemplo, cápsulas, comprimidos, comprimidos oblongos, elixires), en forma de una pomada, crema o loción adecuada para la administración tópica, en una forma adecuada para la administración como una gota ocular, en una forma de aerosol adecuada para administración mediante inhalación, tal como mediante inhalación intranasal o inhalación oral, en una forma adecuada para administración parenteral, es decir, inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa.

40 Para la administración como disolución o suspensión inyectable, los diluyentes o portadores aceptables por vía parenteral no tóxicos pueden incluir ciclodextrinas (por ejemplo, Captisol®) Cremaphor, solución de Ringer, solución salina isotónica, solución salina tamponada con fosfato, etanol y 1,2-propilenglicol. Para ayudar en la inyección y administración, los compuestos también pueden añadirse a liposomas y micelas con PEG y no pegilados con etiquetas de direccionamiento específico unidas a restos de PEG, tales como el péptido RGD o glutatión, para ayudar al paso a través de la barrera hematoencefálica.

45 Algunos ejemplos de portadores, diluyentes, excipientes y adyuvantes adecuados para uso oral incluyen ciclodextrinas, Cremaphor, aceite de cacahuete, parafina líquida, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, alginato de sodio, goma arábiga, goma tragacanto, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, gelatina y lecitina. Además, estas formulaciones orales pueden contener agentes aromatizantes y colorantes adecuados. Cuando se usan en forma de cápsula las cápsulas pueden recubrirse con compuestos tales como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo que retrasan la disgregación.

Los adyuvantes incluyen normalmente emolientes, emulsionantes, agentes espesantes, conservantes, bactericidas y agentes tamponantes.

55 Las formas sólidas para la administración oral pueden contener aglutinantes aceptables en la práctica farmacéutica en seres humanos y veterinaria, edulcorantes, agentes disgregantes, diluyentes, aromatizantes, agentes de recubrimiento, conservantes, lubricantes y/o agentes de retraso temporal. Los aglutinantes adecuados incluyen goma arábiga, gelatina, almidón de maíz, goma tragacanto, alginato de sodio, carboximetilcelulosa o polietilenglicol. Los edulcorantes adecuados incluyen sacarosa, lactosa, glucosa, aspartamo o sacarina. Los agentes disgregantes adecuados incluyen almidón de maíz, metilcelulosa, polivinilpirrolidona, goma guar, goma xantana, bentonita, ácido alginico o agar. Los diluyentes adecuados incluyen lactosa, sorbitol, manitol, dextrosa, caolín, celulosa, carbonato de calcio, silicato de calcio o fosfato de dicalcio. Los agentes aromatizantes adecuados incluyen aceite de menta, aceite de gaulteria, aromas de cereza, naranja o frambuesa. Los agentes de recubrimiento adecuados incluyen polímeros o copolímeros de ácido acrílico y/o ácido metacrílico y/o sus ésteres, ceras, alcoholes grasos, zeína, laca o gluten. Los conservantes adecuados incluyen benzoato de sodio, vitamina E, alfa-tocoferol, ácido ascórbico, metilparabeno,

propilparabeno o bisulfito de sodio. Los lubricantes adecuados incluyen estearato de magnesio, ácido esteárico, oleato de sodio, cloruro de sodio o talco. Los agentes de retraso temporal adecuados incluyen monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

5 Las formas líquidas para la administración oral pueden contener, además de los agentes anteriores, un portador líquido. Los portadores líquidos adecuados incluyen agua, aceites tales como aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de coco, parafina líquida, etilenglicol, propilenglicol, polietilenglicol, etanol, propanol, isopropanol, glicerol, alcoholes grasos, triglicéridos o mezclas de los mismos.

10 Las suspensiones para la administración oral pueden comprender además agentes de dispersión y/o agentes de suspensión. Los agentes de suspensión adecuados incluyen carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilpirrolidona, alginato de sodio o alcohol acético. Los agentes dispersantes adecuados incluyen lecitina, ésteres de polioxietileno de ácidos grasos tales como ácido esteárico, mono- o di-oleato, estearato o laurato de polioxietilensorbitol, mono- o di-oleato, estearato o laurato de polioxietilensorbitano y similares.

15 Las emulsiones para la administración oral pueden comprender uno o más agentes emulsionantes. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen agentes de dispersión como los ejemplificados anteriormente o gomas naturales tales como goma guar, goma arábica o goma tragacanto.

20 Los métodos para preparar composiciones administrables por vía parenteral son evidentes para los expertos en la técnica, y se describen en más detalle en, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Science, 15^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., incorporado por el presente documento como referencia en el presente documento.

25 Las formulaciones tópicas pueden comprender un principio activo junto con uno o más portadores aceptables, y opcionalmente cualquier otro componente terapéutico. Las formulaciones adecuadas para la administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semilíquidas adecuadas para la penetración a través de la piel hasta el sitio en el que se requiere el tratamiento, tales como linimentos, lociones, cremas, pomadas o pastas, y gotas adecuadas para su administración al ojo, el oído o la nariz.

30 Las gotas según la presente invención pueden comprender disoluciones o suspensiones acuosas u oleosas estériles. Éstas pueden prepararse disolviendo el principio activo en una disolución acuosa de un agente bactericida y/o fungicida y/o cualquier otro conservante adecuado, y opcionalmente incluyendo un agente activo de superficie. La disolución resultante puede entonces clarificarse mediante filtración, transferirse a un recipiente adecuado y esterilizarse. La esterilización puede lograrse mediante esterilización en autoclave o manteniendo a de 90°C a 100°C durante media hora, o mediante filtración, seguido por transferencia a un recipiente mediante una técnica aséptica. Ejemplos de agentes bactericidas y fungicidas para su inclusión en las gotas son nitrato o acetato fenilmercurio (0,002%), cloruro de benzalconio (0,01%) y acetato de clorhexidina (0,01%). Los disolventes adecuados para la preparación de una disolución oleosa incluyen glicerol, alcohol diluido y propilenglicol.

35 Las lociones según la presente invención incluyen las adecuadas para su aplicación a la piel o al ojo. Una loción ocular puede comprender una disolución acuosa estéril que contiene opcionalmente un bactericida y puede prepararse mediante métodos similares a los descritos anteriormente en relación con la preparación de gotas. Las lociones o los linimentos para su aplicación a la piel también pueden incluir un agente para acelerar el secado y para enfriar la piel, tal como un alcohol o acetona, y/o un humectante tal como glicerol, o aceite tal como aceite de oliva.

40 Las cremas, pomadas o pastas según la presente invención son formulaciones semisólidas del principio activo para aplicación externa. Pueden prepararse mezclando el principio activo en forma de polvo o finamente dividida, solo o en disolución o suspensión en un fluido acuoso o no acuoso, con una base grasienta o no grasienta. La base puede comprender hidratos de carbono tales como parafina dura, blanda o líquida, glicerol, cera de abejas, un jabón metálico; un mucílago; un aceite de origen natural tal como aceite de almendras, maíz, maní, ricino u oliva; grasa de lana o sus derivados, o un ácido graso tal como ácido esteárico u oleico junto con un alcohol, tal como propilenglicol o macrogles.

45 La composición puede incorporar cualquier tensioactivo adecuado tal como un tensioactivo aniónico, catiónico o no iónico, tal como ésteres de sorbitano o derivados de polioxietileno de los mismos. También pueden incluirse agentes de suspensión tales como gomas naturales, derivados de celulosa o materiales inorgánicos tales como sílices silíceos, y otros componentes tales como una lanolina.

50 En algunas realizaciones las composiciones se administran en forma de supositorios adecuados para la administración rectal de los compuestos de fórmula (I). Estas composiciones se preparan mezclando el compuesto de fórmula (I) con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas habituales pero líquido a la temperatura rectal y, por tanto, se fundirá en el recto liberando el compuesto de fórmula (I). Tales materiales incluyen manteca de cacao, gelatina glicerinada, aceites vegetales hidrogenados, mezclas de polietilenglicoles de diversos pesos moleculares y ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol.

Las composiciones también pueden administrarse o suministrarse a células diana en forma de liposomas. Los liposomas se derivan generalmente de fosfolípidos u otras sustancias lipídicas y se forman mediante cristales líquidos hidratados mono o multilaminares que se dispersan en un medio acuoso. Ejemplos específicos de liposomas usados en la administración o el suministro de una composición a células diana son colesterol sintético (Sigma), el fosfolípido 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DSPC); Avanti Polar Lipids), el lípido con PEG 3-N-[-metoxipoli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimirestiloil-propilamina (PEG-cDMA), y el lípido catiónico 1,2-di-octadecenil-3-(N,N-dimetil)aminopropano (DODMA) o 1,2-dilinoiloxi-3-(N,N-dimetil)aminopropano (DLinDMA) en las razones molares 55:20:10:15 o 48:20:2:30, respectivamente, PEG-cDMA, DODMA y DLinDMA. El liposoma puede construirse a partir de 1,2-distearoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina-N-[metoxi(poli(etilenglicol)-2000)] (DSPE PEG2000) y fosfatidilcolina derivada de soja e hidrogenada entre el 50-100%, por ejemplo, PC-75 de soja o PC-100 de soja. Pueden usarse PEG de PM diferente y unirse covalentemente con diversos agentes de direccionamiento específicos tales como glutatión, péptidos RGD u otros agentes de direccionamiento de liposomas reconocidos. Puede usarse cualquier lípido no tóxico, fisiológicamente aceptable y metabolizable que pueda formar liposomas. Las composiciones en forma de liposomas pueden contener estabilizadores, conservantes, excipientes y similares. Los lípidos preferidos son los fosfolípidos y las fosfatidilcolinas (lecitinas), tanto naturales como sintéticos. Se conocen en la técnica métodos para formar liposomas, y en relación con esto, se hace referencia específica a: Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, volumen XIV, Academic Press, Nueva York, N.Y. (1976), p. 33 y siguientes.

Las composiciones también pueden administrarse en forma de micropartículas o nanopartículas. Se han usado de manera extensa micropartículas biodegradables formadas a partir de polilactida (PLA), polilactida-co-glicolida (PLGA) y épsilon-caprolactona (ϵ -caprolactona) como portadores de fármacos para aumentar la semivida plasmática y de ese modo prolongar la eficacia (R. Kumar, M., 2000, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 3(2) 234-258). Se han formulado micropartículas para la administración de una gama de candidatos a fármaco incluyendo vacunas, antibióticos y ADN. Además, estas formulaciones se han desarrollado para diversas vías de administración incluyendo inyección subcutánea parenteral, inyección intravenosa e inhalación.

Las composiciones pueden incorporar una matriz de liberación controlada que se compone de acetato-isobutirato de sacarosa (SAIB) y un disolvente orgánico o mezcla de disolventes orgánicos. Pueden añadirse aditivos de polímero a lo vehículo como modificador de la liberación para aumentar adicionalmente la viscosidad y ralentizar la velocidad de liberación. SAIB es un aditivo alimentario bien conocido. Es un derivado de sacarosa muy hidrófobo, completamente esterificado, a una razón nominal de seis grupos isobutirato con respecto a dos acetato. Como éster mixto, SAIB no cristaliza si no que existe como un líquido viscoso transparente. El mezclado de SAIB con un disolvente orgánico farmacéuticamente aceptable, tal como etanol o alcohol bencílico disminuye la viscosidad de la mezcla suficientemente como para permitir la inyección. Puede añadirse un componente farmacéutico activo al vehículo de administración de SAIB para formar formulaciones en suspensión o disolución de SAIB. Cuando la formulación se inyecta por vía subcutánea, el disolvente difiere de la matriz permitiendo que las mezclas de SAIB-fármaco o SAIB-fármaco-polímero se establezcan como un depósito de formación *in situ*.

Para los fines de la presente invención, pueden administrarse compuestos y composiciones a sujetos de manera o bien terapéutica o bien preventiva. En una aplicación terapéutica se administran composiciones a un paciente que ya padece cáncer en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente el cáncer y sus complicaciones. La composición debe proporcionar una cantidad del compuesto o agente suficiente para tratar eficazmente al sujeto.

La cantidad terapéuticamente eficaz para cualquier sujeto particular dependerá de una variedad de factores incluyendo: el cáncer que está tratándose y la gravedad del mismo; la actividad del compuesto administrado; la composición en la que está presente el compuesto; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del sujeto; el momento de administración; la vía de administración; la tasa de secuestro del compuesto; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o coincidentes con el compuesto, junto con otros factores relacionados bien conocidos en medicina.

Un experto en la técnica, mediante experimentación de rutina, podría determinar una cantidad eficaz, no tóxica de un compuesto que se requeriría para tratar o prevenir un cáncer particular.

Generalmente, se espera que una dosificación eficaz esté en el intervalo de aproximadamente 0,0001 mg a aproximadamente 1000 mg por kg de peso corporal por 24 horas; normalmente, de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 750 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 250 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 250 mg por kg de peso corporal por 24 horas. Más normalmente, se espera que un intervalo de dosis eficaz esté en el intervalo de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 200 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 50 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 25 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 5,0 mg a aproximadamente 50 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de

aproximadamente 5,0 mg a aproximadamente 20 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 5,0 mg a aproximadamente 15 mg por kg de peso corporal por 24 horas.

Alternativamente, una dosificación eficaz puede ser de hasta aproximadamente 500 mg/m². Generalmente, se espera que una dosificación eficaz esté en el intervalo de aproximadamente 25 a aproximadamente 500 mg/m², preferiblemente de aproximadamente 25 a aproximadamente 350 mg/m², más preferiblemente de aproximadamente 25 a aproximadamente 300 mg/m², todavía más preferiblemente de aproximadamente 25 a aproximadamente 250 mg/m², incluso más preferiblemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 250 mg/m², y todavía incluso más preferiblemente de aproximadamente 75 a aproximadamente 150 mg/m².

Normalmente, en aplicaciones terapéuticas, el tratamiento sería durante la duración del estado patológico.

Además, resultará evidente para un experto habitual en la técnica que la cantidad y separación óptimas de dosificaciones individuales se determinarán mediante la naturaleza y extensión del cáncer que está tratándose, la forma, la vía y el sitio de administración, y la naturaleza del individuo particular que está tratándose. Además, tales condiciones óptimas pueden determinarse mediante técnicas convencionales.

Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse solos en el tratamiento de cáncer, o alternativamente en combinación con radioterapia y/o cirugía y/u otros agentes terapéuticos, por ejemplo, agentes quimioterápicos y agentes inmunoestimuladores, como parte de una terapia de combinación. Los compuestos de fórmula (I) pueden sensibilizar células cancerosas no diferenciadas a otros agentes quimioterápicos y/o radioterapia.

Los términos “terapia de combinación” y “terapia adjunta” pretenden abarcar la administración de múltiples agentes terapéuticos de una manera secuencial en un régimen que proporcionará efectos beneficiosos y pretende abarcar la administración de estos agentes en o bien una única formulación o bien en formulaciones separadas.

La terapia de combinación puede implicar los agentes activos que están administrándose juntos, secuencialmente, o separados según sea apropiado en cada caso. Las combinaciones de agentes activos incluyendo compuestos de la invención pueden ser sinérgicas.

La coadministración de compuestos de fórmula (I) con otro(s) agente(s) terapéutico(s) puede efectuarse mediante un compuesto de fórmula (I) que está en la misma forma de dosis unitaria que el/los otro(s) agente(s) terapéutico(s), o el compuesto de fórmula (I) y el/los otro(s) agente(s) terapéutico(s) pueden estar presentes en formas de dosificación unitarias individuales y diferenciadas que se administran secuencialmente, al mismo tiempo, o en un momento similar. La administración secuencial puede ser en cualquier orden según se requiera, y puede requerir que un efecto fisiológico en curso del primer agente o agente inicial esté vigente cuando el segundo agente o agente posterior se administra, especialmente cuando se desea un efecto acumulativo o sinérgico. Cuando se administran por separado, puede preferirse que el compuesto de fórmula (I) y el otro agente se administren mediante la misma vía de administración, aunque no es necesario que esto sea así.

Según diversas realizaciones de la presente invención, pueden incluirse uno o más compuestos de fórmula (I) en terapia de combinación con cirugía y/o radioterapia y/o uno o más agentes quimioterápicos.

Hay grandes números de agentes quimioterápicos que están actualmente en uso, en evaluación clínica y en desarrollo preclínico, que podrían seleccionarse para el tratamiento de cánceres en combinación con compuestos de fórmula (I). Tales agentes se encuentran en varias categorías principales, concretamente, agentes de tipo antibiótico, agentes alquilantes, agentes antimetabolitos, agentes hormonales, agentes inmunológicos, agentes de tipo interferón y una categoría de agentes variados. Alternativamente, pueden usarse otros agentes quimioterápicos, tales como inhibidores de metaloproteasas de la matriz (MMP). Los agentes adecuados que pueden usarse en terapias de combinación incluyen los enumerados, por ejemplo, en el Merck Index, An Encyclopaedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, 12^a ed., 1996.

Cuando se usan en el tratamiento de tumores sólidos, los compuestos de fórmula (I) pueden administrarse con uno o más de los siguientes agentes quimioterápicos: adriamicina, taxol, docetaxel, fluorouracilo, melfalán, cisplatino, interferón alfa, COMP (ciclofosfamida, vincristina, metotrexato y prednisona), etopósido, mBACOD (metotrexato, bleomicina, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina y dexametasona), PROMACE/MOPP (prednisona, metotrexato (con rescate de leucovina), doxorubicina, ciclofosfamida, taxol, etopósido/mecloretamina, vincristina, prednisona y procarbazona), vincristina, vinblastina, angioinhibinas, TNP 470, polisulfato de pentosano, factor plaquetario 4, angiostatina, LM 609, SU 101, CM 101, Techgalan, talidomida, SP-PG y similares.

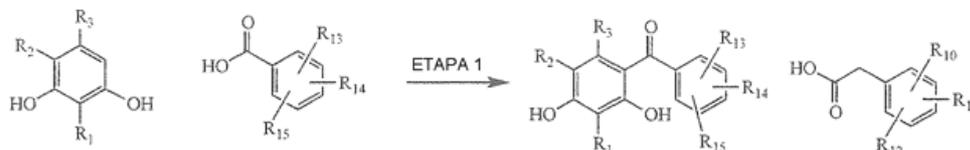
La presente invención se describe además a continuación mediante referencia a los siguientes ejemplos no limitativos. En los ejemplos, los compuestos según fórmula (I), que se encuentran dentro del alcance de las reivindicaciones, son los compuestos 2, 3, 6, 9, 11, 13 y 15 a 41.

