

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 671 998**

51 Int. Cl.:

C07D 209/12 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.07.2014 PCT/IB2014/063031**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.01.2015 WO15008202**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.07.2014 E 14759311 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.03.2018 EP 3022177**

54 Título: **Derivados de indol-3-carbinol**

30 Prioridad:

16.07.2013 IN MM23702013

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

12.06.2018

73 Titular/es:

**CADILA PHARMACEUTICALS LTD. (100.0%)
"Cadila Corporate Campus" Sarkhej-Dholka Road
Bhat
Ahmedabad, Gujarat 382210, IN**

72 Inventor/es:

**MODI, RAJIV INDRAVADAN;
SINGH, CHANDAN HARDHAN;
SAGAR, NIRAVKUMAR SURESHBHAI;
TIVARI, SUNILKUMAR RAMSURATBHAI y
GADHIYA, BIPIN DHANAJIBHAI**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 671 998 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de indol-3-carbinol

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos compuestos de indol-3-carbinol estables y a composiciones farmacéuticas y actividad biológica de los mismos. Más en particular, la invención está relacionada con nuevos compuestos de indol-3-carbinol estables que tienen una potente actividad antiinflamatoria.

10

Antecedentes de la invención

La inflamación es un proceso biológico complejo que se produce en respuesta a estímulos que incluyen, por ejemplo, infecciones, lesiones en células y/o tejidos, irritantes, etc. Aunque la inflamación es vital para curar y combatir las infecciones, una inflamación anómala o excesiva puede influir negativamente en la salud, el confort y/o la movilidad de una persona.

15

Mucha gente de todo el mundo se ve afectada por enfermedades o trastornos inflamatorios tales como: artritis inflamatoria idiopática aguda o crónica, psoriasis, dermatosis crónica, miositis, enfermedades desmielinizantes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad pulmonar intersticial, glomerulonefritis, nefritis intersticial, hepatitis activa crónica, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, formación de placas en aterosclerosis, enfermedades degenerativas de las articulaciones o del sistema nervioso, o esclerosis múltiple (MS). La población está envejeciendo y un número creciente de personas requiere medicación para las enfermedades inflamatorias relacionadas con la edad.

20

25

Son conocidos una amplia variedad de agentes antiinflamatorios que incluyen los esteroides (tales como los glucocorticoides). En muchos casos estos fármacos no son eficaces en el tratamiento de algunas afecciones inflamatorias y/o están asociados a efectos secundarios adversos. El uso a largo plazo de esteroides da lugar a efectos secundarios crónicos, incluyendo inmunosupresión, debilitamiento de los tejidos y pérdida de densidad ósea.

30

Otra clase bien conocida de fármacos antiinflamatorios son los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE). El modo de acción principal de los AINE conocidos es mediante la inhibición de la enzima COX, que da como resultado la inhibición de la síntesis de prostaglandinas.

35

Los AINE actualmente en el mercado proporcionan cierta alternativa a los tratamientos basados en esteroides. Sin embargo, la administración de los AINE puede producir efectos secundarios altamente indeseables tales como hemorragias gastrointestinales, úlceras y nefropatías. En determinados casos, estos fármacos no proporcionan un alivio eficaz a algunas personas que padecen enfermedades inflamatorias.

40

Fármacos de anticuerpos monoclonales tales como infliximab, etanercept y adalimumab son útiles como agentes antiinflamatorios, si bien presentan inconvenientes tales como la vía de administración (solo parenteral), su elevado coste y la activación de tuberculosis latentes. (*Rheumatology*, 2007, 46(5): 887-888, *Clin. Infect. Dis.*, 39: 295-299 y *Ann. Rheum. Dis.*, 64 (Supl III): 86).

45

Algunos agentes antiinflamatorios actuales presentan efectos secundarios adversos que incluyen uno cualquiera o más de los siguientes: lesiones del tracto gastrointestinal, lesiones renales, fotosensibilidad, estimulación hepática, cefaleas, mareos, síndrome de Crushing, hipertensión, hipopotasemia, hipernatremia, etc. Asimismo, debido a las reacciones adversas, algunos agentes antiinflamatorios no son adecuados para algunas personas que incluyen, por ejemplo, mujeres embarazadas y personas con una enfermedad inflamatoria intestinal. Los efectos secundarios adversos de los agentes antiinflamatorios pueden deberse a la administración tópica, oral u otras formas de administración. Debido a las limitaciones de muchos fármacos antiinflamatorios actuales, sigue existiendo la necesidad de desarrollar nuevos agentes antiinflamatorios.

50

El descubrimiento de la indometacina, el etodolaco y el tenidap como potentes agentes antiinflamatorios, ha llevado a la investigación del núcleo de indol. Se ha descubierto que los derivados de indol poseen un potente amplio espectro de actividades biológicas, especialmente antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias y analgésicas. Asimismo, se ha comunicado que la sustitución de diferentes restos heterocíclicos o aromáticos en la posición 2 o 3 del núcleo de indol modula la actividad antiinflamatoria de tales derivados de indol sustituido.

55

60

El producto natural indol-3-carbinol (I3C; encontrado en vegetales del género *Brassica*) es un prometedor agente terapéutico o de prevención de la inflamación. Como compuesto antiinflamatorio, el I3C suprime la inflamación y disminuye la producción de citocinas inflamatorias conocidas por estar implicadas en la iniciación de la cascada inflamatoria. Asimismo, ha demostrado que el I3C previene la iniciación de las respuestas inflamatorias en un estadio muy inicial actuando directamente a nivel molecular. El indol-3-carbinol ha aparecido como un prometedor agente quimiopreventivo debido a su eficacia *in vivo* en varios modelos animales.

65

El documento US8153680 divulga derivados de alquil indol-3-carbinol que pueden tratar diferentes cánceres que incluyen, si bien no se limitan a los mismos, cáncer de próstata, cáncer de mama, leucemia, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de colon, cáncer del SNC, melanoma, cáncer de ovario y cáncer renal.

5 El documento US7807705 divulga también nuevos agentes antitumorales derivados del indol-3-carbinol que exhiben una capacidad única para dirigirse a múltiples defectos moleculares clínicamente relevantes en cuanto a la oncogenia y la progresión tumoral.

10 Wen et al. divulgan que el indol-3-carbinol y su metabolito el 3,3'-diindolilmetano (DIM) se dirigen a múltiples aspectos de la supervivencia y la regulación del ciclo celular del cáncer que incluyen la señalización Akt-NFκB, la activación de la caspasa, las actividades cinasas dependientes de ciclinas, el metabolismo de estrógenos, la señalización de los receptores de estrógenos, el estrés del retículo endoplásmico y la expresión génica del BRCA (*Cancer Lett.* 2008, 18 de abril; 262(2): 153).

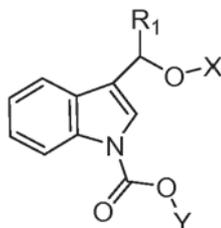
15 Una complicación grave en la interpretación de los resultados fisiológicos es que el indol-3-carbinol es extremadamente inestable en solución ácida y no perdura completamente tras la exposición al ácido gástrico. Métodos analíticos sensibles revelan que el indol-3-carbinol se convierte en varios derivados del indol en condiciones ácidas. Se convierte en componentes biológicamente activos tales como el dímero 3,3'-diindolilmetano (DIM) y el indolo[3,2-b]carbazol (ICZ) mediante una reacción catalizada con ácido que se produce en el medio de pH
20 bajo del estómago. El ICZ es producido también, presumiblemente, a partir de un indol nutritivo, el triptófano, como producto metabólico de las bacterias intestinales.

Aunque los indol-3-carbinoles son potentes agentes anticancerosos que tienen múltiples efectos secundarios con respecto a la dosificación y a la administración, poseen también una potente actividad antiinflamatoria. El presente estudio se refiere a la preparación de nuevos derivados de indol-3-carbinol estables con actividad antiinflamatoria que son estables en condiciones *in vitro* e *in vivo*.

