

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 655 243**

51 Int. Cl.:

C07H 15/252 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

A61K 31/7042 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.04.2009 PCT/CN2009/000385**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.10.2009 WO09124468**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.04.2009 E 09731373 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 2277884**

54 Título: **Derivados antibióticos de antraciclina con alta actividad, métodos de preparación y usos de los mismos**

30 Prioridad:

11.04.2008 CN 200810052710

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

19.02.2018

73 Titular/es:

TIANJIN HEMAY ONCOLOGY PHARMACEUTICAL CO., LTD (100.0%)

**No. 3 Workshop Culture Center Phase 2, 2 Jianfu Road, Xiqing Economic-Technological Development Area
Tianjin 300385, CN**

72 Inventor/es:

ZHANG, HESHENG

74 Agente/Representante:

CONTRERAS PÉREZ, Yahel

ES 2 655 243 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados antibióticos de antraciclina con alta actividad, métodos de preparación y usos de los mismos

5 **Campo**

La presente invención se refiere a derivados antibióticos de antraquinona tetracíclica con actividad anticancerígena, a procedimientos para su preparación y a su uso en la preparación de un medicamento para tratar un tumor o cáncer.

10

Antecedentes

Los antibióticos de antraquinona tetracíclica, en particular doxorubicina y daunorrubicina, se usan ampliamente como fármacos anticancerígenos. La doxorubicina tiene efectos curativos considerables en una gran cantidad de tumores sólidos incluyendo cáncer de hígado, cáncer gástrico, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de ovario y múltiples leucemias. La daunorrubicina es uno de los fármacos más eficaces para tratar leucemia. Sin embargo, debido a sus efectos secundarios tales como mielosupresión, toxicidad cardíaca, reacciones adversas del tracto digestivo y similar, sus aplicaciones clínicas son restringidas. Hasta la fecha, ya se han separado una gran cantidad de derivados de antraquinonas tetracíclicas de la naturaleza o se han preparado artificialmente. Se pretende encontrar una nueva generación de fármacos anticancerígenos con alta actividad y baja toxicidad a partir de estos derivados. La actividad a nivel celular del derivado de doxorubicina 2-pirrolinil-doxorrubicina (AN-201) preparado por Attila A. Nagy, *et al.* es 300-1000 veces la de la doxorubicina. Sin embargo, a causa de la alta toxicidad de la AN-201, no se ha observado la actividad anticancerígena con la dosis de tolerancia máxima en el modelo patológico de tumor trasplantado en ratones.

25

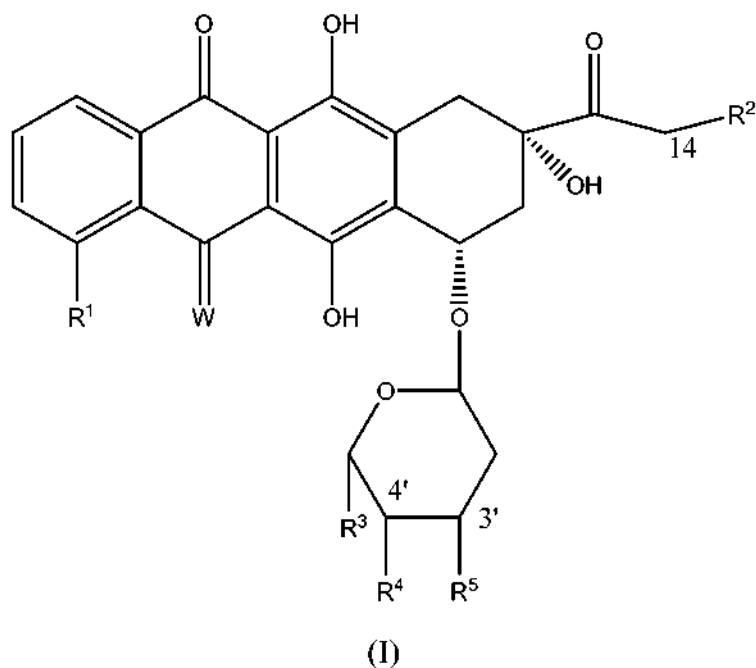
Sumario

La presente invención se refiere a derivados antibióticos de antraquinona tetracíclica con actividad anticancerígena. Los derivados antibióticos de antraquinona tetracíclica que se proporcionan en la presente invención tienen una actividad igual o mayor que la de los fármacos conocidos tales como doxorubicina, daunorrubicina y similares a nivel celular a la vez que que tienen mejor tolerancia que las de la doxorubicina y daunorrubicina en el cuerpo animal.

30

Por lo tanto, la presente invención se refiere a un compuesto representado por la fórmula (I), y a una sal o un solvato del mismo:

35



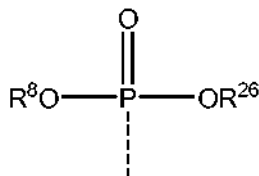
donde

40

R¹ representa H, hidrocarbilo C₁₋₄ u Ohidrocarbilo C₁₋₄;

R² representa H u OR⁶, donde, R⁶ se selecciona entre el grupo que consiste en H, C(O)R⁸, una cadena peptídica, C(O)NH₂, C(O)NR⁸R⁹, C(O)Ar-R²⁷, C(O)(hidrocarbílideno C₂₋₄)COOH y un compuesto representado por la fórmula (II); R⁸ y R⁹ representan cada uno independientemente H o hidrocarbilo C₁₋₆, o NR⁸R⁹ representa

- 5 pirrolidin-1-ilo, piperidin-1-ilo o morfolin-1-ilo; Ar representa un anillo aromático o un anillo heterocíclico aromático; R²⁷ representa de 0 a 5 grupos idénticos o diferentes seleccionados entre el grupo que consiste en F, Cl, NO₂, CN, OH, SH, COOH, NH₂, NR⁸R⁹, hidrocarbilo C₁₋₆, Ohidrocarbilo C₁₋₆, OC(O)hidrocarbilo C₁₋₆, C(O)Ohidrocarbilo C₁₋₆, Shidrocarbilo C₁₋₆, S(O)hidrocarbilo C₁₋₆ y S(O)₂hidrocarbilo C₁₋₆; la cadena peptídica
10 consiste en 2 a 4 aminoácidos naturales y/o aminoácidos no naturales;



(II)

W representa O o NH;

- 15 R³ representa H, F, Ohidrocarbilo C₁₋₄ o hidrocarbilo C₁₋₄;
R⁴ representa H, F, hidrocarbilo C₁₋₄ u OR⁷, donde R⁷ representa H, 2-piranilo o R⁶;
R⁵ representa un compuesto representado por la fórmula (V); y
R¹⁶ se selecciona entre el grupo que consiste en H, F, Cl, CN, NO₂, NH₂, OH, C(O)Ohidrocarbilo C₁₋₄,
OC(O)hidrocarbilo C₁₋₄, Ohidrocarbilo C₁₋₄, hidrocarbilo C₁₋₄, Shidrocarbilo C₁₋₆, S(O)hidrocarbilo C₁₋₆,
20 S(O)₂hidrocarbilo C₁₋₆, (hidrocarbílideno C₀₋₄)Ar-R²⁷ y NR⁸R⁹.

Como se usa en el presente documento, hidrocarbilo C₁₋₄ puede ser un hidrocarbilo lineal saturado o insaturado o un hidrocarbilo ramificado saturado o insaturado, y puede estar sustituido con 0 a 4 sustituyentes idénticos o diferentes seleccionados entre el grupo que consiste en F, Cl, CN, OH, NO₂, COOH, hidrocarbilo C₁₋₄, NHC(O)hidrocarbilo C₁₋₆,
25 NHC(O)Ar-R²⁷ y NR⁸R⁹. R⁸ y R⁹ representan cada uno independientemente H o hidrocarbilo C₁₋₆, o NR⁸R⁹ se selecciona entre el grupo que consiste en pirrolidin-1-ilo, piperidin-1-ilo y morfolin-1-ilo.

Como se usa en el presente documento, hidrocarbílideno C₂₋₄ puede ser un hidrocarbílideno lineal saturado o insaturado o un hidrocarbílideno ramificado saturado o insaturado, y puede estar sustituido con 0 a 3 sustituyentes
30 idénticos o diferentes seleccionados entre el grupo que consiste en F, Cl, CN, OH, NO₂, COOH, hidrocarbilo C₁₋₄, NHC(O)hidrocarbilo C₁₋₆, NHC(O)Ar-R²⁷ y NR⁸R⁹. R⁸ y R⁹ representan cada uno independientemente H o hidrocarbilo C₁₋₆, o NR⁸R⁹ se selecciona entre el grupo que consiste en pirrolidin-1-ilo, piperidin-1-ilo y morfolin-1-ilo.

