

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 678 649**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

C07H 15/26 (2006.01)

C07F 9/6561 (2006.01)

A61K 31/47 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.10.2012 PCT/US2012/059988**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.04.2013 WO13056073**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.10.2012 E 12840771 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.04.2018 EP 2768308**

54 Título: **Compuestos y sustratos de NQO1 antitumorales**

30 Prioridad:

14.10.2011 US 201161547166 P

20.06.2012 US 201261662163 P

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

14.08.2018

73 Titular/es:

**THE BOARD OF TRUSTEES OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS (50.0%)**

**352 Henry Administration Building 506 South
Wright Street**

Urbana, Illinois 61801, US y

**THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY
OF TEXAS SYSTEM (50.0%)**

72 Inventor/es:

HERGENROTHER, PAUL J.;

BOOTHMAN, DAVID A.;

BAIR, JOSEPH S. y

PALCHAUDHURI, RAHUL

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 678 649 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos y sustratos de NQO1 antitumorales.

- 5 La presente solicitud reivindica la prioridad de las solicitudes de patentes provisionales estadounidenses n.º 61/547.166 presentadas el 14 de octubre de 2011 y 61/662.163 presentada el 20 de junio de 2012.

APOYO DEL GOBIERNO

- 10 La presente invención se realizó con el apoyo del gobierno conforme al contrato número CA102792 otorgado por el Instituto Nacional de Salud. El gobierno tiene ciertos derechos sobre la invención.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 15 Un problema fundamental en el tratamiento del cáncer es el descubrimiento de compuestos que sean tóxicos para las células cancerosas, pero no para las células sanas. Una característica destacada del cáncer es la división celular rápida y sin restricciones. La gran mayoría de los quimioterapéuticos tradicionales se dirigen a las células que se dividen rápidamente mediante la alteración del ciclo celular, lo que provoca la muerte celular. Debido a que algunos tejidos sanos requieren la división celular como parte de su función, las citotoxinas antiproliferativas también pueden
- 20 destruir las células sanas, lo que produce efectos secundarios graves que limitan la dosis. En consecuencia, se deben identificar fármacos nuevos y dianas celulares nuevas que diferencien mejor las células sanas de las cancerosas. Estas dianas pueden estar presentes solo en una pequeña fracción de los pacientes con cáncer, lo que hace que esta sea una estrategia personalizada para tratar el cáncer.

- 25 NAD(P)H quinona oxidoreductasa (NQO1, DT diaforasa) es una reductasa de 2 electrones dependiente de FAD cuya función principal es proteger la célula de las citotoxinas, especialmente las quinonas. Es un miembro de las enzimas desintoxicantes de fase II, cuya expresión es regulada por NRF-2 y el elemento de respuesta antioxidante (ARE) en respuesta al estrés electrofílico u oxidativo. Aunque se identifica generalmente como una proteína
- 30 citosólica, NQO1 se ha identificado en compartimientos subcelulares tales como la mitocondria y el núcleo.

- Las moléculas que contienen quinona suelen ser células citotóxicas y dañinas a través de dos mecanismos. Muchas quinonas son aceptores de adición de conjugados y alquilan fácilmente especies nucleofílicas tales como el ADN y los residuos de cisteína. Las quinonas también son sustratos para las reductasas de 1 electrón, tales como
- 35 citocromo P450, citocromo b5, xantina oxidasa y glutatión reductasa. La reducción de las quinonas por estas enzimas genera una semiquinona altamente reactiva que puede dañar las biomoléculas directamente, o se puede oxidar mediante oxígeno disuelto, lo que produce la formación de un equivalente de radical aniónico superóxido y la quinona parenteral. Por ende, la reducción de 1 electrón de las quinonas puede crear catalíticamente especies de oxígeno reactivo (ROS) que dañan la célula.

- 40 Al reducir las quinonas en un proceso de 2 electrones, NQO1 evita la semiquinona tóxica y forma hidroquinonas, que comúnmente no son reactivas hacia el oxígeno. Las hidroquinonas después se conjugan con moléculas tales como glutatión, glucosa o sulfato, y son excretadas por la célula. Sin embargo, algunas moléculas que contienen hidroquinona son inestables y reaccionan con el oxígeno en dos oxidaciones de 1 electrón para formar nuevamente quinona, lo que genera ROS. La estabilidad relativa de las hidroquinonas frente a la oxidación del aire no se puede
- 45 predecir basándose en la estructura molecular y no se correlaciona con el potencial de reducción.

- NQO1 ha atraído mucha atención como un objetivo potencial para el tratamiento del cáncer porque se ha demostrado que se expresa con frecuencia a niveles mucho más altos en los tumores con relación a los tejidos sanos adyacentes, en particular en el caso del cáncer de pulmón. Además, la actividad de NQO1 parece aumentar
- 50 durante el avance del tumor. Aparte de los tejidos pulmonares, mamarios y del colon, se han informado relativamente pocos datos sobre los niveles de NQO1 en los tejidos normales. Mientras que se informan niveles bajos de NQO1 en la médula ósea y las células hepáticas, dos tejidos frecuentemente dañados por los agentes quimioterapéuticos, se han observado niveles altos de NQO1 en las células estomacales y renales.

- 55 La posibilidad de descubrir toxinas que sean activadas, en lugar de desactivadas, por NQO1 ha atraído a los investigadores durante muchos años. Dichas moléculas convertirían esta enzima normalmente citoprotectora en un riesgo para la célula. Se han descubierto dos clases generales de moléculas que se ajustan a esta descripción: Alquiladores de ADN cuya electrofilicidad aumenta después de la biorreducción, y moléculas cíclicas redox que generan ROS catalíticamente después de la reducción. Algunos ejemplos de dichos alquiladores de ADN incluyen
- 60 Mitomicina C, EO9 y MeDZQ, y ejemplos de dichos generadores de ROS incluyen β -lapachona y estreptonigrina, cuyos mecanismos citotóxicos comprenden la biorreducción mediada por NQO1. Estas clases de moléculas están compuestas casi exclusivamente por compuestos que contienen quinona.

La concentración de β -lap administrada a las células puede inducir diferentes formas de muerte celular, donde las concentraciones inferiores inducen la apoptosis y las concentraciones superiores inician la necroptosis dependiente del calcio. Además de la generación de ROS en los RBC, la baja solubilidad acuosa de β -lap requiere el uso de hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) como auxiliar de solubilidad, pero las altas concentraciones de esta provocan hemólisis de RBC *in vitro*. Para abordar los problemas de inestabilidad de los compuestos y el daño a los RBC, los grupos Boothman y Gao han diseñado una formulación micelar de β -lap que demuestra propiedades PK ampliamente mejoradas y eficacia en modelos de tumores murinos (Blanco, Boothman, Gao et al., Cancer Res. 2010, 70, 3896).

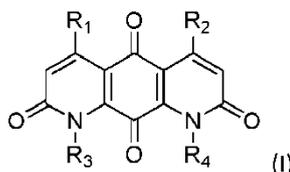
Bair et al. (Journal of the American Chemical Society. 2010, 132, 5469-5478) describen que DNQ es un agente antineoplásico potente con un mecanismo de acción desconocido. Los autores describen una vía sintética sencilla hacia esta antraquinona, y utilizan este material para determinar el mecanismo por el cual DNQ induce la muerte en las células cancerosas. DNQ se sintetizó en siete etapas lineales a través de una vía que empleaba tres reacciones de acoplamiento mediadas por paladio. Los experimentos realizados en células cancerosas cultivadas en hipoxia y normoxia sugieren fuertemente que DNQ se somete a biorreducción hasta su semiquinona, que después es reoxidada por el oxígeno molecular, lo que forma un superóxido que induce la muerte celular. Además, el perfil global de transcripción de las células tratadas con DNQ muestra una elevación de las transcripciones relacionada con el estrés oxidativo, un resultado confirmado a nivel de proteína mediante transferencia Western. A diferencia de la mayoría de los otros agentes antineoplásicos que generan especies de oxígeno reactivo (ROS), DNQ induce de manera potente la muerte de las células cancerosas en cultivo, con valores de IC₅₀ de entre 16 y 210 nM. Además, a diferencia del agente terapéutico experimental elesclomol, DNQ sigue siendo capaz de inducir la muerte de las células de cáncer en condiciones hipóxicas.

Lee y Anderson (Tetrahedron Letters, 1990, 31 (31), 4405-4408) describen la síntesis de un análogo de acetato de nibomicina, es decir, 4-acetiloximetil-1,6,9-trimetil-1,9-diazaantraceno-2,5,8,10-tetraona.

Aunque las estrategias de medicina personalizada han producido fármacos contra el cáncer que salvan vidas, sólo afectan a un pequeño porcentaje de pacientes con cáncer. Como los niveles de NQO1 son muy elevados en una gran cantidad de tumores sólidos, un tratamiento que aprovecha satisfactoriamente los niveles de NQO1 podría beneficiar a una fracción significativa de todos los pacientes con cáncer. A pesar de los amplios esfuerzos realizados para descubrir y desarrollar citotoxinas dependientes de NQO1, ninguno de estos compuestos son lo suficientemente selectivos para NQO1 y los suficientemente estables *in vivo* para probar si el direccionamiento a la sobreexpresión de NQO1 es una estrategia viable contra el cáncer. Lo que se necesita son pruebas de que DNQ y sus derivados poseen la selectividad y la estabilidad necesarias para validar NQO1 como objetivo para el tratamiento del cáncer. Lo que también se necesita son compuestos y composiciones nuevos que puedan inhibir selectivamente las células cancerosas y ser utilizados en terapias terapéuticas contra el cáncer.

RESUMEN

La invención proporciona compuestos, composiciones y compuestos o composiciones de los mismos para utilizar en el tratamiento de células tumorales, por ejemplo, células tumorales que tienen niveles elevados de NQO1. Por lo tanto, un primer aspecto de la invención proporciona compuestos de DNQ novedosos de fórmula (I):



donde

R₁ y R₂ son cada uno de manera independiente grupos alquilo ramificados o no ramificados (C₁₋₄) y versiones cíclicas y/o insaturadas de los mismos;

R₃ es hidrógeno; y

R₄ es un grupo alquilo ramificado o no ramificado (C₁₋₁₀), y las versiones cíclicas y/o insaturadas de este, donde el grupo alquilo R₄(C₁₋₁₀) está opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino y tiol;

con la condición de que, cuando R₁ y R₂ son metilo, R₄ no es metilo;

o una sal o solvato de este.

Un segundo aspecto de la invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen al menos un

compuesto de fórmula (I) y un diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. La invención también describe el uso de los compuestos de fórmula (I) para la preparación de composiciones farmacéuticas, y el uso posterior de las composiciones en el tratamiento de pacientes o sujetos. Los pacientes o sujetos pueden ser mamíferos, lo que incluye seres humanos.

5 Un tercer aspecto describe una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento, la destrucción o la inhibición de las células tumorales de crecimiento que tienen niveles de NQO1 elevados o un tumor que tiene células que tienen niveles de NQO1 elevados, donde al menos una célula tumoral está expuesta a la cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de este, o una composición farmacéuticamente aceptable de este.

10 La invención también proporciona un compuesto de fórmula (I) para uso en un procedimiento para tratar un paciente infectado con múltiples células cancerosas, donde las células cancerosas tienen niveles de NQO1 elevados, donde el procedimiento comprende: administrarle a un paciente que tiene células tumorales con niveles de NQO1 elevados una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de fórmula (I), tal como se reivindica en esta.

15 La invención además proporciona un compuesto o una composición tal como se reivindica en esta para uso en un procedimiento para tratar una célula cancerosa que tiene un nivel de NQO1 elevado que comprende: exponer la célula cancerosa a una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto o la composición tal como se reivindica en esta, donde la célula cancerosa se trata, se destruye o su crecimiento se inhibe.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 25 **Figura 1.** Fórmulas de determinados compuestos de DNQ de acuerdo con diversas realizaciones de la invención.
Figura 2. Ejemplos de compuestos de DNQ específicos.
Figura 3. Se inocularon ratones lampiños con células A549 y los tumores se dejaron establecer y crecer hasta 200 mm³. Se dividieron los ratones en 6 cohortes (4 ratones por cohorte) y se trataron los días 1, 3, 5, 7 y 9. Se midieron los volúmenes tumorales con un calibrador.
30 **Figura 4.** Estructura cristalina de rayos X de DNQ que muestra el apilamiento de π en estado sólido.
Figura 5. Sitios de derivación en DNQ de acuerdo con diversas realizaciones de la invención.
Figura 6. Estructura cristalina de rayos X de NQO1 humano con inhibidor dicoumarol (izquierda) o con DNQ modelado utilizando el software MOE (derecha). El cofactor FAD se representa en forma de barra con el resto de adenina en la parte superior de la imagen y la triciclicina flavina en el sitio activo. Se incluyen dibujos de los sustratos para ayudar a visualizar la orientación de las moléculas en el sitio activo de NQO1.
35 **Figura 7.** Solubilidad de derivados de DNQ en PBS a pH 7,4. Los compuestos 4-23, 4-32, 4-35, 4-22, 4-34, 4-15, 4-30, 4-37, DNQ, 4-31, 4-14 y 4-8 son compuestos «activos» ($IC_{50} < 500$ nM), mientras que los compuestos 4-39, 4-12, 4-9, 4-29, 4-11 y 4-41 generalmente son compuestos «inactivos» ($IC_{50} > 500$ nM). El orden de los compuestos en la **figura 7** se conserva para las **figuras 8-11**.
40 **Figura 8.** Solubilidad de derivados de DNQ activo en HP β CD al 20 %. Los derivados menos activos (4-10, 4-13, 4-28, 4-16, 4-27, 4-26, 4-39, 4-12, 4-9, 4-29, 4-11 y 4-41) no se evaluaron.
Figura 9. Solubilidad de derivados de DNQ en DMSO. Los compuestos 4-25, 4-24, 4-23, 4-32, 4-35, 4-22, 4-34, 4-15, 4-30, 4-37, DNQ, 4-31, 4-14 y 4-8 son compuestos «activos» ($IC_{50} < 500$ nM), mientras que los compuestos 4-28, 4-16, 4-27, 4-26, 4-39, 4-12, 4-9, 4-29, 4-11 y 4-41 generalmente son compuestos «inactivos» ($IC_{50} > 500$ nM).
45 **Figura 10.** Solubilidad de derivados de DNQ en diclorometano. Los compuestos 4-25, 4-24, 4-23, 4-32, 4-35, 4-22, 4-34, 4-15, 4-30, 4-37, DNQ, 4-31, 4-14 y 4-8 son compuestos «activos» ($IC_{50} < 500$ nM), mientras que los compuestos 4-10, 4-13, 4-28, 4-16, 4-27, 4-26, 4-39, 4-12, 4-9, 4-29, 4-11 y 4-41 generalmente son compuestos «inactivos» ($IC_{50} > 500$ nM).
50 **Figura 11.** Solubilidad de derivados de DNQ en metanol al 33 % en diclorometano. Los compuestos 4-24, 4-23, 4-32, 4-35, 4-22, 4-34, 4-15, 4-30, 4-37, DNQ, 4-31, 4-14 y 4-8 son compuestos «activos» ($IC_{50} < 500$ nM), mientras que los compuestos 4-10, 4-13, 4-28, 4-16, 4-27, 4-26, 4-39, 4-12, 4-9, 4-29, 4-11 y 4-41 generalmente son compuestos «inactivos» ($IC_{50} > 500$ nM).
Figura 12. Eficacia de DNQ y el compuesto 4-31 contra la línea celular MDA-MB-231 (cáncer de mama) que expresa NQO1, la versión que no expresa NQO1 y ambas de estas líneas celulares donde NQO1 es inhibido por dicumoral.
55 **Figura 13.** Análisis de inmunotransferencia de DNQ-87, DNQ-107 y DNQ-9-251, tal como se describen en el ejemplo 6, de acuerdo con una realización.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

60 La selectividad tumoral sigue siendo un desafío para las estrategias quimioterapéuticas eficaces contra el cáncer. Aunque el desarrollo reciente de β -lapachona para aprovechar específicamente los niveles elevados de NAD(P)H:quinona oxidorreductasa 1 (NQO1) en la mayoría de los tumores sólidos representa un enfoque

quimioterapéutico novedoso, se necesitan otros compuestos que destruyan mediante necrosis programada con una mayor potencia. La presente descripción demuestra que la desoxiniboquinona (DNQ) destruye un amplio espectro de tipos de células de cáncer (es decir, de mama, pulmón de células no pequeñas, próstata, páncreas) de forma dependiente de NQO1 con una potencia ampliamente mejorada (20 a 100 veces) en comparación con la β -lapachona. La letalidad de DNQ se basa en los ciclos redox ineficaces dependientes de NQO1, que utilizan oxígeno y generan especies de oxígeno reactivo (ROS) amplias, en particular superóxido y peróxido de hidrógeno. Los niveles de ROS elevados provocan lesiones de ADN amplias e hiperactivación de PARP-1 que, a su vez, produce una eliminación grave de NAD^+ /ATP que estimula las respuestas de muerte celular necrótica programada dependiente del calcio exclusivas de esta clase de fármacos «bioactivados» por NQO1 (es decir, β -lapachona y DNQ).