65 Ejemplos

Ejemplos

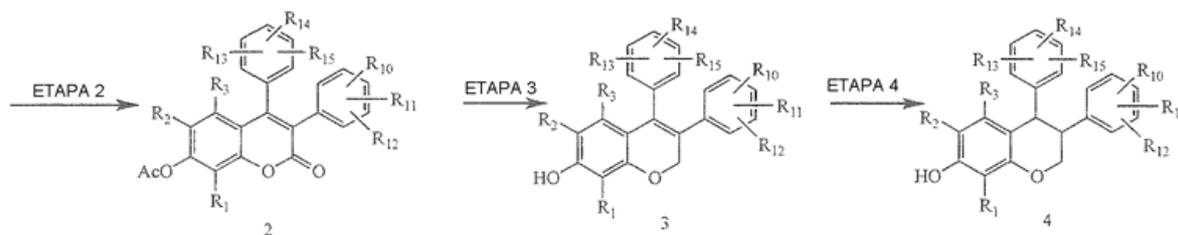
Ejemplo 1 - Síntesis de compuestos de fórmula (I)

Se prepararon compuestos representativos de fórmula (I) tal como sigue.



- 1a R₁ = Me, R₂, R₃=H, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₄ = OH
- 1b R₁, R₂, R₃, R₁₅ = H, R₁₃ = F, R₁₄ = OH
- 1c R₁ = Me, R₂, R₃, R₁₅=H, R₁₃ = F, R₁₄ = OH
- 1d R₁, R₂, R₃, R₁₃, R₁₅ = Me, R₁₄ = OMe
- 1e R₁ = Me, R₂, R₃=H, R₁₃, R₁₅ = F, R₁₄ = OH
- 1f R₁ = iPr, R₂, R₃, R₁₅=H, R₁₃ = F, R₁₄ = OH
- 1g R₁, R₂, R₃, R₁₅ = H, R₂ = Et, R₁₃ = F, R₁₄ = OH
- 1h R₁ = Me, R₂, R₃, R₁₅ = H, R₁₃, R₁₄ = -OCH₂O-
- 1i R₁ = Me, R₂, R₃=H, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₄ = NH₂

- 1j R₁ = Me, R₂, R₃=H, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₄ = NHAc
- 1k R₁ = Me, R₂ = Et, R₃, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₄ = OH
- 1l R₁ = Et, R₂, R₃, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₄ = OH
- 1m R₂ = Me, R₁, R₃, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₄ = OH
- 1n R₃, R₁₅ = F, R₁, R₂, R₁₃ = H, R₁₄ = OH
- 1o R₂ = Cl, R₁, R₃, R₁₅ = H, R₁₃ = F, R₁₄ = OH
- 1p R₁ = Me, R₂, R₃, R₁₅ = H, R₁₃ = Cl, R₁₄ = OH
- 1q R₁ = Me, R₂ = Et, R₃, R₁₅ = H, R₁₃ = F, R₁₄ = OH
- 1r R₁ = Me, R₂ = Et, R₃, R₁₅ = H, R₁₃ = Me, R₁₄ = OH
- 1s R₁ = Me, R₂ = Et, R₃, R₁₅ = H, R₁₃ = Me, R₁₄ = OH
- 1t R₁ = Me, R₂ = Et, R₃, R₁₅ = H, R₁₃ = F, R₁₄ = OH



- a R₁ = Me, R₁₀, R₁₁, R₁₂ = OMe, R₂, R₃, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₄ = OH
- b R₁ = Me, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH, R₂, R₃, R₁₃, R₁₅ = H
- c R₁ = Me, R₁₀, R₁₂ = t-Bu, R₁₁, R₁₄ = OH, R₂, R₃, R₁₃, R₁₅ = H
- d R₁ = Me, R₁₀, R₁₁, R₁₂ = F, R₂, R₃, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₄ = OH
- e R₁, R₂, R₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃ = F, R₁₄ = OH
- f R₁, R₂, R₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH, R₁₃ = F
- g R₁, R₂, R₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₁, R₁₂ = OMe, R₁₃ = F, R₁₄ = OH
- h R₁ = Me, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃ = F, R₁₄ = OH, R₂, R₃, R₁₅ = H
- i R₁ = Me, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH, R₁₃ = F, R₂, R₃, R₁₅ = H
- j R₁ = Me, R₁₀, R₁₁, R₁₂ = OMe, R₁₃ = F, R₁₄ = OH, R₂, R₃, R₁₅ = H
- k R₁, R₁₃, R₁₅ = Me, R₁₀, R₁₂, R₁₄ = OMe, R₂, R₃, R₁₁ = OH
- l R₁, R₁₃, R₁₅ = Me, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₄ = OMe, R₂, R₃ = H
- m R₁ = Me, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH, R₁₃, R₁₅ = F, R₂, R₃ = H
- n R₁ = Me, R₁₀, R₁₁, R₁₂ = OMe, R₁₃, R₁₅ = F, R₁₄ = OH, R₂, R₃ = H

- o R₁ = iPr, R₂, R₃, R₁₅=H, R₁₃ = F, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH
- p R₁, R₂, R₃, R₁₅ = H, R₂ = Et, R₁₃ = F, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH
- q R₁ = Me, R₂, R₃, R₁₅=H, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁ = OH, R₁₃, R₁₄ = -OCH₂O-
- r R₁ = Me, R₂, R₃=H, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁ = OH, R₁₄ = NH₂
- s R₁ = Me, R₂, R₃=H, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁ = OH, R₁₄ = NH₂
- t R₁ = Me, R₂ = Et, R₃, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH
- u R₁ = Et, R₂, R₃, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH
- v R₂ = Me, R₁, R₃, R₁₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH
- w R₂, R₁₃ = F, R₁, R₂, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH
- x R₂ = Cl, R₁, R₃, R₁₅ = H, R₁₃ = F, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH
- y R₁ = Me, R₂, R₃, R₁₅ = H, R₁₃ = Cl, R₁₀, R₁₂ = OMe, R₁₁, R₁₄ = OH
- z R₁ = Me, R₂=Et, R₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₃ = OMe, R₁₃ = F, R₁₁, R₁₄ = OH
- aa R₁ = Me, R₂=Et, R₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₃ = OMe, R₁₃ = Me, R₁₁, R₁₄ = OH
- bb R₁ = Me, R₂=Et, R₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₃ = Me, R₁₃ = F, R₁₁, R₁₄ = OH
- cc R₁ = Me, R₂=Et, R₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₃ = OMe, R₁₃ = Me, R₁₁, R₁₄ = OH
- dd R₁ = Me, R₂=Et, R₃, R₁₅ = H, R₁₀, R₁₃ = Me, R₁₃ = F, R₁₁, R₁₄ = OH

5

Etapa 1. ZnCl₂, POCl₃, 70°C, 2 h; Etapa 2. DiPEA, Ac₂O, 135°C, 18 h. Etapa 3. THF, BH₃·Me₂S en THF, 35°C, 18 h; Etapa 4. H₂, Pd/C, EtOH, 3 bar, 40°C, 18 h.

10 Etapa 1. (2,4-Dihidroxi-3-metilfenil)(4-hidroxifenil)metanona (1-1a)

Se añadieron 2-metilresorcinol (50 g, 1 eq.), ácido 4-hidroxibenzoico (55,5 g, 1 eq.), cloruro de zinc (120 g, 2,2 eq.) y POCl₃ (550 ml) a un matraz bajo N₂ y con agitación. Se calentó la mezcla hasta 70°C durante 2 h, se enfrió hasta t.a. y se vertió sobre hielo/agua (4 l) manteniendo la temperatura a <30°C. Se filtró el sólido, lavando con agua (3 x 500 ml). Entonces se recristalizó el sólido húmedo en IMS (250 ml) y se secó para proporcionar el producto como un sólido naranja, 85 g (87%). ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12,91 (s, 1H), 10,59 (s, 1H), 10,30 (s, 1H), 7,28 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 7,18 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,46 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 6,24 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 2,02 (s, 3H).

Otros análogos preparados mediante este método:

20

(2,4-Dihidroxifenil)(3-fluoro-4-hidroxifenil)metanona (1-1b) (47%). ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11,90 (sa, 1H), 7,51-7,32 (m, 3H), 7,09 (t, J = 8,5 Hz, 1H), 6,45-6,33 (m, 2H).

25

(2,4-Dihidroxi-3-metilfenil)(3-fluoro-4-hidroxifenil)metanona (1-1c) (41%). ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,72 (s, 1H), 10,76 (s, 1H), 10,65 (s, 1H), 7,43 (dd, J = 1,96, 11,74 Hz, 1H), 7,33 (d, J = 9,00 Hz, 2H), 7,06 (t, J = 8,41 Hz, 1H), 6,45 (d, J = 9,00 Hz, 1H), 1,99 (s, 3H).

- (2,4-Dihidroxi-3-metilfenil)(4-metoksi-3,5-dimetilfenil)metanona (1-1d) (63%). ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12,89 (s, 1H), 10,67 (s, 1H), 10,15 (s, 1H), 7,38-7,15 (m, 3H), 6,52-6,43 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 2,28 (s, 6H).
- 5 (3,5-Difluoro-4-hidroxifenil)(2,4-dihidroxi-3-metilfenil)metanona (1-1e) (43%). ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12,61 (s, 1H), 10,84 (sa, 1H), 9,70 (sa, 1H), 7,23-7,10 (m, 2H), 6,98-6,85 (m, 1H), 2,20 (s, 3H).
- (2,4-Dihidroxi-3-i-propilfenil)(3-fluoro-4-hidroxifenil)metanona (1-1f) (18%). ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12,88 (sa, 1H), 7,62 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,31 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,12 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 6,47 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 1,95 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 1,2 (t, *J* = 9,1 Hz, 3H).
- 10 (2,4-Dihidroxi-5-etilfenil)(3-fluoro-4-hidroxifenil)metanona (1-1g) (77%) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7,41 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 7,32 (d, *J* = 1,4 Hz, 1H), 7,22 (dd, *J* = 1,2, 8,2 Hz), 7,08 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 7,00 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 2,51 (q, *J* = 9,1 Hz, 2H), 1,22 (t, *J* = 9,2 Hz, 3H).
- 15 (2,4-Dihidroxi-3-metilfenil)(3,4-metilendioxifenil)metanona (1-1h) (22%) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12,65 (s a, 1H), 9,87 (s a, 1H), 7,38 (d, *J* = 8,2Hz, 1H), 7,25 (m, 2H), 7,05 (d, *J* = 8,3Hz, 1H), 6,43 (d, *J* = 8,2Hz, 1H), 6,06 (s, 2H), 2,02 (s, 3H).
- 20 (2,4-Dihidroxi-3-metilfenil)(4-nitrofenil)metanona (1-1i) (38%) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12,96 (s a, 1H), 8,33 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 7,97 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,09 (d, *J* = 8,12 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 2,05 (s, 3H).
- (2,4-Dihidroxi-3-metilfenil)(4-acetamidafenil)metanona (1-1j) (38%) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 13,21 (s a, 1H), 9,66 (s a, 1H), 7,88 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,44 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,56 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,50 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,10 (s, 1H), 2,09 (s, 3H), 2,02 (s, 3H).
- 25 (2,4-Dihidroxi-5-etil-3-metilfenil)(4-hidroxifenil)metanona (1-1k) (42%) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 13,55 (s, 1H), 11,20 (a, 1H), 10,90 (a, 1H), 7,44 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,11 (s, 1H), 6,99 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 3,45 (q, *J* = 7,9 Hz, 2H), 2,2 (s, 3H), 1,34 (t, *J* = 8,0 Hz, 3H).
- 30 (2,4-Dihidroxi-3-etilfenil)(4-hidroxifenil)metanona (1-1l) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12,2 (s, 1H), 7,43 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,11 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,55 (d, *J* = 8,4Hz, 2H), 2,65 (m, 2H), 1,04 (t, *J* = 7,8 Hz, 3H).
- 35 (2,4-Dihidroxi-5-metilfenil)(4-hidroxifenil)metanona (1-1m) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11,90 (s, 1H), 10,90-95 (a, 2H), 7,40 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,33 (s, 1H), 7,11 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,33 (s, 1H), 2,05 (s, 3H).
- (2,4-Dihidroxi-5-fluorofenil)(3-fluoro-4-hidroxifenil)metanona (1-1n) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7,99 (m, 1H), 7,55-7,35 (m, 3H), 7,05 (m, 1H), 6,55 (s, 1H).
- 40 (5-Cloro-2,4-dihidroxifenil)(3-fluoro-4-hidroxifenil)metanona (1-1o) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 11,11 (s, 1H), 7,89 (m, 1H), 7,55-45 (m, 2H), 7,11 (s, 1H), 6,5 (s, 1H).
- (2,4-Dihidroxi-3-metilfenil)(3-cloro-4-hidroxifenil)metanona (1-1p) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12,91 (s, 1H), 11,11 (a, 1H), 10,65 (a, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,36 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,11 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,23 (d, *J* = 8,2Hz, 1H) 2,05 (s, 3H).
- 45 (2,4-Dihidroxi-5-etil-3-metilfenil)(3-fluoro-4-hidroxifenil)metanona (1-1q) (42%) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 13,55 (s, 1H), 11,20 (a, 1H), 10,90 (a, 1H), 7,55-7,45 (m, 2H), 7,11 (sa, 1H), 7,01 (s, 1H), 3,45 (q, *J* = 7,9 Hz, 2H), 2,2 (s, 3H), 1,34 (t, *J* = 8,0 Hz, 3H).
- 50 (2,4-Dihidroxi-5-etil-3-metilfenil)(3-metil-4-hidroxifenil)metanona (1-1r) (41%) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 9,55 (s, 1H), 8,20 (a, 1H), 7,90 (a, 1H), 6,65 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,60 (dd, *J* = 7,1, 2,1 Hz, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,35 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 3,15 (q, *J* = 7,9 Hz, 2H), 2,2 (s, 3H), 1,14 (t, *J* = 8,0 Hz, 3H).
- 55 (2,4-Dihidroxi-5-etil-3-metilfenil)(2-metil-4-hidroxifenil)metanona (1-1s) (32%) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 9,59 (s, 1H), 8,60 (a, 1H), 7,95 (a, 1H), 6,68 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,56 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,35 (dd, *J* = 6,9, 2,1 Hz, 1H), 3,25 (q, *J* = 7,8 Hz, 2H), 2,2 (s, 3H), 1,24 (t, *J* = 8,0 Hz, 3H).
- 60 (2,4-Dihidroxi-5-etil-3-metilfenil)(2-fluoro-4-hidroxifenil)metanona (1-1t) (38%) ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 10,9 (s, 1H), 9,16 (a, 1H), 7,95 (a, 1H), 6,78 (dd *J* = 6,9, 6,2 Hz, 1H), 6,62 (da, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,56 (s, 1H), 6,45 (da, *J* = 6,9 Hz, 1H), 3,28 (q, *J* = 7,8 Hz, 2H), 2,2 (s, 3H), 1,14 (t, *J* = 8,0 Hz, 3H).

Etapa 2. Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxifenil)-8-metil-2-oxo-2H-cromen-7-ilo (1-2a)

Se añadieron (2,4-dihidroxi-3-metilfenil)(4-hidroxifenil)metanona (36,8 g, 1 eq.) y ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxifenilacético (32 g, 1 eq.), a anhídrido acético (110 ml), con agitación se añadió entonces la diisopropiletamina (64,4 g, 4,5 eq.) a lo largo de 5 minutos. Se calentó la reacción hasta 130-140°C durante 18 h, luego se enfrió hasta temperatura ambiente y se vertió sobre agua (750 ml). Se extrajo la fase acuosa con DCM (2 x 750 ml), se lavó con agua (500 ml), salmuera (300 ml), se secó sobre MgSO₄, luego se redujo para proporcionar un sólido pegajoso de color marrón oscuro. Se trató el material en bruto con EtOAc (200 ml), se agitó, se calentó hasta reflujo y se enfrió, se retiró por filtración el sólido, se lavó con EtOAc (50 ml) enfriado con hielo para dar un sólido de color amarillo pálido (66 g). Se trató el sólido 2 x EtOAc (100 ml) agitando a t.a. durante 30 min, se filtró para dar un sólido blanco (62 g, 76%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,18-7,07 (m, 5H), 6,93 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,37 (s, 2H), 3,62 (s, 6H), 2,38 (s, 3H), 2,36 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,28 (s, 3H).

Otros análogos preparados por medio de este método:

Acetato de 4-(7-acetoxi-8-metil-2-oxo-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2*H*-cromen-4-il)fenilo (1-2b) (61%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,17-7,06 (m, 5H), 6,91 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,34 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,65 (s, 6H), 2,38 (s, 3H), 2,36 (s, 3H), 2,30 (s, 3H).

Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-di-*tert*-butilfenil)-4-(4-acetoxifenil)-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2c) (21%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,20-7,00 (m, 7H), 6,94-6,86 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 1,44 (s, 9H), 1,09 (s, 9H).

Acetato de 4-(7-acetoxi-8-metil-2-oxo-3-(3,4,5-trifluorofenil)-2*H*-cromen-4-il)fenilo (1-2d) (20%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,18-7,08 (m, 5H), 7,01 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,80-6,71 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,36 (s, 3H), 2,33 (s, 3H).

Acetato de 4-(7-acetoxi-2-oxo-3-(3,4,5-trifluorofenil)-2*H*-cromen-4-il)-2-fluorofenilo (1-2e) (76%). ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,57-7,29 (m, 4H), 7,21-7,10 (m, 4H), 2,31 (s, 6H).

Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxi-3-fluorofenil)-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2f) (68%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,31-7,20 (m, 2H), 7,17-7,10 (m, 1H), 7,07-6,98 (m, 2H), 6,94-6,88 (m, 1H), 6,38 (s, 2H), 3,64 (s, 6H), 2,36 (s, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,29 (s, 3H).

Acetato de 4-(7-acetoxi-2-oxo-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2*H*-cromen-4-il)-2-fluorofenilo (1-2g) (50%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,32-7,22 (m, 2H), 7,18-7,05 (m, 1H), 7,08-6,90 (m, 3H), 6,33 (s, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,69 (s, 6H), 2,38 (s, 6H).