Como se usa en el presente documento, hidrocarbílideno C₀₋₄ puede ser un hidrocarbílideno lineal saturado o
35 insaturado o un hidrocarbílideno ramificado saturado o insaturado, y puede estar sustituido con 0 a 3 sustituyentes idénticos o diferentes seleccionados entre el grupo que consiste en F, Cl, CN, OH, NO₂, COOH, hidrocarbilo C₁₋₄, NHC(O)hidrocarbilo C₁₋₆, NHC(O)Ar-R²⁷ y NR⁸R⁹. R⁸ y R⁹ representan cada uno independientemente H o hidrocarbilo C₁₋₆, o NR⁸R⁹ se selecciona entre el grupo que consiste en pirrolidin-1-ilo, piperidin-1-ilo y morfolin-1-ilo.

Como se usa en el presente documento, hidrocarbilo C₁₋₆ puede ser un hidrocarbilo lineal saturado o insaturado o un hidrocarbilo ramificado saturado o insaturado, y puede estar sustituido con 0 a 4 sustituyentes idénticos o diferentes seleccionados entre el grupo que consiste en F, Cl, CN, OH, NO₂, COOH, hidrocarbilo C₁₋₄, NHC(O)hidrocarbilo C₁₋₆,
40 NHC(O)Ar-R²⁷ y NR⁸R⁹. R⁸ y R⁹ representan cada uno independientemente H o hidrocarbilo C₁₋₆, o NR⁸R⁹ se selecciona entre el grupo que consiste en pirrolidin-1-ilo, piperidin-1-ilo y morfolin-1-ilo.

Como se usa en el presente documento, un anillo aromático o un anillo heterocíclico aromático se selecciona entre el grupo que consiste en benceno, naftaleno, piridina, pirrol, tiofeno, furano, pirimidina y pirazina.

Un compuesto representado por la fórmula (I), que es adecuado para preparar tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH₃ y OCH₃. Un compuesto de fórmula (I),
50 que es el más adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que R¹ representa H u OCH₃.

Un compuesto representado por la fórmula (I), que es adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor
55 o cáncer, es un compuesto donde R² representa H u OR⁶, donde R⁶ se selecciona entre el grupo que consiste en H, glicilo, alanilo, valilo, leucinilo, isoleucinilo, fenilalanilo, serinilo, treonilo, tirosinilo, lisinilo, 2-N,N-dimetilaminoacetilo,

2-N,N-dietil-aminoacetilo, 2-piperidilacetilo, 2-morfolinilacetilo, 2,2-dimetilglicilo, 2,2-dimetil-2-metilaminoacetilo, 2,2-dimetil-2-(N,N-dimetilamino)acetilo, 2,2-dimetil-2-etilaminoacetilo, 2,2-dimetil-2-(N,N-dietilamino)acetilo, 2,2-dimetil-2-(N,N-dipropilamino)acetilo, 2,2-dimetil-2-piperidilacetilo, 2,2-dimetil-2-pirrolinilacetilo, 2,2-dimetil-2-morfolinilacetilo, 2,2-dimetil-2-(N-metil-N-etilamino)acetilo, 2-fenilglicilo, 2-fenil-2-metilaminoacetilo, 2-fenil-2-(N,N-dimetilamino)acetilo, 5 2-fenil-2-etilaminoacetilo, 2-fenil-2-(N,N-dietilamino)acetilo, 2-fenil-2-(N,N-dipropilamino)acetilo, 2-fenil-2-piperidilacetilo, 2-fenil-2-pirrolinilacetilo, 2-fenil-2-morfolinilacetilo, 2-fenil-2-(N-metil-N-etilamino)acetilo, acetilo, propionilo, butanoilo, pentanoilo, 3-metilaminopropionilo, 3-etilaminopropionilo, 3-N,N-dimetilaminopropionilo, 3-N,N-dietilaminopropionilo, 3-N,N-dietilaminopropionilo, 3-piperidilpropionilo, 3-pirrolidinilpropionilo, 3-morfolinilpropionilo, N-glicilglicilo, N-alanilglicilo, N-valilglicilo, N-serinilglicilo, N-glicilalanilo, N-alanilalanilo, N-valilalanilo, N-serinilalanilo, N-glicilvalilo, N-alanilvalilo, 10 N-valilvalilo, N-serinilvalilo, grupo hidrogenosuccinato, grupo (3-nitro-2-carboxil)benzoato, grupo (2-carboxil)benzoato, grupo (2,4-dicarboxil)benzoato, grupo (3,4,5,6-tetrafluoro-2-carboxil)benzoato, grupo (2-carboxil-6-fluoro)benzoato y grupo (3-fluoro-2-carboxil)benzoato. Un compuesto representado por la fórmula (I), que es más adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que R^2 representa H u OR^6 , donde R^6 se selecciona entre el grupo que consiste en H, glicilo, alanilo, valilo, leucinilo, isoleucinilo, fenilalanilo, serinilo, treonilo, tirosinilo, lisinilo, 2-N,N-dimetilaminoacetilo, 2-N,N-dietilaminoacetilo, 2-piperidilacetilo, 2-morfolinilacetilo, 2,2-dimetilglicilo, 2-fenilglicilo, 3-metilaminopropionilo, 3-etilaminopropionilo, grupo hidrogenosuccinato, grupo (3-nitro-2-carboxil)benzoato, grupo (2-carboxil)benzoato, grupo (2,4-dicarboxil)benzoato, grupo (3,4,5,6-tetrafluoro-2-carboxil)benzoato, grupo (2-carboxil-6-fluoro)benzoato y grupo (3-fluoro-2-carboxil)benzoato. Un compuesto representado por la fórmula (I), que es el más adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que R^2 representa H u OR^6 , donde R^6 se selecciona entre el grupo que consiste en H, glicilo, alanilo, valilo, leucinilo, isoleucinilo, fenilalanilo, serinilo, treonilo, tirosinilo, lisinilo, 2-N,N-dimetilaminoacetilo, 2-N,N-dietil-aminoacetilo, 2-piperidilacetilo, 2-morfolinilacetilo, 2,2-dimetilglicilo, 2-fenilglicilo, grupo hidrogenosuccinato, grupo (3-nitro-2-carboxil)benzoato, grupo (2-carboxil)benzoato, grupo (2,4-dicarboxil)benzoato, grupo (3,4,5,6-tetrafluoro-2-carboxil)benzoato, grupo (2-carboxil-6-fluoro)benzoato y grupo (3-fluoro-2-carboxil)benzoato.

Un compuesto representado por la fórmula (I), que es adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que W representa O o NH. Un compuesto representado por la fórmula (I), que es el más adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que W representa O.

Un compuesto representado por la fórmula (I), que es adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que R^3 se selecciona entre el grupo que consiste en H, F, CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 y OCH_2CH_3 . Un compuesto representado por la fórmula (I), que es más adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que R^3 se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH_3 , CH_2CH_3 y OCH_3 . Un compuesto representado por la fórmula (I), que es el más adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que R^3 representa CH_3 .

Un compuesto representado por la fórmula (I), que es adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que R^4 se selecciona entre el grupo que consiste en H, F, OH, CH_3 , OCH_3 , 2-piranilo, grupo hidrogenosuccinato, grupo (3-nitro-2-carboxil)benzoato, grupo (2-carboxil)benzoato, grupo (2,4-dicarboxil)benzoato, grupo (3,4,5,6-tetrafluoro-2-carboxil)benzoato, grupo (2-carboxil-6-fluoro)benzoato y grupo (3-fluoro-2-carboxil)benzoato. Un compuesto representado por la fórmula (I), que es más adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que R^4 se selecciona entre el grupo que consiste en OH, OCH_3 , 2-piranilo y grupo hidrogenosuccinato. Un compuesto representado por la fórmula (I), que es el más adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que R^4 se selecciona entre el grupo que consiste en OH, 2-piranilo y grupo hidrogenosuccinato.