25 La presente invención se refiere también a la preparación de nuevos indol-3-carbinoles estables como armazón para llevar a cabo modificaciones estructurales a fin de conseguir agentes antiinflamatorios que son distintos en comparación con los indol-3-carbinoles naturales y sus metabolitos.

Sumario de la invención

35 La presente invención se refiere a nuevos compuestos de indol-3-carbinol de Fórmula 1 que son potentes agentes antiinflamatorios.



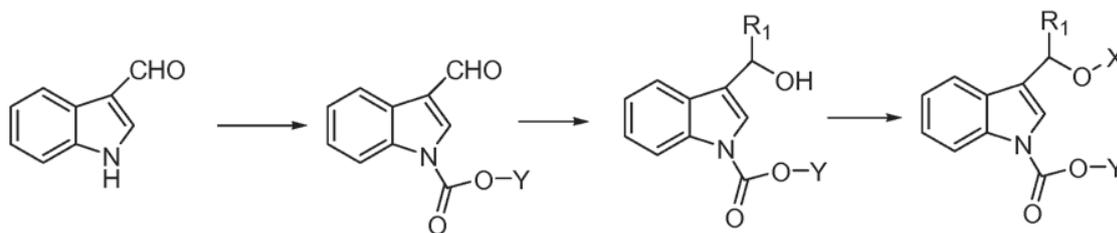
Fórmula 1

en la que,

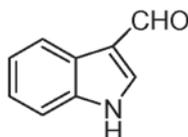
40 R₁ se selecciona entre hidrógeno, arilo, haloarilo;
X se selecciona entre -C(O)C_nH_{2n+1}, en el que n es un número entero seleccionado entre 2 y 16,
o -C(O)(CH₂)_m-COOH, en el que m es un número entero seleccionado entre 2 y 5; Y se selecciona entre alquilo o arilalquilo; o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

45 La invención proporciona también dichos compuestos para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria.

Se divulga un procedimiento para la preparación de nuevos derivados de indol-3-carbinol estables de Fórmula 1, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que comprende las etapas siguientes:

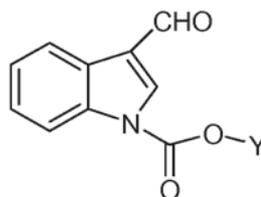


i. Hacer reaccionar un compuesto de Fórmula IIa



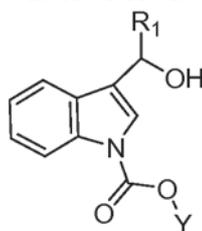
Fórmula IIa

5 con Y-O-CO-Cl o Y-CO-O-CO-Y para proporcionar el compuesto de Fórmula II; en la que Y es tal como se ha definido anteriormente.



Fórmula II

10 ii. Hacer reaccionar un compuesto de Fórmula II con un agente reductor o haluro de R_1Mg para proporcionar un compuesto de Fórmula III en la que R_1 e Y son tal como se han definido anteriormente.



Fórmula III

15 iii. Hacer reaccionar un compuesto de Fórmula III con un haluro de ácido o un anhídrido de ácido o un ácido para proporcionar un compuesto de Fórmula 1; en la que R_1 , X e Y son tal como se han definido anteriormente.

En otra realización, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas de nuevos derivados de indol-3-carbinol estables de Fórmula 1 tal como se han definido anteriormente, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se dan a modo de ejemplo condiciones ilustrativas para la preparación de los compuestos de Fórmula 1, II, IIa, III en los ejemplos.

Breve descripción de las figuras

- Fig. 01: Resultados de detección antiinflamatoria del CPL-2012-136
- Fig. 02: Resultados de detección antiinflamatoria del CPL-2012-139
- Fig. 03: Resultados de detección antiinflamatoria del CPL-2012-141
- Fig. 04: Resultados de detección antiinflamatoria del CPL-2012-144

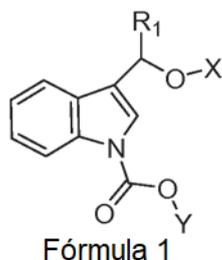
Fig. 05: Resultados de detección antiinflamatoria del CPL-2013-158

Fig. 06: Resultados de detección antiinflamatoria del CPL-2013-156 (Figura comparativa)

Descripción detallada de la invención

5

En una realización, la invención se refiere a nuevos derivados de indol-3-carbinol de Fórmula 1.



en la que,

10

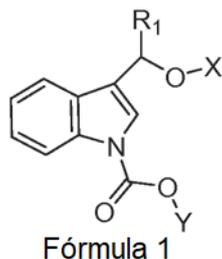
R₁ se selecciona entre hidrógeno, arilo, haloarilo;

X se selecciona entre -C(O)C_nCH_{2n+1}, en el que n es un número entero seleccionado entre 2 y 16, o -C(O)(CH₂)_m-COOH, en el que m es un número entero seleccionado entre 2 y 5; Y se selecciona entre alquilo o arilalquilo;

15

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

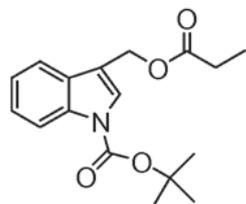
El compuesto de Fórmula 1 se prepara además para explicar la invención con detalle:



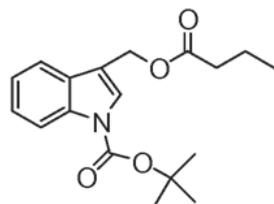
Compuesto	R ₁	X	Y
CPL-2012-128	H	-C(O)C ₁₅ H ₃₁	-C ₄ H ₉
CPL-2012-136	H	-C(O)(CH ₂) ₂ -COOH	-C ₄ H ₉
CPL-2012-139	H	-C(O)C ₂ H ₅	-C ₄ H ₉
CPL-2012-141	H	-C(O)C ₃ H ₇	-C ₄ H ₉
CPL-2012-144	H	-C(O)C ₄ H ₉	-C ₄ H ₉
CPL-2013-155	-C ₆ H ₅	-C(O)C ₂ H ₅	-C ₄ H ₉
CPL-2013-157	-C ₆ H ₂ F ₃	-C(O)C ₂ H ₅	-C ₄ H ₉
CPL-2012-158	H	-C(O)C ₂ H ₅	-C ₇ H ₇
CPL-2012-159	H	-C(O)C ₆ H ₁₃	-C ₄ H ₉

20

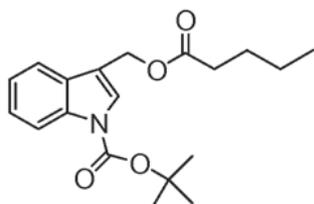
Algunos ejemplos específicos para demostrar la realización incluyen los nuevos derivados de indol-3-carbinol siguientes sin limitar el alcance de la invención, a excepción del CPL-2012-156, que es un comparador fuera del alcance de la presente invención:



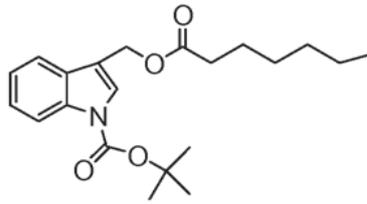
CPL-2012-139



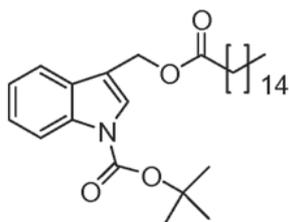
CPL-2012-141



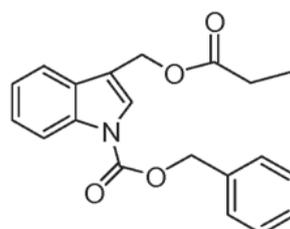
CPL-2012-144



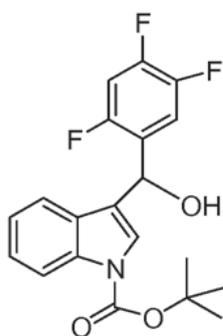
CPL-2012-159



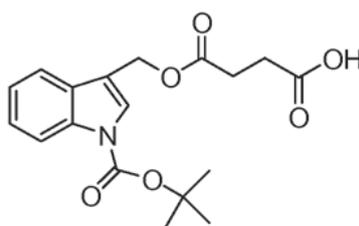
CPL-2012-128



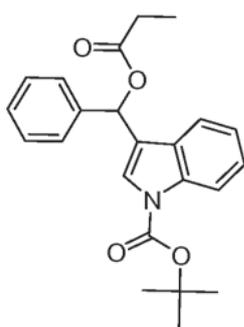
CPL-2012-158



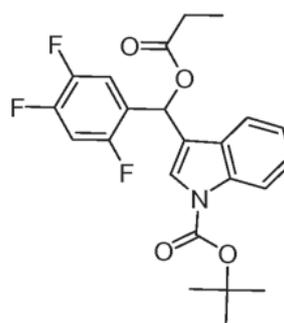
CPL-2012-156



CPL-2012-136



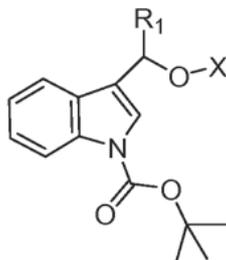
CPL-2012-155



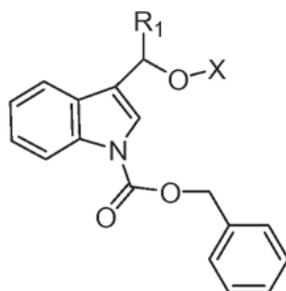
CPL-2012-157

y sales, derivados o metabolitos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

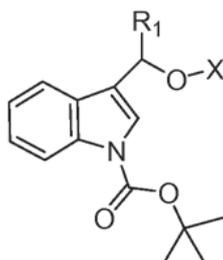
En una realización ilustrativa, en la que la Fórmula 1 se define además como



5 en la que R₁ es hidrógeno y X es -C(O)C_nH_{2n+1}, en el que n es un número entero seleccionado entre 2 y 16, o sales, derivados, metabolitos farmacéuticamente aceptables de los mismos. En otra realización ilustrativa, en la que la Fórmula 1 se define además como

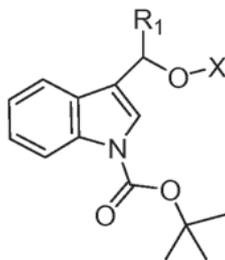


10 en la que R₁ es hidrógeno y X es -C(O)C_nH_{2n+1}, en el que n es un número entero seleccionado entre 2 y 16, o sales, derivados, metabolitos farmacéuticamente aceptables de los mismos. En otra realización ilustrativa, en la que la Fórmula 1 se define además como



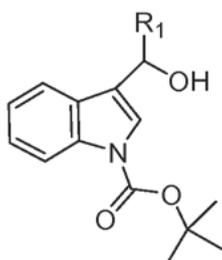
15 en la que R₁ es hidrógeno y X es -C(O)(CH₂)_m-COOH, en el que m es un número entero seleccionado entre 2 y 5, o sales, derivados, metabolitos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En otra realización ilustrativa, en la que la Fórmula 1 se define además como



20 en la que R₁ se selecciona de arilo o haloarilo y X es -C(O)C_nH_{2n+1}, en el que n es un número entero seleccionado entre 2 y 16; o sales, derivados, metabolitos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

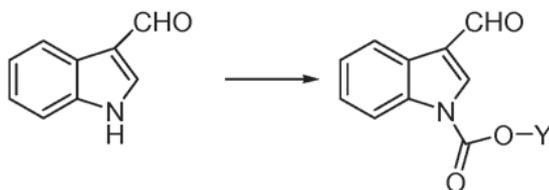
25 También se divulga una Fórmula definida como



en la que R₁ se selecciona entre arilo o haloarilo; o sales, derivados, metabolitos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5

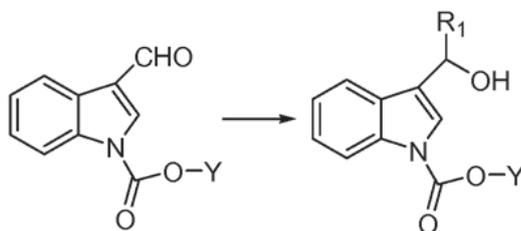
El compuesto de Fórmula general II se obtiene mediante el procedimiento general representado a continuación:



haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula general IIa con Y-O-CO-Cl o Y-CO-O-CO-Y para proporcionar el compuesto de Fórmula general II en el que Y es tal como se ha definido anteriormente.

10

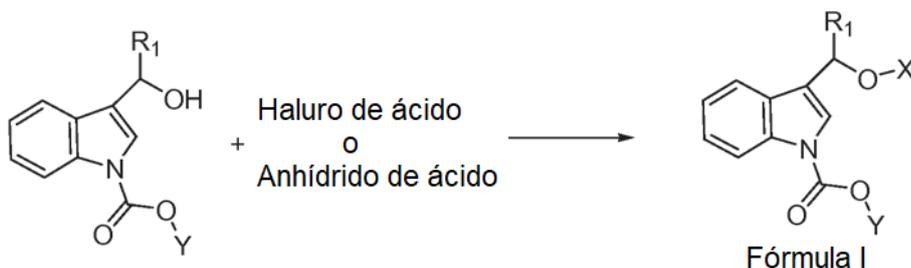
El compuesto de Fórmula general III se obtiene mediante el procedimiento general representado a continuación:



15

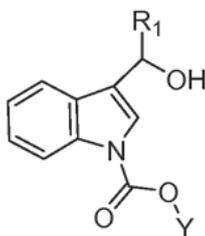
haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula general II con un agente reductor o un haluro de R₁Mg para proporcionar un compuesto de Fórmula general III en la que Y es tal como se han definido anteriormente.

Los compuestos de Fórmula general I se obtienen mediante el procedimiento general representado a continuación:



20

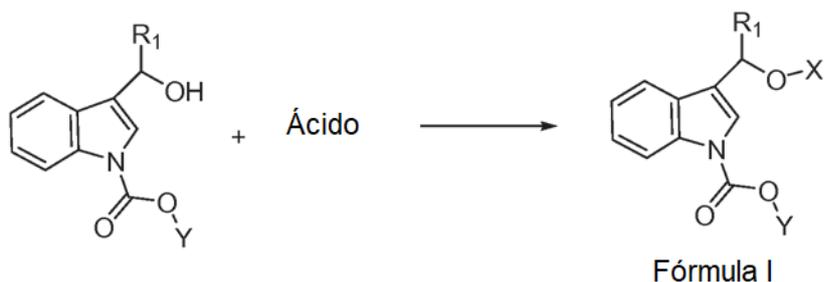
haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula general III



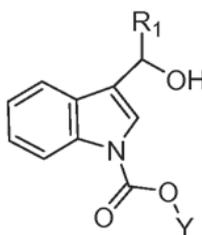
en la que R₁ es tal como se ha definido anteriormente en el presente documento e Y significa un alquilo o arilalquilo, con un haluro de ácido o un anhídrido de ácido en presencia de una base para proporcionar un compuesto de Fórmula general 1.

- 5 La reacción se lleva a cabo apropiadamente en un disolvente tal como tetrahidrofurano, dioxano, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, etilenglicol monometil éter, etilenglicol dietiléter o sulfolano, opcionalmente en presencia de una base inorgánica u orgánica terciaria, por ejemplo carbonato sódico, carbonato potásico o hidróxido potásico, una base orgánica terciaria, por ejemplo trietilamina, o en presencia de N-etil-diisopropilamina (base de Hünig), sirviendo estas bases orgánicas también como disolvente y, opcionalmente en presencia de un catalizador de esterificación tal como dimetilaminopiridina a temperaturas entre 0 y 40 °C. La reacción también se puede llevar a cabo sin disolvente.