Acetato de 4-(4-acetoxi-3-fluorofenil)-8-metil-2-oxo-3-(3,4,5-trifluorofenil)-2*H*-cromen-7-ilo (1-2h) (49%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,37-7,05 (m, 4H), 7,03-6,88 (m, 2H), 6,81-6,70 (m, 1H), 6,38 (s, 1H), 2,36 (sa, 9H).

Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxi-3-fluorofenil)-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2i) (46%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,18-6,87 (m, 5H), 6,39 (s, 2H), 3,66 (s, 6H), 2,38 (s, 3H), 2,36 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,29 (s, 3H).

Acetato de 4-(4-acetoxi-3-fluorofenil)-8-metil-2-oxo-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ilo (1-2j) (49%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,16-6,89 (m, 5H), 6,34 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,68 (s, 6H), 2,38 (s, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,31 (s, 3H).

Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-metoxi-3,5-dimetilfenil)-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2k) (30%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,20 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,77 (s, 2H), 6,42 (s, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,61 (s, 6H), 2,38 (s, 3H), 2,36 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,20 (s, 6H).

Acetato de 4-(4-metoxi-3,5-dimetilfenil)-8-metil-2-oxo-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ilo (1-2l) (34%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,15 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,76 (s, 2H), 6,38 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 3,66 (s, 6H), 2,39 (s, 3H), 2,37 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,20 (s, 6H).

Acetato de 4-(4-acetoxi-3,5-difluorofenil)-3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2m) (30%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,03-6,90 (m, 3H), 6,84-6,76 (m, 1H), 6,47 (s, 2H), 3,73 (s, 6H), 2,39 (s, 3H), 2,37 (s, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,28 (s, 3H).

Acetato de 4-(4-acetoxi-3,5-difluorofenil)-8-metil-2-oxo-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ilo (1-2n) (22%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,03-6,77 (m, 4H), 6,40 (s, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,71 (s, 6H), 2,38 (s, 3H), 2,36 (s, 3H), 2,34 (s, 3H).

Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(3-fluoro-4-acetoxifenil)-8-propil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2o) (34%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,18 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,15-09 (m, 2H), 6,87 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 6,82 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,36 (s, 2H), 3,73 (s, 6H), 2,75 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,13 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 1,65 (m, 1H), 1,06 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H).

- 5 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(3-fluoro-4-acetoxifenil)-6-etil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2p) (34%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,18 (s, 1H), 7,16 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,04 (dd, *J* = 8,2, 1,5 Hz, 1H), 6,95 (dd, *J* = 8,3, 2,5 Hz, 1H), 6,35 (s, 2H), 3,56 (s, 6H), 2,56 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,12 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 1,04 (t, *J* = 7,7 Hz, 3H).
- 10 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(3,4-metilendioxfenil)-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2q) (75%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,20 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,96 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,75 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,56 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,51 (s, 1H), 6,34 (s, 2H), 5,96 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 3,58 (s, 6H), 2,25 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,65 (s, 3H).
- 15 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2r) (25%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,25 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,96 (m, 2H), 6,34 (s, 2H), 3,67 (s, 6H), 2,25 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 1,89 (s, 3H).
- 20 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-etilaminofenil)-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2s) (45%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,51 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,17 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 6,87 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,43 (s, 2H), 3,61 (s, 6H), 2,42 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 1,96 (s, 3H).
- 25 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxifenil)-8-etil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2t) (25%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,18 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 6,96 (s, 1H), 6,87 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,35 (s, 2H), 3,61 (s, 6H), 2,32 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,05 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- 30 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxifenil)-8-etil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2u) (45%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,21 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,10 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,97 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,91 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,41 (s, 2H), 3,61 (s, 6H), 2,81 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 1,25 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).
- 35 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxifenil)-6-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2v) (55%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,21 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,18 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,07 (m, 1H), 6,88 (m, 1H), 6,34 (s, 2H), 3,61 (s, 6H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 1,96 (s, 3H).
- 40 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxi-3-fluorofenil)-5-fluoro-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2w) (15%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,07-7,02 (m, 2H), 6,96-86 (m, 1H), 6,58 (s, 1H), 6,50 (s, 1H), 6,36 (s, 2H), 3,61 (s, 6H), 2,23 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,18 (s, 3H).
- 45 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxifenil)-6-cloro-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2x) (45%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,21 (m, 2H), 7,18 (dd, *J* = 1,4, 1,2 Hz, 1H), 7,02 (dd, *J* = 1,2, 8,1 Hz, 1H), 6,96 (dd, *J* = 1,3, 8,6 Hz, 1H), 6,41 (s, 2H), 3,61 (s, 6H), 2,45 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,21 (s, 3H).
- 50 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxi-3-clorofenil)-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2y) (55%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,31 (s, 1H), 7,10 (m, 2H), 7,05-7,01 (m, 2H), 6,45 (s, 2H), 3,66 (s, 6H), 2,35 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,18 (s, 3H).
- 55 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxi-3-fluorofenil)-6-etil-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2z) (35%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,07-7,02 (m, 2H), 6,96-88 (m, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,35 (s, 2H), 3,61 (s, 6H), 2,32 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,05 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- 60 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxi-3-metilfenil)-6-etil-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2aa) (38%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,68 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,65 (dd, *J* = 7,1, 2,1 Hz, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,35 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 5,98 (s, 2H), 3,61 (s, 6H), 2,38 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,26 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,05 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- 65 Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetilfenil)-4-(4-acetoxi-3-metilfenil)-6-etil-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2bb) (38%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,68 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,65 (dd, *J* = 7,1, 2,1 Hz, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,35 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,23 (s, 2H), 2,31 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,23 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,11 (s, 6H), 1,98 (s, 3H), 1,15 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxi-2-metilfenil)-6-etil-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2cc) (36%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,68 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,46 (d, *J* = 7 Hz, 1H), 6,30 (dd, *J* = 6,9, 2,1 Hz, 1H), 5,92 (s, 2H), 3,65 (s, 6H), 2,33 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,2 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,15 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetilfenil)-4-(4-acetoxi-2-fluorofenil)-6-etil-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-2dd) (38%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,88 (dd, *J* = 6,9, 6,5 Hz, 1H), 6,66 (da, *J* = 7,0 Hz, 1H), 6,56 (s, 1H), 6,45 (da, *J* = 6,5 Hz, 1H), 2,31 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,12 (s, 6H), 1,95 (s, 3H), 1,17 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

Etapa 3. 3-(4-Hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metil-2H-cromen-7-ol (1-3a)

- Se añadieron acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-acetoxifenil)-8-metil-2-oxo-2H-cromen-7-ilo (24 g, 1 eq.) y THF (1500 ml) a un matraz bajo N₂ y se enfrió hasta 5°C. Se añadió complejo borano-sulfuro de dimetilo 2 M en THF (400 ml, 18 eq.) a lo largo de 10 min. Se agitó la disolución durante 2 horas a esta temperatura, luego se calentó hasta 40°C durante la noche. Se vertió la mezcla sobre HCl 2 M (2000 ml) a < 15°C, luego se extrajo con EtOAc (2 x 1000 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua (2 x 1000 ml), salmuera, se secaron (MgSO₄), luego se redujo hasta sequedad proporcionando el producto en bruto (1-3a) como un sólido amarillo pegajoso. Se purificó el material mediante cromatografía en columna eluyendo con de heptano a heptano/EtOAc 3:2. Se redujeron las fracciones de producto para proporcionar el compuesto del título (9,5 g, 53%) como un sólido naranja. ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,39 (sa, 2H), 7,14 (s, 1H), 6,98 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,54 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,40 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,35 (s, 2H), 5,07 (s, 2H), 3,61 (s, 6H), 2,12 (s, 3H).
- Otros análogos preparados mediante este método:
- 4-(4-Hidroxifenil)-8-metil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2H-cromen-7-ol (1-3b) (47%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,38 (sa, 2H), 6,98 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,81 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,53 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,43-6,35 (m, 3H), 5,08 (s, 2H), 3,66 (s, 3H), 3,61 (s, 6H), 2,22 (s, 3H).
- 3-(3,5-Di-*terc*-butil-4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metil-2H-cromen-7-ol (1-3c) (36%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,36-8,29 (m, 2H), 7,50-7,42 (m, 1H), 6,94-6,77 (m, 5H), 6,52 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,39 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,97 (s, 1H), 5,09 (s, 2H), 2,13 (s, 3H), 1,51 (s, 9H), 1,30 (s, 9H).
- 4-(4-Hidroxifenil)-8-metil-3-(3,4,5-trifluorofenil)-2H-cromen-7-ol (1-3d) (41%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,52 (sa, 1H), 8,50 (sa, 1H), 6,98 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 6,90-6,80 (m, 4H), 6,54 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,47 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 2,12 (s, 3H).
- 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(3,4,5-trifluorofenil)-2H-cromen-7-ol (1-3e) (34%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,80 (sa, 1H), 8,66 (sa, 1H), 7,05-6,77 (m, 5H), 6,74-6,66 (m, 1H), 6,45-6,34 (m, 2H), 5,03 (s, 2H).
- 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-2H-cromen-7-ol (1-3f) (44 %). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,72 (sa, 1H), 8,57 (sa, 1H), 7,20 (sa, 1H), 7,06-6,96 (m, 1H), 6,91-6,80 (m, 2H), 6,81-6,75 (m, 1H), 6,45-6,37 (m, 4H), 5,08 (s, 2H), 3,63 (s, 6H).
- 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2H-cromen-7-ol (1-3g) (48%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,74 (sa, 1H), 8,59 (sa, 1H), 7,04-6,80 (m, 3H), 6,84-6,82 (m, 1H), 6,48-6,37 (m, 4H), 5,08 (s, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,62 (s, 6H).
- 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-8-metil-3-(3,4,5-trifluorofenil)-2H-cromen-7-ol (1-3h) (48%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,80 (sa, 1H), 8,57 (sa, 1H), 7,04-6,75 (m, 5H), 6,54 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,43 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,06 (s, 2H), 2,12 (s, 3H).
- 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-8-metil-2H-cromen-7-ol (1-3i) (53%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,66 (sa, 1H), 8,37 (sa, 1H), 7,19 (sa, 1H), 7,06-6,76 (m, 3H), 6,53 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,45-6,35 (m, 3H), 5,07 (s, 2H), 3,63 (s, 6H), 2,17 (s, 3H).
- 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-8-metil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2H-cromen-7-ol (1-3j) (49%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,68 (sa, 1H), 8,49 (sa, 1H), 7,04-6,77 (m, 3H), 6,53 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,48-6,36 (m, 3H), 5,07 (s, 2H), 3,68 (s, 3H), 3,65 (s, 6H), 2,13 (s, 3H).
- 3-(4-Hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-metoxi-3,5-dimetilfenil)-8-metil-2H-cromen-7-ol (1-3k) (22%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,37 (sa, 1H), 7,21 (sa, 1H), 6,32 (s, 2H), 6,49-6,34 (m, 4H), 5,08 (s, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,60 (s, 6H), 2,22 (s, 6H), 2,13 (s, 3H).
- 4-(4-Metoxi-3,5-dimetilfenil)-8-metil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2H-cromen-7-ol (1-3l) (15%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,41 (sa, 1H), 6,81 (s, 2H), 6,49-6,36 (m, 4H), 5,08 (s, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,66 (s, 3H), 3,61 (s, 6H), 2,22 (s, 6H), 2,12 (s, 3H).
- 4-(3,5-Difluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-8-metil-2H-cromen-7-ol (1-3m) (47%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,86-6,74 (m, 2H), 6,47-6,36 (m, 4H), 5,10 (s, 2H), 3,66 (s, 6H), 2,13 (s, 3H).
- 4-(3,5-Difluoro-4-hidroxifenil)-8-metil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2H-cromen-7-ol (1-3n) (55%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,86-6,75 (m, 2H), 6,49-6,37 (m, 4H), 5,12 (s, 2H), 3,66 (s, 9H), 2,14 (s, 3H).

ES 2 643 407 T3

- 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-8-propil-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ol (1-3o) (36%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,72 (s, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,05 (s, 1H), 7,01 (m, 1H), 6,95-78 (m, 2H), 6,48 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 6,45 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 6,41 (s, 2H), 5,02 (s, 2H), 3,71 (s, 6H), 2,65 (m, 1H), 1,65 (m, 1H), 1,06 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).
- 5 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-6-etil-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ol (1-3p) (54%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,54 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,05 (m, 1H), 6,78 (m, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,34 (s, 2H), 5,04 (s, 2H), 3,65 (s, 6H), 2,45 (m, 2H), 1,06 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).
- 10 3-(4-Hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(3,4-metilendioxfenil)-8-metil-2*H*-cromen-7-ol (1-3q) (54%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,23 (s, 1H), 7,31 (s, 1H), 6,82 (d, *J* = 8,01 Hz, 1H), 6,66 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,61 (s, 1H), 6,50 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,42 (s, 2H), 6,40 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,04 (s, 2H), 5,11 (s, 2H), 3,57 (s, 6H), 1,78 (s, 3H).
- 15 3-(4-Hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-8-metil-2*H*-cromen-7-ol (1-3r) (24%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,23 (s, 1H), 8,23 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,25 (s, 1H), 6,38 (s, 2H), 6,32 (s, 2H), 5,04 (s, 2H), 3,56 (s, 6H), 2,01 (s, 3H).
- 20 3-(4-Hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-etilaminofenil)-8-metil-2*H*-cromen-7-ol (1-3s) (21 %). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,23 (s, 1H), 7,22 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,97 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 6,66 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,34 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,34 (s, 2H), 5,04 (s, 2H), 3,45 (s, 6H), 3,05 (m, 2H), 1,06 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H).
- 25 4-(4-Hidroxifenil)-6-etil-8-metil-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ol (1-3t) (31%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,67 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,05 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,98 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,45 (s, 2H), 5,08 (s, 2H), 3,56 (s, 6H), 2,55 (m, 2H), 2,05 (s, 3H), 1,07 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- 30 4-(4-Hidroxifenil)-8-etil-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ol (1-3u) (61%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,34 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,01 (m, 2H), 6,76 (m, 2H), 6,56 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,50 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,45 (s, 2H), 5,10 (s, 2H), 3,47 (s, 6H), 2,65 (m, 2H), 1,06 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H).
- 35 4-(4-Hidroxifenil)-6-metil-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ol (1-3v) (68%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,88 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,33 (d, *J* = 3 Hz, 1H), 7,05 (m, 2H), 6,78 (m, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,34 (s, 2H), 5,11 (s, 2H), 3,56 (s, 6H), 2,07 (s, 3H).
- 40 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-5-fluoro-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ol (1-3w) (21%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,12 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 6,88-76 (m, 3H), 6,50 (s, 1H), 6,45 (s, 2H), 6,05 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 4,89 (s, 2H), 3,56 (s, 6H).
- 45 6-Cloro-4-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-trimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ol (1-3x) (21%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 7,32 (m, 1H), 7,16-09 (m, 2H), 6,94 (s, 1H), 6,59 (s, 1H), 6,39 (s, 2H), 5,10 (s, 2H), 3,65 (s, 6H).
- 50 4-(3-Cloro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-8-metil-2*H*-cromen-7-ol (1-3y) (41%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 7,11 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 6,96 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,88 (dd, *J* = 1,2, 8,2 Hz, 1H), 6,55 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,45 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,42 (s, 2H), 5,11 (s, 2H), 3,65 (s, 6H), 2,05 (s, 3H).
- 55 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-6-etil-8-metil-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ol (1-3z) (41%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,77 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,15 (m, 2H), 6,98 (sa, 1H), 6,65 (s, 1H), 6,45 (s, 2H), 5,08 (s, 2H), 3,56 (s, 6H), 2,55 (m, 2H), 2,05 (s, 3H), 1,07 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- 60 4-(3-Metil-4-hidroxifenil)-6-etil-8-metil-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ol (1-3aa) (38%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,22 (a, 2H), 7,66 (s, 1H), 6,62 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,55 (dd, *J* = 7,1, 2,3 Hz, 1H), 6,41 (s, 1H), 6,38 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 5,95 (s, 2H), 3,51 (s, 6H), 2,32 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,21 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 1,92 (s, 3H), 1,05 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- 65 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-6-etil-8-metil-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ol (1-3bb) (38%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,68 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,65 (dd, *J* = 7,1, 2,1 Hz, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,35 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,23 (s, 2H), 2,31 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,23 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,11 (s, 6H), 1,98 (s, 3H), 1,15 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetilfenil)-4-(4-acetoxi-3-metilfenil)-6-etil-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-3cc) (36%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,68 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,46 (d, *J* = 7 Hz, 1H), 6,30 (dd, *J* = 6,9, 2,1 Hz, 1H), 5,92 (s, 2H), 3,65 (s, 6H), 2,33 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,2 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,15 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- Acetato de 3-(4-acetoxi-3,5-dimetilfenil)-4-(4-acetoxi-2-fluorofenil)-6-etil-8-metil-2-oxo-2*H*-cromen-7-ilo (1-3dd) (38%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 9,08 (a, 1H), 8,65 (s, 1H), 8,22 (a, 1H), 6,81 (dd, *J* = 6,6, 6,3 Hz, 1H), 6,62 (da, *J* = 7,0 Hz, 1H), 6,46 (s, 1H), 6,35 (da, *J* = 6,5 Hz, 1H), 2,31 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,12

(s, 6H), 1,95 (s, 3H), 1,17 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

Etapa 4. 3-(4-Hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol (compuesto 2) (1-4a)

5 Se añadieron 3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metil-2*H*-croman-7-ol (4,8 g, 1 eq.), IMS (500 ml) y pasta de Pd/C al 10% tipo 338 (3,0 g) a un hidrogenador y se llenó con H₂ a 2,5 bar. Se dejó la reacción a 40°C durante la noche y mostró conversión completa. Se retiró el catalizador por filtración y se redujeron los filtrados hasta sequedad. Se combinaron tres lotes iguales y se secaron para proporcionar 12,6 g (88%) del compuesto 2 como un sólido blanquecino. ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,65-6,51 (m, 5H), 6,40 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 6,04 (s, 2H), 4,44-4,35 (m, 1H), 4,25-4,15 (m, 2H), 3,64 (s, 6H), 3,46-3,37 (m, 1H), 2,15 (s, 3H).