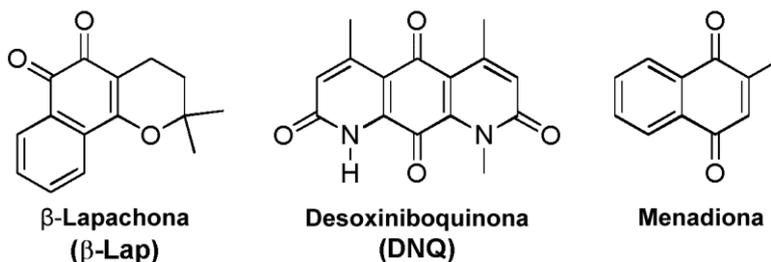
Una exposición de 2 horas de células NQO1+ a DNQ (LD_{90} : 50-250 nM) fue suficiente para una muerte celular completa, mientras que las células NQO1- genéticamente coincidentes no resultaron afectadas. La inactivación de NQO1 o PARP-1 evitó la letalidad a corto plazo de las células NQO1+ tratadas con DNQ. BAPTA-AM (quelante de Ca^{2+} citosólico) y catalasa (material trampa de H_2O_2 enzimático) recuperaron la letalidad inducida por DNQ mediante evaluaciones de supervivencia a largo plazo. Por ende, DNQ es un agente quimioterapéutico potente que presenta una amplia ventana terapéutica que es prometedora para la terapia dirigida contra un amplio espectro de cánceres difíciles de tratar, incluidos el cáncer de páncreas y el cáncer de pulmón de células no pequeñas.

A pesar de los avances considerables en la quimioterapia contra el cáncer, la falta de selectividad de la mayoría de los agentes quimioterapéuticos contra el cáncer sigue siendo un factor limitante importante. La presente descripción describe la evaluación de los niveles elevados de NAD(P)H:quinona oxidoreductasa-1 (NQO1, DT-diaforasa, EC 1.6.99.2) que se encuentra en la mayoría de los tumores sólidos, en particular en las células de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), próstata, páncreas y mama, para el desarrollo de tratamientos terapéuticos. NQO1 es una oxidoreductasa de dos electrones desintoxicante de fase II inducible capaz de reducir la mayoría de las quinonas y formar hidroquinonas estables. En la mayoría de los casos, la glutatona transferasa después desintoxica las hidroquinonas y las conjuga con glutatona para la secreción, y evita de forma efectiva semiquinonas más tóxicas.

Sin embargo, para algunos compuestos poco comunes, se puede aprovechar la biorreducción mediada por NQO1 para la actividad antitumoral. En lugar de promover la desintoxicación, la actividad de NQO1 puede convertir las quinonas específicas en especies altamente citotóxicas. La mayoría de las quinonas antitumorales dependientes de NQO1 son alquiladores de ADN: (a) mitomicina C (MMC); (b) RH1; (c) E09 y (d) AZQ. Sin embargo, estos alquiladores de ADN no solo se someten a vías de desintoxicación, sino que la resistencia de las vías de reparación de ADN elevadas o inducibles limita su utilidad. Además, muchos de estos fármacos son sustratos eficientes para las oxidoreductasas de un electrón que se expresan de forma ubicua en los tejidos normales.

La *orto*-naftoquinona, β -lapachona (β -lap, **esquema 1**), destruye las células de cáncer cultivadas y los modelos de xenoinjerto murino y tumores humanos o de ratón ortotópicos *in vivo* de forma dependiente de NQO1. A diferencia de las quinonas alquilantes, β -lap induce la muerte celular mediante la formación de especies de oxígeno reactivo dependientes de NQO1 (ROS) y el estrés oxidativo. El metabolismo de NQO1 de β -lap produce una hidroquinona inestable que es oxidada espontáneamente por dos equivalentes de dioxígeno, lo que genera superóxido.

Esquema 1. Ejemplos de compuestos de quinona.



Se establece por lo tanto un ciclo ineficaz de oxidorreducción y los niveles de superóxido elevados, a su vez, provocan lesiones de base de ADN masiva y rotura de cadena simple (SSB) que normalmente se reparan fácil y rápidamente. Sin embargo, las lesiones de ADN amplias creadas en las células cancerosas que sobreexpresan NQO1 tratado con β -lap producen hiperactivación de poli(ADP-ribosa)polimerasa-1 (PARP1), una base de otro modo esencial y enzima de reparación de SSB. A su vez, la hiperactivación de PARP1 produce una reducción drástica del conjunto de NAD^+ /ATP debido a la ribosilación de ADP, lo que provoca una gran eliminación de energía y muerte

celular. Como resultado, β -lap destruye las células cancerosas de NQO1+ mediante un mecanismo de necrosis programada exclusivo que es: (a) independiente de la activación de caspasa o el estado de p53; (b) independiente de los niveles de bcl-2; (c) no resulta afectado por las deficiencias de BAX/BAK; (d) independiente de EGFR, Ras u otra activación de transducción de señales constitutiva; y/o (e) no dependiente de la proliferación, ya que NQO1 se expresa en todas las fases del ciclo celular. Por ende, β -lap es un agente quimioterapéutico experimental atractivo y diversas formulaciones de β -lap han estado, o se encuentran actualmente, en ensayos clínicos de fase I/II.

Sin embargo, β -lap presenta una potencia bastante baja (LD_{50} : 2-10 μ M) *in vitro* y presenta solubilidad acuosa limitada que complica la formulación y la administración. Aunque las estrategias de nanopartículas para la administración de β -lap resolvieron problemas de formulaciones y produjeron una eficacia antitumoral prometedora, existe una necesidad evidente de mejores compuestos para aprovechar de forma eficiente la sobreexpresión de NQO1 en los tumores sólidos.

La desoxiniboquinona (DNQ, **esquema 1**) es un agente antineoplásico prometedor cuyo mecanismo de acción no se ha dilucidado. Los datos anteriores indicaban que DNQ destruía las células cancerosas a través del estrés oxidativo y la formación de ROS. La citotoxicidad de DNQ fue impedida parcialmente por la N-acetilcisteína, un material trampa global de radicales libres y precursor del glutatión. Se ha demostrado que DNQ sufre un ciclo ineficaz dependiente de NQO1 similar a β -lap, donde el oxígeno se consume, se forma ROS y el daño de ADN amplio activa la hiperactivación de PARP1 con disminuciones drásticas de los conjuntos de nucleótidos de NAD^+ /ATP esenciales, lo que indica la necrosis programada. Es importante destacar que DNQ es 20 a 100 veces más potente que β -lap, con una ventana terapéutica significativamente mejorada en las células NSCLC NQO1+ frente a NQO1-. La destrucción dependiente de NQO1 eficaz por DNQ también se muestra en modelos de cáncer de mama, próstata y páncreas *in vitro*. Además, se muestra que NQO1 *in vitro* procesa DNQ de forma mucho más eficiente que β -lap, lo que sugiere que la mayor utilización representa su mayor potencia. Por ende, DNQ resulta bastante prometedor como agente quimioterapéutico selectivo para el tratamiento de tumores sólidos con niveles de NQO1 elevados.

Como NQO1 se sobreexpresa en la mayoría de los tumores sólidos, y la citotoxicidad de DNQ depende mayoritariamente de la expresión elevada de la enzima NQO1, DNQ y sus derivados pueden ser una forma excelente de abordar el direccionamiento de tumores sólidos. La invención proporciona numerosos compuestos citotóxicos nuevos que se pueden utilizar como agentes terapéuticos contra el cáncer nuevos.

Lo que antecede y otros objetivos y características de la descripción resultarán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, que procede con referencia a las figuras adjuntas. Otras realizaciones, formas, características, aspectos, beneficios, objetivos y ventajas de la presente solicitud resultarán evidentes a partir de la descripción detallada y las figuras que se proporcionan en la presente.

Definiciones

En general, los términos y las frases utilizados en la presente tienen un significado reconocido en la técnica, que se puede encontrar mediante referencia a textos estándar, referencias periodísticas y contextos conocidos por los expertos en la técnica. Tales significados reconocidos en la técnica se pueden conseguir consultando diccionarios técnicos, tales como el Hawley's Condensed Chemical Dictionary 14.^a edición, de R.J. Lewis, John Wiley & Sons, Nueva York, N.Y., 2001.

Se observa además que las reivindicaciones pueden redactarse de forma que excluyan cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración pretende servir como base precedente para el uso de terminología exclusiva, tal como «únicamente», «solo» y similares, en relación con la mención de elementos de reivindicación o el uso de una limitación «negativa».

El término «y/o» significa cualquiera de los elementos, cualquier combinación de los elementos o todos los elementos con los que esté asociado este término. La expresión «uno o más» es fácil de entender por un experto en la materia, especialmente cuando la lee dentro del contexto de su uso. Por ejemplo, uno o más sustituyentes en un anillo fenilo se refiere a de uno a cinco, o de uno a cuatro, por ejemplo, si el anillo fenilo está disustituido.

El término «aproximadamente» se puede referir a una variación de $\pm 5\%$, $\pm 10\%$, $\pm 20\%$, o $\pm 25\%$ del valor especificado. Por ejemplo, «aproximadamente 50» por ciento puede, en algunas formas de realización, conllevar una variación del 45 al 55 por ciento. Para intervalos enteros, el término «aproximadamente» puede incluir uno o dos números enteros mayores que y/o menores que un número entero mencionado en cada extremo del intervalo. A menos que se indique lo contrario en el presente documento, el término «aproximadamente» pretende incluir valores, por ejemplo, porcentajes en peso, próximos al intervalo mencionado que son equivalentes en términos de funcionalidad del ingrediente individual, la composición o la forma de realización.

Como un experto en la materia entenderá, todos los números, incluidos los que expresan cantidades de ingredientes, propiedades tales como el peso molecular, condiciones de reacción, etc., son aproximaciones y se entiende que están opcionalmente modificados en todos los casos por el término «aproximadamente». Estos valores pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que busquen obtener los expertos en la materia que utilizan las enseñanzas de las descripciones del presente documento. También se entiende que tales valores contienen inherentemente variabilidad, que resulta necesariamente de las desviaciones estándar encontradas en sus correspondientes medidas de ensayo.

Aunque la presente invención puede adoptar muchas formas diferentes, con el fin de promover un entendimiento de los principios de la invención, se hará referencia a las realizaciones ilustradas en los dibujos y se usarán términos específicos para describirlas. Se entenderá, sin embargo, que no se pretende limitar el alcance de la invención. Se contempla toda alteración y modificaciones adicionales de las realizaciones descritas y cualquier otra aplicación de los principios de la invención tal como se describen en la presente que se le puedan ocurrir normalmente al experto en la técnica a la cual se refiere la invención.

Cuando se describe un grupo de sustituyentes en la presente, se entiende que todos los componentes individuales de ese grupo y todos los subgrupos, incluido cualquier enantiómero y diastereómero de los componentes del grupo, se describen por separado. Cuando se utiliza un grupo Markush u otro agrupamiento en la presente, todos los componentes individuales del grupo y todas las combinaciones y subcombinaciones posibles del grupo se incluyen individualmente en la descripción. Cuando se describe un compuesto en la presente de manera que no se especifica un enantiómero o diastereómero particular del compuesto, por ejemplo, en una fórmula o en un nombre químico, esa descripción incluye cada enantiómero del compuesto descrito individualmente o en cualquier combinación. Además, a menos que se especifique lo contrario, todas las variantes isotópicas de los compuestos descritos en la presente están comprendidas por la descripción. Por ejemplo, se entenderá que uno o más hidrógenos en una molécula descrita se pueden reemplazar por deuterio o tritio. Las variantes isotópicas de una molécula suelen ser útiles como estándares en ensayos para la molécula y en investigaciones químicas y biológicas relacionadas con la molécula o su uso. Los procedimientos para realizar dichas variantes isotópicas se conocen en la técnica. Los nombres específicos de los compuestos son ejemplares, ya que se sabe que un experto en la técnica puede nombrar los mismos compuestos de forma diferente.

Cuando se especifica un intervalo en la memoria descriptiva, por ejemplo, un intervalo de temperatura, un intervalo de tiempo, un intervalo de cadena de carbono o un intervalo de composición o concentración, todos los intervalos y subintervalos intermedios, así como todos los valores individuales incluidos en los intervalos indicados, se incluyen de forma individual en la descripción. Se entenderá que cualquier subintervalo o valor individual en un intervalo o subintervalo que esté incluido en la descripción se puede excluir opcionalmente de las realizaciones de la invención.

Tal como se usa en la presente, «que comprende» es sinónimo de «que incluye», «que contiene» o «que se caracteriza por» y es inclusiva o abierta y no excluye elementos adicionales, no mencionados o etapas del procedimiento. Tal como se usa en la presente, «que consiste en» excluye todo elemento, etapa o ingrediente que no se especifique en el elemento de la reivindicación. Tal como se usa en la presente, «que consiste esencialmente en» no excluye materiales o etapas que no afecten sustancialmente las características básicas y novedosas de la reivindicación. En cada aspecto en la presente, se puede reemplazar cualquiera de las expresiones «que comprende», «que consiste esencialmente en» y «que consiste en» por cualquiera de las otras dos expresiones. La invención descrita de manera ilustrativa en la presente se puede poner en práctica adecuadamente en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones que no se describa específicamente en la presente.

Un «agente quimioterapéutico» se refiere a cualquier sustancia capaz de reducir o impedir el crecimiento, la proliferación o la propagación de una célula cancerosa, una población de células cancerosas, tumores u otros tejidos malignos. El término también abarca cualquier agente antitumoral o contra el cáncer.

Una «cantidad terapéuticamente efectiva» de un compuesto con respecto al procedimiento de tratamiento del sujeto se refiere a una cantidad de los compuestos en una preparación que, cuando se administra como parte de un régimen de dosificación deseado (a un mamífero, tal como un ser humano), alivia un síntoma, mejora una afección o ralentiza la aparición de la enfermedad conforme a estándares clínicamente aceptables para el trastorno o la afección que se trata o el fin cosmético, p. ej., a una relación razonable beneficio/riesgo aplicable a cualquier tratamiento médico.

Los términos «que trata», «tratar» y «tratamiento» incluyen (i) la prevención de se produzca una enfermedad o afección médica o patológica (por ejemplo, profilaxis); (ii) la inhibición de la enfermedad, o afección médica o patológica, o el freno de su desarrollo; (iii) el alivio de la enfermedad o condición médica o patológica; y/o (iv) la reducción de los síntomas asociados con la enfermedad o condición médica o patológica. Por tanto, los términos «tratar», «tratamiento» y «que trata» se pueden ampliar a la profilaxis y pueden incluir impedir, la prevención, el

impedimento, la reducción, la detención o la reversión de la progresión o severidad de la afección o los síntomas que se están tratando. Como tal, el término «tratamiento» puede incluir la administración médica, terapéutica y/o profiláctica, según convenga. El término «tratar» o «tratamiento» puede incluir invertir, reducir o detener los síntomas, los signos clínicos y la patología subyacente de una afección, para mejorar o estabilizar la condición de un sujeto.

Los términos «inhibir», «que inhibe» e «inhibición» se refieren al ralentizamiento, la detención, o la reversión del crecimiento o la progresión de una enfermedad, una infección, una afección o un grupo de células. La inhibición puede ser mayor de aproximadamente el 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, 90 %, 95 %, o 99 %, por ejemplo, en comparación con el crecimiento o la progresión que se producen en ausencia del tratamiento o la puesta en contacto.

El término «puesta en contacto» se refiere al acto de tocar, hacer contacto o acercar, incluyendo a nivel celular o molecular, por ejemplo, para provocar una reacción fisiológica, una reacción química o un cambio físico, por ejemplo, en una solución, en una mezcla de reacción, *in vitro*, o *in vivo*.

El término «exponer» abarca las definiciones tal como se entienden ampliamente en la técnica. En una realización, el término significa someter o permitir someterse a una acción, influencia o condición. Por ejemplo y solo a modo de ejemplo, una célula se puede someter a la acción, influencia o condición de una cantidad terapéuticamente efectiva de una forma farmacéuticamente aceptable de un agente quimioterapéutico.

El término «célula cancerosa» abarca las definiciones tal como se entienden ampliamente en la técnica. En una realización, la expresión se refiere a una célula regulada de forma anormal que puede contribuir con una afección clínica de cáncer en un ser humano o un animal. En una realización, la expresión se puede referir a una línea celular cultivada o una célula dentro o derivada de un cuerpo humano o animal. Una célula cancerosa puede ser de una amplia variedad de tipos diferenciados de células, tejidos u órganos tal como se entiende en la técnica.

El término «tumor» se refiere a una neoplasia, normalmente una masa que incluye múltiples células malignas agrupadas.

Los siguientes grupos pueden ser grupos R o grupos de enlace, según corresponda.

El término «alquilo» se refiere a una cadena de hidrocarburos saturados ramificada o no ramificada monorradical que tiene preferentemente entre 1 y 30 átomos de carbono. Los grupos alquilo cortos son aquellos que tienen entre 1 y 12 átomos de carbono, incluidos los grupos metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo y hexilo, incluidos todos los isómeros de los mismos. Los grupos alquilo largos son aquellos que tienen 12-30 átomos de carbono. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

Los grupos alquilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo y heterociclo, y las versiones cíclicas y/o insaturadas de estos, pueden ser grupos R de fórmula I, y cada grupo puede estar opcionalmente sustituido.