Como alternativa, los compuestos de Fórmula general I se obtienen mediante el procedimiento general representado a continuación:



- 15 haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula general III



- 20 en la que,

R₁ es tal como se ha definido anteriormente en el presente documento e Y significa un grupo alquilo o arilalquilo, con un ácido en presencia de una base, en el que el ácido es tal como se ha definido anteriormente, para proporcionar un compuesto de Fórmula general I.

- 25 La reacción se lleva a cabo apropiadamente en un disolvente tal como tetrahidrofurano, dioxano, opcionalmente en presencia de una base inorgánica u orgánica terciaria, por ejemplo carbonato sódico, carbonato potásico o hidróxido potásico, una base orgánica terciaria, por ejemplo trietilamina, o en presencia de N-etil-diisopropilamina (base de Hünig), pudiendo servir simultáneamente estas bases orgánicas también como disolvente y, opcionalmente en presencia de un catalizador de esterificación tal como dimetilaminopiridina a temperaturas entre 0 y 40 °C. La reacción, sin embargo, también se puede llevar a cabo sin disolvente.

- 35 Asimismo, los compuestos de Fórmula general I obtenidos se pueden resolver en sus enantiómeros y/o diastereómeros, tal como se ha mencionado anteriormente en el presente documento. Así, por ejemplo, las mezclas *cis/trans* se pueden resolver en sus isómeros *cis* y *trans*, y los compuestos con al menos un átomo de carbono ópticamente activo se pueden separar en sus enantiómeros.

- 40 Así pues, por ejemplo, las mezclas *cis/trans* se pueden resolver mediante cromatografía en los isómeros *cis* y *trans*, de los mismos, los compuestos de Fórmula general I obtenidos que se producen como racematos se pueden separar mediante métodos conocidos *per se* (véase Allinger N. L. y Eliel E. L. en "Topics in Stereochemistry", Vol. 6, Wiley Interscience, 1971) en sus antipodas ópticos, y los compuestos de Fórmula general I con al menos 2 átomos de carbono asimétricos se pueden resolver en sus diastereómeros sobre la base de sus diferencias físico-químicas usando métodos conocidos *per se*, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionada y, si estos compuestos se obtienen en forma racémica, se pueden resolver posteriormente en los enantiómeros tal como se ha mencionado anteriormente.

- 45 Los enantiómeros se separan preferentemente mediante separación en columna sobre fases quirales o mediante recristalización en un disolvente ópticamente activo o mediante reacción con una sustancia ópticamente activa que

5 forma sales o derivados, por ejemplo ésteres o amidas, con el compuesto racémico, particularmente ácidos y los derivados activados o alcoholes de los mismos, y separación de la mezcla diastereomérica de sales o derivados así obtenida, por ejemplo, sobre la base de las diferencias de solubilidad de los mismos, mientras que los antípodos libres se pueden liberar a partir de sales o derivados diastereoméricos puros mediante la acción de agentes adecuados. Los ácidos ópticamente activos de uso común son, por ejemplo, las formas D y L del ácido tartárico o el ácido dibenzoiltartárico, ácido di-*o*-toliltartárico, ácido málico, ácido mandélico, ácido canforsulfónico, ácido glutámico, ácido aspártico o ácido quínico. Un alcohol ópticamente activo puede ser, por ejemplo, el (+) o (-)-mentol y un grupo acilo ópticamente activo en amidas, por ejemplo, puede ser un (+) o (-)-mentiloxycarbonilo.

10 La actividad de los compuestos se puede medir por la capacidad conocida del derivado de indol-3-carbinol para inducir la apoptosis en células que proliferan rápidamente sin inhibición sustancial de la COX-2. Los compuestos pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, que incluyen las formas hidratadas. En general, los compuestos puede estar hidratados o solvatados. Determinados compuestos pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas de los compuestos de Fórmula 1 tal como se han
15 definido anteriormente, son equivalentes para los usos contemplados en el presente documento y se pretende que se encuentren dentro del alcance de la presente invención.

El término "alquilo", seleccionado de C2-C6 y usado solo o unido a otro grupo, se refiere a un radical de hidrocarburo alifático saturado que tiene el número indicado de átomos de carbono y que no está sustituido o está opcionalmente sustituido. Alquilo puede ser una cadena lineal o una cadena ramificada y ejemplos del mismo incluyen etilo, propilo, isopropilo, butilo, terc-butilo, pentilo y hexilo.

El término "arilo", usado solo o en combinación con otros términos, tal como alquilarilo haloarilo o haloalquilarilo, incluye radicales aromáticos tales como fenilo, bifenilo y bencilo, así como radicales arilo condensados tales como naftilo, antrilo, fenantrenilo, fluorenilo, e indenilo, etc.

El término "arilo" se refiere a un grupo aromático, por ejemplo, que es un sistema de anillos monocíclico o bicíclico con de 6 a 10 miembros, que puede estar no sustituido o sustituido. Grupos arilo representativos pueden ser fenilo, naftilo y similares. Cuando dicho anillo está sustituido, los sustituyentes se seleccionan entre halógeno (por ejemplo, F, Cl, Br, I), hidroxilo, alcoxi, nitro, ácido carboxílico, CF₃, NHSO₂-alquilo, NHCO-alquilo, alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo y acilo.

El término "alquilarilo" o "arilalquilo" se refiere a grupos arilo sustituidos con alquilo tales como butilfenilo, propilfenilo, etilfenilo, metilfenilo, 3,5-dimetilfenilo, terc-butilfenilo, etc.

El término "haloarilo" se refiere a radicales arilo en los que una o más posiciones sustituibles se han sustituido con un radical halo, y ejemplos de estos incluyen fluorofenilo, 4-clorofenilo, 2,4,5-trifluorofenilo, 1-bromo-2,4,5-trifluorobenceno, etc.

40 El término "halógeno" o "haluro" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo.

También incluidos en la familia de los compuestos de Fórmula I y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" indica sales usadas comúnmente para formar sales de metales alcalinos y para formar sales de adición de ácidos libres o bases libres. La naturaleza de la sal no es crítica, siempre que sea farmacéuticamente aceptable. Sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de Fórmula I se pueden preparar a partir de un "ácido", seleccionándose el ácido entre un ácido inorgánico o un ácido orgánico. Ejemplos de tales "ácidos inorgánicos" son los ácidos clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico, y fosfórico.

50 Se pueden seleccionar "ácidos orgánicos" adecuados entre las clases de ácidos orgánicos alifáticos, cicloalifáticos, aromáticos, aralifáticos, heterocíclicos, carboxílicos y sulfónicos, ejemplos de los cuales incluyen los ácidos fórmico, acético, propiónico, succínico, butírico, valérico, palmítico, heptanoico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, mesílico, salicílico, p-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, pamoico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, pantoténico, 2-hidroxietanosulfónico, toluenosulfónico, sulfanílico, ciclohexil-aminosulfónico, esteárico, algínico, hidroxibutírico y galacturónico.

"Anhídridos de ácido" apropiados que se pueden usar incluyen, si bien no se limitan a los mismos, anhídrido acético, anhídrido succínico, anhídrido propiónico, anhídrido valérico, anhídrido heptanoico.

60 "Haluros de ácido" apropiados que se pueden usar incluyen, si bien no se limitan a los mismos, cloruro de acetilo, cloruro de palmitoilo.

La base usada en la reacción es una base orgánica o una base inorgánica. Bases orgánicas adecuadas que se pueden usar incluyen, si bien no se limitan a las mismas, trietilamina, tributilamina, diisopropiletilamina (DIPEA), triisopropilamina, N-metilmorfolina, piridina. En una realización, la base orgánica es trietilamina (TEA).

5 Bases inorgánicas adecuadas usadas para el aislamiento que se pueden usar incluyen, si bien no se limitan a las mismas: hidróxidos de metales alcalinos tales como hidróxido de litio, hidróxido sódico, hidróxido potásico, o similares; carbonatos de metales alcalinos tales como carbonato sódico, carbonato potásico, carbonato de litio o similares; bicarbonatos de metales alcalinos tales como bicarbonato de litio, bicarbonato sódico, bicarbonato potásico, o similares; amoníaco; y cualquier mezcla de los mismos. En una realización, la base inorgánica es bicarbonato sódico.