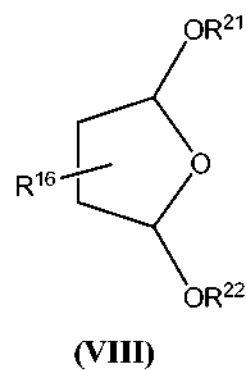
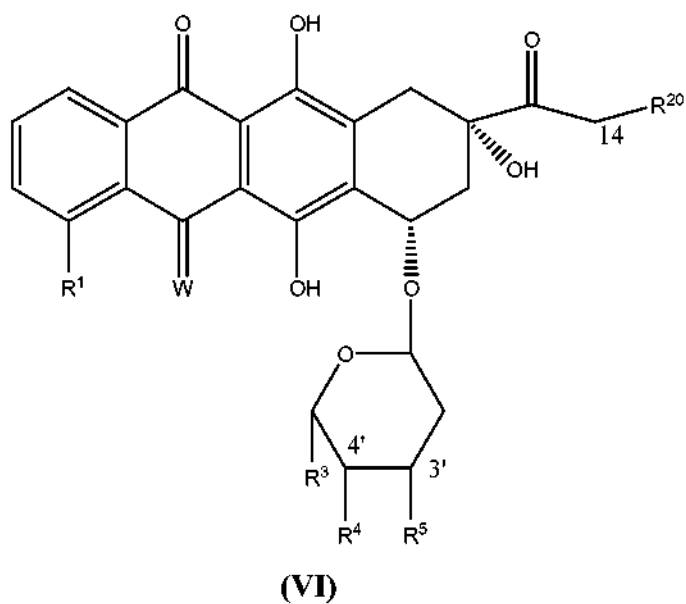
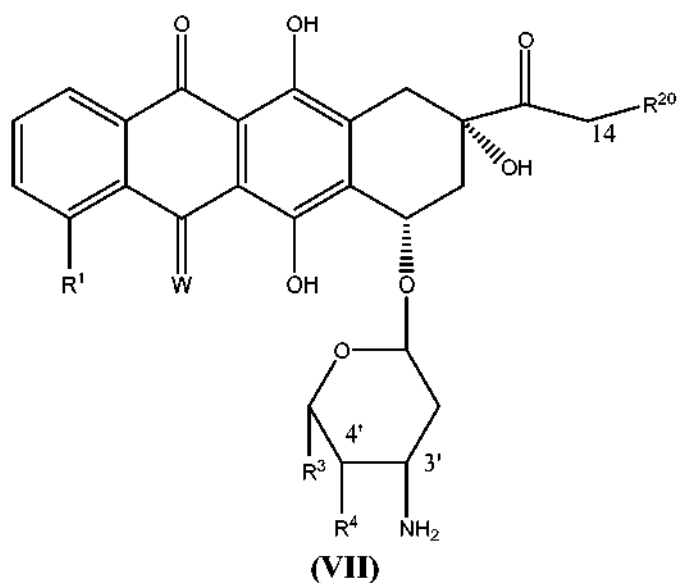
Un compuesto representado por la fórmula (I), que es adecuado para preparar un medicamento para tratar un tumor o cáncer, es un compuesto en el que R^5 es pirrol-1-ilo.

En la presente invención, un compuesto que tiene un centro quiral y no se identifica específicamente como configuración R o S en la fórmula estructural en la Memoria descriptiva y las Reivindicaciones puede ser un compuesto de configuración R, un compuesto de configuración S, o una mezcla de los mismos.

El alcance de protección en la presente invención también incluiría una sal del compuesto que se desvela en la presente invención.

La presente invención describe un procedimiento para preparar un compuesto representado por la fórmula (VI), que es un compuesto intermedio importante de un compuesto representado por la fórmula (I).

Proceso 1:



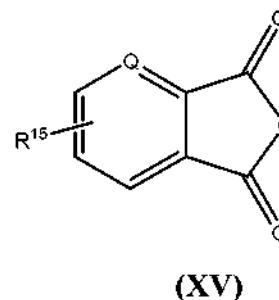
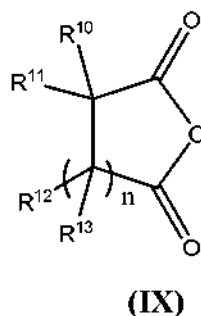
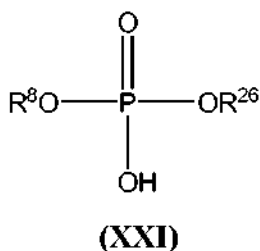
- 5 Los grupos representados por R^1 , R^3 , R^4 y W en un compuesto representado por la fórmula (VII) son iguales que los grupos representados por R^1 , R^3 , R^4 y W en un compuesto representado por la fórmula (I). R^{20} representa H u OH. Los grupos representados por R^1 , R^3 , R^4 , R^5 y W en un compuesto representado por la fórmula (VI) son iguales que los grupos representados por R^1 , R^3 , R^4 , R^5 y W en un compuesto representado por la fórmula (I). R^{20} representa H u OH. Un grupo representado por R^{16} en un compuesto representado por la fórmula (VIII) es igual que el grupo representado por R^{16} en un compuesto representado por la fórmula (V). R^{21} y R^{22} representan cada uno independientemente H o hidrocarbilo C_{1-4} .

Como se describe en el presente documento, una sal de un compuesto representado por la fórmula (VII) es una sal de un compuesto representado por la fórmula (VII) que reacciona con un ácido que se selecciona entre el grupo que
 15 consiste en ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido fórmico, ácido acético, ácido metilsulfónico, ácido benzenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico y una mezcla de los mismos.

Un compuesto representado por la fórmula (VI) se obtiene por reacción de un compuesto representado por la fórmula (VII) o una sal del mismo con un compuesto representado por la fórmula (VIII) en presencia de un reactivo
 20 ácido y/o básico, en el que el reactivo ácido se selecciona entre el grupo que consiste en ácido clorhídrico, ácido

sulfúrico, ácido fosfórico, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido pentanoico, ácido hexanoico, ácido metilsulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido málico y una mezcla de los mismos. La cantidad del reactivo ácido es de 0,05 a 500 veces (moles) de un compuesto representado por la fórmula (VII). Una cantidad más adecuada del reactivo ácido es de 0,2 a 50 veces (moles) de un compuesto representado por la fórmula (VII). La cantidad más adecuada del reactivo ácido es de 0,7 a 5 veces (moles) de un compuesto representado por la fórmula (VII). El reactivo básico se selecciona entre el grupo que consiste en carbonato potásico, carbonato de cesio, carbonato sódico, bicarbonato sódico, bicarbonato potásico, hidróxido sódico, hidróxido potásico, acetato sódico, acetato potásico, fosfato sódico, fosfato potásico, hidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato dipotásico, lactato sódico, lactato potásico, citrato sódico, citrato potásico, tartrato sódico, tartrato potásico, malato sódico, malato potásico, propionato sódico, propionato potásico, butirato sódico, butirato potásico, succinato sódico, succinato potásico, valerato sódico, valerato potásico, glutarato sódico, glutarato potásico, trietilamina, trimetilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina, 4-(pirrolidin-1-il)piridina, piridina, N-metilmorfolina y una mezcla de los mismos. La cantidad del reactivo básico que es de 0,05 a 500 veces (moles) de un compuesto representado por la fórmula (VII). Una cantidad más adecuada del reactivo básico es de 0,2 a 50 veces (moles) de un compuesto representado por la fórmula (VII). La cantidad más adecuada del reactivo básico es de 0,7 a 5 veces (moles) de un compuesto representado por la fórmula (VII). La temperatura de reacción es de -20 a 150 °C. Una temperatura de reacción más adecuada es de -10 a 100 °C. La temperatura de reacción más adecuada es de -10 a 80 °C. La reacción se lleva a cabo en un disolvente tal como diclorometano, cloroformo, N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, etilenglicol dimetil éter, etilenglicol monometil éter, etanol, metanol, isopropanol, tetrahidrofurano, acetato de etilo, acetato de metilo, propionato de metilo, propionato de etilo, etilenglicol dietil éter, etilenglicol monoetil éter, N,N-dietilformamida, 1,2-dicloroetano, acetonitrilo, agua, un compuesto representado por la fórmula (VIII) o una mezcla de los mismos. Si fuera necesario, se puede usar una base orgánica tal como trietilamina, trimetilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina, 4-(pirrolidin-1-il)piridina, piridina, N-metilmorfolina y similar como catalizador de la reacción. Cuando se usará una base orgánica como catalizador, la cantidad molar de la base orgánica es de 0,01 a 2 veces de un compuesto representado por la fórmula (VII). Una cantidad molar más adecuada de la base orgánica es de 0,05 a 0,2 veces de un compuesto representado por la fórmula (VII). La proporción de alimentación en moles de un compuesto representado por la fórmula (VII) o una sal del mismo con respecto a un compuesto representado por la fórmula (VIII) es de 1:0,1 a 1:10000. Una proporción de alimentación en moles más adecuada de un compuesto representado por la fórmula (VII) o una sal del mismo con respecto a un compuesto representado por la fórmula (VIII) es de 1:0,5 a 1:1000. La proporción de alimentación en moles más adecuada de un compuesto representado por la fórmula (VII) o una sal del mismo con respecto a un compuesto representado por la fórmula (VIII) es de 1:1 a 1:500.