El término «sustituido» indica que uno o más átomos de hidrógeno del grupo indicado en la expresión que utiliza «sustituido» se reemplaza por un «sustituyente». La cantidad a la que se refiere «uno o más» se puede deducir a partir del resto en donde residen los sustituyentes. Por ejemplo, uno o más se puede referir, por ejemplo, a 1, 2, 3, 4, 5, o 6; en algunas realizaciones 1, 2, o 3; y en otras realizaciones 1 o 2. El sustituyente puede ser uno de una selección de grupos indicados, o puede ser un grupo adecuado conocido por los expertos en la técnica, con la condición de que no se supere la valencia normal del átomo sustituido, y que la sustitución produzca un compuesto estable. Los grupos sustituyentes adecuados incluyen, por ejemplo, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, halo, haloalquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, arilo, aroilo, (aril)alquilo (por ejemplo, bencilo o feniletilo), heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo, alcanilo, alcoxi-carbonilo, amino, alquilamino, dialquilamino, trifluorometilo, trifluorometoxi, trifluorometilitio, difluorometilo, acilamino, nitro, carboxi, carboxialquilo, ceto, tioxo, alquiltio, alquilsulfino, alquilsulfonilo, arilsulfino, arilsulfonilo, heteroarilsulfino, heteroarilsulfonilo, heterociclosulfino, heterociclosulfonilo, fosfato, sulfato, hidroxilamina, hidroxil(alquil)amina y ciano. Además, los grupos sustituyentes adecuados pueden ser, por ejemplo, -X, -R, -O⁻, -OR, -SR, -S⁻, -NR₂, -NR₃, =NR, -CX₃, -CN, -OCN, -SCN, -N=C=O, -NCS, -NO, -NO₂, =N₂, -N₃, -NC(=O)R, -C(=O)R, -C(=O)NRR, -S(=O)₂O⁻, -S(=O)₂OH, -S(=O)₂R, -OS(=O)₂OR, -S(=O)₂NR, -S(=O)R, -OP(=O)O₂RR, -P(=O)O₂RR, -P(=O)(O⁻)₂, -P(=O)(OH)₂, -C(=O)R, -C(=O)X, -C(S)R, -C(O)OR, -C(O)O⁻, -C(S)OR, -C(O)SR, -C(S)SR, -C(O)NRR, -C(S)NRR o -C(NR)NRR, donde cada X es independientemente un halógeno («halo»): F, Cl, Br o I; y cada R es independientemente H, alquilo, arilo, (aril)alquilo (por ejemplo, bencilo), heteroarilo, (heteroaril)alquilo, heterociclo, heterociclo(alquilo) o un grupo protector. Como comprenderá fácilmente un experto en la técnica, cuando un sustituyente es ceto (=O) o tioxo (=S), o similar, entonces se reemplazan dos átomos de hidrógeno en el átomo sustituido. En algunas realizaciones, uno o más de los sustituyentes anteriores se pueden excluir del grupo de valores potenciales para los sustituyentes en un grupo sustituido.

El término «heteroalquilo», a menos que se exprese lo contrario, por sí mismo o en combinación con otro término, significa una cadena lineal o ramificada estable, o un radical de hidrocarburo cíclico, o combinaciones de estos, que suele tener entre 2 y 14 carbonos, o entre 2 y 10 carbonos en la cadena, que incluye al menos un átomo de carbono y al menos un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en O, N, P, Si y S, y donde los átomos de nitrógeno y azufre pueden oxidarse opcionalmente y el heteroátomo de nitrógeno puede estar cuaternizado opcionalmente. El o los heteroátomos O, N, P y S y Si pueden estar ubicados en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo o en la posición en la que el grupo alquilo está unido al resto de la molécula. El grupo heteroalquilo puede tener, por ejemplo, entre uno y aproximadamente 20 átomos de carbono en una cadena. Algunos ejemplos incluyen, entre otros, --CH₂--CH₂--O--CH₃, --CH₂--CH₂--NH--CH₃, --CH₂--CH₂--N(CH₃)--CH₃, --CH₂--S--CH₂--CH₃, --CH₂--CH₂--S(O)--CH₃, --CH₂--CH₂--S(O)₂--CH₃, --CH=CH--O--CH₃, --Si(CH₃)₃, --CH₂--CH=N--OCH₃, --CH=CH--N(CH₃)--CH₃, O--CH₃, --O--CH₂--CH₃ y --CN. Ejemplos adicionales de grupos heteroalquilo incluyen éteres alquílicos, aminas alquílicas secundarias y terciarias, amidas, sulfuros alquílicos y similares. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace. Tal como se usa en la presente, la referencia a una cadena cuando se usa en el contexto de un grupo de enlace se refiere a la cadena directa de átomos que une las dos posiciones terminales del grupo de enlace.

El término «alcohol», tal como se usa en la presente, se puede definir como un alcohol que comprende un resto alquilo C₁₋₁₂ sustituido en un átomo de hidrógeno por un grupo hidroxilo. Los alcoholes incluyen etanol, n-propanol, i-propanol, n-butanol, i-butanol, s-butanol, t-butanol, n-pentanol, i-pentanol, n-hexanol, ciclohexanol, n-heptanol, n-octanol, n-nonanol, n-decanol y similares. Los átomos de carbono en los alcoholes pueden ser lineales, ramificados o cíclicos.

«Acilo» se puede definir como un grupo alquilo-CO- en el cual el grupo alquilo es como se describe en la presente. Algunos ejemplos de acilo incluyen acetilo y benzoilo. El grupo alquilo puede ser un grupo alquilo C₁-C₆. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace (es decir, divalente).

«Alcoxi» se refiere a un grupo -O-alquilo en el cual alquilo es como se define en la presente. Preferentemente, el alcoxi es un alcoxi C₁-C₆. Algunos ejemplos incluyen, entre otros, metoxi y etoxi. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

«Alqueniilo» como grupo o parte de un grupo indica un grupo de hidrocarburos alifáticos que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono y que puede ser lineal o ramificado, que tiene preferentemente 2-14 átomos de carbono, más preferentemente 2-12 átomos de carbono, incluso más preferentemente 2-6 átomos de carbono, en la cadena normal. El grupo puede contener múltiples dobles enlaces en la cadena normal y la orientación alrededor de cada uno es de forma independiente E o Z. Los grupos alqueniilo ejemplares incluyen, entre otros, etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo y nonenilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

«Alquinilo» como grupo o parte de un grupo se puede definir como un grupo de hidrocarburos alifáticos que contiene un triple enlace carbono-carbono, cuya cadena puede ser lineal o ramificada y tiene preferentemente 2-14 átomos de carbono, más preferentemente 2-12 átomos de carbono, más preferentemente 2-6 átomos de carbono, en la cadena normal. Las estructuras ejemplares incluyen, entre otras, etinilo y propinilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

«Alqueniiloxi» se refiere a un grupo --O-- alqueniilo en el cual alqueniilo es como se define en la presente. Los grupos alqueniiloxi preferidos son grupos alqueniiloxi C₁-C₆. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

«Alquiniloxi» se refiere a un grupo --O-alquinilo en el cual alquinilo es como se define en la presente. Los grupos alquiniloxi preferidos son grupos alquiniloxi C₁-C₆. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

«Alcoxicarbonilo» se refiere a un grupo -C(O)--O-alquilo en el cual alquilo es como se define en la presente. El grupo alquilo es preferentemente un grupo alquilo C₁-C₆. Algunos ejemplos incluyen, pero sin limitaciones, metoxicarbonilo y etoxicarbonilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

«Alquilsulfínilo» se puede definir como un grupo -S(O)-alquilo en el cual alquilo es como se definió anteriormente. El grupo alquilo es preferentemente un grupo alquilo C₁-C₆. Los grupos alquilsulfínilo ejemplares incluyen, pero sin limitación, metilsulfínilo y etilsulfínilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

«Alquilsulfonilo» se refiere a un grupo -S(O)₂-alquilo en el cual alquilo es como se definió anteriormente. El grupo alquilo es preferentemente un grupo alquilo C₁-C₆. Algunos ejemplos incluyen, entre otros, metilsulfonilo y etilsulfonilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

«Amino» se refiere a $-NH_2$ y «alquilamino» se refiere a $-NR_2$, donde al menos un R es alquilo y el segundo R es alquilo o hidrógeno. El término «acilamino» se refiere a $RC(=O)NH-$, donde R es alquilo o arilo. El grupo alquilo puede ser, por ejemplo, un grupo alquilo C_1-C_6 . Algunos ejemplos incluyen, entre otros, metilamino y etilamino. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

5 «Alquilaminocarbonilo» se refiere a un grupo alquilamino-carbonilo en el cual alquilamino es como se definió anteriormente. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

10 «Cicloalquilo» se refiere a un carbociclo monocíclico o fusionado o policíclico espiro, saturado o parcialmente saturado de entre 3 y aproximadamente 30 átomos de carbono, que suele contener entre 3 y aproximadamente 9 carbonos por anillo, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclooctilo y similares. Incluye sistemas monocíclicos, tales como ciclopropilo y ciclohexilo, sistemas bicíclicos tales como decalina y sistemas policíclicos, tales como adamantano. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

15 «Cicloalqueno» se puede definir como un sistema de anillo monocíclico o multicíclico no aromático que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono y que preferentemente tiene 5-10 átomos de carbono por anillo. Algunos ejemplos de anillos de cicloalqueno monocíclicos incluyen ciclopentenilo, ciclohexenilo o cicloheptenilo. El grupo cicloalqueno puede ser sustituido por uno o más grupos sustituyentes. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

20 Los grupos alquilo y cicloalquilo pueden ser sustituyentes en las partes alquilo de otros grupos, tales como, sin limitación, sustituyentes alcoxi, alquilaminas, alquilcetonas, arilalquilo, heteroarilalquilo, alquilsulfonilo y ésteres de alquilo y similares. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

25 «Cicloalquilalquilo» se puede definir como un grupo cicloalquilo-alquilo en el cual los restos cicloalquilo y alquilo son como se describió anteriormente. Algunos ejemplos de grupos monocicloalquilalquilo incluyen ciclopropilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo y cicloheptilmetilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

30 «Heterocicloalquilo» se refiere a un anillo monocíclico, bicíclico o policíclico, saturado o parcialmente saturado que contiene al menos un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, azufre, oxígeno, preferentemente entre 1 y 3 heteroátomos en al menos un anillo. Cada anillo tiene preferentemente entre 3 y 10 miembros, más preferentemente entre 4 y 7 miembros. Algunos ejemplos de sustituyentes heterocicloalquilo adecuados incluyen pirrolidilo, tetrahidrofurilo, tetrahidrotiofuranilo, piperidilo, piperazilo, tetrahidropirano, morfolino, 1,3-diazapano, 1,4-diazapano, 1,4-oxazepano y 1,4-oxatiapano. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

35 «Heterocicloalqueno» se refiere a un heterocicloalquilo tal como se definió anteriormente, pero que contiene al menos un doble enlace. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

40 «Heterocicloalquilalquilo» se refiere a un grupo heterocicloalquil-alquilo en el cual los restos heterocicloalquilo y alquilo son como se describió anteriormente. Algunos ejemplos de grupos heterocicloalquilalquilo incluyen (2-tetrahidrofuril)metilo y (2-tetrahidrotiofuranil)metilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de enlace.

«Halo» se refiere a un sustituyente halógeno tal como fluoro, cloro, bromo o yodo.

45 El término «arilo» se refiere a un grupo hidrocarburo aromático derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un único átomo de carbono de un sistema de anillo aromático principal. El radical puede estar en un átomo de carbono saturado o insaturado del sistema de anillo principal. El grupo arilo puede tener entre 6 y 18 átomos de carbono. El grupo arilo puede tener un único anillo (por ejemplo, fenilo) o múltiples anillos condensados (fusionados), donde al menos un anillo es aromático (por ejemplo, naftilo, dihidrofenantrenilo, fluorenilo o antrilo). Los grupos arilo típicos incluyen, entre otros, radicales derivados de benceno, naftaleno, antraceno, bifenilo y similares. El arilo puede ser no sustituido u opcionalmente sustituido, tal como se describió anteriormente para los grupos alquilo.

55 El término «heteroarilo» se define en la presente como un sistema de anillo monocíclico, bicíclico o tricíclico que contiene uno, dos o tres anillos aromáticos y que contiene al menos un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre en un anillo aromático, y que puede ser no sustituido o sustituido, por ejemplo, con uno o más, y en particular uno a tres sustituyentes, tal como se describió anteriormente en la definición de «sustituido». Algunos ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, entre otros, 2H-pirrolilo, 3H-indolilo, 4H-quinolizínulo, acridínulo, benzo[b]tienilo, benzotiazolilo, β -carbolínulo, carbazolilo, cromenilo, cinolinilo, dibenzo[b,d]furanilo, furazanilo, furilo, imidazolilo, imidazolilo, indazolilo, indolisínulo, indolilo, isobenzofuranilo, isoindolilo, isoquinolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, naftiridinilo, oxazolilo, perimidínulo, fenantridinilo, fenantrolínulo, fenarsazinilo, fenazinilo, fenotiazínulo, fenoxatiínulo, fenoxazinilo, ftalazinilo, pteridinilo, purínulo, piranilo, pirazinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridilo, pirimidínulo, pirimidínulo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolilo, quinoxalinilo, tiadiazolilo, tiantrenilo, tiazolilo, tienilo, triazolilo, tetrazolilo y xantenilo. En una realización, el

60

término «heteroarilo» indica un anillo aromático monocíclico que contiene cinco o seis átomos del anillo que contiene carbono y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno no peróxido, azufre y N(Z), donde Z está ausente o es H, O, alquilo, arilo o (C₁-C₆)alquilarilo. En otra realización, heteroarilo indica un heterociclo bicíclico fusionado en orto de entre aproximadamente ocho y diez átomos del anillo derivados de este, en particular un derivado benzo o uno derivado mediante la fusión de un dirradical propileno, trimetileno o tetrametileno a este.

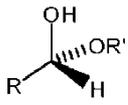
El término «heterociclo» se refiere a un sistema de anillo saturado o parcialmente insaturado, que contiene al menos un heteroátomo seleccionado del grupo de oxígeno, nitrógeno y azufre, y opcionalmente sustituido con uno o más grupos, tal como se define en la presente, con el término «sustituido». Un heterociclo puede ser un grupo monocíclico, bicíclico o tricíclico que contenga uno o más heteroátomos. Un grupo heterociclo también puede contener un grupo oxo (=O) unido al anillo. Algunos ejemplos no taxativos de grupos heterociclo incluyen 1,3-dihidrobenzofurano, 1,3-dioxolano, 1,4-dioxano, 1,4-ditiano, 2H-pirano, 2-pirazolina, 4H-pirano, cromanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, indolinilo, isocromanilo, isoindolinilo, morfolino, piperazinilo, piperidina, piperidilo, pirazolidina, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirrolidina, pirrolina, quinuclidina y tiomorfolina.

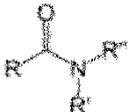
La abreviatura «DNQ_d», tal como se usa en la presente, se refiere a un análogo o derivado de DNQ.

Otros grupos que pueden ser grupos de enlace o grupos terminales de R₁, R₂, R₃ y R₄ se describen abajo.

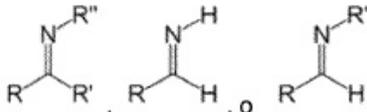
La expresión «éster de carbonato» se puede definir como un grupo funcional que tiene una estructura general R'OC(=O)OR, donde R' puede ser el núcleo tricíclico de fórmula I y R puede ser como se define en las definiciones de las variables de la fórmula I.

El término «éster» se puede definir como un grupo funcional que tiene una estructura general RC(=O)OR', donde R' puede ser el núcleo tricíclico de fórmula I y R puede ser como se define en las definiciones de las variables de la fórmula I, o viceversa.

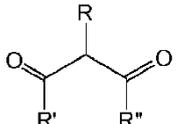
El término «hemiacetal» se puede definir como un grupo funcional que tiene una estructura general , donde R' puede ser el núcleo tricíclico de la fórmula I y R puede ser como se define en las definiciones de las variables de la fórmula I, o viceversa.

El término «carboxamida» se puede definir como un grupo funcional que tiene una estructura general , donde R' puede ser el núcleo tricíclico de la fórmula I y R puede ser como se define en las definiciones de las variables de la fórmula I, o viceversa, y R'' puede ser como se define en las definiciones de las variables de la fórmula I.

El término «imina» se puede definir como un grupo funcional que tiene estructuras generales ,

 , donde R' puede ser el núcleo tricíclico de la fórmula I y R puede ser como se define en las definiciones de las variables de la fórmula I, o viceversa, y R'' puede ser el núcleo tricíclico de la fórmula I o R puede ser como se define en las definiciones de las variables de la fórmula I.

Un grupo «piridilo» puede ser un grupo 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo.

El término «imida» se puede definir como un grupo funcional que tiene una estructura general ,

donde R' puede ser el núcleo tricíclico de la fórmula I y R puede ser como se define en las definiciones de las variables de la fórmula I, o viceversa, y R'' puede ser el núcleo tricíclico de la fórmula I o R puede ser como se define en las definiciones de las variables de la fórmula I.

- 5 El término «sulfhidrilo» se puede definir como un grupo funcional que tiene una estructura general -S-H.

El término «sulfinilo» se puede definir como un grupo funcional que tiene una estructura general $R-S(=O)-R'$, donde R' puede ser el núcleo tricíclico de la fórmula I y R puede ser como se define en las definiciones de las variables de la fórmula I, o viceversa.

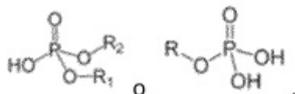
10



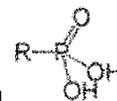
El término «sulfonilo» se puede definir como un grupo funcional que tiene una estructura general $R-S(=O)_2-R'$, donde R' puede ser el núcleo tricíclico de la fórmula I y R puede ser como se define en las definiciones de las variables de la fórmula I, o viceversa.



- 15 El término «fosfato» se puede definir como un grupo funcional que tiene estructuras generales



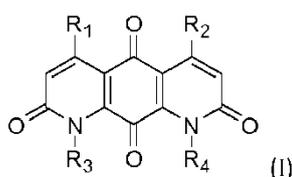
El término «fosfono» se puede definir como un grupo funcional que tiene una estructura general



- 20 El término «hexosa» se puede definir como un monosacárido que tiene seis átomos de carbono que tienen la fórmula química general $C_6H_{12}O_6$ y puede incluir aldohexosas que tienen un grupo funcional aldehído en la posición 1 o cetohexosas que tienen un grupo funcional cetona en la posición 2. Algunos ejemplos de aldohexosas incluyen alosa, altrosa, glucosa, manosa, gulosa, idosa, galactosa y talosa, en forma de D o L.