10 El disolvente puede ser el mismo que el seleccionado para su uso en la reacción, o puede ser diferente del disolvente de la reacción y para el aislamiento. Cuando el disolvente es diferente, se puede seleccionar entre los disolventes definidos anteriormente, u otros disolventes comúnmente usados, tales como diclorometano, acetato de etilo, metanol, etanol, isopropanol, hexano, entre otros. Los disolventes orgánicos combinados se pueden eliminar después mediante evaporación en condiciones adecuadas, por ejemplo, a presión reducida. El residuo se purifica posteriormente mediante medios adecuados, por ejemplo, mediante cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con un disolvente adecuado, o mediante recristalización con un disolvente adecuado (por ejemplo, hexano-MDC, hexano-acetato de etilo, hexano, entre otros). Otros medios adecuados de purificación son conocidos por los expertos en la técnica. Asimismo, otras mezclas y proporciones de disolventes adecuadas pueden ser fácilmente determinadas por el experto en la técnica.

20 Sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de Fórmula I incluyen sales metálicas preparadas a partir de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc. Como alternativa, se pueden usar sales orgánicas preparadas a partir de N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina dietanolamina, etilendiamina, meglumina, (N-metilglucamina) y procaína para formar sales de adición de bases de los compuestos de Fórmula I. Todas estas sales se pueden preparar mediante medios convencionales a partir de los compuestos de Fórmula I correspondientes haciendo reaccionar, por ejemplo, el ácido o la base apropiado con el compuesto de Fórmula I.

30 La reacción se efectúa en presencia de un disolvente. Los disolventes que se pueden usar incluyen, si bien no se limitan o no limitados a los mismos, éteres tales como dietil éter, tetrahidrofurano, etilenglicol monometil éter, etilenglicol dietiléter, metiltetrahidrofurano, 1,4-dioxano, o similares; disolventes apróticos polares tales como N,N-dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilacetamida (DMA), acetonitrilo, sulfolano o similares o mezclas de los mismos.

35 El catalizador de esterificación se selecciona entre ácido sulfúrico y dimetilaminopiridina. Preferentemente se usa dimetilaminopiridina.

Como agente reductor se selecciona el borohidruro sódico.

40 El uso médico de la presente invención puede ser con fines de prevención o tratamiento para tratar una enfermedad inflamatoria.

45 En el contexto de la presente memoria descriptiva, el término "tratar" o "tratamiento" incluye también profilaxis, a menos que haya indicaciones específicas en contrario. El término "tratar" o "tratamiento" en el contexto de la presente invención incluye también administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención a fin de aliviar una patología preexistente, aguda o crónica, o una afección recurrente. Esta definición incluye también terapias profilácticas para la prevención de una afección recurrente y una terapia continuada para trastornos crónicos.

50 La invención se describirá adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos detallados. Estos ejemplos se proporcionan para ilustrar adicionalmente las diversas realizaciones y técnicas específicas y preferentes. No obstante, debe entenderse que se pueden efectuar muchas variaciones y modificaciones manteniéndose dentro del alcance de la presente invención.

Preparación de intermedios:

55 Éster bencílico del ácido 3-formil-indol-1-carboxílico

60 A una solución agitada de indol-3-carboxaldehído en THF se añadió diisopropiletilamina a 0 °C. La reacción se mantuvo a 0 °C durante 10 min. A la solución agitada se añadió gota a gota cloruro de benciloxicarbonilo a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó en agitación a TA durante la noche. El THF se concentró y el residuo se disolvió en una solución de bicarbonato sódico. Se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (20 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato sódico. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc: hexano) para dar el éster bencílico del ácido 3-formil-indol-1-carboxílico.

65 Éster bencílico del ácido 3-hidroximetil-indol-1-carboxílico (N-CBZ-Indol-3-OH)

Se disolvió el éster bencílico del ácido 3-formil-indol-1-carboxílico en etanol. Se añadió en porciones borohidruro sódico a -17 °C durante aproximadamente 1 h. La reacción se mantuvo a una temperatura de -17 °C a 13 °C durante 1 h. Una vez finalizada la reacción se añadió agua a la masa de reacción. El sólido así precipitado se filtró y se lavó con agua. El sólido así obtenido se purificó mediante cromatografía en columna (DCM: metanol) para dar el éster bencílico del ácido 3-hidroximetil-indol-1-carboxílico.

Éster terc-butílico del ácido 3-formil-indol-1-carboxílico

Se disolvió indol-3-carboxaldehído en THF y se enfrió hasta 0 °C. Se añadió trietilamina a 0 °C. Después se añadió gota a gota anhídrido de t-butoxicarbonilo a 0 °C. Se mantuvo la masa de reacción a 0 °C durante 30 min. Se mantuvo la masa de reacción a TA durante la noche. Una vez finalizada la reacción, se añadió una solución de ácido cítrico. La masa de reacción se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. La capa orgánica se concentró a 40 °C para obtener el producto bruto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (acetato de etilo: hexano) para dar el éster terc-butílico del ácido 3-formil-indol-1-carboxílico.

Éster terc-butílico del ácido 3-hidroximetil-indol-1-carboxílico

Se disolvió el éster terc-butílico del ácido 3-formil-indol-1-carboxílico en THF y se enfrió hasta 0 °C. Se añadió gota a gota una solución acuosa de borohidruro sódico a la mezcla de reacción a 0 °C. Se mantuvo la reacción a 0 °C durante 30 min. La reacción se mantuvo a TA durante 2 h. Se añadió agua a la mezcla de reacción y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró a 40 °C. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía en columna (EtOAc: hexano) para dar el éster terc-butílico del ácido 3-hidroximetil-indol-1-carboxílico.

Ester terc-butílico del ácido 3-(hidroxifenil-metil)-indol-1-carboxílico

Se disolvieron en THF virutas de magnesio y bromobenceno. La masa de reacción se enfrió lentamente hasta una temperatura de -5 a 0 °C. Se añadió lentamente la solución de éster terc-butílico del ácido 3-formil-indol-1-carboxílico disuelto en THF. La reacción se mantuvo a 0 °C durante 2-3 h. La masa de reacción se inactivó en una solución de ácido cítrico al 10 %. La masa de reacción se extrajo con acetato de etilo. Se separaron la capa acuosa y la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. La capa orgánica se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna (hexano) para dar el éster terc-butílico del ácido 3-(hidroxifenil-metil)-indol-1-carboxílico.

Ejemplo 1: Éster terc-butílico del ácido 3-hexadecanoiloximetil-indol-1-carboxílico [CPL-2012-128]

Se cargó el éster terc-butílico del ácido 3-hidroximetil-indol-1-carboxílico en un matraz y se añadieron N,N-dimetilaminopiridina, trietilamina y THF a 0 °C. Se añadió lentamente cloruro de palmitoilo gota a gota y se mantuvo la reacción a 0 °C durante 30 minutos. La temperatura se elevó gradualmente hasta 25-30 °C y se mantuvo durante 60 h. Una vez finalizada la reacción, se añadió una solución de bicarbonato sódico a la mezcla de reacción y se agitó bien. La masa de reacción se extrajo con acetato de etilo dos veces. La capa orgánica se lavó con agua y después con ácido cítrico acuoso. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. La capa orgánica se concentró a 40 °C. El residuo así obtenido se sometió a cromatografía sobre gel de sílice usando EtOAc/hexano como eluyente.