Un compuesto representado por la fórmula (I) se puede obtener por reacción de un compuesto representado por la fórmula (VI) donde R²⁰ representa OH con R⁸COOH, una cadena peptídica, HOOC-Ar-R²⁷, o un compuesto representado por la fórmula (IX), un compuesto representado por la fórmula (XV) o un compuesto representado por la fórmula (XXI)



donde R⁸ en R⁸COOH representa H o hidrocarbilo C₁₋₆; R⁸ y R²⁶ en un compuesto representado por la fórmula (XXI) representan cada uno independientemente H o hidrocarbilo C₁₋₆; R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³ y R¹⁵ se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en H, F, Cl, CN, NO₂, NH₂, OH, C(O)hidrocarbilo C₁₋₄, OC(O)hidrocarbilo C₁₋₄, Ohidrocarbilo C₁₋₄, hidrocarbilo C₁₋₄, Shidrocarbilo C₁₋₆, S(O)hidrocarbilo C₁₋₆, S(O)₂hidrocarbilo C₁₋₆, (hidrocarbílido C₀₋₄)Ar-R²⁷ y NR⁸R⁹; Ar representa un anillo aromático o un anillo heterocíclico aromático; R²⁷ representa de 0 a 5 grupos idénticos o diferentes seleccionados entre el grupo que consiste en F, Cl, NO₂, CN, OH, SH, COOH, NH₂, NR⁸R⁹, hidrocarbilo C₁₋₆, Ohidrocarbilo C₁₋₆, OC(O)hidrocarbilo C₁₋₆, C(O)hidrocarbilo C₁₋₆, Shidrocarbilo C₁₋₆, S(O)hidrocarbilo C₁₋₆ y S(O)₂hidrocarbilo C₁₋₆. Una cadena peptídica tiene el carbonilo libre y el extremo N-terminal tiene de 0 a 2 grupos hidrocarbilo C₁₋₆ idénticos o diferentes o tiene un grupo protector de amino, en el que el grupo protector de amino protector se selecciona entre el grupo que consiste en Fmoc, Boc, CBZ, Tr y Alloc.

Se puede añadir un agente de condensación a la redacción. El agente de condensación se selecciona entre el grupo

- que consiste en DCC, EDC HCl, CDI, DIC y una mezcla de los mismos. La cantidad molar del agente de condensación es de 0,1-10 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). Una cantidad molar más adecuada del agente de condensación es de 0,5 a 5 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). La cantidad molar óptima del agente de condensación es de 1 a 3 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI).
- 5 (VI). La temperatura de reacción es de -10 a 120 °C. Una temperatura más adecuada es de 0 a 100 °C. La temperatura de reacción óptima es de 20 a 100 °C. La reacción se lleva a cabo en un disolvente tal como diclorometano, cloroformo, acetato de etilo, acetato de metilo, propionato de etilo, propionato de metilo, acetona, tetrahidrofurano, etilenglicol dimetil éter, etilenglicol dietil éter, N,N-dimetilformamida, N,N-dietilformamida, dimetilsulfóxido, acetonitrilo o una mezcla de los mismos. Se puede añadir opcionalmente piridina, 4-
- 10 dimetilaminopiridina, 4-dietilaminopiridina, 4-(pirrolidin-1-il)piridina o una mezcla de las mismas como catalizador de la reacción. La cantidad molar del catalizador es de 0,01 a 10 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). Una cantidad molar más adecuada del catalizador es de 0,02 a 5 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). La cantidad molar óptima del catalizador es de 0,05 a 1 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). La proporción de alimentación en moles de un compuesto representado por la fórmula (VI) con respecto a R⁸COOH, una cadena peptídica, HOOC-Ar-R²⁷ o un compuesto representado por la fórmula (XXI) es de 1:0,2 a
- 15 1:10. Una proporción de alimentación en moles más adecuada de un compuesto representado por la fórmula (VI) con respecto a R⁸COOH, una cadena peptídica, HOOC-Ar-R²⁷ o un compuesto representado por la fórmula (XXI) es de 1:0,5 a 1:7. La proporción de alimentación en moles óptima de un compuesto representado por la fórmula (VI) con respecto a R⁸COOH, una cadena peptídica, HOOC-Ar-R²⁷ o un compuesto representado por la fórmula (XXI) es de
- 20 1:0,8 a 1:5. Si fuera necesario, se puede añadir una base como agente de unión de ácido de la reacción. La base que se puede añadir a la reacción incluye, pero no se limita a, trietilamina, trimetilamina, piridina, diisopropiletilamina, N-metilmorfolina, N-metilpiperidina, N-etilpiperidina, 4-dimetilaminopiridina, 4-dietilaminopiridina, 4-(pirrolidin-1-il)piridina, carbonato potásico, carbonato sódico, bicarbonato sódico, bicarbonato potásico, carbonato de cesio, hidróxido sódico, hidróxido potásico o una mezcla de las mismas. La cantidad molar de la base que se añade a la
- 25 reacción es de 0,4 a 20 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). Una cantidad molar más adecuada de la base que se añade a la reacción es de 0,8 a 10 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). La cantidad molar óptima de la base que se añade a la reacción es de 1 a 5 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI).
- 30 A través de una reacción de desprotección convencional usada por el experto en la materia, el compuesto objeto se prepara a partir de un producto que se obtiene por reacción de un compuesto representado por la fórmula (VI) con una cadena peptídica, en la que el extremo N-terminal tiene un grupo protector. Es decir, Fmoc se puede desproteger con NH₃, aminoetanol, dimetilamina, dietilamina, piperidina, piperazina o DBU; Boc o Tr se puede desproteger con ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido fórmico, ácido trifluoroacético,
- 35 ácido metilsulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico o cloruro de hidrógeno gaseoso.

- Un compuesto representado por la fórmula (I) también se puede obtener por reacción de un compuesto representado por la fórmula (VI) donde R²⁰ representa OH con R⁸NCO, donde R⁸ representa hidrocarbilo C₁₋₆. La proporción de alimentación de un compuesto representado por la fórmula (VI) con respecto a R⁸NCO es de 1:0,5 a
- 40 1:5. Una proporción de alimentación más adecuada de un compuesto representado por la fórmula (VI) con respecto a R⁸NCO es de 1:0,7 a 1:2. La proporción de alimentación óptima de un compuesto representado por la fórmula (VI) con respecto a R⁸NCO es de 1:0,8 a 1:1,5.

- Se puede añadir a la reacción una amina terciaria tal como trimetilamina, trietilamina, piridina, diisopropiletilamina, N-
- 45 metilmorfolina, N-metilpiperidina, N-etilpiperidina, 4-dimetilaminopiridina, 4-dietilaminopiridina, 4-(pirrolidin-1-il)piridina o una mezcla de las mismas. La cantidad molar de adición de la amina terciaria es de 0,5 a 10 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). Una cantidad molar de adición más adecuada de la amina terciaria es de 0,5 a 7 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). La cantidad molar de adición óptima de la amina terciaria es de 0,5 a 3 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). Se puede añadir opcionalmente 4-
- 50 dimetilaminopiridina, 4-dietilaminopiridina, 4-(pirrolidin-1-il)piridina o una mezcla de las mismas como catalizador de la reacción. La cantidad molar de adición del catalizador es de 0,01 a 1 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). Una cantidad molar de adición más adecuada del catalizador es de 0,02 a 0,8 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). La cantidad molar de adición óptima del catalizador es de 0,05 a 0,3 veces de un compuesto representado por la fórmula (VI). La temperatura de reacción es de -10 a 120 °C. Una temperatura más
- 55 adecuada es de 0 a 100 °C. La temperatura de reacción más adecuada es de 20 a 100 °C. La reacción se lleva a cabo en un disolvente tal como diclorometano, cloroformo, acetato de etilo, acetato de metilo, propionato de etilo, propionato de metilo, acetona, tetrahidrofurano, etilenglicol dimetil éter, etilenglicol dietil éter, N,N-dimetilformamida, N,N-dietilformamida, dimetilsulfóxido, acetonitrilo o una mezcla de los mismos.

- 60 Un compuesto representado por la fórmula (I) se puede usar para preparar un medicamento para tratar cáncer o un tumor. El cáncer incluye, pero no se limita a, cáncer de intestino, cáncer de hígado, cáncer gástrico, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer renal, cáncer de cuello uterino, cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer prostático, glioma cerebral, linfoma, cáncer de piel, melanoma, cáncer de la cabeza y el cuello, cáncer de tiroides, cáncer múltiple de médula ósea y leucemia.

65

Un medicamento para tratar cáncer o un tumor que se prepara a partir de un compuesto representado por la fórmula (I) se puede usar en combinación con otros fármacos anticancerígenos, inmunopotenciadores, sinérgicos anticancerígenos, hormonas o formulaciones de medicina tradicional china adecuados, tales como fármacos anticancerígenos taxoles, fármacos anticancerígenos camptotecinas, fármacos anticancerígenos vinblastinas, ciclofosfamida, 5-fluorouracilo, talidomida, cisplatino, Revlimid, tarceva, Irresa, Gleveec y una mezcla de los mismos. Cuando se use en combinación con otro agente terapéutico, el medicamento se puede administrar simultánea o secuencialmente.

Una dosificación de un medicamento para tratar cáncer o un tumor que se prepara a partir de un compuesto representado por la fórmula (I) depende de la ruta de administración, tal como administración gastrointestinal, goteo intravenoso, administración intraperitoneal, administración intradérmica, administración intramuscular, administración intranasal o administración local. La forma de dosificación que comprende al menos un compuesto representado por la fórmula (I) comprende además un vehículo, carga, disolvente, diluyente, colorante y/o adhesivo adecuado, que sean necesarios para preparar la forma de dosificación.