25 **Compuestos y procedimientos de la invención**

La invención proporciona compuestos de DNQ y procedimientos para usar dichos compuestos. En consecuencia, la invención proporciona compuestos de fórmula (I): donde



30

R₁ y R₂ son cada uno de manera independiente grupos alquilo ramificados o no ramificados (C₁₋₄) y versiones cíclicas y/o insaturadas de estos;

R₃ es hidrógeno; y

- 35 R₄ es un grupo alquilo ramificado o no ramificado (C₁₋₁₀), y las versiones cíclicas y/o insaturadas de este, donde el grupo alquilo R₄ (C₁₋₁₀) está opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino y tior; con la condición de que, cuando R₁ y R₂ son metilo, R₄ no es metilo;

o una sal o solvato del mismo.

40

En algunas realizaciones, R₁, R₂ o R₄ no son cada uno metilo.

En una realización, R₁, R₂ y R₄ son cada uno grupos alquilo (C₁₋₄). Los grupos alquilo R₄ pueden estar sustituidos.

- 45 Un valor específico para R₁ es metilo. Un valor específico para R₂ es metilo. Un valor específico para R₄ es metilo. El metilo puede estar sustituido tal como se describió anteriormente para el término «sustituido».

En algunas realizaciones de fórmula (I):

- 5 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es 2-metil-propano;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es butilo;
 R₁ y R₄ son metilo; y R₂ es etilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es etilo;
 R₁ es metilo; R₂ es propilo; y R₄ es butilo;
 R₁ y R₄ son metilo; R₂ es propilo;
 R₁ es propilo; R₂ y R₄ son metilo;
 10 R₁ y R₂ son etilo; y R₄ es metilo;
 R₁ es propilo; R₂ es metilo; y R₄ es butilo;
 R₁ y R₂ son propilo; y R₄ es butilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es alquilo C₁₂;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es terc-butilo;
 15 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es hidroxipropilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es 3,3-dimetilbutilo [-CH₂CH₂C(CH₃)₂CH₃];
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es 3-metibutilo [-CH₂CH₂CH(CH₃)CH₃];
 R₂ y R₄ son metilo; y R₁ es etilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es propilo;
 20 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es n-pentilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es n-hexilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es isopropilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es ciclooctilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es ciclopropilo;
 25 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es metilciclopropilo; o
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es etilciclopropilo. Otros compuestos específicos y fórmulas de la invención se ilustran en las **figuras 1 y 2.**

30 En la fórmula I, R¹ es un grupo alquilo (C₁₋₄). En determinados aspectos, R¹ es un grupo alquilo (C₁₋₃). En determinados aspectos, R¹ es un grupo alquilo (C₁₋₂).

En la fórmula I, R² es un grupo alquilo (C₁₋₄). En determinados aspectos, R² es un grupo alquilo (C₁₋₃). En determinados aspectos, R² es un grupo alquilo (C₁₋₂).

35 R³ es hidrógeno.

40 En la fórmula I, R⁴ es un grupo alquilo (C₁₋₁₀) opcionalmente sustituido, donde el grupo alquilo está sustituido por hidroxilo, halógeno, amino o tiol. En determinados aspectos, R⁴ es un grupo alquilo (C₁₋₁₀), un grupo alquilo (C₁₋₈), un grupo alquilo (C₁₋₆) o un grupo alquilo (C₁₋₄). En determinados aspectos, R⁴ es un grupo alquilo (C₂₋₆). En determinados aspectos, R⁴ es un grupo alquilo (C₁₋₁₀) sustituido, un grupo alquilo (C₁₋₈) sustituido, un grupo alquilo (C₁₋₆) sustituido o un grupo alquilo (C₁₋₄) sustituido, donde el grupo alquilo está sustituido por hidroxilo, halógeno, amino o tiol. En determinados aspectos, R⁴ es un grupo alquilo sustituido por hidroxilo. En determinados aspectos, R⁴ es un grupo alquilo sustituido por halógeno. En determinados aspectos, R⁴ es un grupo alquilo sustituido por amino. En determinados aspectos, R⁴ es un grupo alquilo sustituido por tiol.

45 En la fórmula I, R¹ y R² son independientemente grupos alquilo (C₁₋₄); R³ es hidrógeno; y R⁴ es un grupo alquilo (C₁₋₁₀) opcionalmente sustituido, donde el grupo alquilo está sustituido por hidroxilo, halógeno, amino y tiol.

50 En determinadas realizaciones de la fórmula I, R¹ y R² son independientemente grupos alquilo (C₁₋₂); R³ es hidrógeno; y R⁴ es un grupo alquilo (C₁₋₁₀) opcionalmente sustituido, donde el grupo alquilo está sustituido por hidroxilo, halógeno, amino y tiol.

55 En determinadas realizaciones de la fórmula I, R¹ y R² son independientemente grupos alquilo (C₁₋₂); R³ es hidrógeno; y R⁴ es un grupo alquilo (C₁₋₁₀).

En determinadas realizaciones de la fórmula I, R¹ y R² son independientemente grupos alquilo (C₁₋₂); R³ es hidrógeno; y R⁴ es un grupo alquilo (C₁₋₈).

60 En determinadas realizaciones de la fórmula I, R¹ y R² son independientemente grupos alquilo (C₁₋₂); R³ es hidrógeno; y R⁴ es un grupo alquilo (C₁₋₆).

En determinadas realizaciones de la fórmula I, R¹ y R² son independientemente grupos alquilo (C₁₋₂); R³ es

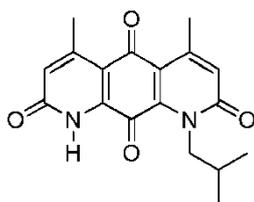
hidrógeno; y R⁴ es un grupo alquilo (C₁₋₄).

En determinadas realizaciones de la fórmula I, R¹ y R² son independientemente grupos alquilo (C₁₋₂); R³ es hidrógeno; y R⁴ es un grupo alquilo (C₂₋₆).

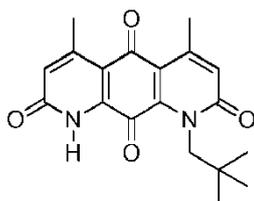
5 En determinadas realizaciones de la fórmula I, R¹ y R² son independientemente grupos alquilo (C₁₋₂); R³ es hidrógeno; y R⁴ es un grupo alquilo (C₁₋₆) sustituido, donde el grupo alquilo está sustituido por hidroxilo, halógeno, amino y tiol.

10 En determinadas realizaciones de la fórmula I, R¹ y R² son independientemente grupos alquilo (C₁₋₂); R³ es hidrógeno; y R⁴ es un grupo alquilo (C₁₋₄) sustituido, donde el grupo alquilo está sustituido por hidroxilo, halógeno, amino y tiol.

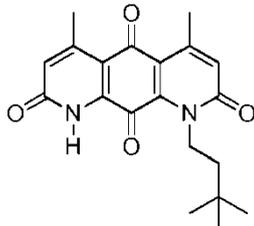
15 En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es el compuesto 4-31 o una sal o solvato del mismo:



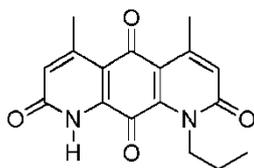
En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es el compuesto 4-34 o una sal o solvato del mismo:



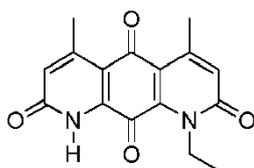
20 En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es el compuesto 4-35 o una sal o solvato del mismo:



25 En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es el compuesto 4-15 o una sal o solvato del mismo:

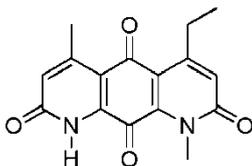


En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es el compuesto 4-14 o una sal o solvato del mismo:

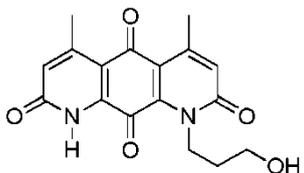


30

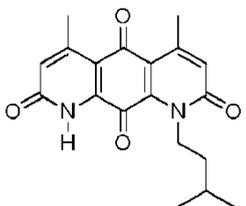
En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es el compuesto 4-8 o una sal o solvato del mismo:



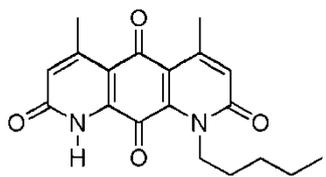
5 En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es el compuesto 4-41 o una sal o solvato del mismo:



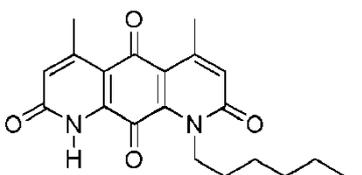
10 En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es el compuesto 4-32 o una sal o solvato del mismo:



En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es el compuesto 4-23 o una sal o solvato del mismo:

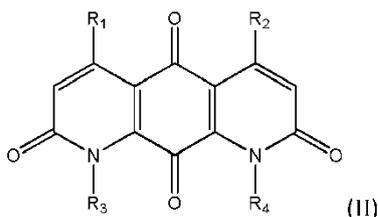


15 En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula I es el compuesto 4-24 o una sal o solvato del mismo:



20 La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) y un diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable. El vehículo puede ser agua, por ejemplo, en presencia de hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD). La solubilidad del compuesto se puede aumentar en aproximadamente 100 veces, aproximadamente 200 veces, aproximadamente 500 veces, aproximadamente 1000 veces, aproximadamente 2000 veces o aproximadamente 3000 veces en comparación con la solubilidad de los compuestos en agua sin HPβCD.

25 La solicitud además describe compuestos de DNQ de fórmula (II):



donde

5 R_1 y R_2 son cada uno independientemente alquilo C_{1-30} ;

R_3 es hidrógeno o alquilo C_{1-30} ;

R_4 es alquilo C_{1-30} o cicloalquilo C_{3-30} -alquilo C_{1-30} ;

donde los grupos alquilo C_{1-30} pueden incluir, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec- y terc-butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo y similares;

10 donde cada alquilo R_1 , R_2 o R_4 puede estar opcionalmente funcionalizado con el grupo funcional R^a ;

donde R^a es un grupo de enlace o un grupo terminal seleccionado de entre:

(1) Hidroxilo,	(17) Acetal,	(33) Nitro,
(2) Carbonilo,	(18) Cetal,	(34) Nitroso,
(3) Aldehído,	(19) Ortoéster,	(35) Piridilo,
(4) Haloformilo,	(20) Éster de ortocarbonato,	(36) Sulfhidrilo,
(5) Éster de carbonato,	(21) Carboxamida,	(37) Sulfuro,
(6) Carboxilo,	(22) Amina,	(38) Disulfuro,
(7) Éster,	(23) Ketamina,	(39) Sulfinilo,
(8) Hidroperoxi,	(24) Imida,	(40) Sulfonilo,
(9) Peroxi,	(25) Azida,	(41) Sulfino,
(10) Fenilo,	(26) Azo,	(42) Sulfo,
(11) Alquenilo,	(27) Cianato,	(43) Tiocianato,
(12) Bencilo,	(28) Isocianato,	(44) Isotiocianato,
(13) Alquinilo,	(29) Nitrato,	(45) Carbonotioilo,
(14) Éter,	(30) Nitrilo,	(46) Fosfina,
(15) Hemiacetal,	(31) Isonitrilo,	(47) Fosfono,
(16) Hemicetal,	(32) Nitrosooxi,	(48) Fosfato,
		(49) Halógeno, o
		(50) Hexosa;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

15

En algunas realizaciones, donde R_1 , R_2 y R_4 son metilo, R_3 no es hidrógeno o metilo.

En cuanto a cualquiera de las fórmulas o grupos anteriores que contienen uno o más sustituyentes, se entiende claramente que dichos grupos no contienen ninguna sustitución o patrones de sustitución que sean estéricamente poco prácticos y/o sintéticamente inviables. Además, los compuestos de la presente invención incluyen todos los isómeros estereoquímicos que surgen de la sustitución de estos compuestos.

20

Los sustituyentes seleccionados de los compuestos descritos en la presente pueden estar presentes en un grado recurrente. En este contexto, «sustituyente recurrente» significa que un sustituyente puede repetir otra instancia de sí mismo. Debido a la naturaleza recurrente de dichos sustituyentes, teóricamente, una gran cantidad puede estar presente en cualquier reivindicación determinada. El experto en la técnica de la química medicinal y la química orgánica comprende que la cantidad total de dichos sustituyentes está razonablemente limitada por las propiedades deseadas del compuesto deseado. Dichas propiedades incluyen, a modo de ejemplo no taxativo, propiedades físicas, tales como peso molecular, solubilidad o P log, propiedades de aplicación tales como actividad contra la diana prevista y propiedades prácticas, tales como la facilidad de síntesis.

25

30

Los sustituyentes recurrentes son un aspecto previsto de la invención. El experto en la técnica de la química medicinal y orgánica comprende la versatilidad de dichos sustituyentes. En la medida en que los sustituyentes recurrentes estén presentes en una reivindicación de la invención, la cantidad total será determinada como se indicó anteriormente. En algunas realizaciones, los sustituyentes recurrentes están presentes solo en la medida en que la masa molecular del compuesto sea de entre aproximadamente 400 y aproximadamente 1600, entre aproximadamente 450 y aproximadamente 1200, entre aproximadamente 500 y aproximadamente 100, entre

35

aproximadamente 600 y aproximadamente 800. En otras realizaciones, los sustituyentes recurrentes están presentes solo en la medida en que la masa molecular del compuesto sea menos de 2000, menos de 1800, menos de 1600, menos de 1500, menos de 1400, menos de 1200, menos de 1000, menos de 900, menos de 800, menos de 750, menos de 700 o menos de aproximadamente 600.

Los pacientes con tumores sólidos que tienen niveles de NQO1 elevados se pueden tratar a través de la administración de una cantidad efectiva de una forma farmacéuticamente activa de DNQ y/o DNQ_d (compuestos de DNQ). Los compuestos de DNQ y DNQ_d pueden ser, por ejemplo, un compuesto definido por una de las fórmulas de la **figura 1** o un compuesto ilustrado en la **figura 2**. En la **figura 1** donde n = 1-30, el valor de n puede ser 1 o cualquier número entero entre 1 y aproximadamente 30. Por ende, el intervalo 1-30 incluye cada número entero individual entre 1 y 30 y cualquier intervalo entre cualquier número y cualquier segundo número entre 1 y 30. En cada intervalo descrito en la presente, una parte del intervalo también se puede excluir de la realización definida. Por ejemplo, en diversas realizaciones, una variable n puede ser 6-24, y otra variable n de la misma fórmula puede ser 1-24.

En la **figura 1** para DNQ_d-20, R₁, R₂ y R₃ pueden ser como se definió para la fórmula I anterior. En diversas realizaciones, R₁, R₂ y R₃ también pueden ser cada uno independientemente alquilo C₁₋₂₀, o cada uno de R₁, R₂ o R₃ pueden estar unidos independientemente a una posición anomérica de una hexosa, opcionalmente a través de un enlazador, tal como un enlazador de fórmula -W-A-W- o un grupo alquileo (C₁-C₁₀).

En la **figura 1** para DNQ_d-27 y DNQ_d-28, X puede ser un enlazador de fórmula -W-A-W- o un grupo de enlace divalente tal como un alquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, acicloalquilo, cicloalqueno, heterocicloalquilo, heterocicloalqueno, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo, cicloalquilheteroalquilo, heterocicloalquilheteroalquilo, alcoxi, alcoxilalquilo, alquenoiloxi, alquinoiloxi, cicloalquilcoxi, heterocicloalquiloxi, amino, alquilamino, aminoalquilo, acilamino, arilamino, sulfonilamino, sulfinilamino, alcoxycarbonilo, alquilaminocarbonilo, sulfonilo, alquilsulfonilo, alquilsulfino, arilsulfonilo, arilsulfino, aminosulfonilo o acilo divalente, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido.

En la **figura 1** para DNQ_d-29, cada X puede ser independientemente un enlazador de fórmula -W-A-W- o un grupo de enlace divalente tal como se describió anteriormente para DNQ_d-27 y DNQ_d-28; y cada Y puede ser independientemente:

(1)	Hidroxilo,	(11)	Acetato,	(21)	Nitroso,
(2)	Aldehído,	(12)	Amino,	(22)	Piridilo,
(3)	Carboxilo,	(13)	Azida,	(23)	Sulfhidrilo,
(4)	Haloformilo,	(14)	Azo,	(24)	Ácido sulfónico,
(5)	Hidroperoxi,	(15)	Ciano,	(25)	Sulfonato,
(6)	Fenilo,	(16)	Isocianato,	(26)	Isotiocianato,
(7)	Bencilo,	(17)	Nitrato,	(27)	Fosfina,
(8)	Alquilo,	(18)	Isonitrilo,	(28)	Fosfato,
(9)	Alqueno,	(19)	Nitrosooxi,	(29)	Halo, o
(10)	Alquino,	(20)	Nitro,	(30)	Hexosa.

Se describen en la presente procedimientos para tratar un paciente que tiene células tumorales que tienen niveles de NQO1 elevados. Los procedimientos pueden incluir administrarle a un paciente que tiene células tumorales con niveles de NQO1 elevados una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I), o una composición descrita en la presente. También se describen en la presente procedimientos para tratar una célula tumoral que tiene un nivel de NQO1 elevado que comprende exponer la célula tumoral a una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o una composición tal como se describe en la presente, donde la célula tumoral se trata, se destruye o su crecimiento se inhibe. El tumor o las células tumorales pueden ser células tumorales malignas. En algunas realizaciones, las células tumorales son células cancerosas, tales como carcinoma de pulmón de células no pequeñas.