Otros compuestos de fórmula (I) preparados mediante este método:

15 4-(4-Hidroxifenil)-8-metil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)croman-7-ol (compuesto 1) (1-4b) (99%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,63-6,49 (m, 5H), 6,36 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 6,04 (s, 2H), 4,46-4,36 (m, 1H), 4,25-4,17 (m, 2H), 3,68 (s, 3H), 3,63 (s, 6H), 3,49-3,40 (m, 1H), 2,15 (s, 3H).

20 3-(3,5-Di-*terc*-butil-4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol (compuesto 3) (1-4c) (33%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,10 (sa 1H), 8,05 (sa, 1H), 7,28-7,20 (m, 1H), 6,63-6,52 (m, 3H), 6,43-6,36 (m, 2H), 6,04 (s, 2H), 4,47-4,35 (m, 1H), 4,24-4,09 (m, 2H), 3,64 (s, 6H), 3,78-3,66 (m, 1H), 2,15 (s, 3H), 1,45 (s, 9H), 1,32 (s, 9H).

25 4-(4-Hidroxifenil)-8-metil-3-(3,4,5-trifluorofenil)croman-7-ol (compuesto 4) (1-4d) (95%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,67-6,52 (m, 7H), 6,42 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 4,48-4,40 (m, 1H), 4,35-4,26 (m, 2H), 3,64-3,55 (m, 1H), 2,15 (s, 3H).

4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(3,4,5-trifluorofenil)croman-7-ol (compuesto 5) (1-4e) (50%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,84-6,65 (m, 4H), 6,49-6,30 (m, 4H), 4,48-4,18 (m, 3H), 3,67-3,56 (m, 1H).

30 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)croman-7-ol (compuesto 6) (1-4f) (39%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,80-6,74 (m, 2H), 6,44-6,32 (m, 4H), 6,08 (s, 2H), 4,41-4,33 (m, 1H), 4,24-4,12 (m, 2H), 3,66 (s, 6H), 3,52-3,38 (m, 1H).

35 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)croman-7-ol (compuesto 7) (1-4g) (22%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,80-6,72 (m, 2H), 6,48-6,33 (m, 4H), 6,11 (s, 2H), 4,44-4,35 (m, 1H), 4,25-4,14 (m, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,64 (s, 6H), 3,52-3,45 (m, 1H).

40 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-8-metil-3-(3,4,5-trifluorofenil)croman-7-ol (compuesto 8) (1-4h) (50%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,81-6,65 (m, 3H), 6,60 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 6,49-6,40 (m, 2H), 6,39-6,30 (m, 1H), 4,50-4,42 (m, 1H), 4,38-4,30 (m, 2H), 3,66-3,55 (m, 1H), 2,16 (s, 3H).

4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-8-metilcroman-7-ol (compuesto 9) (1-4i) (60%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,78-6,70 (m, 1H), 6,60 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,46-6,32 (m, 3H), 6,07 (s, 2H), 4,45-4,35 (m, 1H), 4,28-4,17 (m, 2H), 3,65 (s, 6H), 3,49-3,41 (m, 1H), 2,20 (s, 3H).

45 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-8-metil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)croman-7-ol (compuesto 10) (1-4j) (44%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,80-6,71 (m, 1H), 6,60 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,46-6,32 (m, 4H), 6,10 (s, 2H), 4,48-4,38 (m, 1H), 4,31-4,22 (m, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,65 (s, 6H), 3,53-3,41 (m, 1H), 2,17 (s, 3H).

50 3-(4-Hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-4-(4-metoxi-3,5-dimetilfenil)-8-metilcroman-7-ol (compuesto 11) (1-4k) (83%). ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 6,52 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,33 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,25 (s, 2H), 5,91 (s, 2H), 4,34-4,24 (m, 1H), 4,18-4,05 (m, 2H), 3,57 (s, 3H), 3,50 (s, 6H), 3,48-3,33 (m, 1H), 2,05 (s, 3H), 2,03 (s, 6H).

55 4-(4-Metoxi-3,5-dimetilfenil)-8-metil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)croman-7-ol (compuesto 12) (1-4l) (99%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,58 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,42 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,33 (s, 2H), 6,05 (s, 2H), 4,52-4,37 (m, 1H), 4,25-4,12 (m, 2H), 3,68 (s, 3H), 3,65 (s, 3H), 3,11 (s, 6H), 3,50-3,39 (m, 1H), 2,15 (s, 3H), 2,07 (s, 6H).

60 4-(2,3-Difluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-8-metilcroman-7-ol (compuesto 13) (1-4m) (60%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,73-6,68 (m, 1H), 6,64-6,57 (m, 1H), 6,55-6,49 (m, 1H), 6,42 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 6,08 (s, 2H), 4,59-4,55 (m, 1H), 4,46-4,36 (m, 1H), 4,25-4,21 (m, 1H), 3,63 (s, 6H), 3,53-3,47 (m, 1H), 2,14 (s, 3H).

65 4-(2,3-Difluoro-4-hidroxifenil)-8-metil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)croman-7-ol (compuesto 14) (1-4n) (66%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,74-6,68 (m, 1H), 6,60 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 6,55-6,47 (m, 1H), 6,44 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 6,13 (s, 2H), 4,61-4,57 (m, 1H), 4,48-4,36 (m, 1H), 4,29-4,22 (m, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,64 (s, 6H), 3,58-3,48 (m, 1H), 2,14 (s, 3H).

- 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-8-propilcroman-7-ol (compuesto 16) (1-4o) (80%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,76 (m, 1H), 6,65 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,45-33 (m, 3H), 6,05 (s, 2H), 4,44 (m, 1H), 4,27 (m, 1H), 3,56 (s, 6H), 3,45 (m, 1H), 2,65 (m, 2H), 1,67 (m, 2H), 1,07 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).
- 5 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-6-etilcroman-7-ol (compuesto 18) (1-4p) (80%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,76 (m, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,56-38 (m, 3H), 6,05 (s, 2H), 4,45 (m, 1H), 4,12 (m, 1H), 3,55 (s, 6H), 3,45 (m, 1H), 2,51 (m, 2H), 1,05 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).
- 10 4-(3,4-Metilendioxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-8-metilcroman-7-ol (compuesto 32) (1-4q) (80%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,08 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,71 (m, 2H), 6,55 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,23 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 6,06 (s, 2H), 4,47 (m, 1H), 4,18 (m, 1H), 3,65 (s, 6H), 3,46 (m, 1H), 2,05 (s, 3H).
- 15 4-(4-Aminofenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-8-metilcroman-7-ol (compuesto 21) (1-4r) (70%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,67 (m, 1H), 6,45-33 (m, 5H), 6,09 (s, 2H), 4,47 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 3,64 (s, 6H), 3,35 (m, 1H), 2,06 (s, 3H).
- 20 4-(4-Etilaminofenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-8-metilcroman-7-ol (compuesto 22) (1-4s) (78%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,65 (m, 1H), 6,51-39 (m, 5H), 6,01 (s, 2H), 4,65 (m, 1H), 4,45 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 3,65 (s, 6H), 3,45 (m, 1H), 3,11 (m, 2H), 2,06 (s, 3H), 1,32 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).
- 25 4-(4-Hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-8-etilcroman-7-ol (compuesto 34) (1-4u) (86%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,72 (m, 1H), 6,56 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,50-33 (m, 4H), 6,01 (s, 2H), 4,51 (m, 1H), 4,32 (m, 2H), 3,65 (s, 6H), 3,45 (m, 1H), 2,65 (m, 2H), 1,06 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).
- 30 4-(4-Hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-6-metilcroman-7-ol (compuesto 35) (1-4v) (96%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,67 (m, 1H), 6,56 (s, 1H), 6,45-32 (m, 4H), 6,01 (s, 2H), 4,45 (m, 1H), 4,32 (m, 2H), 3,67 (s, 6H), 3,45 (m, 1H), 2,06 (s, 3H).
- 35 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-5-fluorocroman-7-ol (compuesto 19) (1-4w) (66%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,67 (m, 1H), 6,45 (m, 2H), 6,25 (m, 1H), 6,18 (m, 1H), 6,01 (s, 2H), 4,50 (m, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,27 (m, 1H), 3,67 (s, 6H), 3,45 (m, 1H).
- 40 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-6-clorocroman-7-ol (compuesto 20) (1-4x) (56%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,16 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 6,96 (s, 1H), 6,75 (m, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,45 (m, 1H), 6,01 (s, 2H), 4,45 (m, 1H), 4,30 (m, 2H), 3,67 (s, 6H), 3,45 (m, 1H).
- 45 4-(3-Cloro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-8-metilcroman-7-ol (compuesto 24) (1-4y) (66%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 8,1 (s, 1H), 7,6 (s, 1H), 7,0 (s, 1H), 6,65-50 (m, 4H), 6,42 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,01 (s, 2H), 4,41 (m, 1H), 4,35 (m, 2H), 3,64 (s, 6H), 3,46 (m, 1H).
- 50 4-(3-Fluoro-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-6-etil-8-metilcroman-7-ol (compuesto 36) (1-4z) (80%). ¹H-RMN (300 MHz, acetona-d₆) δ 6,75 (m, 1H), 6,61 (s, 1H), 6,45 (m, 3H), 6,01 (s, 2H), 4,45 (m, 1H), 4,23 (m, 2H), 3,65 (s, 6H), 3,45 (m, 1H), 2,55 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,07 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).
- 55 4-(3-Metil-4-hidroxifenil)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-6-etil-8-metilcroman-7-ol (compuesto 37) (1-4aa) (88%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,22 (a, 2H), 7,66 (s, 1H), 6,62 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,55 (dd, *J* = 7,1, 2,3 Hz, 1H), 6,41 (s, 1H), 6,38 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 5,95 (s, 2H), 4,48 (m, 1H), 4,21 (m, 2H), 3,61 (s, 6H), 3,45 (m, 1H), 2,55 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,07 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).
- 60 4-(3-Metil-4-hidroxifenil)-6-etil-8-metil-3-(4-hidroxi-3,5-dimetilfenil)-2*H*-cromen-7-ol (compuesto 38) (1-4bb) (80%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,68 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,65 (dd, *J* = 7,1, 2,1 Hz, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,35 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,23 (s, 2H), 4,45 (m, 1H), 4,23 (m, 2H), 3,45 (m, 1H), 2,55 (m, 2H), 2,15 (s, 6H), 2,01 (s, 3H), 1,02 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).
- 65 4-(2-Metil-4-hidroxifenil)-6-etil-8-metil-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-2*H*-cromen-7-ol (compuesto 39) (1-4cc) (76%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,68 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,46 (d, *J* = 7 Hz, 1H), 6,30 (dd, *J* = 6,9, 2,1 Hz, 1H), 5,92 (s, 2H), 4,42 (m, 1H), 4,31 (m, 2H), 3,65 (s, 6H), 3,41 (m, 1H), 2,51 (m, 2H), 2,11 (s, 3H), 1,01 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).
- 65 4-(2-Fluoro-4-hidroxifenil)-6-etil-8-metil-3-(4-hidroxi-3,5-dimetilfenil)-2*H*-cromen-7-ol (compuesto 40) (1-4dd) (70%). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 9,1 (a, 1H), 8,75 (s, 1H), 7,22 (a, 1H), 6,85 (dd *J* = 6,6, 6,1 Hz, 1H), 6,58 (da, *J* = 7,3

Hz, 1H), 6,42 (s, 1H), 6,25 (da, $J = 6,1$ Hz, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,13 (m, 2H), 3,35 (m, 1H), 2,45 (m, 2H), 2,18 (s, 6H), 2,11 (s, 3H), 1,05 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

- 5 Se prepararon enantiómeros del compuesto 2 mediante resolución quiral en una columna Chiralcel de fase normal OD-H, 30 x 250 mm, 5 micrómetros. El análisis del compuesto con el menor tiempo de retención en esta columna indicó las siguientes propiedades de rotación óptica:

Rotación óptica específica $[\alpha]_{589}^{25}$	+282,250°
Disolvente :METANOL	
Concentración: 1,0%	

- 10 El enantiómero con el mayor tiempo de retención en esta columna tenía las siguientes propiedades de rotación óptica.

Rotación óptica específica $[\alpha]_{589}^{25}$	-277,00°
Disolvente :METANOL	
Concentración: 1,0%	

- 15 Se prepararon enantiómeros del compuesto 6 mediante resolución quiral en una columna de fase normal Chiralcel OD-H, 30 x 250 mm, 5 micrómetros. El análisis del compuesto con el menor tiempo de retención (enantiómero 1) en esta columna indicó las siguientes propiedades de rotación óptica:

Rotación óptica específica $[\alpha]_{589}^{25}$	+238,835°
Disolvente :METANOL	
Concentración: 0,1%	

- 20 El enantiómero con el mayor tiempo de retención (enantiómero 2) en esta columna tenía las siguientes propiedades de rotación óptica:

Rotación óptica específica $[\alpha]_{589}^{25}$	-259,410°
Disolvente :METANOL	
Concentración: 0,1%	

- 25 Se prepararon enantiómeros del compuesto 9 mediante resolución quiral en una columna de fase normal Chiralcel OD-H, 30 x 250 mm, 5 micrómetros. El análisis del compuesto con el menor tiempo de retención (enantiómero 1) en esta columna indicó las siguientes propiedades de rotación óptica:

Rotación óptica específica $[\alpha]_{589}^{25}$	+252,727°
Disolvente :METANOL	
Concentración: 0,1%	

El enantiómero con el mayor tiempo de retención (enantiómero 2) en esta columna tenía las siguientes propiedades de rotación óptica:

Rotación óptica específica $[\alpha]_{589}^{25}$	-281,900°
Disolvente :METANOL	
Concentración: 0,1%	

30 Ejemplo 2 - Pruebas *in vitro*

- 35 XenTech evaluó la actividad anticancerígena del compuesto 2 (la forma racémica y un eutómero y distómero purificados) en dos explantes derivados de pacientes con glioblastoma multiforme establecidos a partir de biopsias tumorales siguiendo la metodología detallada. Se obtuvieron cultivos de células primarias de xenoinjertos de ODA14-RAV y GBM14-CHA explantados y disociados. Se descongelaron las células rápidamente en un baño de agua a 37°C. Se diluyó un vial de células (~10 millones de células) en 10 ml de medio de crecimiento completo (F12/DMEM complementado con suero bovino fetal al 8%, penicilina G sódica 100 µg/ml, sulfato de estreptomina 100 µg/ml). Tras la centrifugación a 150xg durante 5 minutos, se resuspendió el sedimento celular en medio de crecimiento completo y se sembró en placa a una densidad de al menos 140.000 células/cm² en frascos de cultivo celular de 75 cm². Se mantuvieron las células a 37°C en una atmósfera humidificada con el 5% de CO₂ durante al
- 40

menos una semana. Entonces se recogieron las células y se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de $2,5 \times 10^3$ células/pocillo para ensayos de citotoxicidad. Se incubaron las células durante 48 h a 37°C antes de la adición de los compuestos de prueba. Se añadieron los compuestos de prueba a las concentraciones finales deseadas y se incubaron adicionalmente durante 72 h.

5 Se evaluó la viabilidad celular antes de añadir los compuestos de prueba (T0) y 72 h después midiendo el contenido en células de ATP celular usando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® (Promega) según las instrucciones del fabricante.

10 Se designó ODA14 como grado III (determinado mediante histopatología) susceptible a TMZ cuando se evaluó en estudios de xenoinjerto, mutante para p53, de tipo natural para pTEN y tenía expresión de EGFR amplificada. Se designó GBM14 como resistente a TMZ, de tipo natural para p53, mutante para pTEN, de tipo natural para EGFR. El grado de GBM no se conocía. Tras 72 h de exposición al compuesto 2, se observó una CI_{50} de 0,14 μ M frente a GBM14 y de 48 μ M frente a ODA14. Se muestran los resultados en la figura 1. Tras 72 h de exposición del eutémero del compuesto 2, se observó una CI_{50} de 0,051 μ M, mientras que en contraposición el distómero del compuesto 2 tenía una CI_{50} de 3,43 μ M (véase la figura 2) frente a la línea celular GBM14-CHA. Estos datos demuestran que el eutémero del compuesto 2 (el enantiómero +) es unas 2-3 veces más activo frente a GBM14-CHA en comparación con el racemato del compuesto 2 y >60 veces más activo que el distómero del compuesto 2 (el enantiómero -).

20 También se evaluaron los enantiómeros de los compuestos 6 y 9 frente a la línea celular de glioblastoma GBM14-CHA usando la metodología descrita anteriormente. Se presentan los resultados a continuación en la tabla 1.

Tabla 1: Datos de CI_{50} para el racemato y las formas quirales de los compuestos 6 y 9 frente a la línea celular de glioblastoma GBM14-CHA

25

Compuesto	Forma quiral	CI_{50} (μ M)
6	Racemato	0,19
	Ent. 1	0,069
	Ent. 2	28,3
9	Racemato	0,19
	Ent. 1	0,017
	Ent. 2	11,29

Tal como se observó para el compuesto 2, los eutémeros de los compuestos 6 y 9 eran espectacularmente más activos que los distómeros correspondientes.

30 También se evaluó la actividad antiproliferativa del compuesto 2 en líneas celulares coincidentes susceptibles a TMZ (D54-S y U87-S) o resistentes (D54-R y U87-R) (Hong Kong University, Dr. Gilberto Leung). Los datos confirman que TMZ tenía una eficacia reducida frente a subclones resistentes a TMZ tanto de U87 como de D54 en comparación con sus subclones sensibles a TMZ respectivos. En contraposición a TMZ, el compuesto 2 y su eutémero demostraron actividad antiproliferativa equipotente frente a ambas líneas celulares de GBM, D54 y U87 independientemente de su estado de resistencia a TMZ. Se usaron dos metodologías (SRB y MTT) para evaluar la viabilidad y ambas mostraron que el compuesto 2 era igualmente eficaz en la supresión de la viabilidad celular de GBM independientemente del estado de resistencia a TMZ. SRB tendía a sobreestimar la citotoxicidad en comparación con MTT. Sin embargo, los valores de CI_{50} estaban por debajo de 0,36 μ M independientemente de la metodología, línea celular y estado de TMZ cuando se trató con el compuesto 2. Por tanto, los valores de CI_{50} del compuesto 2 son notablemente inferiores a TMZ, incluso frente a subclones sensibles a TMZ. El eutémero del compuesto 2 también era equipotente frente a subclones resistentes y sensibles a TMZ, pero la eficacia anticancerígena era más potente para el enantiómero activo que para el racemato. Los valores de CI_{50} estaban por debajo de 0,065 μ M independientemente de la línea celular y el estado de TMZ (véase la tabla 2).