Una forma de dosificación de un medicamento para tratar cáncer o un tumor que se prepara a partir de un compuesto representado por la fórmula (I) es preferentemente una forma de inyección, que incluye, pero no se limita a, inyección en polvo, inyección en polvo liofilizado, hidroinyección, emulsión y suspensión.

Abreviaturas: Su: succinimido; Bt: benzotriazol-1-ilo; At: 7-azabenzotriazol-1-ilo; Fmoc: (9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo; Boc: terc-butoxicarbonilo; CBZ: benciloxicarbonilo; Tr: trimetilfenilo; Alloc: aliloxicarbonilo; DBU: 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno.

Realizaciones específicas

Ejemplo 1: 3'-pirrolidoxorrubicina

A un matraz de tres bocas de 1 l se añadieron 3,076 g de clorhidrato de doxorrubicina, 300 ml de agua destilada, 300 ml de 1,2-dicloroetano, 30 ml de 2,5-dimetoxitetrahydrofurano y 6 ml de ácido acético glacial. La mezcla se calentó a reflujo en atmósfera de argón. Después de que se completara la reacción, la solución de reacción se enfrió a la temperatura ambiente. La solución de reacción se vertió en 200 ml de agua en hielo. La mezcla se puso a separar. La fase orgánica se lavó una vez con 200 ml de solución saturada de cloruro sódico y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se sometió a evaporación rotatoria. Con agitación en un baño de hielo, se añadieron 100 ml de solución acuosa al 5 % de bicarbonato sódico a la fase acuosa. La mezcla se extrajo con cloroformo (50 ml x 3) y las fases de cloroformo se combinaron. La fase de cloroformo combinada se lavó una vez con 100 ml de solución saturada de cloruro sódico. La mezcla se filtró y se sometió a evaporación rotatoria para retirar el disolvente. El producto en bruto resultante se combinó con el producto en bruto anterior. El producto resultante se purificó por cromatografía en columna y se eluyó con cloroformo: metanol = 35: 1. Se obtuvieron 2,91 g del producto. MS: 592 (M - 1).

Los compuestos de los Ejemplos 2 a 6 se prepararon de la misma forma que se ha descrito en el Ejemplo 1:

Ejemplo 2: 3'-pirrolil-5-iminodaunomicina, MS: 576 (M - 1).

Ejemplo 3: 3'-pirrolil-idarrubicina, MS: 547 (M - 1).

Ejemplo 4: 3'-pirrolil-esorrubicina, MS: 577 (M - 1).

Ejemplo 5: 3'-pirrolidoxorrubicina, MS: 577 (M - 1).

Ejemplo 6: 3'-pirrolil-4'-(piran-2-il)doxorrubicina, MS: 677 (M - 1).

Ejemplo 13: 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-hidrogenosuccinato

Se añadieron 845 mg de 3'-pirrolidoxorrubicina a un matraz de boca única de 50 ml y se disolvieron con 20 ml de cloroformo. La temperatura se disminuyó a -10 °C en atmósfera de argón. Se añadieron 704 mg de DMAP y 570 mg de anhídrido succínico. La mezcla se agitó durante una noche. Después de que se completara la reacción, se añadieron 300 ml de cloroformo a la solución de reacción. La mezcla se lavó una vez con 100 ml de solución acuosa al 5 % de ácido cítrico, se lavó una vez con 100 ml de solución saturada de cloruro sódico, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se sometió a evaporación rotatoria. Se obtuvo un producto en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna y se eluyó con cloroformo: metanol: ácido acético glacial = 475: 25: 5. Se obtuvieron 238 mg del producto. MS: 692 (M - 1).

Los siguientes compuestos se prepararon de la misma forma que se ha descrito en el Ejemplo 13:

Ejemplo 14: 3'-pirrolil-esorrubicin-14-oxo-hidrogenosuccinato, MS: 676 (M - 1).

Ejemplo 15: 3'-pirrolil-4'-(piran-2-il)doxorrubicin-14-oxo-hidrogenosuccinato, MS: 776 (M - 1).

Ejemplo 21: 3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-hidrogenodisuccinato, MS: 792 (M - 1).

Ejemplo 22: 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-hidrogenomaleato, MS: 690 (M - 1).

- Ejemplo 23: 3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-hidrogenodimaleato, MS: 788 (M - 1).
 Ejemplo 24: 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-hidrogenoglutarato, MS: 730 (M + Na).
 Ejemplo 25: 3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-hidrogenodiglutarato, MS: 820 (M - 1).

5 Ejemplo 26, 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(3-nitro-2-carboxil)benzoato

Se añadieron 50 mg de 3'-pirrolidoxorrubicina a un matraz de boca única de 50 ml y se disolvieron con 2,5 ml de cloroformo. La temperatura se disminuyó a -5 °C en atmósfera de argón. Se añadieron 42 mg de DMAP y 65 mg de anhídrido 3-nitroftálico. La mezcla se agitó durante una noche. Después de que se completara la reacción, se añadieron 150 ml de cloroformo a la solución de reacción. La mezcla se lavó una vez con 100 ml de solución acuosa al 5 % de ácido cítrico. La fase orgánica se lavó una vez con 100 ml de solución saturada de cloruro sódico, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se sometió a evaporación rotatoria. Después de purificar por cromatografía en capa fina y revelar con cloroformo: metanol: ácido acético glacial = 450: 50: 5, se obtuvo el producto del título. MS: 785 (M - 1).

15 Los compuestos de los Ejemplos 27 a 37 se prepararon de la misma forma que se ha descrito en el Ejemplo 26:

- Ejemplo 27: 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(3-fluoro-2-carboxil)benzoato, MS: 758 (M - 1).
 Ejemplo 28: 3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-bis(3-fluoro-2-carboxil)benzoato, MS: 925.
 20 Ejemplo 29: 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(2-carboxil-6-fluoro)benzoato, MS: 758 (M - 1).
 Ejemplo 30: 3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-bis(6-fluoro-2-carboxil)benzoato, MS: 925.
 Ejemplo 31: 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(3,4,5,6-tetrafluoro-2-carboxil)benzoato, MS: 812 (M - 1).
 Ejemplo 32: 3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-bis(3,4,5,6-tetrafluoro-2-carboxil)benzoato, MS: 1033 (M).
 Ejemplo 33: 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(2,4-dicarboxil)benzoato, MS: 784 (M - 1).
 25 Ejemplo 34: 3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-bis(2,4-dicarboxil)benzoato, MS: 978 (M).
 Ejemplo 35: 3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-bis(2-carboxil)benzoato, MS: 889 (M).
 Ejemplo 36: 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(3-carboxil)piridina-2-formiato, MS: 741 (M - 1).
 Ejemplo 37: 3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-(3-nitro-2-carboxil)dibenzoato, MS: 978 (M - 1).

30 Ejemplo 38: clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-alaninato

Se añadieron 59,3 mg de 3'-pirrolidoxorrubicina y 10 ml de diclorometano (secado con tamices moleculares) a un matraz de boca única de 50 ml y se agitaron en atmósfera de argón. Se añadieron 63 mg de Boc-alanina, 38 mg de EDC HCl y 12 mg de DMAP. Después de que se completara la reacción, se añadieron 50 ml de diclorometano. La mezcla se lavó una vez con 100 ml de agua. La fase acuosa se extrajo de nuevo con diclorometano una vez y se combinó con la fase orgánica. La fase resultante se lavó con 100 ml de solución saturada de cloruro sódico una vez, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se sometió a evaporación rotatoria. Después de purificar por cromatografía en capa fina y revelar con cloroformo: metanol = 35: 1, se obtuvieron 43 mg del producto. El compuesto resultante se disolvió con 1 ml de tetrahidrofurano (se reevaporó) y se introdujo argón gaseoso. La temperatura se disminuyó a -5 °C. Se añadió 1 ml de solución de cloruro de hidrógeno en dietil éter. La mezcla se agitó durante 2 horas y a continuación se filtró. La torta del filtro se eluyó tres veces con dietil éter para obtener el compuesto del título. MS: 665 (M + 1).

Los siguientes compuestos se prepararon de la misma forma que se ha descrito en el Ejemplo 38:

- 45 Ejemplo 39: clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-valinato, MS: 693 (M + 1).
 Ejemplo 40: clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-glicinato, MS: 651 (M + 1).
 Ejemplo 41: clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-leucinato, MS: 707 (M + 1).
 Ejemplo 42: clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(2,2-dimetil)glicinato, MS: 679 (M + 1).
 50 Ejemplo 43: clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(2-fenil)glicinato, MS: 727 (M + 1).
 Ejemplo 44: 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-2-dietilaminoacetato, MS: 707 (M + 1).
 Ejemplo 45: 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-2-morfolinilacetato, MS: 720 (M + 1).
 Ejemplo 46: clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(N-glicil)valinato, MS: 750 (M + 1).
 Ejemplo 47: clorhidrato de 3'-pirrolil-esorrubicin-14-oxo-glicinato, MS: 635 (M + 1).
 55 Ejemplo 48: clorhidrato de 3'-pirrolil-4'-(piran-2-il)doxorrubicin-14-oxo-glicinato, MS: 735 (M + 1).
 Ejemplo 54: clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-p-alaninato, MS: 697 (M + 1).