Por lo tanto, los procedimientos se pueden usar para el tratamiento o la prevención de diversos trastornos neoplásicos, incluido el grupo que consiste en melanoma lentigoso acral, queratosis actínica, adenocarcinoma, carcinoma adenoide quístico, adenomas, adenosarcoma, carcinoma adenoescamoso, tumores astrocíticos, carcinoma de la glándula biliar, carcinoma basocelular, carcinoma de la glándula bronquial, capilar, carcinoides, carcinoma, carcinosarcoma, cavernoso, colangiocarcinoma, condrosarcoma, papiloma/carcinoma del plexo coronal, carcinoma de células claras, cistadenoma, tumor del seno endodérmico, hiperplasia endometrial, sarcoma del estroma endometrial, adenocarcinoma endometriode, endometrial, epitelioide, sarcoma de Ewing, fibrolamelar, hiperplasia nodular focal, gastrinoma, tumores de células germinales, glioblastoma, glucagonoma, hemangioblastomas, hemangioblastoma, hemangiomas, adenoma hepático, adenomatosis hepática, carcinoma

hepatocelular, insulinoma, neoplasia intraepitelial, neoplasia escamocelular interepitelial, carcinoma escamocelular invasivo, carcinoma de células grandes, leiomioma, melanoma lentigo maligno, melanoma maligno, tumores mesoteliales malignos, meduloblastoma, medullopitelioma, melanoma, meníngeo, mesotelial, carcinoma metastásico, carcinoma mucoepidermoide, neuroblastoma, adenocarcinoma neuroepitelial, melanoma nodular, carcinoma de células en avena, oligodendroglioma, osteosarcoma, polipéptido pancreático, adenocarcinoma seroso papilar, célula pineal, tumores pituitarios, plasmocitoma, pseudosarcoma, blastoma pulmonar, carcinoma de células renales, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, sarcoma, carcinoma seroso, carcinoma de células pequeñas, carcinomas de tejidos blandos, tumor secretor de somatostatina, carcinoma escamoso, carcinoma de células escamosas, submesotelioma, melanoma de diseminación superficial, carcinoma no diferenciado, melanoma uveal, carcinoma verrugoso, vipoma, carcinoma bien diferenciado y tumor de Wilm. En consecuencia, las composiciones y los procedimientos descritos en la presente se pueden usar para tratar cáncer de vejiga, cáncer de cerebro (incluidas neoplasias intracraneanas, tales como glioma, meningioma, neurinoma y adenoma), cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón (SCLC o NSCLC), cáncer de ovario, cáncer de páncreas y cáncer de próstata.

15 **Procedimientos para realizar los compuestos de la invención**

La invención también describe procedimientos para realizar los compuestos y las composiciones de la invención. Los compuestos y las composiciones se pueden preparar a través de cualquiera de las técnicas aplicables de síntesis orgánica. Muchas de dichas técnicas son conocidas en la técnica. Sin embargo, muchas de las técnicas conocidas se desarrollan en Compendium of Organic Synthetic Methods (John Wiley & Sons, Nueva York), vol. 1, Ian T. Harrison y Shuyen Harrison, 1971; vol. 2, Ian T. Harrison y Shuyen Harrison, 1974; vol. 3, Louis S. Hegedus y Leroy Wade, 1977; vol. 4, Leroy G. Wade, Jr., 1980; vol. 5, Leroy G. Wade, Jr., 1984; y vol. 6, Michael B. Smith; así como textos de referencia orgánicos estándar, tales como March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5.^a ed. por M.B. Smith y J. March (John Wiley & Sons, Nueva York, 2001), Comprehensive Organic Synthesis; Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry, en 9 volúmenes, Barry M. Trost, Ed.-in-Chief (Pergamon Press, Nueva York, 1993 printing); Advanced Organic Chemistry, parte B: Reactions and Synthesis, segunda edición, Cary y Sundberg (1983); Protecting Groups in Organic Synthesis, segunda edición, Greene, T.W. y Wutz, P.G.M., John Wiley & Sons, Nueva York; y Comprehensive Organic Transformations, Larock, R.C., segunda edición, John Wiley & Sons, Nueva York (1999).

A continuación se proporcionan una serie de procedimientos ejemplares para la preparación de las composiciones de la invención. Estos procedimientos buscan ilustrar la naturaleza de dichas preparaciones y no limitan el alcance de los procedimientos aplicables.

En general, las condiciones de reacción, tales como temperatura, tiempo de reacción, disolventes, procedimientos de tratamiento final y similares serán los habituales en la técnica para la reacción específica que se va a realizar. El material de referencia citado, junto con el material citado allí, contiene descripciones detalladas de dichas condiciones. Típicamente, las temperaturas serán de entre -100 °C y 200 °C, los disolventes serán apróticos o próticos según las condiciones necesarias, y los tiempos de reacción serán de entre 1 minuto y 10 días. El tratamiento final consiste típicamente en inactivar cualquier reactivo sin reaccionar, seguido de la división entre un sistema de capa de agua/orgánica (extracción) y separación de la capa que contiene el producto.

Las reacciones de oxidación y reducción se realizan típicamente a temperaturas cercanas a la temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C), aunque para las reducciones de hidruro metálico, a menudo la temperatura se reduce a entre 0 °C y -100 °C. También se puede usar calentamiento cuando corresponda. Los disolventes son típicamente apróticos para las reducciones y pueden ser próticos o apróticos para las oxidaciones. Los tiempos de reacción se ajustan para lograr las conversiones deseadas.

Las reacciones de condensación se realizan típicamente a temperaturas cercanas a la temperatura ambiente, aunque para las condensaciones no equilibradas, controladas cinéticamente, las temperaturas reducidas también son comunes (entre 0 °C y -100 °C). Los disolventes pueden ser próticos (comunes en las reacciones de equilibrio) o apróticos (comunes en las reacciones controladas cinéticamente). Las técnicas sintéticas estándar, tales como eliminación azeotrópica de los subproductos de reacción y el uso de condiciones de reacción anhidras (por ejemplo, ambientes de gas inerte) son comunes en la técnica y se aplicarán cuando corresponda.

Grupos protectores. La expresión «grupo protector», «grupo de bloqueo» o «PG» se refiere a cualquier grupo que, cuando está unido a un hidroxilo u otro heteroátomo, impide que se produzcan reacciones no deseadas en este grupo y que se puede eliminar mediante etapas químicas o enzimáticas convencionales para restablecer el grupo hidroxilo. El grupo de bloqueo extraíble específico empleado no siempre es fundamental y los grupos de bloqueo de hidroxilo extraíbles preferidos incluyen sustituyentes convencionales tales como, por ejemplo, alilo, bencilo, acetilo, cloroacetilo, tiobencilo, bencilideno, fenacilo, metil metoxi, éteres silílicos (por ejemplo, trimetilsililo (TMS), *t*-butildifenilsililo (TBDPS) o *t*-butildimetilsililo (TBS)) y cualquier otro grupo que se pueda introducir químicamente en una

funcionalidad hidroxilo y después eliminar selectivamente ya sea mediante procedimientos químicos o enzimáticos en condiciones moderadas compatibles con la naturaleza del producto. Los grupos R de fórmula (I) también pueden ser grupo protectores, tal como se describe en la presente.

5 Los grupos protectores hidroxilo adecuados son conocidos por los expertos en la técnica y se describen más detalladamente en T.W. Greene, *Protecting Groups In Organic Synthesis*; Wiley: Nueva York, 1981 («Greene») y las referencias citadas allí, y Kocienski, Philip J.; *Protecting Groups* (Georg Thieme Verlag Stuttgart, Nueva York, 1994).

10 Los grupos protectores están disponibles, se conocen comúnmente y se usan, y se usan opcionalmente para impedir reacciones secundarias con el grupo protegido durante los procedimientos sintéticos, es decir, las vías o los procedimientos para preparar los compuestos a través de los procedimientos de la invención. En gran medida, la decisión de qué grupos proteger, cuándo hacerlo y la naturaleza del grupo protector químico «PG» dependerá de la química de la reacción que se va a proteger (por ejemplo, condiciones ácidas, básicas, oxidativas, reductoras u otras) y la dirección prevista de la síntesis.

15 Los grupos protectores no necesitan ser, y por lo general no son, los mismos si el compuesto es sustituido por múltiples PG. En general, el PG se utilizará para proteger grupos funcionales como grupos carboxilo, hidroxilo, tio o amino y así impedir reacciones secundarias o facilitar de otro modo la eficiencia sintética. El orden de desprotección para producir grupos libres y desprotegidos depende de la dirección prevista de la síntesis y de las condiciones de reacción que se encuentren, y se puede producir en cualquier orden determinado por el experto.

20 Diversos grupos funcionales de los compuestos de la invención se pueden proteger. Por ejemplo, los grupos protectores para los grupos -OH (ya sea hidroxilo, ácido carboxílico u otras funciones) incluyen «grupos formadores de éter o éster». Los grupos formadores de éter o éster son capaces de funcionar como grupos protectores químicos en los esquemas sintéticos que se establecen en la presente. Sin embargo, algunos grupos protectores hidroxilo y tio no son grupos formadores de éter o éster, tal como lo entenderán los expertos en la técnica. Para obtener más información sobre los grupos protectores de ácido carboxílico y otros grupos protectores de ácidos, véase Greene, citado anteriormente. Dichos grupos incluyen, a modo de ejemplo no taxativo, ésteres, amidas, hidrazidas y similares.

30 Sales y solvatos

35 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en la presente se encuentran dentro del alcance de la invención e incluyen sales de adición de ácido o base que conservan la actividad farmacológica deseada y no son biológicamente no deseadas (por ejemplo, la sal no es indebidamente tóxica, alergénica o irritante, y está biodisponible). Cuando un compuesto tiene un grupo básico, tal como, por ejemplo, un grupo amino, se pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos inorgánicos (tales como ácido clorhídrico, ácido borhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico), ácidos orgánicos (por ejemplo, alginato, ácido fórmico, ácido acético, ácido benzoico, ácido glucónico, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido naftaleno sulfónico y ácido p-toluenosulfónico) o aminoácidos ácidos (tales como, ácido aspártico y ácido glutámico). Cuando el compuesto de la invención tiene un grupo ácido, tal como, por ejemplo, un grupo de ácido carboxílico, puede formar sales con metales, tales como metales alcalinos y alcalinotérreos (por ejemplo, Na⁺, Li⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺), amoníaco o aminas orgánicas (por ejemplo, dicitclohexilamina, trimetilamina, trietilamina, piridina, picolina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina) o aminoácidos básicos (por ejemplo, arginina, lisina y ornitina). Dichas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y la purificación de los compuestos o haciendo reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de base libre o ácido libre con un ácido o una base adecuado, respectivamente, y aislar la sal formada de esa manera.

50 Muchas de las moléculas descritas en la presente contienen uno o más grupos ionizables [grupos de los cuales se puede eliminar un protón (por ejemplo, -COOH) o agregar (por ejemplo, aminas) o que se pueden cuaternizar (por ejemplo, aminas)]. Todas las formas iónicas posibles de dichas moléculas y sales de estas se incluyen de forma individual en la presente descripción. Con respecto a las sales de los compuestos descritos en la presente, el experto en la técnica puede seleccionar de entre una amplia variedad de contraiones disponibles aquellos que son adecuados para la preparación de las sales de la presente invención para una aplicación determinada. En aplicaciones específicas, la selección de un anión o catión determinado para la preparación de una sal puede aumentar o disminuir la solubilidad de esa sal.

60 Algunos ejemplos de sales adecuadas de los compuestos descritos en la presente incluyen sus clorhidratos, bromhidratos, sulfatos, metanosulfonatos, nitratos, maleatos, acetatos, citratos, fumaratos, tartratos (por ejemplo, (+)-tartratos, (-)-tartratos o mezclas de estos, que incluyen mezclas racémicas), succinatos, benzoatos y sales con aminoácidos como ácido glutámico. Estas sales se pueden preparar mediante el uso de procedimientos conocidos

por los expertos en la técnica. También se incluyen sales de adición de base, tales como sodio, potasio, calcio, amonio, amino orgánico o sal de magnesio o una sal similar. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente básicas, pueden obtenerse sales de adición de ácido mediante el contacto de la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, ya sea puro o en un solvente inerte adecuado. Algunos ejemplos de sales de adición de ácido aceptables incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrogenfosfórico, dihidrogenfosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, hidriódico o ácidos de fósforo y similares, así como sales derivadas de ácidos orgánicos como ácido acético, propiónico, isobutírico, maleico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, láctico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, *p*-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metanosulfónico y similares. También se incluyen sales de aminoácidos tales como arginato y similares, y sales de ácidos orgánicos como ácidos glucurónicos o galactunóricos, y similares. Determinados compuestos específicos de la invención pueden contener funcionalidades tanto básicas como ácidas que permiten que los compuestos se conviertan en sales de adición de bases o de ácidos.

Determinados compuestos de la invención pueden existir en formas no solvatadas, así como en formas solvatadas, que incluyen formas hidratadas. En general, las formas solvatadas equivalen a las formas no solvatadas y están comprendidas dentro del alcance de la invención. Determinados compuestos de la invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la invención y pretenden estar dentro del alcance de la invención.

El término «solvato» se refiere a un compuesto sólido que tiene una o más moléculas de disolvente asociadas con su estructura sólida. Los solvatos se pueden formar cuando un compuesto se cristaliza a partir de un disolvente. Un solvato se forma cuando una o más moléculas de disolvente se convierten en parte integral de la matriz cristalina sólida tras la solidificación. Los compuestos de las fórmulas descritas en la presente pueden ser solvatos, por ejemplo, solvatos de etanol. Otro tipo de solvato es un hidrato. Un «hidrato» también se refiere a un compuesto sólido que tiene una o más moléculas de agua íntimamente asociadas con su estructura sólida o cristalina a nivel molecular. Los hidratos se pueden formar cuando un compuesto se solidifica o cristaliza en agua, donde una o más moléculas de agua se convierten en una parte integral de la matriz cristalina sólida. Los compuestos de las fórmulas descritas en la presente pueden ser hidratos.

Composiciones farmacéuticas

A continuación se describe información pertinente a las realizaciones farmacéuticas y farmacológicas y se complementa adicionalmente con información disponible en la técnica para los expertos. La formulación exacta, la vía de administración y la dosificación se pueden elegir por un médico o profesional de la salud en función del estado del paciente (véase, por ejemplo, Fingl y col., en *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1975, cap. 1).

Cabe señalar que el médico tratante sabrá cómo y cuándo suspender, interrumpir o ajustar la administración debido a la toxicidad o a disfunciones de los órganos, etc. Por el contrario, el médico tratante también sabrá ajustar el tratamiento a niveles más altos si la respuesta clínica no fuera adecuada (en función de los aspectos de toxicidad o excluyéndolos). La magnitud de una dosis administrada en el tratamiento del trastorno de interés puede variar según la gravedad de la afección que se vaya a tratar y la vía de administración. La gravedad de la afección, por ejemplo, se puede evaluar, en parte, mediante procedimientos estándar de evaluación de pronóstico. Además, la dosis y tal vez la frecuencia de la dosis también pueden variar de acuerdo con la situación, por ejemplo, la edad, el peso corporal y la respuesta de cada paciente. Un programa similar al planteado anteriormente también se puede usar en medicina veterinaria.

Dependiendo de las condiciones específicas que se estén tratando y del procedimiento de direccionamiento seleccionado, dichos agentes se pueden formular y administrar de forma sistemática o local. Las técnicas para la formulación y la administración se pueden encontrar en Alfonso y Gennaro (1995), y en otras partes en la técnica.

Los compuestos se pueden administrar a un paciente junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. La frase «farmacéuticamente aceptable» se refiere a aquellos ligandos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, según el criterio médico sensato, son adecuados para su uso en contacto con tejidos humanos y animales sin provocar una toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otros problemas o complicaciones, con una relación beneficio/riesgo correspondiente razonable.

La frase «vehículo farmacéuticamente aceptable» incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, diluyentes, recubrimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes que retardan la absorción, sales, tampones, conservantes, fármacos, estabilizadores de fármacos, geles, aglutinantes, excipientes, agentes desintegrantes, lubricantes, agentes endulzantes, agentes saborizantes, tintes, materiales similares y combinaciones de ellos, tales como serían

conocidos por un experto en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18.^a ed. Mack Printing Company, 1990, págs. 1289-1329). Salvo en la medida en que cualquier vehículo convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones farmacéuticas o quimioterapéuticas.

5 Un compuesto de DNQ_d o DNQ se puede combinar con diferentes tipos de vehículos, dependiendo de si se debe administrar en forma sólida, líquida o en aerosol, y si debe ser estéril para las vías de administración como inyección. La presente invención se puede administrar por vía intravenosa, intradérmica, intraarterial, intraperitoneal, intralesional, intracraneana, intraarticular, intraprostática, intrapleural, intratraqueal, intranasal, intravítrea, 10 intravaginal, intrarrectal, tópica, intratumoral, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, subconjuntival, intravesicular, mucosa, intrapericardial, intraumbilical, intraocular, oral, tópica, de forma local, inyección, infusión, infusión continua, perfusión localizada que sumerge las células diana directamente, mediante catéter, mediante lavado, en composiciones lipídicas (por ejemplo, liposomas), o mediante otro procedimiento o cualquier combinación de los anteriores como serían conocidos por un experto en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's 15 Pharmaceutical Sciences, 18.^a ed. Mack Printing Company, 1990).

La cantidad de dosificación real de una composición de la presente invención administrada a un paciente se puede determinar en función de factores físicos y fisiológicos como el peso corporal, la gravedad de la afección, el tipo de enfermedad que se trata, intervenciones terapéuticas previas o simultáneas, la idiopatía del paciente y la vía de 20 administración. El médico responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la concentración del o los ingredientes activos en una composición y la o las dosis adecuadas para el sujeto individual.