45 Tabla 2: Viabilidad celular de los subclones resistentes y sensibles a TMZ, U87 y D54, tras el tratamiento con TMZ, el compuesto 2 o el eutémero del compuesto 2*

Compuesto	TMZ (SRB)	Compuesto 2 (SRB)	Compuesto 2 (MTT)	Compuesto 2 (enantiómero +) (MTT)
Sensible a U87	609,12	0,106	0,329	0,037
Resistente a U87	1828,51	0,128	0,358	0,041
Sensible a D54	630,99	0,090	0,271	0,065
Resistente a D54	2755,76	0,092	0,215	0,065

* Se midió la viabilidad celular (CI_{50}) a las 72 horas tras el tratamiento mediante SRB o MTT (tal como se indica). CI_{50} en μ M.

También se evaluó la actividad antiproliferativa del eutémero del compuesto 9 (el enantiómero +) y se encontró que

era equipotente frente a subclones resistentes y sensibles a TMZ tanto de U87 como de D54 y similar al eutómero del compuesto 2, los valores de CI_{50} estaban por debajo de $0,065 \mu M$ independientemente de la línea celular y el estado de TMZ.

- 5 También se sometió a prueba la eficacia de los eutómeros de los compuestos 9 y 36 frente a líneas celulares de neuroblastoma infantil. Los valores de CI_{50} oscilaban entre $0,020 \mu M$ y $0,088 \mu M$ para el eutómero del compuesto 9 y entre $0,243 \mu M$ y $0,698 \mu M$ para el eutómero del compuesto 36 (véase la tabla 3). Se evaluaron dos cánceres neurales infantiles más para determinar la sensibilidad al eutómero del compuesto 9. Estudios *in vitro* también mostraron eficacia de micromolar baja a submicromolar frente a una línea celular de DIPG, y eficacia nanomolar
- 10 frente a las líneas celulares de meduloblastoma (D283L = $0,097 \mu M$; 547L = $0,063 \mu M$; y D425L = $0,101 \mu M$). Junto con los estudios previos que usaron líneas celulares de GBM y cultivos de PDX, estos resultados sugieren que el compuesto 9 tiene una potencia considerable frente a una gama de cánceres neurales incluyendo cánceres de la infancia.
- 15 Tabla 3: Citotoxicidad de eutómeros de los compuestos 9 y 36 frente a neuroblastoma*

Línea celular	Estado de P53	Estado de nMYC	Comp. 9 (enantiómero +), CI_{50} (μM)	Comp. 36 (enantiómero +), CI_{50} (μM)
CHLA-20	tipo natural	no amplificado	0,061	0,243
CHP-134	tipo natural	amplificado	0,020	0,698
CHLA-90	mutante	no amplificado	0,088	0,336
SK-N-Be(2)	mutante	amplificado	0,064	0,308

* Se evaluó la viabilidad celular después de 72 horas

- Se estableció la capacidad de los compuestos 1 a 14 para inhibir la proliferación de células madre de cáncer de ovario a partir de explantes derivados de pacientes. El laboratorio del Dr. Gil Mor (Yale University) ha identificado
- 20 dos tipos de células de cáncer de ovario epiteliales: las de tipo I son células de cáncer de ovario epiteliales (EOC) positivas para CD44, quimiorresistentes y las de tipo II son células de EOC negativas para CD44 quimiosensibles. Se prepararon células madre de cáncer de ovario tal como se describió previamente (Alvero *et al.*, 2009). Se evaluó la proliferación celular usando el sistema cinético de obtención de imágenes Incucyte. Se evaluó el efecto citotóxico de los compuestos simultáneamente usando el ensayo de citotoxicidad CellPlayer y usando CellTox™ (Promega, n.º de cat.: G8731). Se tripsinizaron células de monocapa y se sembraron en placa en placas de 96 pocillos. Tras 24 h, una vez que se unieron las células, se dispuso el tratamiento en RPMI con FBS al 10%. Las concentraciones de fármaco usadas fueron: 0,001, 0,01, 0,1, 1 y $10 \mu g/ml$. Se añadió una dilución apropiada de reactivo CellTox™ (1:1000) a cada pocillo tras añadir el compuesto de prueba. Se colocaron inmediatamente las placas de cultivo en el sistema Incucyte y se obtuvieron imágenes cada 2 h usando la opción de "fluorescencia y contraste de fase" en el equipo de Incucyte. Se calcularon curvas de crecimiento como una medida de la confluencia celular usando un algoritmo de confluencia integrado como sustituto para el número de células para determinar la tasa de proliferación. Entonces se usó el área bajo la curva calculada a partir de la representación gráfica de cuentas de $CstTox/mm^2$ a lo largo del tiempo para calcular la CI_{50} . En experimentos por duplicado se encontró que el compuesto 2 era el más potente en el retardo de la proliferación de células madre de cáncer de ovario a concentraciones de entre 0,01 - $0,1 \mu g/ml$ para OCSC-1 y OCSC-2. Los compuestos 6, 9 y 13 también eran potentes en la inhibición de la proliferación de células OCSC-2 a concentraciones de entre 0,1 y $1 \mu g/ml$ (tabla 4). El compuesto 2 también provocó un efecto similar frente a células F2 a concentraciones superiores en veces logarítmicas (0,1 - $1 \mu g/ml$). Cuando se evaluaron, todos los demás análogos presentaban una actividad antiproliferativa de 1 - $10 \mu g/ml$ (véase la tabla 4).

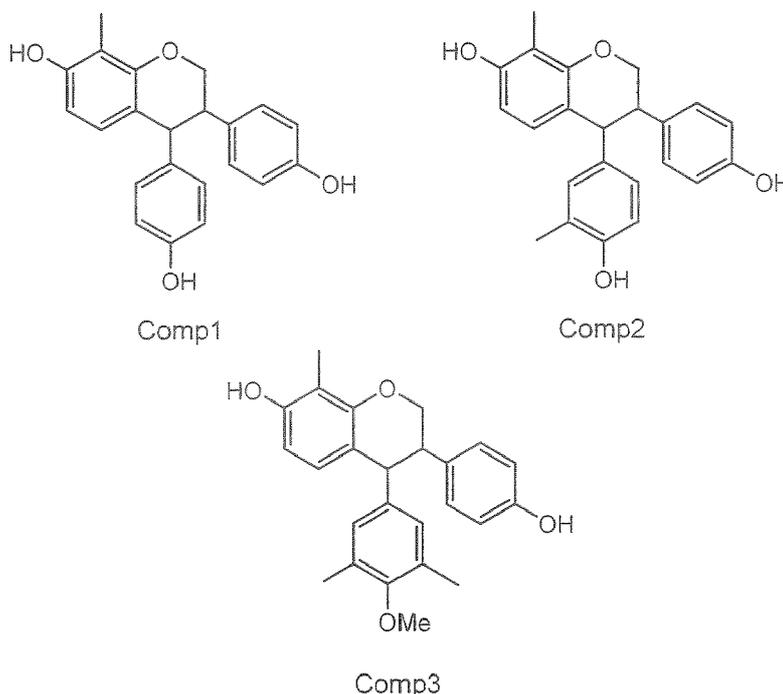
- 40 Tabla 4: Efecto anticancerígeno de una serie de compuestos frente a células madre de cáncer de ovario

Compuesto	Intervalo de CI_{50} (μM)		
	OCSC1	OCSC2	F2
1	1 - 10	1 - 10	NT
2	0,1 - 0,01	0,1 - 0,01	0,1 - 1
3	>10	1 - 10	NT
4	1 - 10	1 - 10	NT
5	NT	1 - 10	NT
6	NT	0,1 - 1	NT
7	NT	>10	NT
8	NT	1 - 10	NT
9	NT	0,1 - 1	NT
10	NT	1 - 10	NT
11	NT	1 - 10	NT
12	NT	>10	NT
13	NT	0,1 - 1	NT
14	NT	>10	NT

NT = no sometido a prueba

Estudios de confirmación que usaron estudios de confluencia con Incucyte que emplearon un mayor número de concentraciones demostraron que el compuesto 2 tenía una CI_{50} de 0,052 $\mu\text{g/ml}$ frente a OCSC2. Esta observación se confirmó adicionalmente usando verde de Cytotox, un reactivo de colorante que aprovecha la integridad comprometida de la membrana de una célula muerta, pudiendo el reactivo atravesar la membrana y unirse al ADN liberando de ese modo una señal de fluorescencia que puede cuantificarse. La CI_{50} para el compuesto 2 usando verde de CellTox fue de 0,051 $\mu\text{g/ml}$. Estos datos demuestran que el compuesto 2 es un compuesto anticancerígeno altamente activo tal como se evalúa mediante dos metodologías diferentes. También se generaron valores de CI_{50} de 0,12 g/ml para los compuestos 9 y 13 (véanse las figuras 3 y 4).

Se estudió la capacidad de compuestos seleccionados para inhibir la proliferación de células cancerosas representativas de melanoma, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer colorrectal, cáncer de mama (negativo para el receptor de estrógenos (negativo para ER, TNBC negativo para ER, negativo para el receptor de progesterona y negativo para la amplificación de EGFR), cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de páncreas y cáncer cerebral. Se sembró un número predeterminado de células tal como se calcula a partir de ensayos de crecimiento celular para cada una de las líneas celulares empleadas en sus medios de cultivo respectivos (usando parámetros de cultivo de la ATCC - <http://www.atcc.org>) y se cultivaron durante 24 h a 37°C y el 5% de CO_2 en placas de cultivo de 96 pocillos. Una vez unidas, se expuso entonces cada línea celular a diversas concentraciones de cada análogo respectivo (30, 3, 0,3 y 0,03 μM), se cultivó durante 72 h adicionales y se expuso a un reactivo luminiscente de titulación celular (100 $\mu\text{pocillo}$) durante 30 min adicionales). Se capturó la luminiscencia usando un lector multietiqueta EnVision y se compararon los datos para cada concentración de análogo frente al control. Se prepararon representaciones gráficas semilogarítmicas de tanto por ciento del control frente a la concentración y se determinó la CI_{50} usando análisis de regresión lineal. Se presentan los datos en las tablas 5 y 6. En la tabla 6, los compuestos Comp. 1, Comp. 2 y Comp. 3 son compuestos comparativos que tienen las siguientes estructuras:



30 Tabla 5: Evaluación de una serie de compuestos para determinar su capacidad para retardar la proliferación de una gama de células cancerosas somáticas

Compuesto	CI_{50} (μM)							
	Colorrectal	Melanoma	Próstata		Mama		Pulmón (NSCLC)	Hígado
	HT-29	SK-Mel-28	PC3	DU145	MCF-7	MDA-MB-231	A549	HepG2
1	11	>30	>30	>30	>30	13,7	>30	>30
2	8,2	1,4	1,49	0,08	13,6	0,8	0,04	1,9
3	7,5	>30	>30	15,1	26,7	7,5	11,8	>30
4	4,1	>30	>30	4,5	>30	9,9	6,9	>30
5	6,6	>30	>30	>30	>30	21,8	8,4	>30

6	8,4	>30	0,5	0,8	>30	1,7	0,7	2
7	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30
8	4,3	>30	27	9,4	>30	>30	25,3	>30
9	6,5	2,7	0,12	0,13	>30	0,13	0,13	3,7
10	8,4	>30	6,2	25,2	>30	29,9	8,3	26,9
11	5	>30	1,4	3,1	>30	3,4	9,6	5,6
12	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30
13	11,1	>30	0,8	1,5	>30	3	2,3	9,6
14	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30
16	2,65	16,14	2,22	2,78	5,6	9,80	5,45	5,29
18	12,70	6,43	2,12	1,59	6,2	7,28	5,54	1,14
19	2,34	2,30	0,34	0,21	0,3	8,62	4,84	0,32
20	3,25	0,96	0,85	0,26	1,0	8,5	4,21	0,19
21	3,02	0,7	0,42	0,64	0,6	5,67	2,66	0,35
22	2,42	1,22	0,62	0,45	1,6	12,6	8,87	0,67
24	>30	>30	0,2	0,3	>30	4,4	2,06	>30
32	3,56	2,06	1,42	0,95	2,2	25,29	11,77	1,21
33	2,38	0,43	0,34	0,39	0,5	5,29	3,71	0,1
34	2,07	1,38	1,07	0,63	1,5	3,77	1,7	0,47
35	5,79	2,37	1,03	0,77	4,2	9,89	4,25	1,06
36	NT	0,16	0,18	NT	NT	0,2	0,24	NT
37	NT	0,21	0,53	0,44	NT	0,92	0,4	NT
38	NT	>30	1,40	5,51	NT	23,12	2,60	NT
39	NT	0,52	0,73	0,49	NT	1,43	0,8	NT
40	NT	>30	1,31	3,02	NT	14,11	1,91	NT

NT: No sometido a prueba

Tabla 6: Evaluación de una serie de compuestos para determinar su capacidad para retardar la proliferación de una gama de células cancerosas somáticas

Compuesto	CI ₅₀ (μM)					
	De páncreas	Cerebral			De ovario	
	MiaPaCa-2	U87-MG	A172	OVCAR-3	A2780	SK-OV-3
2	0,05	0,05	0,127	0,063	0,06	0,106
6	NT	0,478	0,193	0,063	NT	0,193
9	0,06	0,05	0,16	0,058	0,09	0,142
13	NT	0,513	0,388	0,171	NT	0,621
36	0,17	0,22	NT	NT	0,14	NT
37	0,52	0,38	NT	NT	0,32	NT
39	0,58	0,49	NT	NT	0,61	NT
Comp. 1	0,89	0,25	NT	NT	0,21	NT
Comp. 2	0,59	0,23	NT	NT	0,37	NT
Comp. 3	>3	>3	NT	NT	>3	NT

NT: No sometido a prueba

5

Los datos demuestran que el compuesto 2 presentaba una actividad antiproliferativa potente (CI₅₀ = <1 μM) frente a líneas celulares representativas de NSCLC (A549), TNBC (MDA-MB-231) y cáncer de próstata (DU-145). El compuesto 2 era moderadamente activo frente a células de cáncer de hígado (HepG2) (CI₅₀ = 1,9 μM).

10 Los compuestos 6 y 9 también presentan una actividad potente (CI₅₀ = <1 μM) frente a NSCLC (A549) y ambas líneas celulares de cáncer de próstata (PC3 y DU-145), a diferencia del compuesto 2 que sólo era activo frente a DU-145. Los compuestos 6 y 9 también eran moderadamente activos frente a MDA-MB-231 (CI₅₀ <2 μM) y HepG2 (CI₅₀ <4 μM).

15 Usando la misma metodología, se evaluaron el racemato del compuesto 2 y sus enantiómeros frente a las líneas celulares de glioblastoma A172 y cáncer de ovario OVCAR-3. Tal como se observó en el estudio de explantes de GBM anteriormente, el eutómero del compuesto 2 era al menos 2 veces más activo frente a ambas líneas celulares en comparación con el racemato (véase la figura 5). El distómero era >5 veces menos activo en comparación con el racemato (no mostrado).

20

Dado el concepto de que las células progenitoras de cáncer residuales dentro del tumor tras el tratamiento son responsables de la recaída tumoral, una estrategia terapéutica crítica para prolongar la supervivencia es erradicar esas células progenitoras tumorales que conducen a recaída. Se realizaron estudios *in vitro* para determinar si el

compuesto 2 podía inhibir la proliferación de OCSC una vez que se retiró la presión farmacológica. Se trataron células OCSC-2 con 0,1, 1 y 10 µg/ml del compuesto 2 durante 24 h, se lavaron con medio de cultivo y se permitió que se recuperaran durante 50 h adicionales en condiciones de incubación convencionales. Se colocaron inmediatamente las placas de cultivo en el sistema Incucyte y se obtuvieron imágenes cada 2 h. Se calcularon curvas de crecimiento como una medida de la confluencia celular usando un algoritmo de confluencia integrado como sustituto para el número de células para determinar la tasa de proliferación.

En contraposición a las células OCSC-2 tratadas con vehículo, las células que se trataron previamente con el compuesto 2 durante 24 h no pudieron entrar en crecimiento logarítmico tras 48 h adicionales de cultivo en medio sin fármaco (véase la figura 6). Morfológicamente, estas células parecían ser redondeadas y tenían cuerpos apoptóticos, lo que sugiere que las células ya no eran viables a partir de las 24 h de exposición (véase la figura 7).

Ejemplo 3 - Estudios con células

Se establecieron células OCSC2 marcadas con GFP y OCC2 marcadas con mCherry infectando células con lentivirus que expresan las proteínas fluorescentes (Craveiro *et al.* 2013). Se trataron cocultivos de OCSC2 GFP+ y OCC2 mCherry+ con 1 µg/ml del compuesto 2 durante 48 h y se permitió que se recuperaran durante otras 72 h. Se determinó la fluorescencia mediante microscopía de fluorescencia. El compuesto 2 redujo notablemente los números de células madre OCSC2 marcadas con GFP y provocó que las células OCC2 marcadas con mCherry adquirieran una forma redonda y se despegaran de la superficie de cultivo (véase la figura 8). Estos datos indican que el compuesto 2 altera la proliferación tanto de células madre de cáncer de ovario como de células somáticas de cáncer de ovario.

Se obtuvieron esferoides de células madre de cáncer de ovario a partir de cultivos hechos crecer en condiciones especiales que seleccionaron células con potencial de autorrenovación (Alvero *et al.*, 2009). En resumen, se incubaron células CD44+ en un sistema de suspensión que consistía en un tubo de vidrio en rotación continua para impedir la adherencia. Estas células formaron agrupaciones en 48 h y esferoides compactos en 4 días. Entonces se expusieron los esferoides a 0,1 y 1 µg/ml del compuesto 2 y se examinaron microscópicamente tras 24 h. Tras 24 h de exposición al compuesto 2 a 0,1 µg/ml, la infraestructura de esferoides de cáncer de ovario había comenzado a disgregarse. A 1 µg/ml del compuesto 2, la estructura de los esferoides estaba casi totalmente destruida. Estos datos demuestran que el compuesto 2 puede penetrar en el esferoide y destruir su infraestructura (véase la figura 9) y sugieren que el compuesto debe poder entrar en el microentorno tumoral.