Ensayo de citotoxicidad (ensayo MTS)

60 I. Cepas celulares y reactivos

- MCF-7: cepas de células de cáncer de mama humano;
 HCT-8: cepas de células de cáncer de colon humano;
 HEPG-2: cepas de células de cáncer de hígado humano;
 65 A549: cepas de células de cáncer de pulmón humano;

LOVO: cepas de células de cáncer de colon humano; solución de cultivo RPMI 1640; MTT: azul de tetrazolio; DMSO: dimetilsulfóxido; placa de cultivo celular de 96 pocillos; compuesto antitumoral (preparado por Tianjin Hemay Bio-tech co. Ltd); fármaco control positivo: doxorrubicina (preparado por Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co. Ltd.).

II. Determinación de la actividad de inhibición del crecimiento celular

1. Cultivo celular y tratamiento de fármaco:

Se sembraron células en solución de cultivo celular RPMI 1640 que contenía un 10 % de suero bovino fetal (se complementó con 100 ku/l de penicilina y 100 ku/l de estreptomycin). La placa de cultivo se puso en una incubadora celular que contenía un 5 % de CO₂ a 37 °C. La solución de cultivo se cambió una vez cada 2-3 días. Las células se digirieron con tripsina líquida al 0,25 %, se subcultivaron y se recogieron.

Las células durante la fase de crecimiento logarítmico se formularon en una suspensión celular que tenía una concentración deseada con solución de cultivo celular RPMI 1640 que contenía un 10 % de suero bovino fetal. La suspensión celular se añadió a una placa de cultivo celular de 96 pocillos a 3000-5000 por pocillo (100 µl). Después de incubar durante 24 horas, se añadieron por pocillo 100 µl de las sustancias de ensayo con diferente concentración. Había cuatro pocillos paralelos para cada concentración en esta placa. Después de incubar durante 72 a 120 horas, se descartó el sobrenadante. Se añadieron a cada pocillo 100 µl de la nueva solución de cultivo exenta de suero formulada con 0,5 mg/ml de MTT. Después de incubar durante 4 horas a 37 °C, se descartó el sobrenadante. Se disolvió formazano con 200 µl de DMSO. Después de oscilar ligeramente durante 15 min, se determinaron los valores de absorbancia (valor de DO) a la longitud de onda de detección de 570 nm y la longitud de onda de referencia de 450 nm con un instrumento de marcado enzimático.

2. Procesamiento de datos

Los datos se representan mediante $x \pm s$. Tasa de inhibición = (valor de DO del grupo de control - valor de DO del grupo de administración) / valor de DO del grupo de control) x 100 %. La tasa de inhibición máxima I_{max} y la concentración semieficaz (CI_{50}) representan los efectos anticancerígenos. Las figuras se representaron con el software MicroCal Origin. La curva de inhibición de la sustancia de ensayo para el crecimiento de células tumorales se ajustó mediante el Programa Logístico de Cuatro Parámetros del software. Se calculó la concentración semieficaz (CI_{50} : µg/ml) para inhibir la proliferación de células tumorales.

3. Resultados

Las concentraciones de exposición de la sustancia de ensayo fueron 0,001 µg/ml, 0,003 µg/ml, 0,009 µg/ml, 0,027 µg/ml, 0,082 µg/ml, 0,247 µg/ml, 0,741 µg/ml, 2,222 µg/ml, 6,667 µg/ml y 20 µg/ml. Las concentraciones de exposición de la doxorrubicina (fármaco positivo) fueron 1,25 µg/ml, 5 µg/ml, 20 µg/ml. En una placa de 96 pocillos, se inocularon 3000-5000 células en cada pocillo y había cuatro pocillos paralelos para cada concentración. La Tabla 1 enumera la tasa de inhibición del crecimiento de los compuestos frente a células Lovo a una concentración de 1 µM. La Tabla 2 enumera la actividad de inhibición de los compuestos frente a diversas células tumorales. La Tabla 3 enumera la tasa de inhibición de los compuestos frente a una hiperplasia de células de cáncer de mama humano MCF-7 a diversas concentraciones.

Tabla 1: tasa de inhibición del crecimiento de los compuestos frente a células Lovo a una concentración de 1 µM

compuestos	Tasa de inhibición de crecimiento (%)	Compuestos	Tasa de inhibición del crecimiento (%)
Doxorrubicina	50,35	Ejemplo 5	67,25
Ejemplo 1	80,62	Ejemplo 6	90,94
Ejemplo 2	74,0	Ejemplo 7	83,31
Ejemplo 3	88,9	Ejemplo 13	76,05
Ejemplo 4	40,71	Ejemplo 38	78,44

Tabla 2: actividad de inhibición de los compuestos frente a células tumorales

Compuestos	Concentración semi-inhibidora del crecimiento celular (CE_{50}) (µM)			
	Células MCF-7	Células HCT-8	HEPG-2	Células A549

Compuestos	Concentración semi-inhibidora del crecimiento celular (CE ₅₀) (µM)			
	Células MCF-7	Células HCT-8	HEPG-2	Células A549
Doxorrubicina	1,2	0,9	2,0	0,66
Ejemplo 1	0,21	0,49	0,81	0,061
Ejemplo 13	0,93	1,87	0,15	2,36
Ejemplo 38	0,87	0,59	1,06	0,23

Tabla 3: efectos de inhibición del compuesto del Ejemplo 1 en hiperplasia de células de cáncer de mama humano MCF-7

Concentración del compuesto (µg/ml)	A570 nm-Valores de DO	Tasa de inhibición (%)	Parámetros principales
0	1,701 ± 0,161		CI ₅₀ = 0,06023 ± 0,01528 µg/ml I _{max} = 83,03 %
0,001	1,629 ± 0,257	4,27	
0,003	1,744 ± 0,176	-2,49	
0,009	1,443 ± 0,079	15,17	
0,027	1,238 ± 0,072	27,22	
0,082	0,883 ± 0,041	48,09	
0,247	0,703 ± 0,058	58,68	
0,741	0,461 ± 0,026	72,89	
2,222	0,302 ± 0,030	82,26	
6,667	0,320 ± 0,030	81,18	
20	0,289 ± 0,019	83,03	

5 La actividad de los compuestos de ensayo es equivalente a o ligeramente mejor que la actividad de la doxorrubicina. Además, los compuestos de ensayo tienen mejores efectos de inhibición del crecimiento en diversas cepas de células tumorales humanas, tales como cepas de células LOVO de cáncer de colon humano, cepas de células MCF-7 de cáncer de mama humano, cepas de células HCT-8 de cáncer de colon, cepas de células HEPG-2 de cáncer de hígado y cepas de células A549 de cáncer de pulmón.

10

Ejemplo 1: informe de ensayo MTD *in vivo* en ratones

Fin del experimento: investigación preliminar de la toxicidad *in vivo* del compuesto del Ejemplo 1 en ratones.

15 Animal del experimento: ratones blancos Kunming de 20 ± 2 g, adquiridos en el alojamiento animal del Instituto de Medicina de Radiación, Academia China de Ciencias Médicas. Licencia de animales n.º SCXK(JIN)2005-0001.

Fármaco del experimento: compuesto del Ejemplo 1.

20 Preparación de la solución de fármaco: después de agitar vorticialmente el fármaco con un 0,5 % (v/v) de DMSO, se añadió un 5 % (v/v) de RH40 (aceite de ricino hidrogenado etoxilado). Después de mezclar vorticialmente, se determinó el volumen con solución salina normal.

Esquema del experimento:

25

(1) Administración individual: nueve ratones blancos macho Kunming sanos, cuyos pesos corporales son 20 ± 2 g, se dividieron en tres grupos: 2 ratones que pertenecen al grupo de control; 6 ratones que pertenecen al grupo de 20 mg/kg; 1 ratón que pertenece al grupo de 30 mg/kg. Se administraron 20 mg/kg y 30 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1 una vez a través de inyección en la vena de la cola al ratón del grupo de administración. Se administró el mismo volumen de un disolvente como control al ratón del grupo de control. Después de la administración, se observaron condiciones tales como movimiento, reflejos, actividad locomotora y similar de los ratones en una hora. Posteriormente, se registraron los pesos corporales de los ratones cada día.

30

Habiendo observado durante 14 días después de la retirada del fármaco, los ratones se anatomizaron para observar si los órganos principales tenían alguna anomalía evidente.