Cuando se administra a un sujeto, las cantidades efectivas dependerán, por supuesto, del cáncer en particular que se está tratando; el genotipo del cáncer específico; la gravedad del cáncer; los parámetros individuales del paciente, 25 que incluyen la edad, la condición física, el tamaño y el peso, el tratamiento concurrente, la frecuencia del tratamiento y el modo de administración. Estos factores son conocidos por el médico y se pueden abordar solo con la experimentación de rutina. En algunas realizaciones, se prefiere utilizar la dosis segura más alta de acuerdo con el criterio médico sensato.

En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas pueden comprender, por ejemplo, al menos aproximadamente el 0,1 % de un compuesto de DNQ_d o DNQ. En otras realizaciones, el compuesto activo puede comprender entre aproximadamente el 2 % y aproximadamente el 75 % del peso de la unidad o entre aproximadamente el 25 % y aproximadamente el 60 %, por ejemplo, y cualquier intervalo derivable de estos. En otros ejemplos no taxativos, una dosis también puede comprender entre aproximadamente 0,1 mg/kg/peso corporal, 35 0,5 mg/kg/peso corporal, 1 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 5 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 10 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 20 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 30 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 40 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 50 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 75 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 100 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 200 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 350 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 500 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 750 40 mg/kg/peso corporal y aproximadamente 1000 mg/kg/peso corporal o más por administración, y cualquier intervalo derivable de estos. En ejemplos no taxativos de un intervalo derivable de los números indicados en la presente, se puede administrar un intervalo de entre aproximadamente 10 mg/kg/peso corporal y aproximadamente 100 mg/kg/peso corporal, etc., según los números descritos anteriormente.

En cualquier caso, la composición puede comprender diversos antioxidantes para retrasar la oxidación de uno o más componentes. Además, la inhibición de la acción de los microorganismos se puede lograr mediante conservantes como diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, incluidos, entre otros, parabenos (por ejemplo, metilparabenos, propilparabenos), clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal o combinaciones de estos.

Un compuesto de DNQ_d o DNQ se puede formular en una composición en una forma de base libre, neutra o sal. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales formadas con los grupos carboxilo libres derivados de bases inorgánicas como, por ejemplo, sodio, potasio, amonio, calcio o hidróxidos férricos; o bases orgánicas tales como isopropilamina, trietilamina, histidina o procaína.

Las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden obtener mediante la combinación de los compuestos activos con un excipiente sólido, opcionalmente moliendo una mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, luego de la adición de auxiliares adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes adecuados son, en particular, rellenos tales como azúcares, que incluyen lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, 60 almidón de papa, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, se pueden agregar agentes desintegrantes, tales como polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido alginico o una sal de estos, tal como alginato de sodio.

Se proporcionan opcionalmente núcleos de grageas con recubrimientos adecuados. A tales efectos, se pueden usar soluciones de azúcar concentrada, que pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel de carboxipol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y disolventes orgánicos o mezclas de disolventes adecuados. Se pueden agregar tintes o pigmentos a los recubrimientos de comprimidos o grageas para su identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos.

En las realizaciones donde la composición se encuentra en forma líquida, un vehículo puede ser un disolvente o un medio de dispersión que comprende, entre otros, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido, etc.), lípidos (por ejemplo, triglicéridos, aceites vegetales, liposomas) y combinaciones de estos. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina; mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario mediante dispersión en vehículos como, por ejemplo, poliol líquido o lípidos; mediante el uso de tensioactivos como, por ejemplo, hidroxipropilcelulosa (HPC); o mediante combinaciones de estos procedimientos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, tales como, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio o combinaciones de estos.

Las soluciones inyectables estériles se preparan mediante la incorporación de compuestos activos en la cantidad necesaria del disolvente adecuado con diversos ingredientes diferentes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización filtrada. Generalmente, las dispersiones se preparan mediante la incorporación de los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y/o los demás ingredientes. En el caso de los polvos estériles para la preparación de soluciones, suspensiones o emulsiones inyectables estériles, los procedimientos de preparación preferidos son secado a vacío o liofilización, que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado de un medio líquido previamente esterilizado por filtración. El medio líquido se debe amortiguar de forma adecuada si fuera necesario y el diluyente líquido se puede volver isotónico antes de la inyección con solución salina o glucosa suficiente.

La composición debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y conservarse frente a la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. Por ende, las composiciones preferidas tienen un pH mayor que aproximadamente 5, preferentemente entre aproximadamente 5 y aproximadamente 8, más preferentemente entre aproximadamente 5 y aproximadamente 7. Se apreciará que la contaminación por endotoxinas se debe mantener mínimamente a un nivel seguro, por ejemplo, menos de 0,5 ng/mg de proteína.

En realizaciones específicas, la absorción prolongada de una composición inyectable se puede provocar mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasen la absorción, tales como, por ejemplo, monoestearato de aluminio, gelatina o combinaciones de los mismos.

Formulación de compuestos de DNQ para administración *in vivo*

La solubilidad acuosa de DNQ a pH 7,4 en solución salina tamponada con fosfato (PBS) se midió mediante LC-MS. Se sonicó DNQ durante 30 minutos en PBS, después se eliminó el sólido no disuelto mediante filtración a través de un filtro de jeringa de 0,45 μm y se analizó el filtrado mediante LC-MS ($\lambda = 275 \text{ nm}$, ESI-TOF en modo negativo). Se determinó el tiempo de sonicación óptimo mediante sonicación de DNQ durante 1, 5, 10 y 30 minutos. Aunque la concentración de DNQ en solución aumentó sustancialmente entre 1, 5 y 10 minutos, hubo solo una diferencia mínima entre 10 y 30 minutos. Durante la sonicación de 30 minutos, el baño de agua se calentó a 45 °C (se enfriaron las muestras a temperatura ambiente antes de la filtración). Se generó una curva de calibración a partir de 1-100 μM mediante disolución de DNQ en metanol hasta una concentración de 500 μM y realizando diluciones de esta solución madre en 80:20 agua:metanol. La curva de calibración (medida mediante absorbancia UV) fue lineal en este intervalo; 1 μM fue aproximadamente el límite de detección. Se midió la solubilidad de DNQ en PBS como 115 μM . La solución resultó de un amarillo muy pálido.

Debido a la solubilidad acuosa baja de DNQ, se investigó el uso de 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HP β CD), un excipiente común, para mejorar la solubilidad de DNQ. En ausencia de HP β CD, la solubilidad de DNQ aumenta significativamente en soluciones fuertemente básicas y el DNQ se precipita cuando el pH vuelve a ser neutro. Sin embargo, en presencia de una cantidad suficiente de HP β CD, DNQ no se precipita cuando el pH vuelve a ser neutro. Esta misma solución neutra de DNQ en HP β CD no se puede realizar directamente (es decir, sin ajuste del pH). Esto indica que los compuestos de DNQ se desprotonan en base y esta molécula desprotonada forma un complejo estrecho con HP β CD que es lo suficientemente estable como para impedir la protonación a medida que el pH disminuye. El único protón en DNQ que se podría desprotonar de forma razonable en base acuosa es N-H. Aunque la acidez del enlace N-H de DNQ no se ha medido, se ha medido para un derivado de DNQ y resultó tener una pKa de 8,0.

El protocolo para formular los compuestos de DNQ en HP β CD es el siguiente: el compuesto de DNQ se suspende

5 en una solución al 20 % de HP β CD en PBS a pH 7,4 y el pH después se aumenta mediante el agregado de NaOH 10 M para inducir la disolución del compuesto de DNQ. El pH vuelve a pH 7,5-8,0 mediante el agregado cuidadoso de HCl 1 M. Una solución 3,3 mM del compuesto de DNQ se puede preparar a través de este procedimiento que es estable durante al menos 24 horas. Esto representa un aumento de 30 veces de la solubilidad de DNQ sobre PBS solo.

10 Se elige inicialmente una solución de HP β CD al 20 %. Sin embargo, se descubrió que β -lap se formuló como una solución al 40 % de HP β CD para ensayos clínicos en seres humanos y nuestra experiencia con DNQ indica que la concentración de DNQ aumenta linealmente con la de HP β CD; por ende, una solución de HP β CD al 40 % permitiría la creación de una solución 6,6 mM de DNQ y otros compuestos de DNQ.

Terapia de combinación

15 Los ingredientes activos descritos en la presente (por ejemplo, compuestos de fórmula (I)) también se pueden usar combinados con otros ingredientes activos. Dichas combinaciones se seleccionan basándose en la afección que se va a tratar, las reactividades cruzadas de los ingredientes y las propiedades farmacológicas de la combinación. Por ejemplo, cuando se trata el cáncer, las composiciones se pueden combinar con otros compuestos anticancerosos (tales como paclitaxel o rapamicina).

20 También es posible combinar un compuesto de la invención con otro u otros ingredientes activos en una forma de dosificación unitaria para administración simultánea o secuencial a un paciente. La terapia de combinación se puede administrar como un régimen simultáneo o secuencial. Cuando se administra de forma secuencial, la combinación se puede administrar en dos o más administraciones.

25 La terapia de combinación puede proporcionar «sinergia» y ser «sinérgica», es decir, el efecto producido al utilizar los ingredientes activos en forma conjunta es mayor que la suma de los efectos resultantes del uso de los compuestos por separado. Se puede lograr un efecto sinérgico cuando los ingredientes activos: (1) se formulan conjuntamente y se administran o se suministran de forma simultánea en una formulación combinada; (2) se administran de manera alternada o en paralelo como formulaciones separadas; o (3) mediante algún otro régimen.
30 Cuando se administran de manera alternada, se puede lograr un efecto sinérgico cuando los compuestos se administran o suministran de forma secuencial, por ejemplo, en comprimidos, píldoras o cápsulas separadas, o mediante diferentes inyecciones en jeringas separadas. En general, durante la terapia alternada, se administra una dosificación efectiva de cada ingrediente activo de forma secuencial, es decir, en serie, mientras que en la terapia de combinación se administran en conjunto dosis efectivas de dos o más ingredientes activos. Un efecto anticanceroso sinérgico indica un efecto anticanceroso que es mayor que los efectos puramente aditivos previstos de los compuestos individuales de la combinación.

35 La terapia de combinación se describe adicionalmente en la patente estadounidense n.º 6.833.373 (McKearn y col.), que incluye agentes activos adicionales que se pueden combinar con los compuestos descritos en la presente, y tipos adicionales de cáncer y otras afecciones que se pueden tratar con un compuesto descrito en la presente.

40 En consecuencia, un aspecto de la presente invención es que un DNQ_d o DNQ se puede usar en combinación con otro agente o procedimiento de terapia, preferentemente otro tratamiento contra el cáncer. Un DNQ_d o DNQ puede ser previo o posterior al tratamiento con el otro agente en intervalos que oscilan entre minutos y semanas. En realizaciones donde el otro agente y la construcción de expresión se aplican por separado a la célula, generalmente se puede asegurar que no transcurrió un período significativo entre el momento de cada administración, de tal manera que el agente y la construcción de expresión aún siguen siendo capaces de ejercer un efecto ventajosamente combinado en la célula. Por ejemplo, en dichos aspectos, se contempla que se puede poner en contacto la célula, el tejido o el organismo con dos, tres, cuatro o más realizaciones básicamente simultáneas (es decir, dentro de menos de aproximadamente un minuto) con el arsénico orgánico. En otros aspectos, se puede administrar uno o más agentes dentro de aproximadamente 1 minuto, aproximadamente 5 minutos, aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 20 minutos aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 45 minutos, aproximadamente 60 minutos, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 15 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 21 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 28 horas, aproximadamente 31 horas, aproximadamente 35 horas, aproximadamente 38 horas, aproximadamente 42 horas, aproximadamente 45 horas y aproximadamente 48 horas o más antes y/o después de administrar el arsénico orgánico. En otras realizaciones determinadas, un agente se puede administrar dentro de aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 8 días, aproximadamente 9 días, aproximadamente 12 días, aproximadamente 15 días, aproximadamente 16 días, aproximadamente 18 días, aproximadamente 20 días y aproximadamente 21 días antes y/o después de administrar el arsénico orgánico. En

algunas situaciones, puede ser deseable extender el período de tiempo para el tratamiento de forma significativa, sin embargo, donde transcurren varias semanas (por ejemplo, aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 6 o aproximadamente 8 semanas o más) entre las administraciones respectivas.

5 La administración de las composiciones quimioterapéuticas de la presente invención a un paciente seguirá los protocolos generales para la administración de agentes quimioterapéuticos, considerando la toxicidad, en caso de existir. Se espera que los ciclos del tratamiento se repitan según sea necesario. También se contempla que diversas terapias estándar o terapias contra el cáncer auxiliares, así como la intervención quirúrgica, se pueden aplicar en combinación con el agente de arsénico descrito. Estas terapias incluyen, entre otros, quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia, terapia génica y cirugía.

Quimioterapia

15 Las terapias contra el cáncer también pueden incluir diversas terapias de combinación con tratamientos químicos y basados en radiación. Los agentes quimioterapéuticos de combinación incluyen el uso de agentes quimioterapéuticos, tales como, cisplatino, etopósido, irinotecán, camptostar, topotecán, paclitaxel, docetaxel, epotilonas, taxotero, taxol, tamoxifeno, 5-fluorouracilo, metotrexato, temozolomida, ciclofosfamida, SCH 66336, R115777, L778,123, BMS 214662, IRESSA™ (gefitinib), TARCEVA™ (clorhidrato de erlotinib), anticuerpos para EGFR, GLEEVEC™ (imatinib), intrón, ara-C, adriamicina, citoxano, gemcitabina, mostaza de uracilo, clormetina, ifosfamida, melfalán, clorambucilo, pipobromano, trietilenomelamina, trietilenodifosforamina, busulfán, carmustina, lomustina, estreptozocina, dacarbazina, floxuridina, citarabina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fosfato de fludarabina, pentostatina, vinblastina, vincristina, vindesina, bleomicina, doxorubicina, dactinomicina, daunorrubicina, epirubicina, idarrubicina, mitramicina, desoxicoformicina, mitomicina-C, L-asparaginasa, tenipósido, 17 α -etinilestradiol, dietilstilbestrol, testosterona, prednisona, fluoximesterona, propionato de dromostanolona, testolactona, megestrolacetato, metilprednisolona, metiltestosterona, prednisolona, triamcinolona, clortrianiseno, hidroxiprogesterona, aminoglutetimida, estramustina, acetato de medroxiprogesterona, leuprolida, flutamida, toremifeno, goserelina, carboplatino, hidroxurea, amsacrina, procarbazona, mitotano, mitoxantrona, levamisol, navelbino, anastrozol, letrozol, capecitabina, reloxafina, droloxafina, hexametilmelamina, Avastin, herceptina, Bexxar, Velcade, Zevalin, Trisenox, Xeloda, Vinorelbina, Porfimer, Erbitux™ (cetuximab), Liposomal, Tiotepa, Altretamina, Melfalan, Trastuzumab, Lerazol, Fulvestrant, Exemestano, Fulvestrant, ifosfomida, Rituximab, C225, Campath, carboplatino, procarbazona, mecloretamina, ciclofosfamida, camptotecina, ifosfamida, melfalán, clorambucilo, busulfán, nitrosurea, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, bleomicina, plicomicina, mitomicina, etopósido (VP 16), tamoxifeno, raloxifeno, agentes aglutinantes de los receptores de estrógeno, taxol (paclitaxel), gemcitabina, navelbina, inhibidores de la farnesilproteína transferasa, transplatino, 5-fluorouracilo, vincristina, vinblastina y metotrexato o cualquier análogo o variante derivada de los anteriores.

Radioterapia

40 Otros factores que causan daño en el ADN y que han sido utilizados ampliamente incluyen lo que son conocidos comúnmente como rayos .gamma., rayos X, y/o el suministro dirigido de radioisótopos a células tumorales. También se contemplan otras formas de factores que dañan el ADN tales como microondas e irradiación UV. Lo más probable es que todos estos factores afectan una amplia gama de daños en el ADN, en los precursores de ADN, en la replicación y reparación del ADN y en el ensamblaje y mantenimiento de cromosomas. Los intervalos de dosificación para rayos X varían desde dosis diarias de 50 a 200 roentgens para períodos prolongados (3 a 4 semanas), a dosis únicas de entre 2000 y 6000 roentgens. Los intervalos de dosificación para radioisótopos varían ampliamente y dependen de la semivida del isótopo, la resistencia y el tipo de radiación emitida, y la absorción por las células neoplásicas. Los términos «entran en contacto» y «expuestos», cuando se aplican a una célula, se utilizan en la presente para describir el proceso por el cual una construcción terapéutica y un agente quimioterapéutico o radioterapéutico se suministran a una célula objetivo o se colocan en yuxtaposición directa con la célula objetivo. Para lograr la destrucción celular o estasis, por ejemplo, ambos agentes se suministran a una célula en una cantidad combinada efectiva para destruir la célula o impedir que se divida.

Inmunoterapia

55 La inmunoterapia generalmente depende del uso de células efectoras inmunitarias y moléculas para dirigirse y destruir las células cancerosas. El efector inmunitario puede ser, por ejemplo, un anticuerpo específico para algún marcador en la superficie de una célula tumoral. El anticuerpo solo puede servir como un efector de terapia o puede reclutar otras células para afectar realmente la destrucción celular. El anticuerpo también se puede conjugar con un fármaco o toxina (quimioterapéutico, radionucleótido, cadena de ricina A, toxina de cólera, toxina Pertussis, etc.) y servir apenas como un agente de direccionamiento. De manera alternativa, el efector puede ser un linfocito que lleva una molécula de superficie que interactúa, ya sea directa o indirectamente, con un objetivo de célula de tumor.

Varias células efectoras incluyen linfocitos T citotóxicos y linfocitos NK.