Bibliografía

Craveiro, V., Yang-Hartwich, Y., Holmberg, J. C., Sumi, N. J., Pizzonia, J., Grffin, B., Gill, S. K., Sliasi, D-A., Azodi, M., Rutherford, T., Alvero, A. B., Mor, G. (2013). "Phenotypic modifications in ovarian cancer stem cells following Paclitaxel treatment" *Cancer Medicine*, 2(6), 751-762.

Alvero A. B., Chen R, Fu H. H, Montagna M., Schwartz P. E., Rutherford T., Silasi D. A., Steffensen K. D., Waldstrom M., Visintin I., Mor G. (2009) "Molecular phenotyping of human ovarian cancer stem cells unravels the mechanisms for repair and chemoresistance" *Cell Cycle*. 1 de enero de 2009; 8(1): 158-66.

Ejemplo 4 - Pruebas farmacocinéticas

Se realizó un estudio del comportamiento farmacocinético de los compuestos 2, 6, 9, 13. Los resultados demostraron que los compuestos pueden administrarse y lograr concentraciones en plasma con la ventana de eficacia farmacéutica propuesta.

El estudio comprendía una fase 1, un estudio de preformulación que garantizó que todos los compuestos eran solubles en disolución de Captisol® al 30% y formaban una mezcla homogénea adecuada para la administración por vía i.v. Se desarrollaron varios métodos de CL-EM y se validaron parcialmente para garantizar que cada analito podía cuantificarse a partir de la matriz de plasma y que no había interferencia entre ninguno de los analitos. La fase 2 comprendía el estudio *in vivo* mediante el cual se aclimataron ratas Sprague-Dawley durante tres días antes de que se les inyectase en la vena de la cola una dosis en casete de cuatro compuestos, cada uno a una concentración final de 1 mg/kg. Se usaron un total de tres ratas en el estudio con extracción de muestras de sangre con tubos con anticoagulante a los 5 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h y 8 h. La tercera fase del estudio era el bioanálisis de los analitos. Se centrifugaron las muestras de sangre a 1200 rpm durante 10 min a 4°C. Tras separarse los RBC y el plasma, se almacenó el plasma a -80°C hasta que se procesó e inyectó en CL-EM. Se trataron muestras de ratas individuales como muestras individuales con el perfil PK generado a partir de la media de los datos de las tres ratas. Se muestran los resultados en la figura 10.

Ejemplo 5 - Eficacia *in vivo*

Usando el modelo en el costado de U87 descrito anteriormente, la administración de supositorios del eutómero del

compuesto 9 a 100 mg/kg diariamente provocó un fuerte efecto antitumoral. Se muestran los resultados en la figura 11. El ANOVA de dos vías con corrección de Sidak para comparaciones múltiples indicó que el tamaño del tumor era significativamente más pequeño a los apenas 7 días tras el inicio del tratamiento tan sólo y esto continuó hasta el día 12 (el punto de tiempo final evaluado). La tasa de crecimiento tumoral también se redujo significativamente mediante el eutémero del compuesto 9. El peso del tumor en el punto final se redujo significativamente mediante el eutémero del compuesto 9 en comparación con el control de Captisol® (prueba de la t para datos independientes, $P = 0,0036$). Los pesos finales de ratones en los grupos de tratamiento y control no eran significativamente diferentes, sin embargo murieron 3 ratones en el grupo de tratamiento de 7 originariamente (todos los animales que murieron estaban dentro del cuartil inferior de intervalo de peso de los animales). Estos ratones también mostraron una reducción significativa en el crecimiento tumoral, aunque, por coherencia, los datos de esos animales se han eliminado de todos los datos presentados y del análisis estadístico. Como con el programa de dosificación anterior, no se observaron signos clínicos manifiestos de toxicidad (es decir piloerección, morbilidad, diarrea). Está en marcha un análisis histopatológico para identificar la causa de la muerte. Los hemogramas eran normales.

15 Ejemplo 6 - Eficacia *in vivo*

El modelo animal de cáncer de ovario usado para evaluar la eficacia *in vivo* del compuesto 2 consiste en una inyección intraperitoneal de 7×10^6 células madre de cáncer de ovario mCherry-CD44+ en ratones atímicos. En este modelo, la formación de tumores reproduce la morfología del cáncer de ovario humano, dando lugar a tumores diseminados que comprenden OCC tanto CD44+ como CD44-, lo que confirma que las células madre de cáncer inyectadas pueden formar tumores heterogéneos. En este modelo de roedor, la progresión tumoral se caracteriza por carcinomatosis diseminada en donde se encuentran tumores en los ovarios, el mesenterio, el peritoneo, el diafragma, el hígado, el páncreas y el bazo. El modelo también imita el perfil clínico del cáncer de ovario y se caracteriza por una respuesta parcial inicial a paclitaxel o cisplatino, que va seguida luego por recidiva y resistencia a la terapia original. La progresión tumoral se monitoriza mediante obtención de imágenes *in vivo* usando un sistema de obtención de imágenes de fluorescencia/rayos X de Bruker Vivo FX (Bruker Corp., Billerica, MA) (Craveiro *et al.* 2013).

En comparación con animales control tratados con Captisol® al 20%, el eutémero del compuesto 2 dosificado en un programa diario por vía i.p. formulado en una ciclodextrina provocó una reducción significativa, dependiente de la dosis en la tasa de proliferación tumoral (figura 12A) y la carga tumoral terminal (figura 12B). Se observó una respuesta dependiente de la concentración en la que los animales a los que se les dosificó el compuesto 2 a 50 mg/kg y 100 mg/kg tenían una reducción de la carga tumoral del 65% y >80% respectivamente en comparación con el control.

35 **Bibliografía**

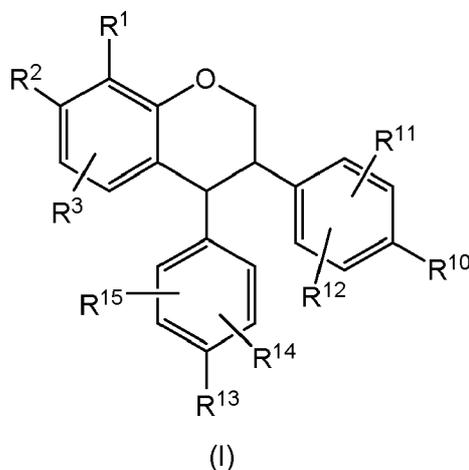
Craveiro, V., Yang-Hartwich, Y., Holmberg, J. C., Sumi, N. J., Pizzonia, J., Grffin, B., Gill, S. K., Sliasi, D-A., Azodi, M., Rutherford, T., Alvero, A. B., Mor, G. (2013). "Phenotypic modifications in ovarian cancer stem cells following Paclitaxel treatment" *Cancer Medicine*, 2(6), 751-762.

La mención de cualquier referencia en el presente documento no debe interpretarse como una admisión de que tal referencia está disponible como técnica anterior para la presente solicitud. Además, la referencia en esta memoria descriptiva a cualquier publicación anterior (o información derivada de la misma), o a cualquier materia que se conozca, no es, y no debe tomarse como un reconocimiento o una admisión o cualquier forma de sugerencia de que la publicación anterior (o información derivada de la misma) o materia conocida forma parte de del conocimiento general común en el campo de aplicación al que se refiere esta memoria descriptiva.

El alcance de la invención se define mediante las reivindicaciones. Los expertos en la técnica apreciarán que la invención descrita en el presente documento es susceptible a variaciones y modificaciones distintas de las descritas específicamente. Ha de entenderse que la invención incluye todas de tales variaciones y modificaciones que se encuentran dentro del alcance de las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula general (I)



5

o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, derivado o solvato del mismo, en la que:

R¹ se selecciona del grupo que consiste en: H y alquilo C₁-C₆,

10

R² se selecciona del grupo que consiste en: OH y alcoxilo C₁-C₆,

R³ se selecciona del grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₆ y halo,

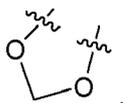
15

R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OH, alcoxilo C₁-C₆, NH₂, NHMe, NHEt, N(Me)₂ y N(Et)₂,

R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, OH, alquilo C₁-C₆ y halo, o

R¹³ y uno de R¹⁴ y R¹⁵ forman la siguiente estructura:

20



R¹⁰ es OH, y

25

R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: OH, OMe, alquilo C₁-C₄ y F.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R¹ se selecciona del grupo que consiste en: H y alquilo C₁-C₃.

30

3. Compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que R² es OH.

4. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R³ se selecciona del grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₃ y halo.

35

5. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: OH, OMe, *tert*-butilo, metilo y F.

6. Compuesto según la reivindicación 5, en el que R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: OMe, *tert*-butilo y F.

40

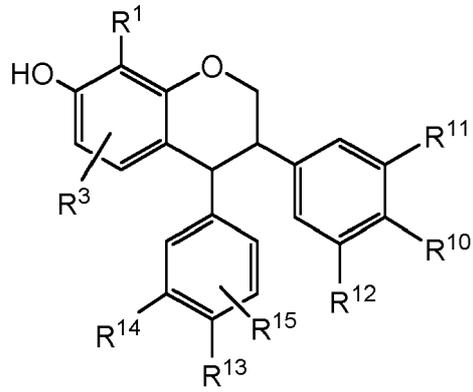
7. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que R¹³ se selecciona del grupo que consiste en: OH, OMe, NH₂, NHEt y N(Et)₂.

8. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, F, Cl y metilo.

45

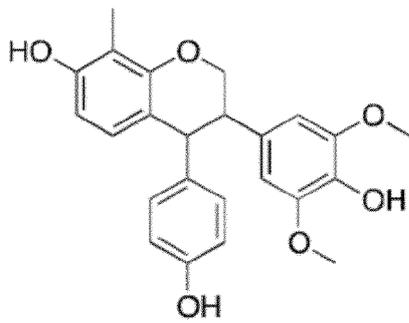
9. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto es de fórmula (Ia) que tiene la siguiente

estructura:

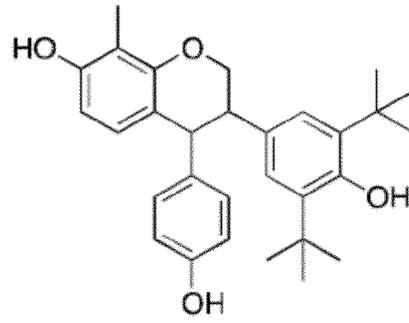


5 en la que R¹, R³ y R¹⁰ a R¹⁵ son tal como se definieron en la reivindicación 1.

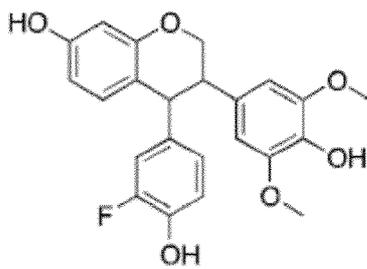
10. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:



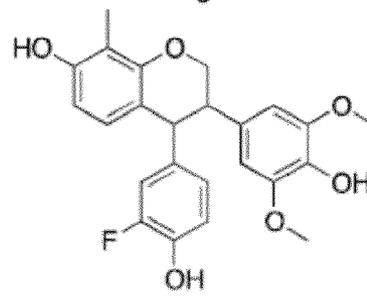
2



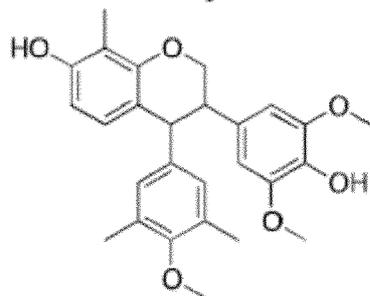
3



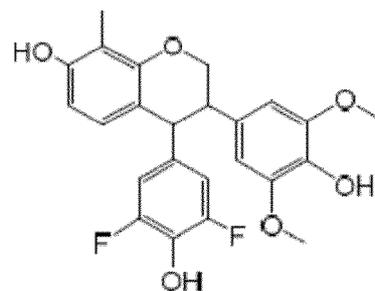
6



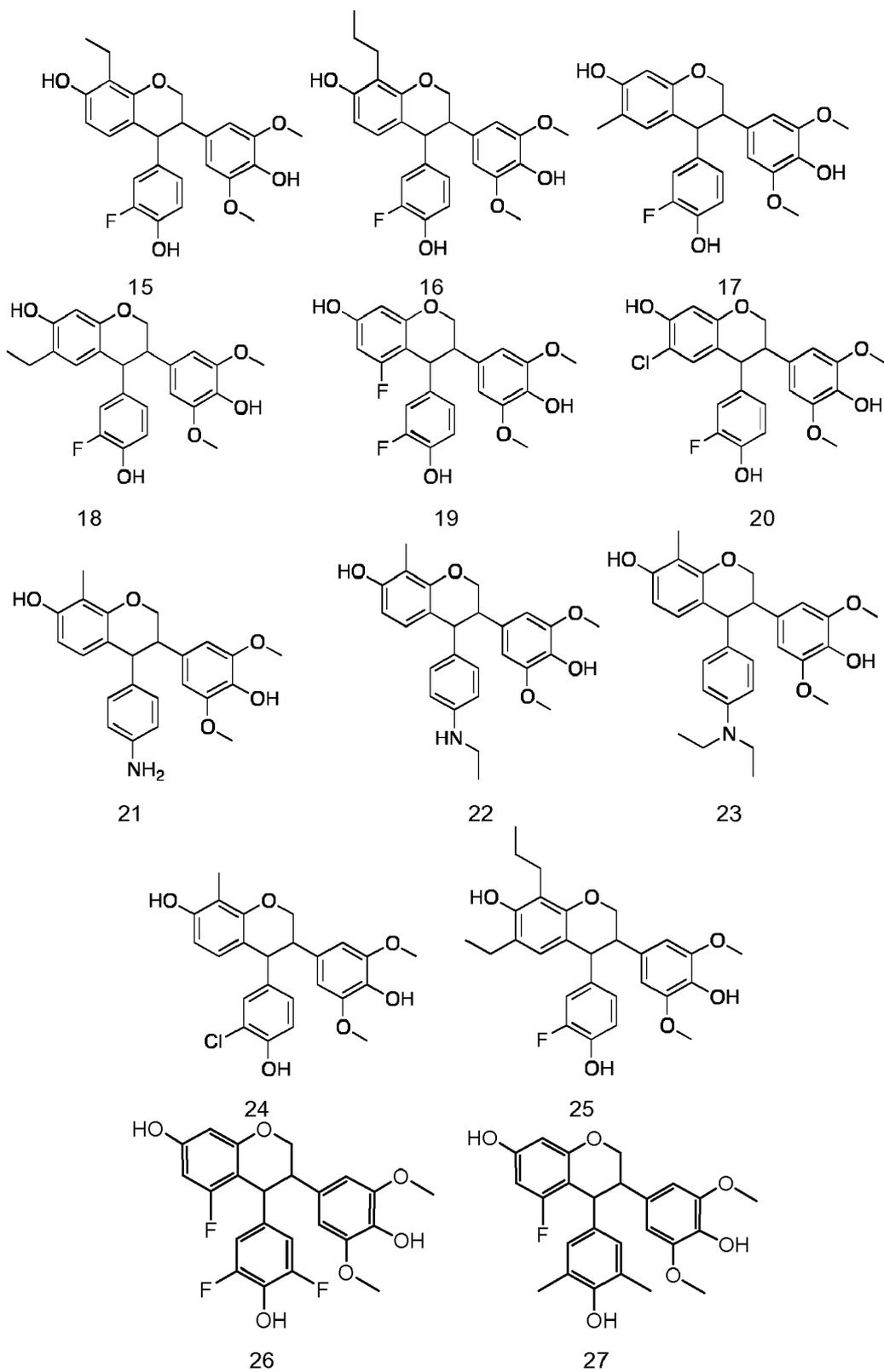
9

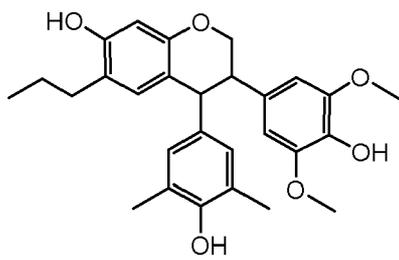


11

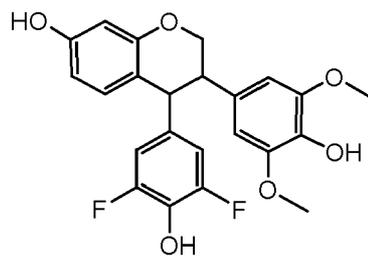


13

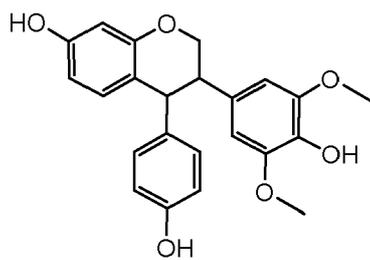




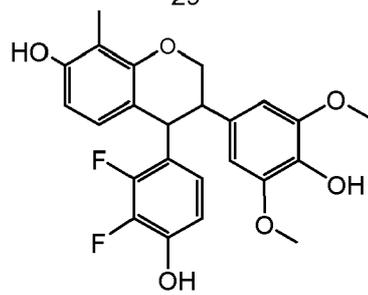
28



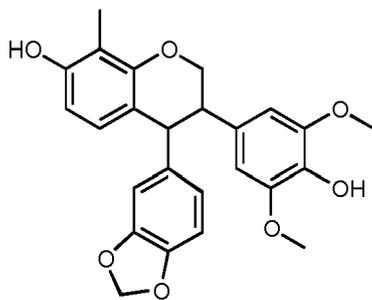
29



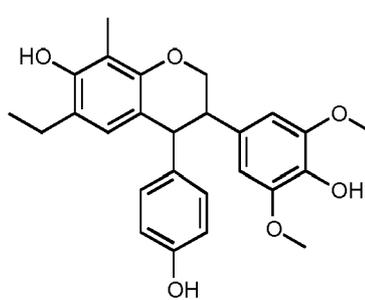
30



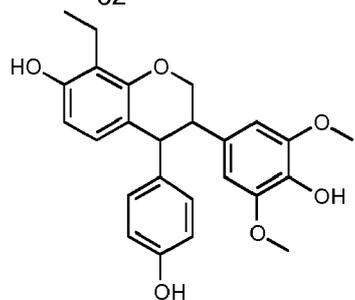
31



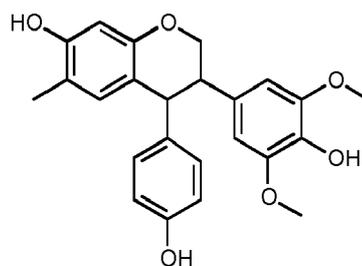
32



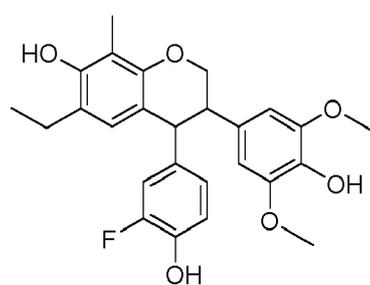
33



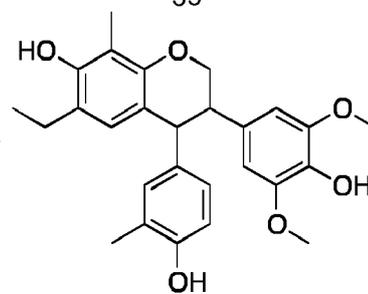
34



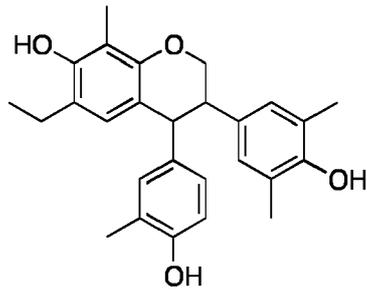
35



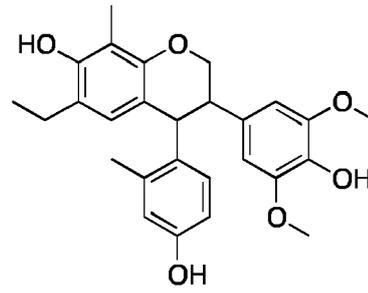
36



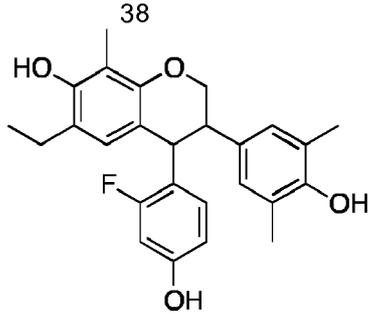
37



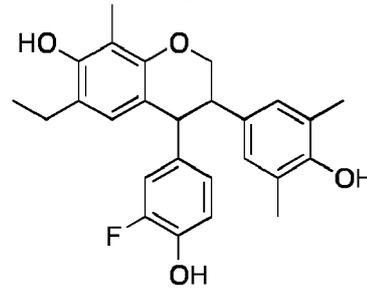
38



39



40



41

- 5 11. Composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, junto con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 10 12. Compuesto de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en un método para el tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto de fórmula (I).
- 15 13. Compuesto para su uso en un método de tratamiento según la reivindicación 12, en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en: cáncer de páncreas, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de próstata, cáncer cerebral (incluyendo infantil y de adulto), cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer uterino, neuroblastoma, mesotelioma, ascitis maligna o cáncer de peritoneo.
- 20 14. Compuesto de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en un método de tratamiento, en el que el tratamiento es para reducir las incidencias de, o el riesgo de, recidiva del cáncer en un sujeto que se considera que corre el riesgo de recidiva del cáncer, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad eficaz de dicho compuesto de fórmula (I).
15. Compuesto de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en un método para tratar una enfermedad en un sujeto provocada por células madre de cáncer, comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto de fórmula (I).