- 5 (2) Administraciones múltiples: doce ratones blancos Kunming sanos incluyendo seis ratones macho y seis ratones hembra, cuyos pesos corporales son 20 ± 2 g, se dividieron en dos grupos: 1 ratón que pertenece al grupo de control; 5 ratones que pertenecen al grupo de 10 mg/kg. Se administraron 10 mg/kg del fármaco de ensayo una vez cada tres días a través de inyección en la vena de la cola al ratón del grupo de administración. Se administró el mismo volumen de un disolvente como control al ratón del grupo de control. Los ratones de cada grupo se administraron cinco veces. Después de cada administración, se observaron condiciones tales como movimiento, reflejos, actividad locomotora y similar de los ratones en una hora. Los pesos corporales de los ratones se registraron cada día. Habiéndose alimentando normalmente durante una semana después de la retirada del fármaco, los ratones se anatomizaron para observar si los órganos principales tenían alguna anomalía evidente.
- 10

Resultados del experimento:

15

1. Tasa de mortalidad:

- (1) Administración individual: no se registró ninguna muerte.
(2) Administraciones múltiples: no se registró ninguna muerte.

20

2. Cambio de peso corporal:

(1) Administración individual: el peso corporal de cada ratón aumentó después de la administración, y no se observó ninguna anomalía evidente en la superficie corporal.

25

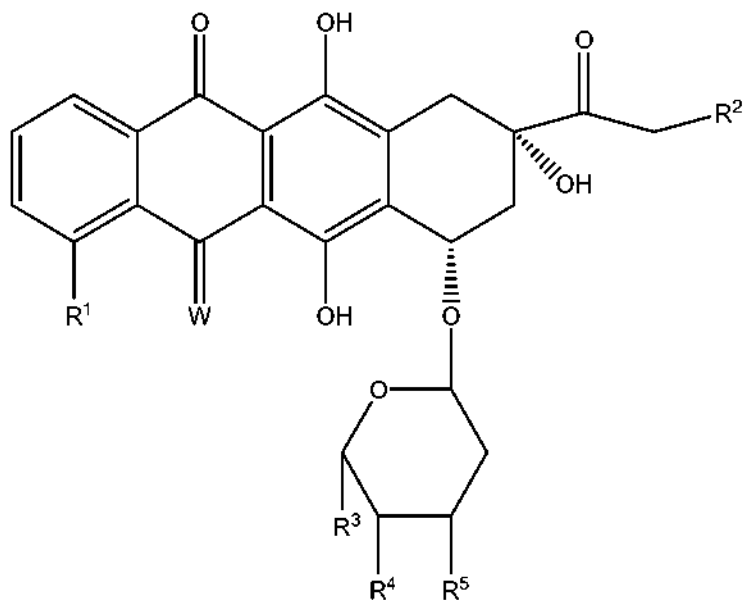
(2) Administraciones múltiples: el peso corporal de cada ratón aumentó lentamente después de la administración, y no se observó ninguna anomalía evidente en la superficie corporal.

Conclusión:

- 30 La dosis de tolerancia máxima (MTD) del compuesto de ensayo es al menos más de cinco veces mayor que la de la doxorubicina (MTD: 8-12 mg/kg).

REIVINDICACIONES

1. Compuesto representado por la fórmula (I), una sal o un solvato del mismo:



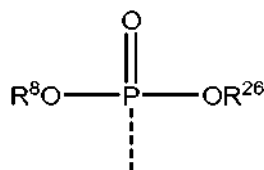
(I)

5

donde R¹ representa H, hidrocarbilo C₁₋₄ u Ohidrocarbilo C₁₋₄;
 R² representa H u OR⁶, donde, R⁶ se selecciona entre el grupo que consiste en H, C(O)R⁸, una cadena peptídica,
 C(O)NH₂, C(O)NR⁸R⁹, C(O)Ar-R²⁷, C(O)(hidrocarbilibideno C₂₋₄)COOH y un grupo representado por la fórmula (II);
 R⁸ y R⁹ representan cada uno independientemente H o hidrocarbilo C₁₋₆, o NR⁸R⁹ representa pirrolidin-1-ilo,
 piperidin-1-ilo o morfolin-1-ilo; Ar representa un anillo aromático o un anillo heterocíclico aromático; R²⁷
 representa de 0 a 5 grupos idénticos o diferentes seleccionados entre el grupo que consiste en F, Cl, NO₂, CN,
 OH, SH, COOH, NH₂, NR⁸R⁹, hidrocarbilo C₁₋₆, Ohidrocarbilo C₁₋₆, OC(O)hidrocarbilo C₁₋₆, C(O)Ohidrocarbilo C₁₋₆,
 Shidrocarbilo C₁₋₆, S(O)hidrocarbilo C₁₋₆ y S(O)₂hidrocarbilo C₁₋₆; una cadena peptídica representa un
 aminoácido natural individual, un aminoácido no natural individual o una cadena peptídica que consiste en de 2 a
 4 aminoácidos naturales y/o aminoácidos no naturales;

10

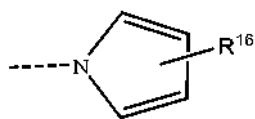
15



(II)

20

W representa O o NH;
 R³ representa H, F, Ohidrocarbilo C₁₋₄ o hidrocarbilo C₁₋₄;
 R⁴ representa H, F, hidrocarbilo C₁₋₄ u OR⁷, donde R⁷ representa H, 2-piranilo o R⁶;
 R⁵ está representado por la fórmula (V);



(V)

25

y R¹⁶ se selecciona entre el grupo que consiste en H, F, Cl, CN, NO₂, NH₂, OH, C(O)hidrocarbilo C₁₋₄, OC(O)hidrocarbilo C₁₋₄, Ohidrocarbilo C₁₋₄, hidrocarbilo C₁₋₄, Shidrocarbilo C₁₋₆, S(O)hidrocarbilo C₁₋₆, S(O)₂hidrocarbilo C₁₋₆, (hidrocarbildenio C₀₋₄)Ar-R²⁷ y NR⁸R⁹.

5 2. Un compuesto representado por la fórmula (I), una sal o un solvato del mismo de la reivindicación 1, donde R¹ representa H, OH u OCH₃.

3. Un compuesto representado por la fórmula (I), una sal o un solvato del mismo de la reivindicación 1, donde W representa O.

10

4. Un compuesto representado por la fórmula (I), una sal o un solvato del mismo de la reivindicación 1, donde R² se selecciona entre el grupo que consiste en H, OH, grupo hidrogenosuccinato, grupo hidrogenoglutarato, grupo hidrogenomaleato, grupo (3-nitro-2-carboxil)benzoato, grupo (3-fluoro-2-carboxil)benzoato, grupo (2-carboxil-6-fluoro)benzoato, grupo (3,4,5,6-tetrafluoro-2-carboxil)benzoato, grupo (2,4-dicarboxil)benzoato, grupo (2-

15

carboxil)benzoato, grupo (3-carboxil)piridina-2-formiato, grupo alaninato, grupo valinato, grupo glicinato, grupo leucinato, grupo (2,2-dimetil)glicinato, grupo (2-fenil)glicinato, grupo 2-dietilaminoacetato, grupo 2-morfolinilacetato y grupo (N-glicil)valinato.

5. Un compuesto representado por la fórmula (I), una sal o un solvato del mismo de la reivindicación 1, donde R³ representa H o CH₃.

20

6. Un compuesto representado por la fórmula (I), una sal o un solvato del mismo de la reivindicación 1, donde R⁴ se selecciona entre el grupo que consiste en H, F, OH, OCH₃, 2-piranilo, grupo hidrogenosuccinato, grupo (3-nitro-2-carboxil)benzoato, grupo (2-carboxil)benzoato, grupo (2,4-dicarboxil)benzoato, grupo (3,4,5,6-tetrafluoro-2-

25

carboxil)benzoato, grupo (2-carboxil-6-fluoro)benzoato y grupo (3-fluoro-2-carboxil)benzoato.

7. Un compuesto representado por la fórmula (I), una sal o un solvato del mismo de la reivindicación 1, donde R⁵ es pirrol-1-ilo.