La inmunoterapia, por lo tanto, se podría utilizar como parte de una terapia de combinación, junto con la terapia génica. El enfoque general para la terapia de combinación se plantea a continuación. En general, la célula tumoral debe soportar algún marcador que es susceptible de direccionamiento, es decir, no está presente en la mayoría de otras células. Existen muchos marcadores de tumor y cualquiera de estos pueden ser adecuados para dirigirse en el contexto de la presente invención. Marcadores de tumor comunes incluyen antígeno carcinoembrionario, antígeno específico de próstata, antígeno asociado al tumor urinario, antígeno fetal, tirosinasa (p97), gp68, TAG-72, HMFG, antígeno Sialyl Lewis, MucA, MucB, PLAP, receptor de estrógeno, receptor de laminina, erb B y p155.

Terapia génica

En otra realización, el tratamiento secundario es una terapia génica secundaria en la cual un polinucleótido terapéutico se administra antes, después o al mismo tiempo que un primer agente quimioterapéutico. La administración del agente quimioterapéutico junto con un vector que codifica un producto génica tendrá un efecto antihiperproliferativo combinado en los tejidos diana.

Cirugía

Aproximadamente el 60 % de las personas con cáncer serán sometidos a cirugía de algún tipo, lo que incluye cirugía preventiva, de diagnóstico o en etapas, curativa y paliativa. La cirugía curativa es un tratamiento para el cáncer que se puede utilizar junto con otras terapias, tal como el tratamiento de la presente invención, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, terapia génica, inmunoterapia y/o terapias alternativas. La cirugía curativa incluye resección en la que todo o parte del tejido canceroso se quita, extirpa y/o destruye físicamente. La resección de tumores se refiere a la eliminación física de al menos parte de un tumor. Además de la resección del tumor, el tratamiento mediante cirugía incluye cirugía láser, criocirugía, electrocirugía, y cirugía controlada microscópicamente (cirugía Mohs). Se contempla además que la presente invención se puede utilizar junto con la eliminación de cáncer superficial, precáncer o mínimas cantidades de tejido normal.

El experto en la técnica apreciará que los materiales de partida, los materiales biológicos, los reactivos, los procedimientos sintéticos, los procedimientos de purificación, los procedimientos analíticos, los procedimientos de ensayo y los procedimientos biológicos diferentes de los que se ejemplifican específicamente se pueden emplear en la práctica de la invención sin recurrir a la experimentación indebida. Todos los equivalentes funcionales conocidos en la técnica de dichos materiales y procedimientos se incluyen en la presente invención. Los términos y las expresiones que se han empleado se utilizan como términos descriptivos y no restrictivos y en el uso de dichos términos y expresiones no existe la intención de excluir ningún equivalente de las características que se muestran y se describen ni partes de estas, pero se reconoce que es posible realizar varias modificaciones comprendidas por el alcance de la invención reivindicada. Por lo tanto, se debe entender que si bien la presente invención ha sido descrita específicamente mediante realizaciones preferidas y características opcionales, los expertos en la técnica pueden recurrir a la modificación y variación de los conceptos descritos en la presente y que dichas modificaciones y variaciones se consideran comprendidas por el alcance de la presente invención tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención anterior y no se debe considerar que limiten su alcance. El experto en la técnica reconocerá fácilmente que los ejemplos sugieren muchas otras formas en las cuales la invención se puede llevar a la práctica. Se debe entender que se pueden realizar numerosas variaciones y modificaciones igualmente dentro del alcance de la invención. La invención se puede comprender adicionalmente a través de los siguientes ejemplos no taxativos.

Las abreviaturas utilizadas en los esquemas y ejemplos pueden incluir las siguientes:

A549 = células epiteliales basales alveolares humanas adenocarcinómicas

ATP = trifosfato de adenosina

β -lap = β -lapachona

DHE = dihidroetidid

DNQ= desoxiniboquinona

DNQ_d = cualquier análogo o derivado de desoxiniboquinona

ELISA = ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas

h = hora(s)

H596 = [NCI-H596] línea celular de carcinoma adenoescamoso de pulmón humano

HT1080 = línea celular del fibrosarcoma de primate

LD₅₀ = dosis letal que tiene un 50 % de probabilidad de provocar la muerte

LD₉₀ = dosis letal que tiene un 90 % de probabilidad de provocar la muerte
 LD₁₀₀ = dosis letal que tiene un 100% de probabilidad de provocar la muerte

MCF-7 = línea celular de adenocarcinoma de mama humano

MDA-MB-231 = línea celular de cáncer de mama humano

5 MIA-PaCa2 = línea celular de cáncer de páncreas

mins = minuto(s)

NADH = dinucleótido de nicotinamida y adenina

NQO1 = NAD(P)H:quinona oxidoreductasa 1

NSCLC = células de cáncer de pulmón de células no pequeñas

10 OCR = tasas de consumo de oxígeno

p53 = una proteína supresora de tumores

PC-3 = línea celular de cáncer de próstata humano

ROS = especies de oxígeno reactivo

±SE = error estándar

15 siRNA = ácido ribonucleico interferente pequeño

shRNA = ácido ribonucleico de horquilla pequeño

μM = micromolar

nM = nanomolar

μmol = micromol

20

EJEMPLOS

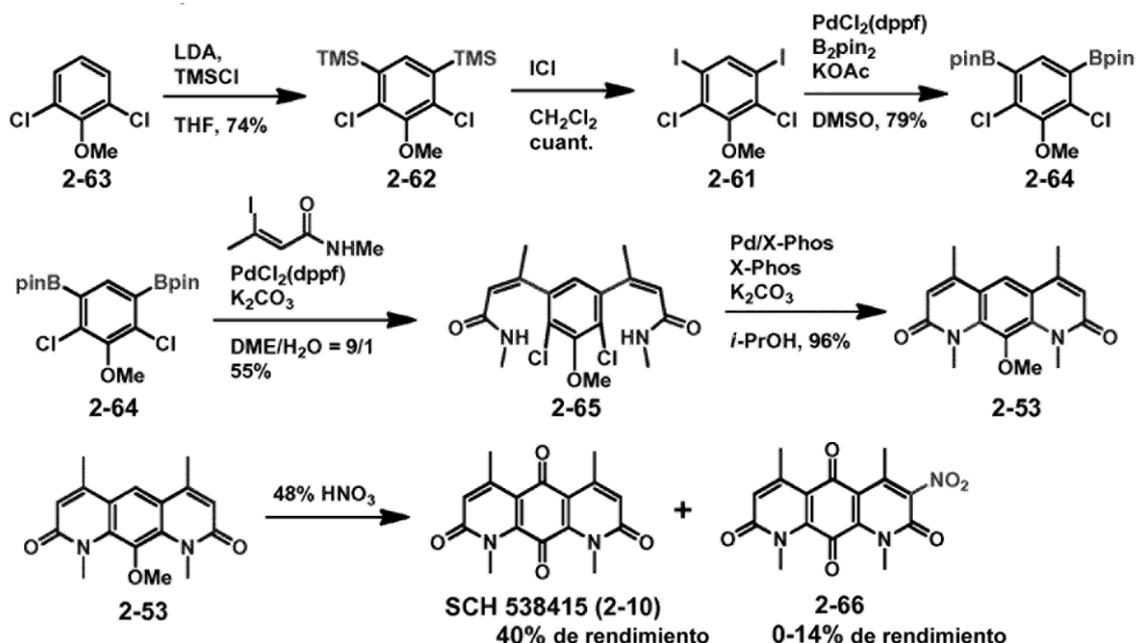
Ejemplo 1. Preparación de SCH 538415 y DNQ.

25 **A. Síntesis de SCH 538415.** De los precursores potenciales de diazaantracenos evaluados, la vía más exitosa fue a través de **2-61 (esquema 1.12)**. La disposición específica de los haluros en el compuesto **2-61** se previó que surgiría a través de la *ortoligación* dirigida secuencial de 2,6-dicloroanisol. Como la diiodinación en estas condiciones es difícil, se seleccionó el disilano intermedio **2-62**. El cloruro es conocido por ser un grupo de direccionamiento débil para la *orto*-litiación, pero se ha utilizado con éxito en una serie de situaciones. Sin embargo,

30 el intercambio de cloruro de litio pareció ser la reacción dominante en una serie de reacciones mediadas por *n* y *s*-butilitio, probablemente debido a los fuertes efectos de direccionamiento del grupo metoxi. Se descubrió que la desprotonación con amida de diisopropilo de litio (LDA) fue eficiente y selectiva para las posiciones 3 y 5 (**esquema 1.12**). Además, la secuencia de dos etapas se podría llevar a cabo en un solo recipiente. El cloruro de trimetilsililo fue un reactivo de inactivación *in situ* eficaz, con las conversiones más altas cuando los agregados de reactivos fueron secuenciales, comenzando con LDA. La yododesililación de **2-62** por la acción del monocloruro de yodo fue

35 rápida y cuantitativa, y produjo **2-61**.

Esquema 1.12. Síntesis de SCH 538415



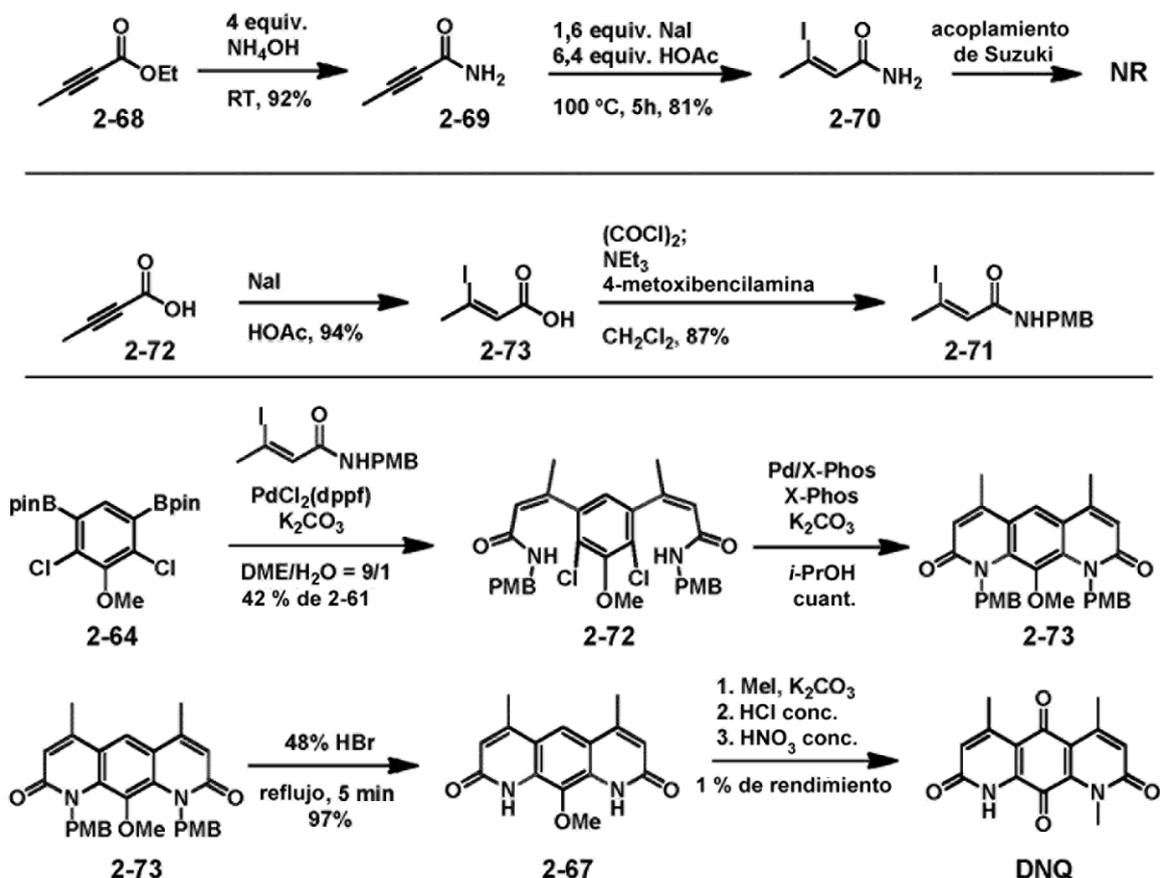
5 Las condiciones de borilación de Miyaura después proporcionaron una pareja de acoplamiento cruzado **2-64** con buen rendimiento pero contaminada con cantidades variables de bis(pinacolborano). El rendimiento de dos etapas después del acoplamiento cruzado posterior fue mayor cuando se utilizó **2-64** sin purificación, por lo tanto, después del tratamiento final, típicamente **2-64** se llevó directamente al acoplamiento cruzado. El acoplamiento cruzado doble de Suzuki de **2-64** con yodoamida **2-17** procedió como se esperaba con un rendimiento aceptable del 55 % de **2-65**. Por último, el sistema de Pd(OAc)₂/X-Phos cicló de forma efectiva el compuesto sustituido con *orto* rico en electrones **2-65** con un rendimiento excelente.

Después de un breve estudio de los oxidantes, se descubrió que, aunque era más rico en electrones que el diazaantraceno **2-51**, **2-53** seguía siendo difícil de oxidar. Los intentos de desproteger el fenol, que debería ser más propenso a la oxidación que el anisol, fracasaron. Los intentos de seguir este esquema sintético comenzando con otros grupos protectores (por ejemplo, -OMOM, -OBn, -OPBM, -OTHP, -OSEM) sorprendentemente fracasaron en diversas etapas. Descubrimos que la oxidación de **2-53** fue posible en condiciones forzadas. Por lo tanto, un breve calentamiento de **2-53** en ácido nítrico concentrado produjo **SCH 538415** como un sólido rojo-naranja brillante en un 40% de rendimiento, junto con cantidades variables (0-14 %) de producto nitrado **2-66**, cuya estructura se confirmó mediante difracción de rayos X de un solo cristal. Por esta vía se completó la primera síntesis total del producto natural en seis etapas y se obtuvo un rendimiento global del 9,7 % a partir de 2,6-dicloroanisol. Los datos del espectro coincidieron con los del producto natural.

15 **B. Síntesis de DNQ.** El enfoque más sencillo para aplicar esta vía a la síntesis de **DNQ** implicaría una mono-*N*-metilación selectiva de nor-metil diazaantraceno **2-67** (esquema 1.13). La amida primaria **2-70** se sintetizó pero resultó ser un socio no reactivo en el acoplamiento de Suzuki con **2-64**. *N*-para-metoxibencilamida **2-71** se sintetizó con un rendimiento del 82% a partir de ácido 2-butinoico mediante hidroyodinación y tratamiento del cloruro de ácido correspondiente con *p*-metoxibencilamina (esquema 1.13). Esta vía se empleó porque la reacción del 2-butinoato de etilo con la *p*-metoxibencilamina produjo principalmente una adición de 1,4 a la alquina. El acoplamiento cruzado de Suzuki de **2-64** con **2-71** produjo **2-72** con un rendimiento del 42 %. La amidación posterior se efectuó en rendimiento cuantitativo para generar el compuesto tricíclico protegido **2-73**. La eliminación de los grupos protectores de PMB de **2-73** en HBr concentrado caliente fue rápida y produjo **2-67** en un rendimiento del 97 %. Descubrimos que la metilación de **2-67** fue altamente no selectiva, lo que generó una mezcla de productos mono y di *N* y *O* alquilados. A pesar de que una pequeña cantidad de DNQ se aisló mediante la hidrólisis posterior de productos *o*-alquilados, oxidación en ácido nítrico y purificación cromatográfica, se consideró que esta ruta era poco práctica.

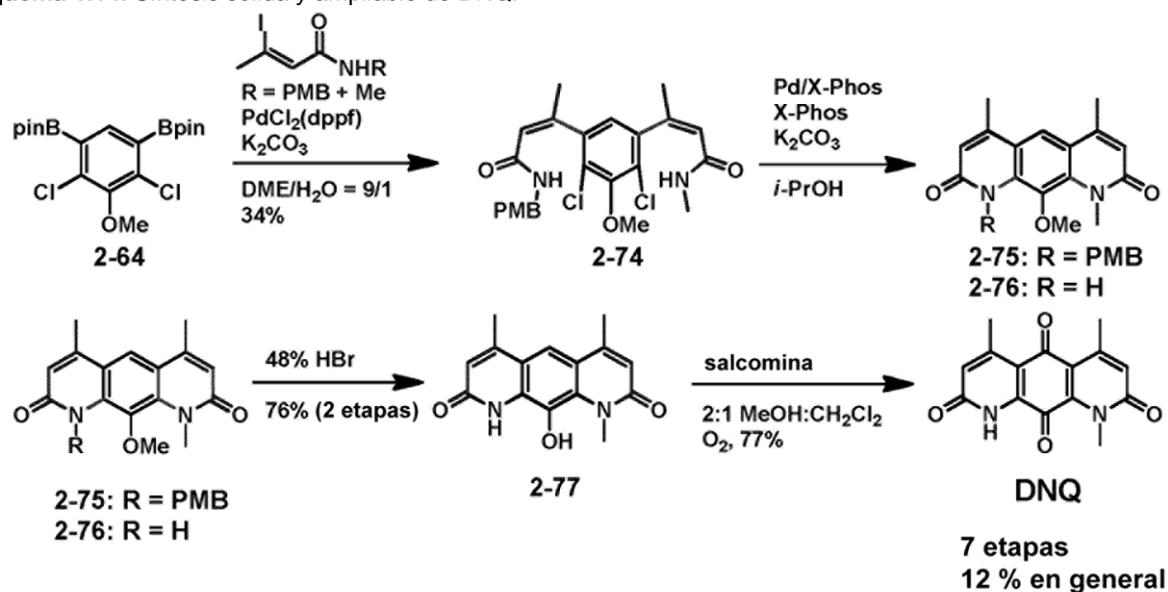
35

Esquema 1.13. Síntesis de DNQ mediante metilación de 2-67.