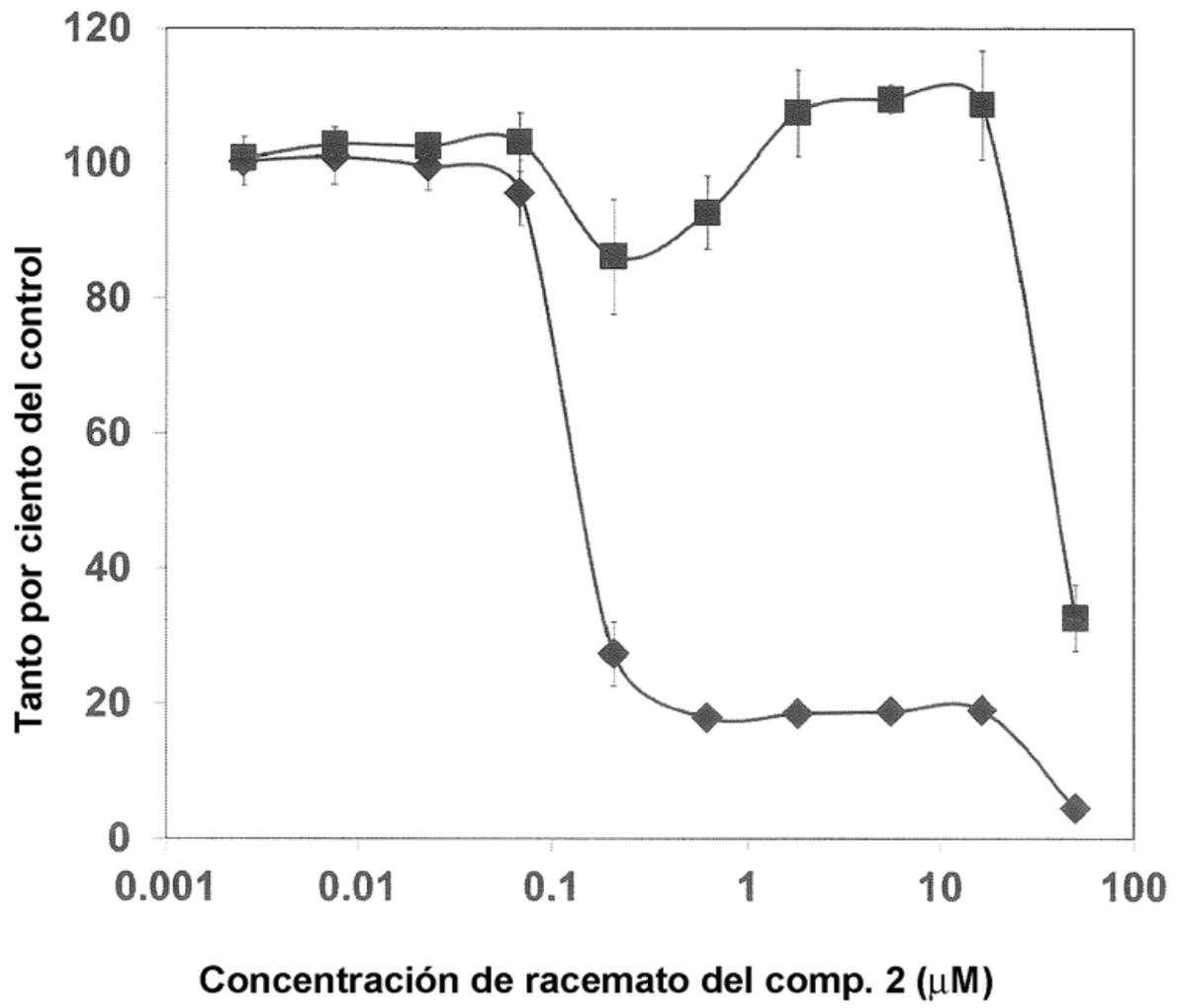


Figura 1

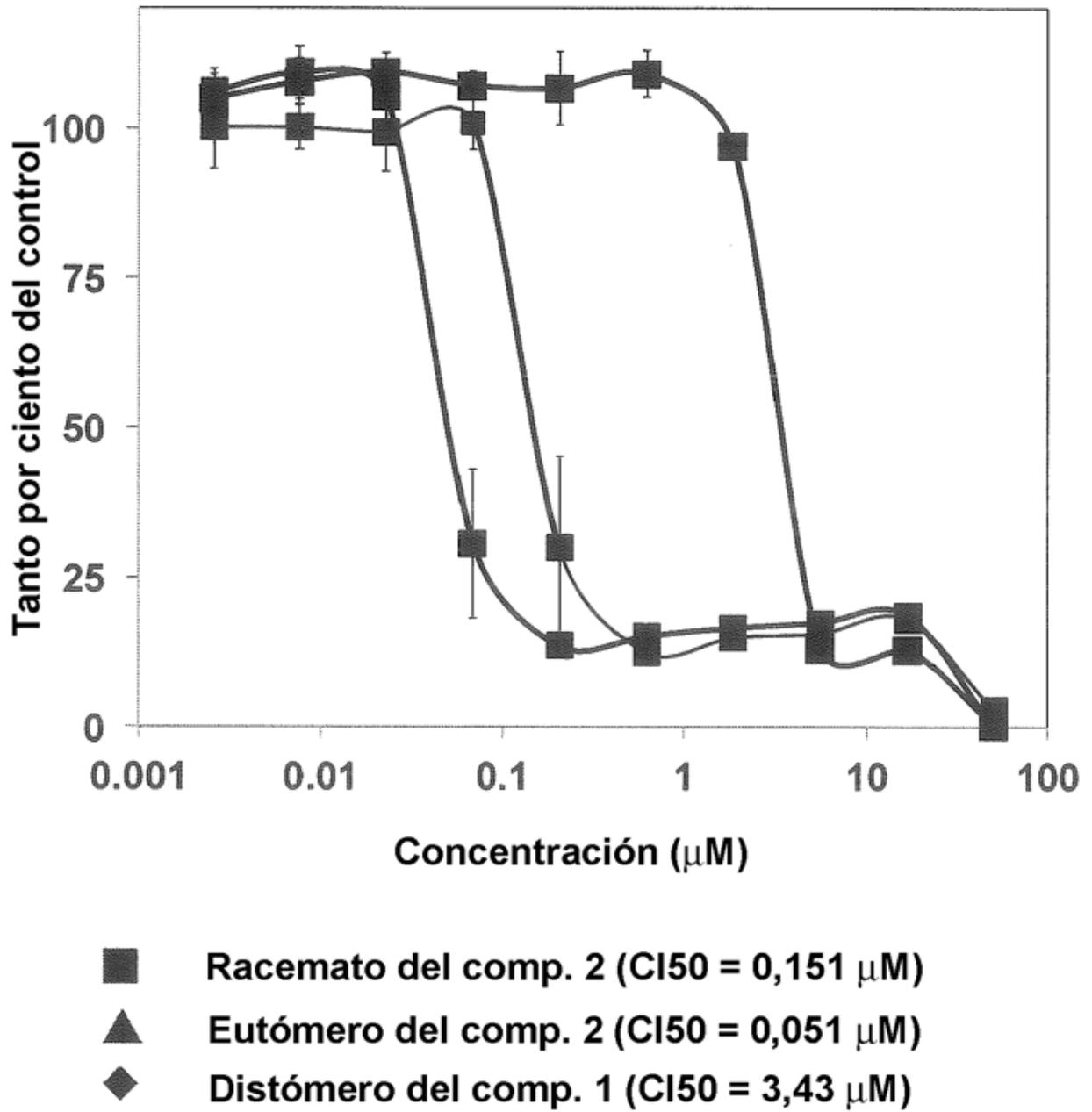


Figura 2

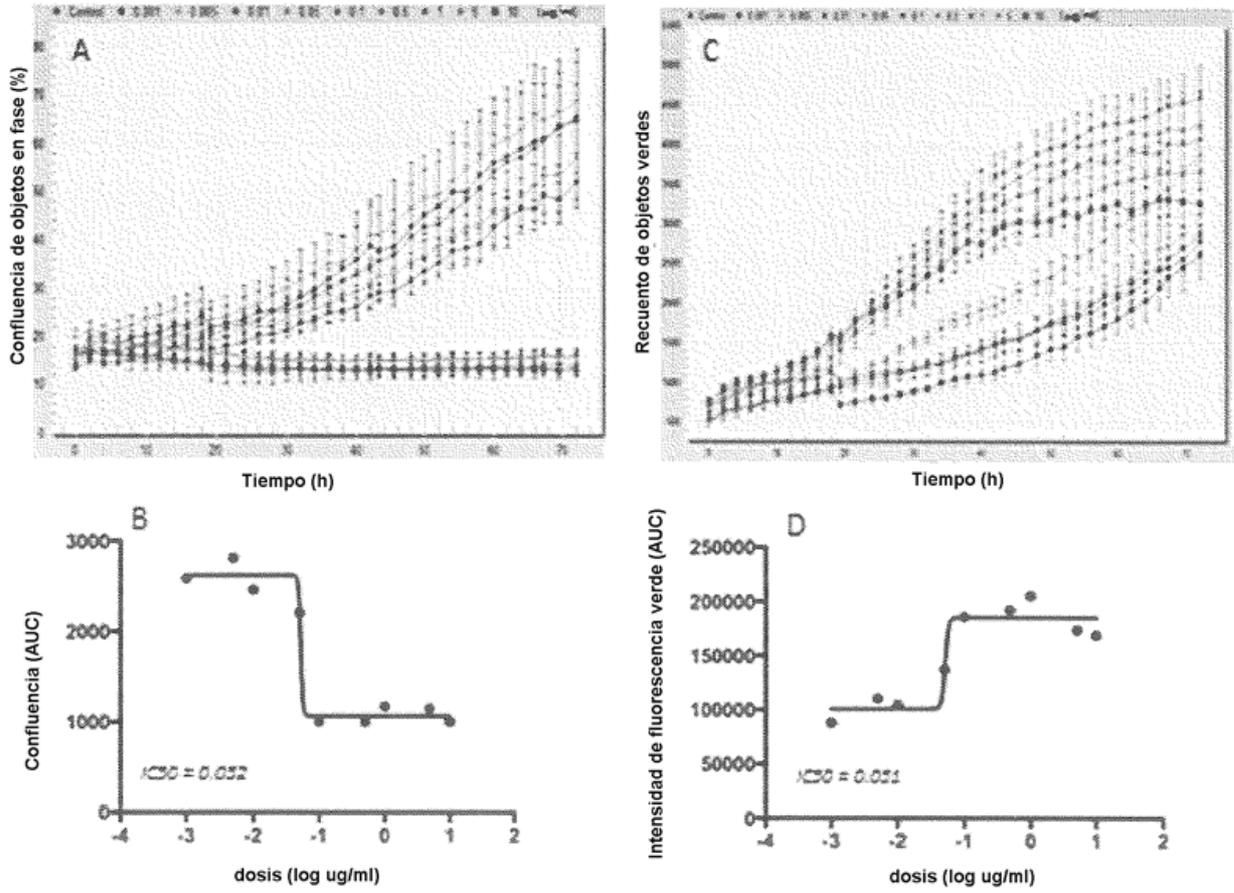


Figura 3

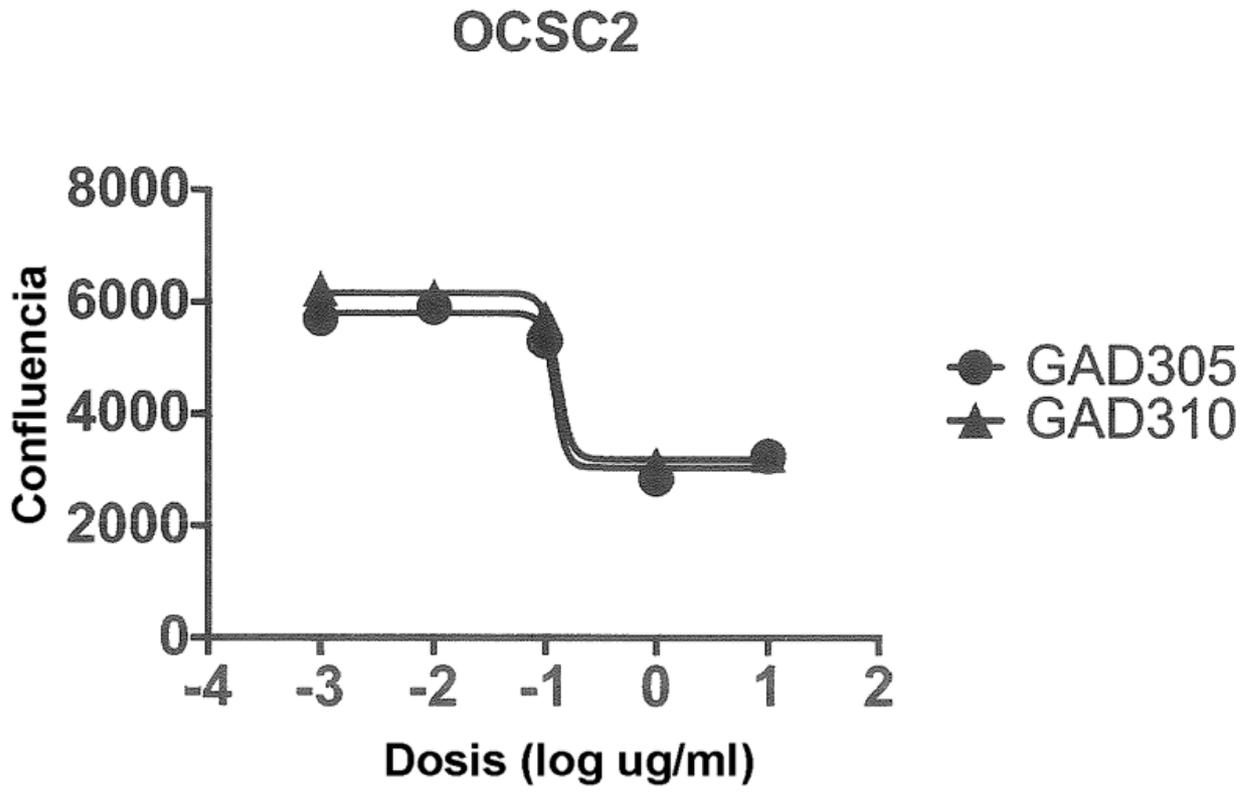


Figura 4

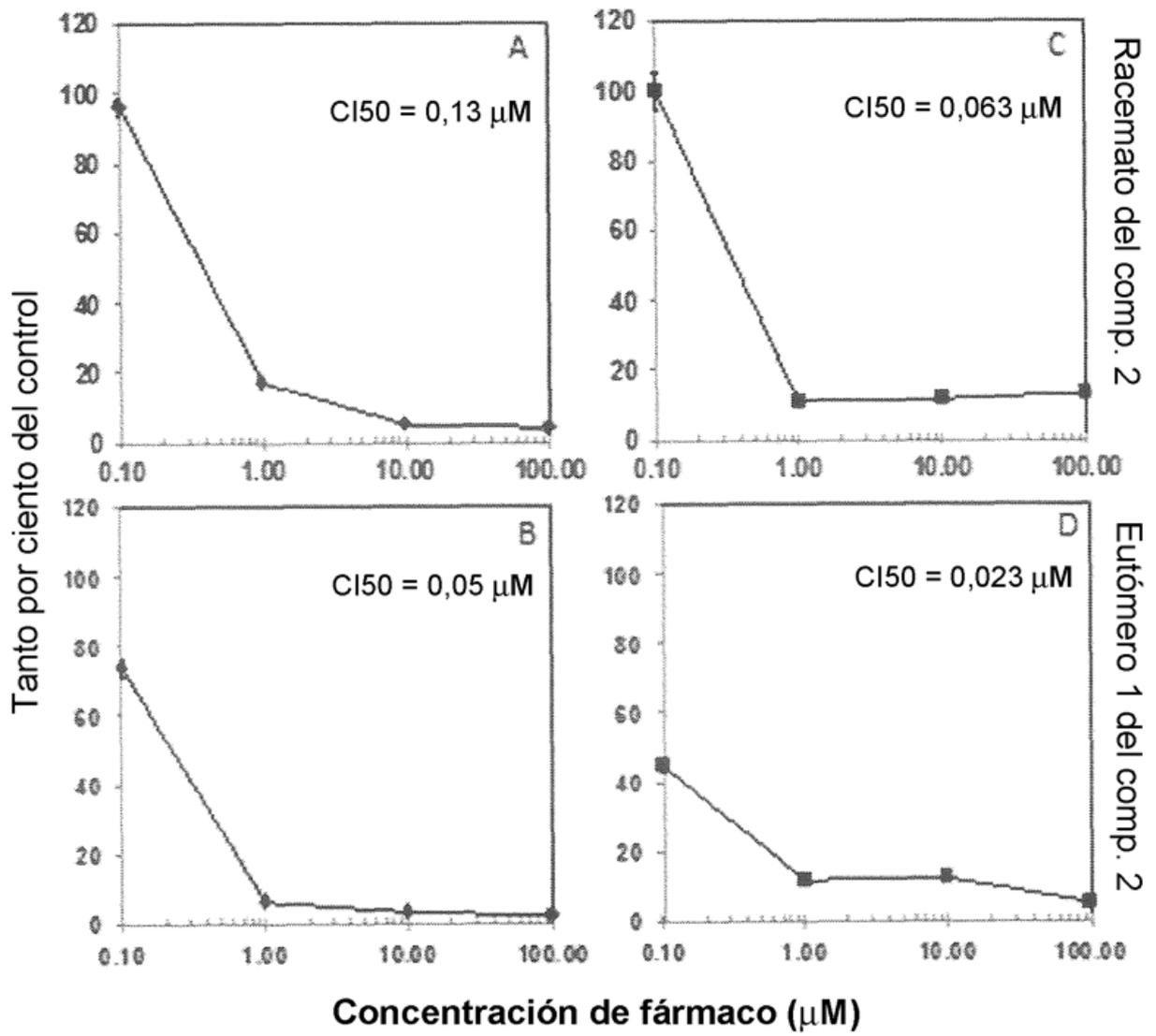


Figura 5

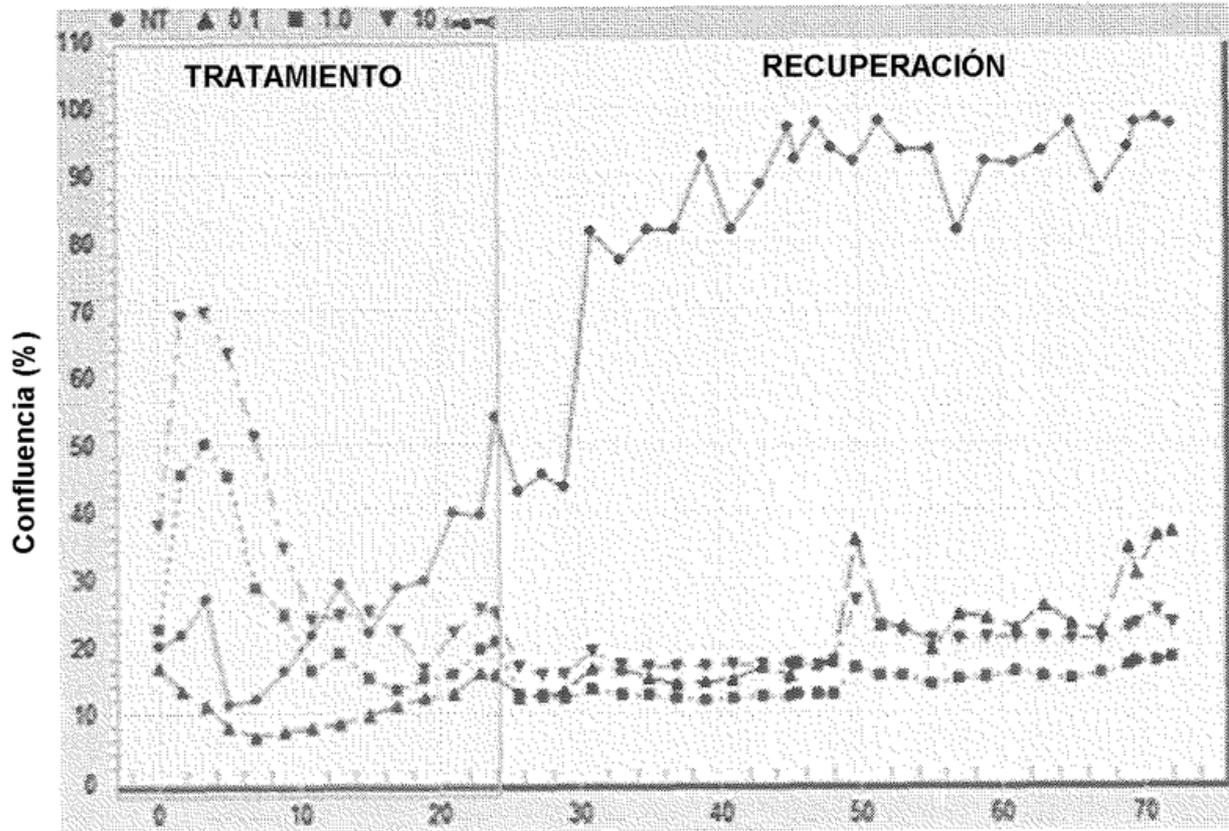


Figura 6

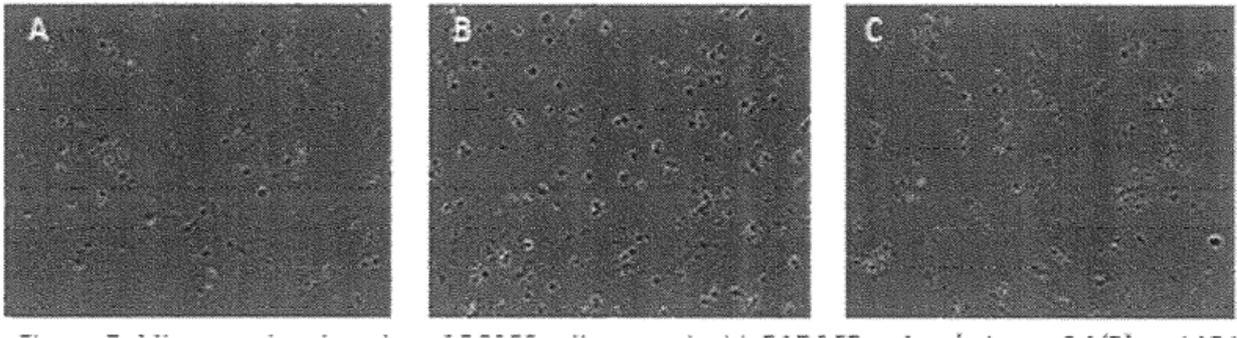


Figura 7

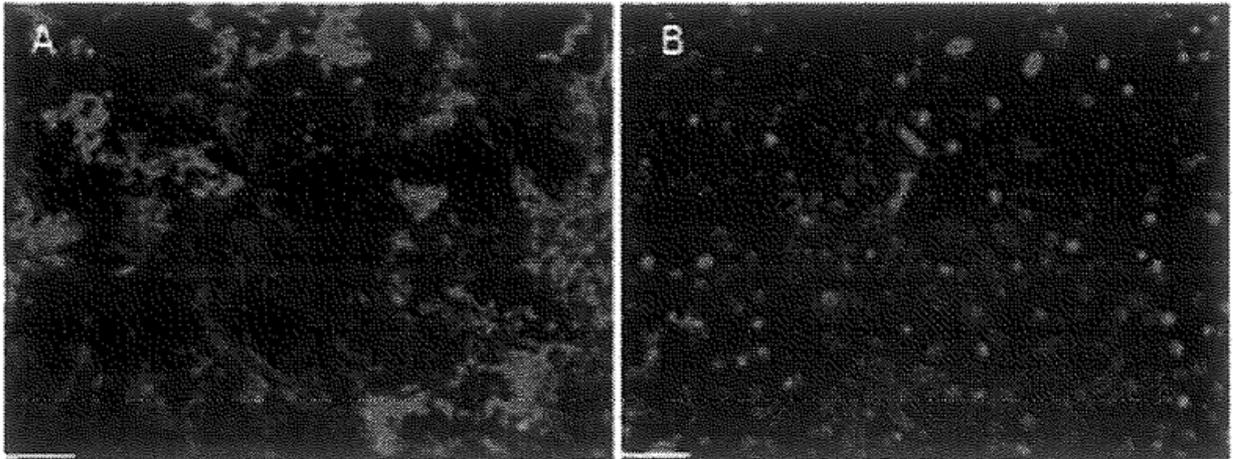


Figura 8

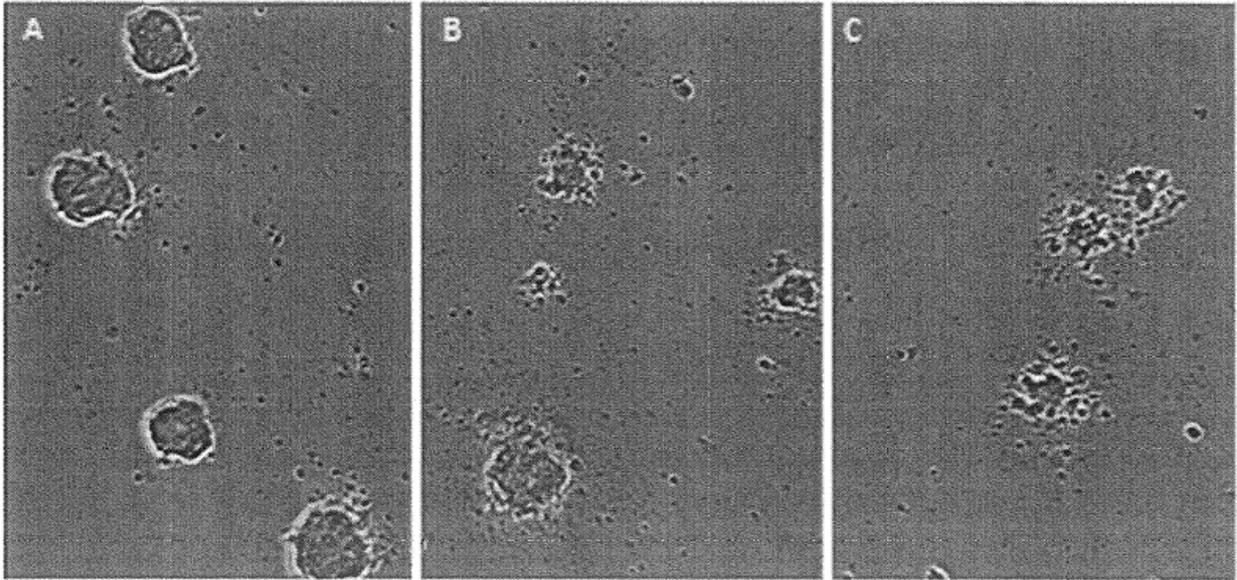


Figura 9

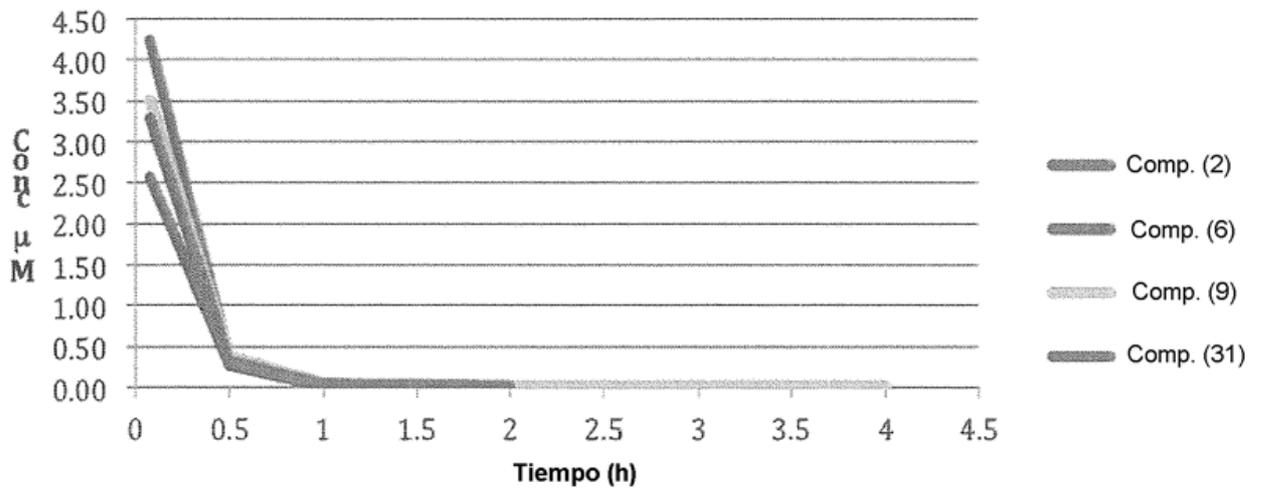


Figura 10

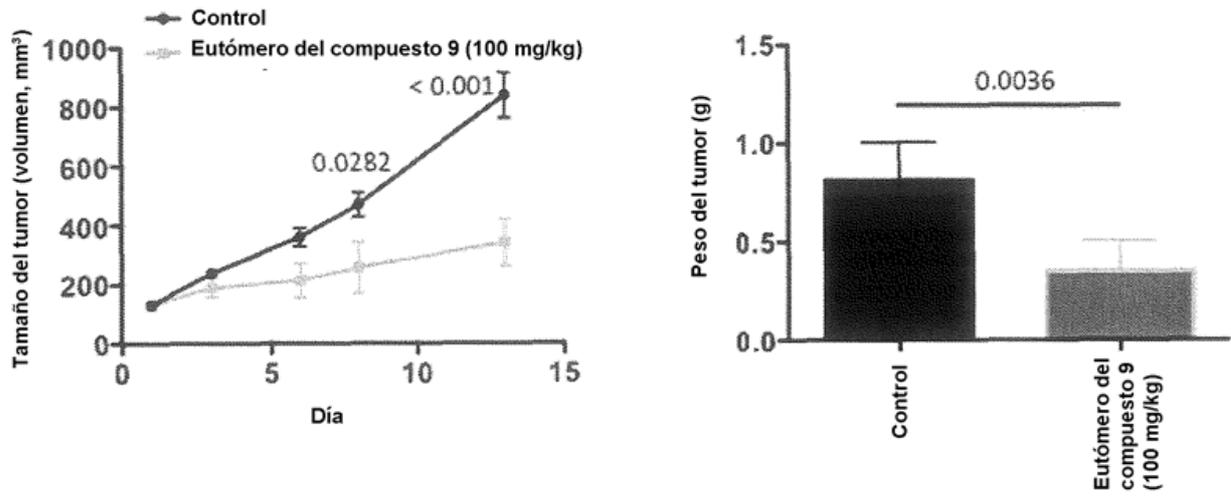


Figura 11

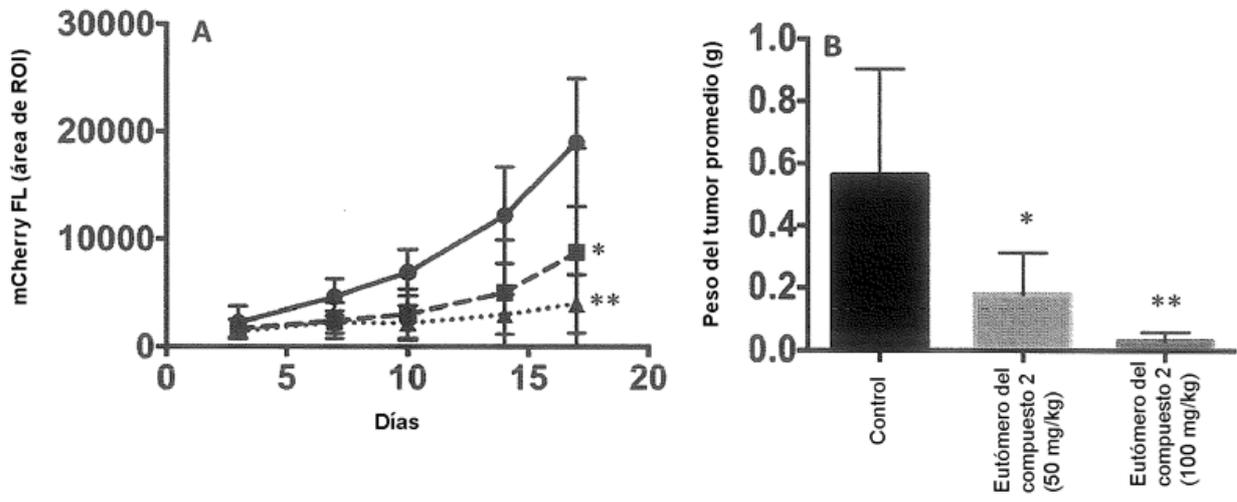


Figura 12