Ejemplo 2: Éster mono-(1-terc-butoxicarbonil-1H-indol-3-il-metilico) del ácido succínico 1H-[CPL-2012-136]

Se cargó el éster terc-butílico del ácido 3-hidroximetil-indol-1-carboxílico en un matraz y se añadieron dimetilaminopiridina, trietilamina, anhídrido succínico y THF a 0 °C. Se mantuvo la reacción a 0 °C durante 30 minutos. La temperatura se elevó lentamente hasta 25-30 °C y se mantuvo durante 10 h. Una vez finalizada la reacción, se añadió una solución de bicarbonato sódico a la mezcla de reacción y se agitó bien. La masa de reacción se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y después con ácido cítrico acuoso. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. La capa orgánica se concentró a 40 °C. El residuo así obtenido se sometió a cromatografía sobre gel de sílice usando MDC/hexano como eluyente.

Ejemplo 3: Éster terc-butílico del ácido 3-propioniloximetil-indol-1-carboxílico [CPL-2012-139]

Se cargó el éster terc-butílico del ácido 3-hidroximetil-indol-1-carboxílico en un matraz y se añadieron dimetilaminopiridina, trietilamina, anhídrido propiónico y THF a 0 °C. Se mantuvo la reacción a 0 °C durante 30 minutos. La temperatura se elevó gradualmente hasta 25-30 °C y se mantuvo durante 3 h. Una vez finalizada la reacción, se añadió una solución de bicarbonato sódico a la mezcla de reacción y se agitó bien. La masa de reacción se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y después con ácido cítrico acuoso. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. La capa orgánica se concentró a 40 °C. El residuo así obtenido se sometió a cromatografía sobre gel de sílice usando hexano como eluyente.

Ejemplo 4: Éster terc-butílico del ácido 3-butiloximetil-indol-1-carboxílico [CPL-2012-141]

Se cargó el éster terc-butílico del ácido 3-hidroximetil-indol-1-carboxílico en un matraz y se añadieron dimetilaminopiridina, trietilamina, THF y ácido butírico. La reacción se mantuvo durante 10 minutos y después se añadió EDC: HCl a 0 °C y se mantuvo la reacción durante 30 minutos. La temperatura se elevó gradualmente hasta 25-30 °C y se mantuvo durante 3 h. Una vez finalizada la reacción, se añadió una solución de bicarbonato sódico a la mezcla de reacción y se agitó bien. La masa de reacción se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y después con ácido cítrico acuoso. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. La capa orgánica se concentró a 40 °C. El residuo así obtenido se sometió a cromatografía sobre gel de sílice usando hexano como eluyente.

Ejemplo 5: Éster terc-butílico del ácido 3-pentanoiloximetil-indol-1-carboxílico [CPL-2012-144]

Se cargó el éster terc-butílico del ácido 3-hidroximetil-indol-1-carboxílico en un matraz y se añadieron dimetilaminopiridina, trietilamina y THF a 0 °C. La reacción se mantuvo durante 10 minutos y después se añadió gota a gota anhídrido valérico lentamente a 0 °C y se mantuvo la reacción durante 3 horas. Una vez finalizada la reacción, se añadió una solución de ácido cítrico a la mezcla de reacción y se agitó bien. La masa de reacción se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. La capa orgánica se concentró a 40 °C. El residuo así obtenido se sometió a cromatografía sobre gel de sílice usando hexano como eluyente.

Ejemplo 6: Éster terc-butílico del ácido 3-heptanoiloximetil-indol-1-carboxílico [CPL-2012-159]

Se cargó el éster terc-butílico del ácido 3-hidroximetil-indol-1-carboxílico en un matraz y se añadieron dimetilaminopiridina, trietilamina y THF a 0 °C. La reacción se mantuvo durante 10 minutos y después se añadió gota a gota anhídrido heptanoico lentamente a 0 °C y se mantuvo la reacción durante 3 horas. Una vez finalizada la reacción, se añadió una solución de ácido cítrico a la mezcla de reacción y se agitó bien. La masa de reacción se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró la capa orgánica a 40 °C. El residuo así obtenido se sometió a cromatografía sobre gel de sílice usando hexano como eluyente.

Ejemplo 7: Éster bencílico del ácido 3-propioniloximetil-indol-1-carboxílico [CPL-2013-158]

A una solución agitada de éster bencílico del ácido 3-hidroximetil-indol-1-carboxílico en THF se añadieron DMAP y trietilamina a 0 °C. A esta mezcla de reacción agitada se añadió anhídrido propiónico en THF y se mantuvo la reacción a 25-30 °C durante 4 h. Una vez finalizada la reacción, la masa de reacción se concentró y el residuo así obtenido se disolvió en una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (dos veces). La capa orgánica se lavó con HCl 1 N. La capa orgánica se concentró para obtener un material bruto que se purificó posteriormente mediante cromatografía en columna (DCM: MeOH).

Ejemplo 8: Éster terc-butílico del ácido 3-[hidroxi-(2,4,5-trifluorofenil)-metil]-indol-1-carboxílico [CPL-2013-156] (ejemplo comparativo)

Se cargaron 20 ml de THF, virutas de magnesio y 2,4,5-trifluorobenceno en un matraz de fondo redondo. La masa de reacción se enfrió lentamente hasta una temperatura de -5 a 0 °C. Se añadió una solución de N-Boc-indol-carbaldehído a la mezcla de reacción. La reacción se mantuvo a 0 °C durante 3 h. Una vez finalizada la reacción, se añadió la masa de reacción a una solución de ácido cítrico al 10 %. La masa de reacción se extrajo usando acetato de etilo. Se separaron la capa acuosa y la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico. El acetato de etilo se destiló a vacío hasta obtener un residuo que se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna (hexano).

Ejemplo 9: Éster terc-butílico del ácido 3-(fenil-propioniloxi-metil)-indol-1-carboxílico [CPL-2013-155]

Se cargaron el éster terc-butílico del ácido 3-(hidroxifenil-metil)-indol-1-carboxílico y dimetilaminopiridina en 50 ml de THF. La masa de reacción se enfrió hasta 0-5 °C y se agitó bien durante un periodo de 15 minutos. Se añadieron gota a gota 0,5 ml de anhídrido propiónico a la mezcla de reacción y la reacción se controló mediante TLC. La reacción se mantuvo durante 3 h. Una vez finalizada la reacción, el THF se eliminó mediante destilación y la mezcla de reacción se lavó con una solución de bicarbonato sódico y una solución de ácido cítrico. Se añadió acetato de etilo a la mezcla de reacción y esta se extrajo, la cual se concentró posteriormente para dar el éster terc-butílico del ácido 3-(fenil-propioniloximetil)-indol-1-carboxílico.

Ejemplo 10: Éster terc-butílico del ácido 3-[propioniloxi-(2,4,5-trifluorofenil)-metil]-indol-1-carboxílico [CPL2013-157]

Se cargó el éster terc-butílico del ácido 3-[hidroxi-(2,4,5-trifluorofenil)-metil]-indol-1-carboxílico en 50 ml de THF. Se añadieron 95 mg de dimetilaminopiridina a la masa de reacción. La masa de reacción se enfrió lentamente hasta 0-5 °C y se mantuvo durante 15 minutos. Se añadieron gota a gota 0,5 ml de anhídrido propiónico a la mezcla de

reacción y la reacción se controló mediante TLC. La reacción se mantuvo durante 3 h. Una vez finalizada la reacción, el THF se eliminó mediante destilación y la mezcla de reacción se lavó con una solución de bicarbonato sódico y una solución de ácido cítrico. Se añadió acetato de etilo a la mezcla de reacción y esta se extrajo, la cual se concentró posteriormente para dar el éster terc-butílico del ácido 3-[propioniloxi-(2,4,5-trifluorofenil)-metil]-indol-1-carboxílico.

Los ejemplos proporcionados en el presente documento son con fines ilustrativos y no limitan el alcance de la invención definido en las reivindicaciones.

10 Procedimiento general de detección

Se evaluó el efecto antiinflamatorio de los compuestos de Fórmula I usando el modelo de edema de pata agudo en ratas Wistar usando el siguiente procedimiento.