30 8. Un compuesto representado por la fórmula (I), una sal o un solvato del mismo de la reivindicación 1, donde el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en:

3'-pirrolidoxorrubicina,

3'-pirrolil-5-iminodaunomicina,

35

3'-pirrolil-idarrubicina,

3'-pirrolil-esorrubicina,

3'-pirrolil-4'-(piran-2-il)doxorrubicina,

3'-pirrolil-esorrubicin-14-oxo-hidrogenosuccinato,

3'-pirrolil-4'-(piran-2-il)doxorrubicin-14-oxo-hidrogenosuccinato,

40

3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-hidrogenodisuccinato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-hidrogenomaleato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-hidrogenodimaleato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-hidrogenoglutarato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-hidrogenodiglutarato,

45

3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(3-nitro-2-carboxil)benzoato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(3-fluoro-2-carboxil)benzoato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-bis(3-fluoro-2-carboxil)benzoato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(2-carboxil-6-fluoro)benzoato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-bis(6-fluoro-2-carboxil)benzoato,

50

3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(3,4,5,6-tetrafluoro-2-carboxil)benzoato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-bis(3,4,5,6-tetrafluoro-2-carboxil)benzoato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(2,4-dicarboxil)benzoato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-bis(2,4-dicarboxil)benzoato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-bis(2-carboxil)benzoato,

55

3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(3-carboxil)piridina-2-formiato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14,4'-oxo-(3-nitro-2-carboxil)dibenzoato,

clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-alaninato,

clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-valinato,

clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-glicinato,

60

clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-leucinato,

clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(2,2-dimetil)glicinato,

clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(2-fenil)glicinato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-2-dietilaminoacetato,

3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-2-morfolinilacetato,

65

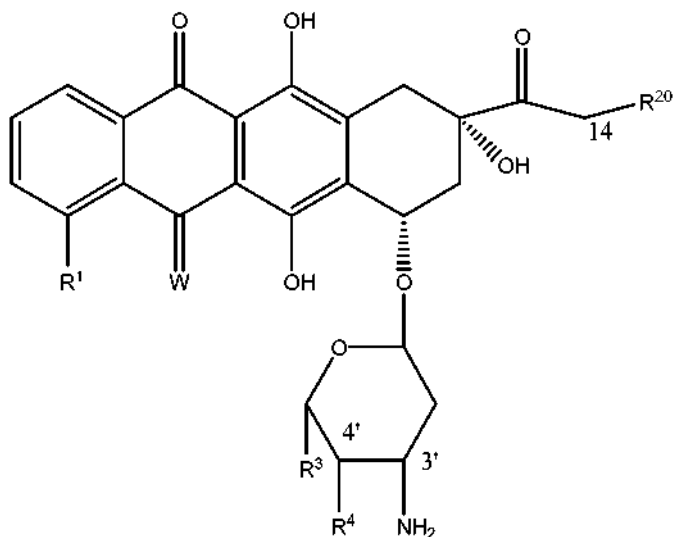
clorhidrato de 3'-pirrolidoxorrubicin-14-oxo-(N-glicil)valinato,

clorhidrato de 3'-pirrolil-esorrubicin-14-oxo-glicinato,
 clorhidrato de 3'-pirrolil-4'-(piran-2-il)doxorubicin-14-oxo-glicinato,
 clorhidrato de 3'-pirrolildoxorubicin-14-oxo-p-alaninato.

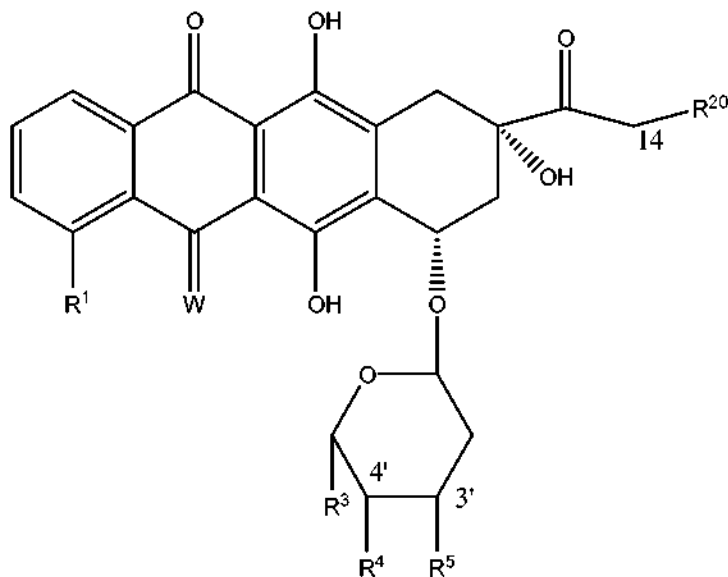
5 9. Procedimiento para preparar un compuesto representado por la fórmula (I) de la reivindicación 1, que comprende:

- hacer reaccionar un compuesto representado por la fórmula (VII) o una sal del mismo con un compuesto representado por la fórmula (VIII) en presencia de un reactivo ácido y/o básico para obtener un compuesto representado por la fórmula (VI);

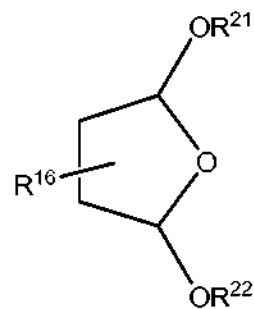
10



(VII)



(VI)

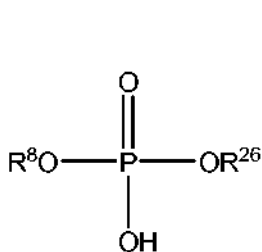


(VIII)

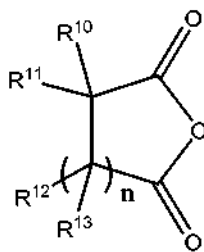
donde

15 los grupos representados por R¹, R³, R⁴ y W en un compuesto representado por la fórmula (VII) son iguales que los grupos representados por R¹, R³, R⁴ y W en un compuesto representado por la fórmula (I) de la reivindicación 1; R²⁰ representa H u OH; los grupos representados por R¹, R³, R⁴, R⁵ y W en un compuesto representado por la fórmula (VI) son iguales que los grupos representados por R¹, R³, R⁴, R⁵ y W en un compuesto representado por

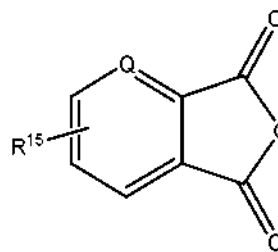
- la fórmula (I) de la reivindicación 1; R^{20} representa H u OH; un grupo representado por R^{16} en un compuesto representado por la fórmula (VIII) es igual que el grupo representado por R^{16} en un compuesto representado por la fórmula (V) de la reivindicación 1; R^{21} y R^{22} representan cada uno independientemente H o hidrocarbilo C_{1-4} ; y
- 5 • hacer reaccionar un compuesto representado por la fórmula (VI) donde R^{20} representa OH con R^8COOH , una cadena peptídica, $HOOC-Ar-R^{27}$, un compuesto representado por la fórmula (IX), un compuesto representado por la fórmula (XV), un compuesto representado por la fórmula (XXI) o R^8NCO para obtener un compuesto representado por la fórmula (I);



(XXI)



(IX)



(XV)

- en las que R^8 en R^8COOH representa H o hidrocarbilo C_{1-6} ; R^8 y R^{26} en un compuesto representado por la fórmula (XXI) representan cada uno independientemente H o hidrocarbilo C_{1-6} ; R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} y R^{15} se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en H, F, Cl, CN, NO_2 , NH_2 , OH, $C(O)O$ hidrocarbilo C_{1-4} , $OC(O)$ hidrocarbilo C_{1-4} , O hidrocarbilo C_{1-4} , hidrocarbilo C_{1-4} , Shidrocarbilo C_{1-6} , $S(O)$ hidrocarbilo C_{1-6} , $S(O)_2$ hidrocarbilo C_{1-6} , (hidrocarbílideno C_{0-4}) $Ar-R^{27}$ y NR^8R^9 ; Ar representa un anillo aromático o un anillo heterocíclico aromático; R^{27} representa 0-5 grupos idénticos o diferentes seleccionados entre el grupo que
- 10 consiste en F, Cl, NO_2 , CN, OH, SH, $COOH$, NH_2 , NR^8R^9 , hidrocarbilo C_{1-6} , O hidrocarbilo C_{1-6} , $OC(O)$ hidrocarbilo C_{1-6} , $C(O)O$ hidrocarbilo C_{1-6} , Shidrocarbilo C_{1-6} , $S(O)$ hidrocarbilo C_{1-6} y $S(O)_2$ hidrocarbilo C_{1-6} , una cadena peptídica tiene un carboxilo libre, el extremo N-terminal tiene 0-2 grupos hidrocarbilo C_{1-6} idénticos o diferentes o
- 15 tiene un grupo protector de amino, donde el grupo protector de amino se selecciona entre el grupo que consiste en Fmoc, Boc, CBZ, Tr y Alloc.

- 20 10. Uso de un compuesto representado por la fórmula (I), una sal o un solvato del mismo, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8 en la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad de proliferación celular anómala.

- 25 11. El uso de la reivindicación 10, donde la enfermedad de proliferación celular anómala es un tumor o cáncer.

12. El uso de la reivindicación 10, donde la enfermedad de proliferación celular anómala se selecciona entre el grupo que consiste en cáncer de hígado, cáncer gástrico, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de intestino, cáncer de ovario, cáncer pancreático, cáncer de la cabeza y el cuello, cáncer de cuello uterino, cáncer renal, melanoma,
- 30 cáncer de próstata, glioma cerebral, diversos cánceres sanguíneos, linfoma y cáncer múltiple de médula ósea.

13. El uso de la reivindicación 10, donde el compuesto representado por la fórmula (I), una sal o un solvato del mismo se formula en forma de inyección.

- 35 14. El uso de la reivindicación 13, donde la forma de inyección se selecciona entre el grupo que consiste en inyección en polvo, inyección en polvo liofilizado, hidroinyección, emulsión y suspensión.