15 Procedimiento:

Todos los animales se dividen en el número requerido de grupos (n = 6 por grupo; 8-12 semanas de edad) basándose en el peso corporal. Tras el agrupamiento, se mide el volumen basal de la pata para todos los animales con la ayuda del instrumento pletismómetro, seguido de la administración del fármaco por vía oral. Después de 1 h de la dosificación, se administran 100 µl de carragenano al 1 %, preparado en solución salina normal, a una pata trasera de cada animal por vía SC. Después de 1 h de la dosificación de carragenano, se mide el volumen de la pata para todos los animales hasta 6 h 1 en cada intervalo de 1 h.

Evaluación del efecto antiinflamatorio de los compuestos usando el modelo FCA en ratas Wistar.

25

Sistema de ensayo: ratas Wistar

Sexo: Hembras

N.º de animales: 6-8 animales por grupo

Edad: 6-8 semanas

30 Aleatorización: Basada en el peso corporal inicial.

Vehículo: Agua para inyección

Volumen de la dosis: 10 ml/kg

Procedimiento:

35

1. Se induce la artritis mediante inyección subplantar de 0,1 mg de *Mycobacterium butyricum* (FCA) suspendida en 0,1 ml de parafina líquida ligera en la pata trasera derecha.

2. El volumen de la pata se mide los días 0, 1, 7, 10, 14, 21 y 28. Si es necesario, el estudio se extenderá y el volumen de la pata se medirá hasta el día 56.

40 3. Se mide el peso corporal los días 0, 7, 14, 21 y 28. Si es necesario, el estudio se extenderá y el peso corporal se medirá hasta el día 56.

4. Al animal se le administrará la dosis cada día por la mañana desde el día 1 hasta el día 56.

5. Al día siguiente de la última medición del volumen de la pata, se sacrificaron todos los animales.

45 Los resultados se recogen en la siguiente tabla:

Tiempo	(-1) 1 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
Control - 0 mg/Kg	100	130,36	135,93	131,83	125,82	124,44	117,22
CPL-2012-136 - 50 mg/kg	100	117,26	121,86	123,85	121,57	119,72	111,76

Tiempo	(-1) 1 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
Control - 0 mg/Kg	100	127,19	132	133,22	128,8	122,82	121,23
CPL-2012-139 - 50 mg/kg	100	116,73	123,68	122,72	120,63	115,55	113,42

Tiempo	(-1) 1 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
Control - 0 mg/Kg	100	116,24	131,59	128,52	125,15	121,78	119,19
CPL-2012-144 - 50 mg/kg	100	112,98	123,96	125,7	123,32	123,07	121,46

50

ES 2 671 998 T3

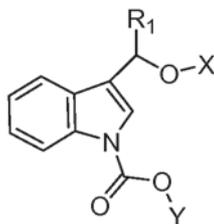
Tiempo	(-1) 1 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
Control - 0 mg/Kg	100	124,96	132,44	128,75	122,02	115,85	110,89
CPL-2013-156 - 50 mg/kg	100	115,2	113,62	116,25	115,73	113,69	111,56

Tiempo	(-1) 1 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
Control - 0 mg/Kg	100	116,52	127,58	119,54	114,35	109,38	107,04
CPL-2013-158 - 50 mg/kg	100	113,82	115,12	112,02	112,46	108,11	107,2

5 De acuerdo con esto, la invención se refiere a nuevos derivados de indol-3-carbinol estables de Fórmula 1 tal como se han definido anteriormente que muestran una potente actividad antiinflamatoria.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula 1:



Fórmula 1

5 en la que,

R₁ se selecciona entre hidrógeno, arilo, haloarilo;

X se selecciona entre -C(O)C_nH_{2n+1}, en el que n es un número entero seleccionado entre 2 y 16, o -C(O)(CH₂)_m-COOH, en el que m es un número entero seleccionado entre 2 y 5; Y se selecciona entre alquilo o arilalquilo;

10 o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionándose el compuesto de Fórmula 1 entre:

15 éster terc-butílico del ácido 3-hexadecanoiloximetil-indol-1-carboxílico,

éster mono-(1-terc-butoxicarbonil-1H-indol-3-il-metilico) del ácido succínico,

éster terc-butílico del ácido 3-propioniloximetil-indol-1-carboxílico,

éster terc-butílico del ácido 3-butililoximetil-indol-1-carboxílico,

éster terc-butílico del ácido 3-pentanoiloximetil-indol-1-carboxílico,

20 éster terc-butílico del ácido 3-heptanoiloximetil-indol-1-carboxílico,

éster bencílico del ácido 3-propioniloximetil-indol-1-carboxílico,

éster terc-butílico del ácido 3-(fenil-propioniloxi-metil)-indol-1-carboxílico,

éster terc-butílico del ácido 3-[propioniloxi-(2,4,5-trifluorofenil)-metil]-indol-1-carboxílico;

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

25 3. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3 para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria.

30

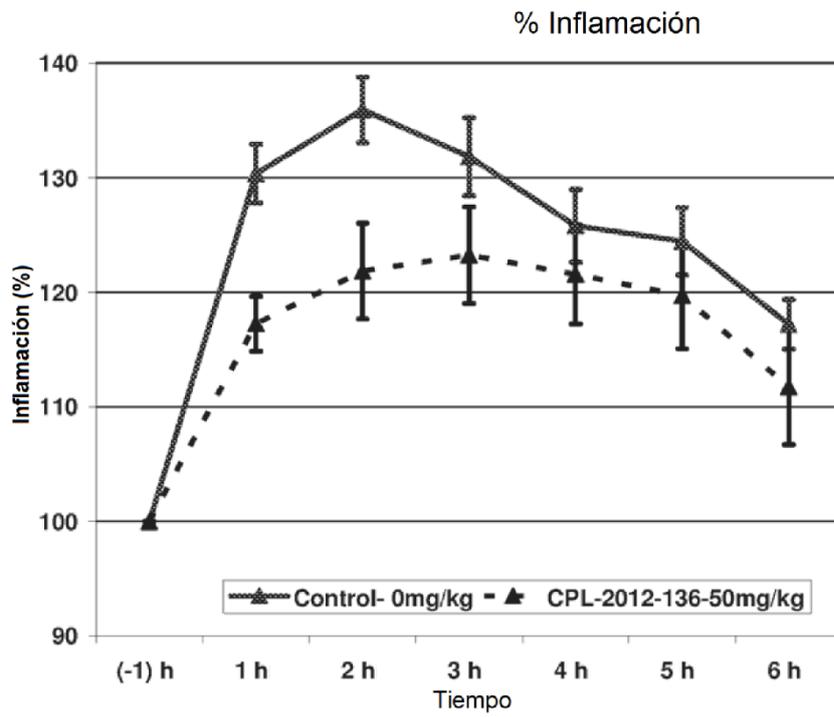


Figura 1

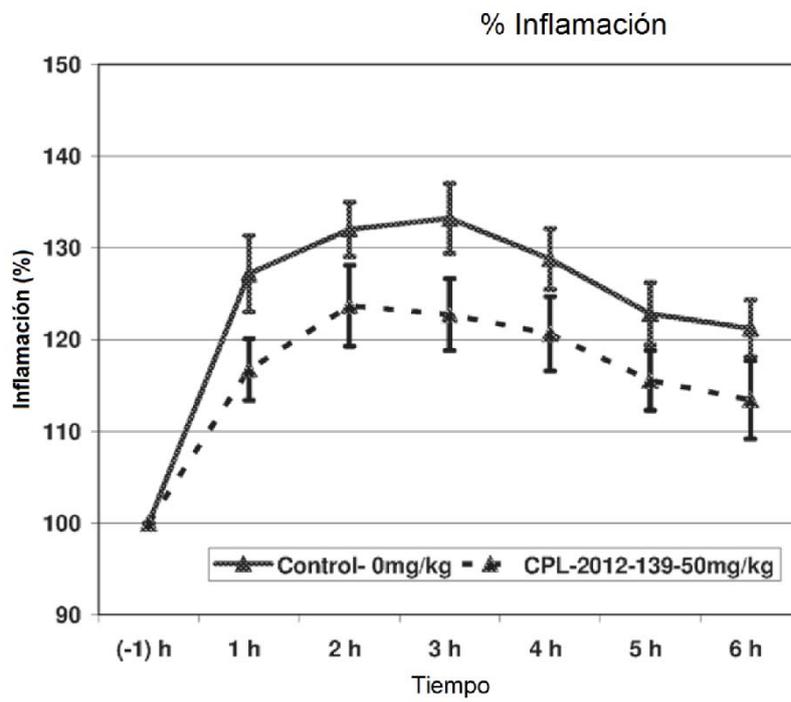


Figura 2

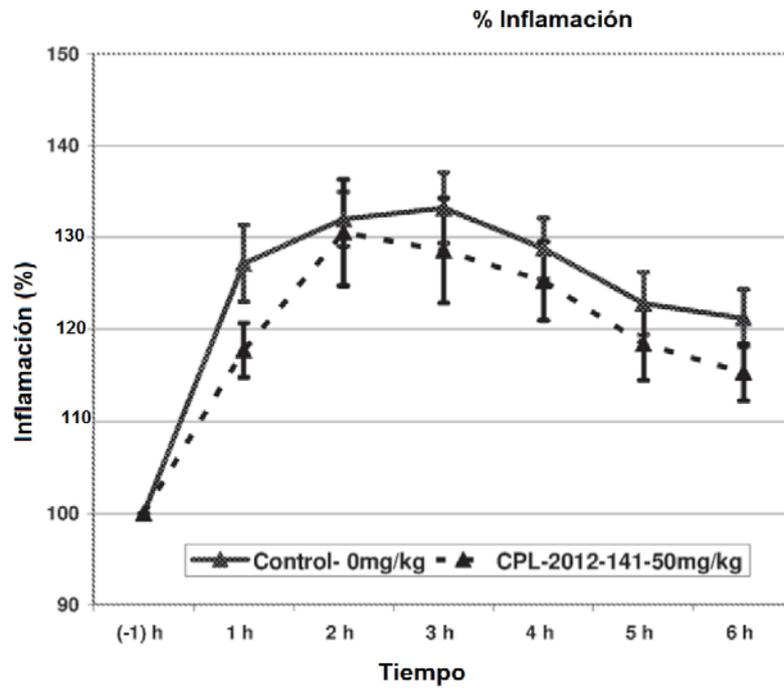


Figura 3

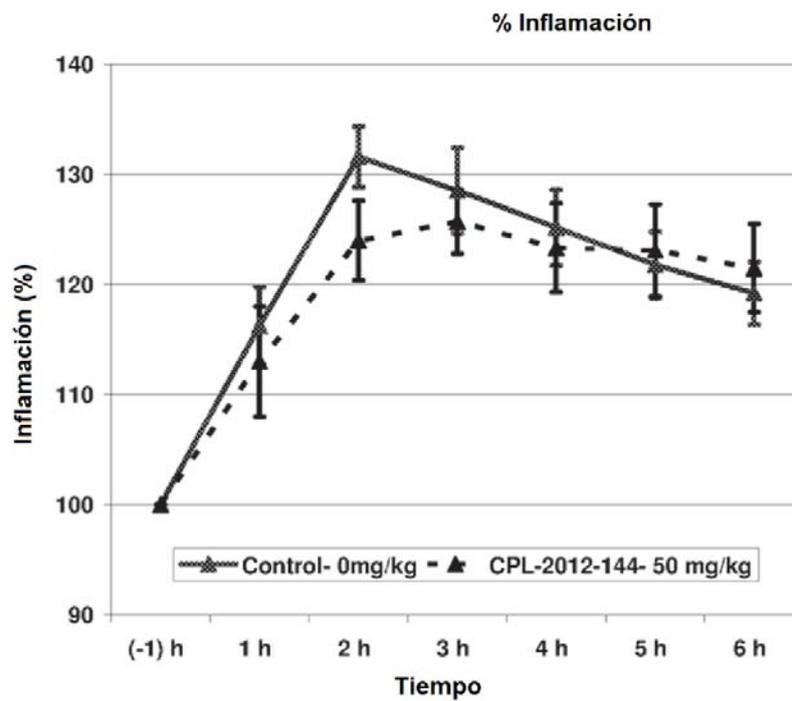


Figura 4

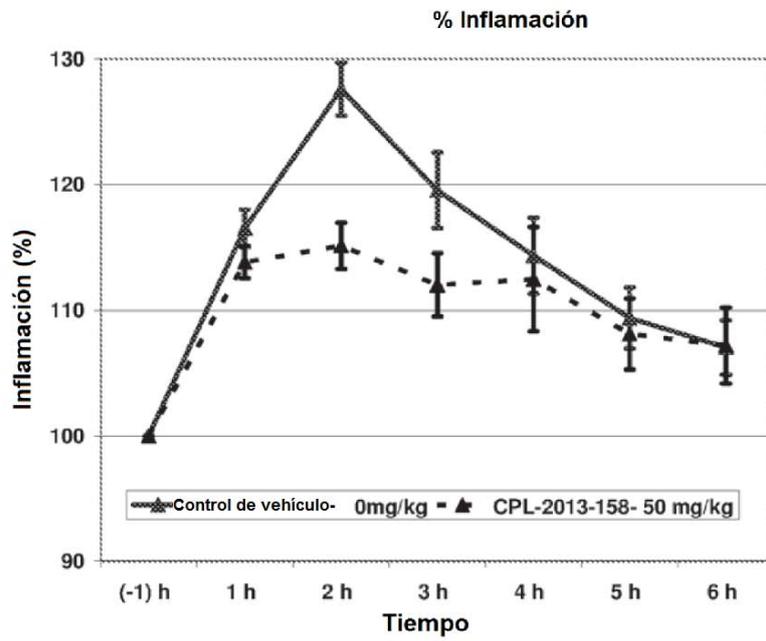


Figura 5

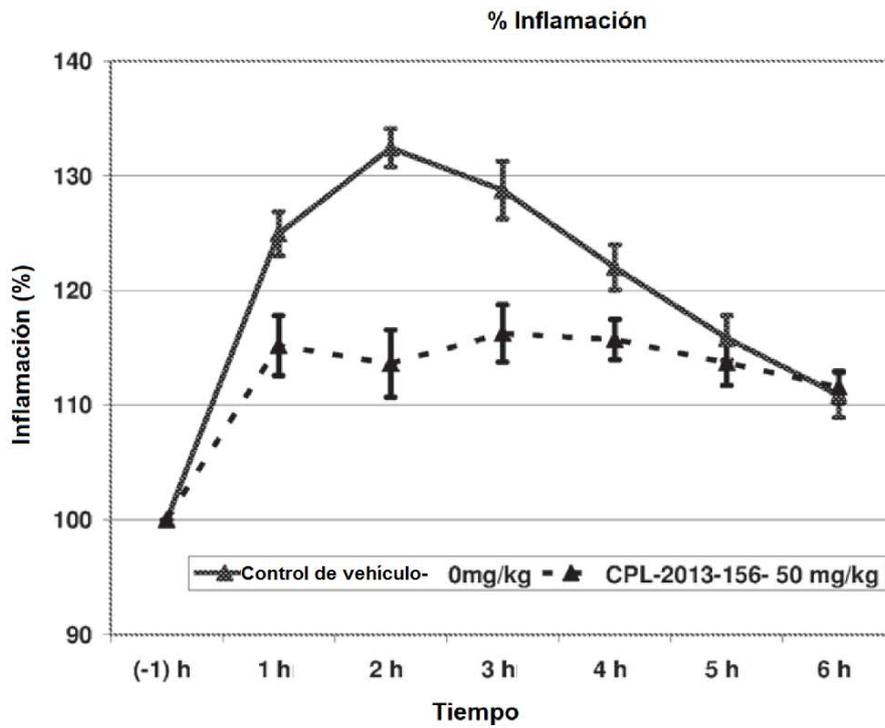


Figura 6