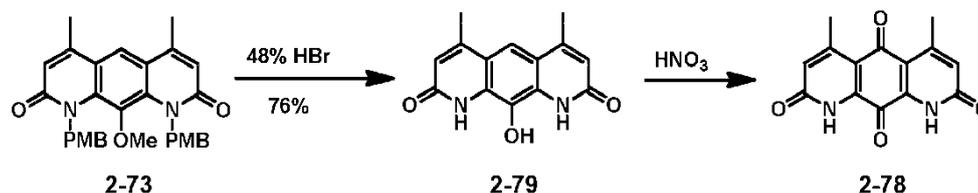
Una vía alternativa a DNQ se centró en la síntesis de diamida no simétrica **2-74** (esquema 1.14). Aunque las vías que involucran el acoplamiento de Suzuki iterativo inicialmente parecían prometedoras, se encontró que un acoplamiento cruzado mixto entre el bisboronato **2-64** y las yodoamidas **2-17** y **2-71** resultó ser el procedimiento más sencillo para formar **2-74**. La separación de **2-74** de los productos simétricos de acompañamiento se vio fácilmente afectada por la cromatografía. La amidación de arilo en las condiciones empleadas anteriormente formó de forma eficiente el triciclo **2-75** junto con cantidades variables de amida no protegida **2-76**. El aislamiento en esta etapa fue innecesario, ya que el sometimiento de los productos de amidación brutos a hidrólisis ácida produjo **2-77** en un rendimiento del 76 % en dos etapas. La oxidación del fenol **2-77** fue notablemente más sencilla que la oxidación del anisol **2-53**. La oxidación de **2-77** catalizada por salcomina bajo O_2 produjo **DNQ** en un rendimiento del 77 %. En general, la síntesis consistió en 7 etapas en la secuencia lineal más larga, rendimiento general del 12 %. Esto se compara con las 11 etapas y <0,84 % de rendimiento para la síntesis anterior de **DNQ** (Rinehart y col., J. Am. Chem. Soc. 1961, 83, 3729; Forbis y col., J. Am. Chem. Soc. 1973, 95, 5003). A través de este procedimiento, se han sintetizado 400 mg de DNQ en una única secuencia sin encontrarse con ninguna dificultad relacionada con la escala.

Esquema 1.14. Síntesis sólida y ampliable de DNQ.



5 **C. Síntesis de nor-metil antraquinona 2-78.** Habiendo sintetizado anteriormente 2-73, se buscó realizar el derivado de DNQ nor-metilo 2-78 previamente informado para su comparación con DNQ y SCH 538415. A diferencia de 2-52, el calentamiento en HBr durante 4 horas también eliminó el grupo metilo protector de fenol de 2-73. La oxidación de diazaantraceno 2-79 en HNO₃ a 60 °C generó una solución roja a partir de la cual se precipitó un sólido rojo-naranja tras el enfriamiento y la dilución con agua. El compuesto 2-78 resultó insoluble en todos los disolventes evaluados, excepto los ácidos o las bases concentrados.

10



15 En conclusión, las síntesis totales de SCH 538415, DNQ y desoxinibomicina se lograron usando vías concisas y modulares que dependían en gran medida de las reacciones de acoplamiento cruzado mediadas por Pd modernas. Se superaron tres obstáculos sintéticos: la formación del esqueleto tricíclico, la oxidación del diazaantraceno a la antraquinona y la síntesis de intermedios no simétricos en el camino a DNQ. El triciclo se formó a través de una doble amidación intramolecular de cloruros de arilo ricos en electrones y obstaculizados estéricamente que se tuvo que llevar a cabo desde el principio de la secuencia. Los intentos de oxidar el diazaantraceno 2-51 no tuvieron éxito, pero el anisól 2-53 más rico en electrones se oxidó con éxito a SCH 538415 en condiciones forzadas. Se descubrió que un acoplamiento cruzado de Suzuki mixto directo fue un procedimiento viable para producir la diamida no simétrica 2-74 en el camino a DNQ. Por último, la oxidación de fenol 2-77 se logró en condiciones moderadas, catalizadas por cobalto para suministrar el compuesto objetivo, DNQ.

20

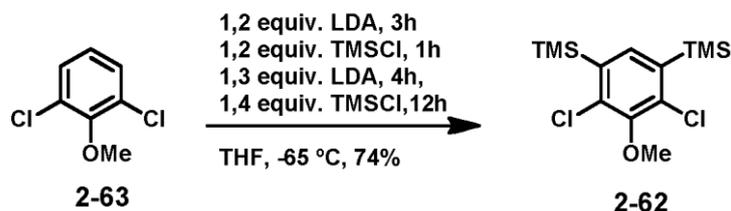
25

25 **Materiales y procedimientos.** Los reactivos se adquirieron de Aldrich, Strem (catalizadores metálicos y ligandos), GFS (alquinos), Frontier Scientific (B₂pin₂) y se utilizaron sin purificación adicional, a menos que se indique lo contrario. Elesclomol y tirapazamina se sintetizaron de acuerdo con los procedimientos de la bibliografía (publicación de patente estadounidense n.º 2003/0195258 (Koya y col.); y Fuchs y col., J Org Chem 2001, 66, 107, respectivamente). Se secaron los disolventes mediante pasaje a través de columnas empaquetadas con alúmina activada (THF, CH₂Cl₂, éter dietílico) o tamices moleculares activados (DMSO). Las aminas se destilaron recientemente sobre CaH₂ bajo una atmósfera de nitrógeno. Se realizaron reacciones que comprendían n-BuLi o LDA utilizando técnicas de Schlenk estándar bajo argón.

30

35 Los espectros ¹H-NMR y ¹³C-NMR se registraron en espectrómetros Varian Unity a 500 MHz y 125 MHz, respectivamente. Los espectros generados a partir de una solución de CDCl₃ se refirieron a cloroformo residual (¹H: δ 7,26 ppm, ¹³C: δ 77,23 ppm). Los espectros generados en mezclas de CDCl₃ y CD₃OD se refirieron a

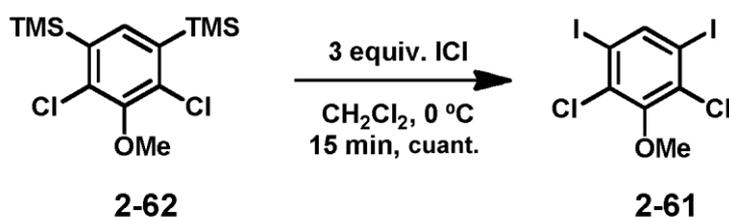
tetrametilsilano (^1H : δ 0,00 ppm) o CD_3OD (^{13}C : δ 49,0 ppm). Los espectros generados a partir de d-TFA se refirieron a H residual (^1H : δ 11,50 ppm) o $\text{F}_3\text{CCO}_2\text{D}$ (^{13}C : δ 164,2 ppm).



5 Preparación de LDA: a un matraz Schlenk secado en horno se le agregó THF seco (23,2 mL), diisopropilamina (14,0 mL, 99,9 mmol) y una barra agitadora. Después de enfriar el matraz en un baño de hielo/isopropanol seco, se agregó por goteo n-BuLi (1,6 M en hexanos, 62,8 mL, 100 mmol) durante aproximadamente 15 minutos. Después se transfirió el matraz a un baño de hielo para almacenamiento temporal.

10 A un matraz Schlenk secado en horno de 250 mL y una barra agitadora bajo argón se le agregaron THF seco (50 mL) y 2,6-dicloroanisol (**2-63**, 5,00 mL, 36,5 mmol). Se enfrió el matraz en un baño a -75 °C y LDA recién preparada (1,0 M, 44 mL, 44 mmol) se agregó con jeringa durante 15 minutos. Se agitó la reacción durante 3,25 h a entre -65 y -75 °C, y se mantuvo en este intervalo de temperatura durante toda la reacción. Después se agregó TMSCl (5,60 mL, 43,8 mmol) y se agitó la mezcla durante 1 h. Después se agregó una segunda alícuota de LDA (47 mL, 47 mmol) seguida, después de tres horas más, de una segunda alícuota de TMSCl (6,50 mL, 50,9 mmol). Se dejó agitar la mezcla y calentar durante la noche hasta que alcanzó -20 °C después de 14 h. Se inactivó la solución amarilla turbia con 15 mL de agua, que disolvió el precipitado. Se transfirió la mezcla a un embudo separador, se diluyó con HCl 1 M (15 mL) y éter (20 mL), y se agitó y se separó. Se extrajo la fase acuosa una vez con éter (1 x 30 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (1 x 20 mL), se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se evaporaron hasta obtener un aceite amarillo pálido que se solidificó al vacío. La recristalización a partir de MeOH/ H_2O en dos cultivos produjo 7,25 y 1,42 g de **2-62** como escamas blancas (8,67 g, 27,0 mmol, 74 %).

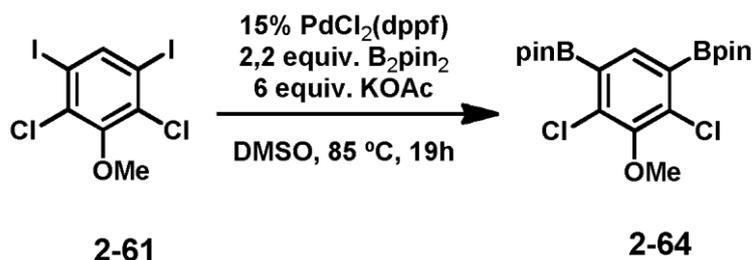
25 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 7,25 (s, 1H, CH arilo), 3,89 (s, 3H, OCH_3), 0,36 (s, 18H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz, retardo de configuración en 20 seg, $\text{dm} = \text{nny}$): δ 151,9, 138,7, 137,0, 136,7, 60,5, -0,5. HRMS (EI) calc. para $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{OSi}_2\text{Cl}_2$ (M^+): 320,0586, encontrado: 320,0583. Punto de fusión: 78,5-80,5 °C. IR (cm^{-1} , película fina en CDCl_3): 2958 (w), 1397 (w), 1342 (m), 1251 (m).



30 El monoclóruo de yodo (11,41 g, 70,28 mmol) se pesó en un matraz de fondo redondo de 100 mL con una barra agitadora y se disolvió en 35 mL de CH_2Cl_2 . Se enfrió el matraz en un baño de hielo y se agregó **2-62** (7,49 g, 23,3 mmol) en partes a una velocidad lo suficientemente lenta para mantener la temperatura de la solución por debajo de 20 °C. Después del agregado, se formó un precipitado espeso y se agregó más CH_2Cl_2 (35 mL) para su disolución.

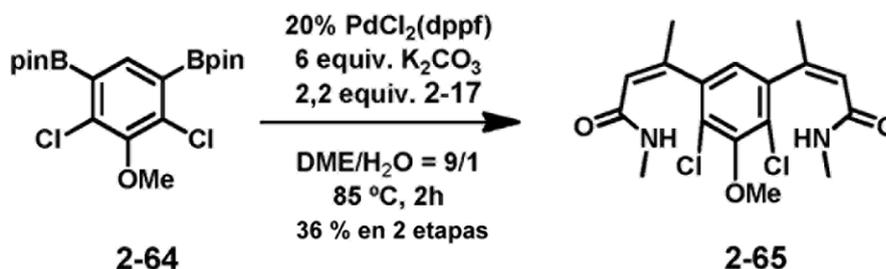
35 Se continuó agitando durante 0,5 h, después se agregó agua (10 mL) y se agregó NaHSO_3 con espátula hasta que el color de la solución dejó de desvanecerse. La capa acuosa era amarilla clara y la capa orgánica era incolora. Se vertió la mezcla a un embudo separador, se diluyó con agua (20 mL) y CH_2Cl_2 (50 mL), y se agitó y se separó. La fase acuosa se extrajo adicionalmente con CH_2Cl_2 (2 x 15 mL). Después, se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera (1 x 20 mL), se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se evaporaron para producir **2-61** como un sólido blanco (9,965 g, 23,24 mmol, 99,6 %). El producto se puede recristalizar a partir de hexanos para producir agujas incoloras.

45 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 8,14 (s, CH arilo), 3,88 (s, $-\text{OCH}_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): δ 152,6, 144,3, 135,0, 97,7, 60,8. HRMS (EI) calc. para $\text{C}_7\text{H}_6\text{OCl}_2$ (M^+): 427,7729, encontrado: 427,7731. Punto de fusión: 138,5-140,5 °C. IR (cm^{-1} , película fina en CCl_4): 1528 (w), 1394 (m), 1361 (s), 1005 (s).



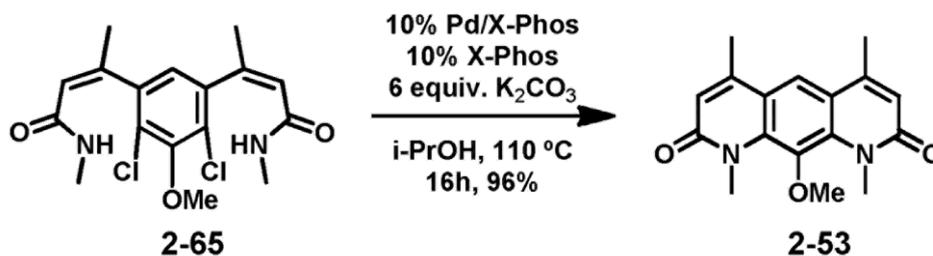
A un matraz Schlenk secado en horno caliente con una barra agitadora se le agregó KOAc (1,24 g, 12,6 mmol) y se aplicó vacío para secar la sal hasta enfriar el matraz. A este matraz se le agregó PdCl₂(dppf) (0,256 g, 15,0 % molar), B₂pin₂ (1,17 g, 4,59 mmol) y **2-61** (0,896 g, 2,09 mmol). Se evacuó el matraz y se volvió a llenar con argón (3x). Se agregó DMSO seco (12 mL) mediante jeringa y la mezcla se sumergió en un baño de aceite a 80 °C. El color cambió de amarillo a rojo a negro durante cinco minutos. La mezcla se dejó agitar con calentamiento durante 19 horas. Después del enfriamiento, se vertió la mezcla en un embudo separador con 5 mL adicionales de DMSO y después se extrajo con hexanos (3 x 100 mL). Los extractos de hexano combinados se lavaron con agua (2 x 100 mL) hasta que la capa orgánica resultó transparente. Después se secó la fracción orgánica sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó hasta obtener un sólido blancuzco. El sólido bruto (0,858 g) fue una mezcla de **6** y B₂pin₂ (proporción molar ~3:1). Se calculó el rendimiento de **2-64** a partir de esta proporción como el 79 % (712 mg, 1,66 mmol). Este material se utilizó en general sin purificación en los acoplamientos cruzados de Suzuki posteriores. La recrystalización de la mezcla a partir de pentano produce **2-64** puro como agujas incoloras.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,67 (s, 1H, CH arilo), 3,86 (s, 3H, OCH₃), 1,37 (s, 24H, C(CH₃)₂). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 152,3, 138,0, 137,1 (2C), 130 (amplio, 2C), 84,5 (2C), 60,5, 25,0 (8C). HRMS(ESI-TOF) calc. para C₁₉H₂₆B₂O₅Cl₂ (M+H)⁺: 429,1587, encontrado: 429,1591. Punto de fusión: 185-187 °C. IR (cm⁻¹, película fina en CCl₄): 2982 (m), 2935 (w), 1574 (m), 1446 (m), 1362 (s), 1333 (s), 1143 (s), 1033 (m).



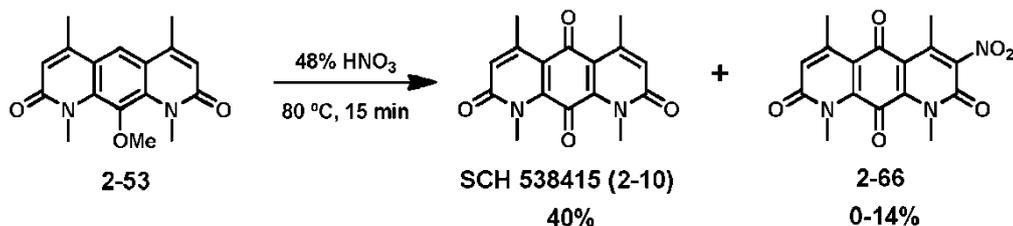
A un matraz Schlenk con una barra agitadora se le agregó **2-64** bruto (404 mg de masa total, 323 mg calculado y **2-64** 0,755 mmol), PdCl₂(dppf) (123 mg, 20 % molar), K₂CO₃ (627 mg, 4,54 mmol) y **2-17** (510 mg, 2,27 mmol) y se evacuó el matraz y se volvió a llenar con argón tres veces. Se agregaron agua (1 mL) y DME (9 mL) con jeringa después de la desgasificación de los disolventes mediante burbujeo con argón durante 45 minutos. El matraz se sumergió en un baño de aceite a 80 °C durante 3 h. Se vertió la mezcla en un embudo separador y se diluyó con agua (5 mL). Se extrajo la mezcla con EtOAc (3 x 20 mL). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre MgSO₄, se filtraron y se evaporaron hasta obtener un aceite rojo oscuro. Se disolvió el producto bruto en CH₂Cl₂ y se cargó en un tapón de sílice (diámetro: 48 mm, altura: 30 mm) y se eluyó con EtOAc. Se evaporaron las fracciones que contenían **2-65** hasta obtener un sólido rojo. Se agitó este sólido en 3 mL de EtOAc y se filtró. Se lavó el sólido dos veces con partes de 2 mL de EtOAc, después se dejó secar en el filtro. Se aisló el compuesto **2-65** como cristales incoloros (152 mg, 0,409 mmol, 55 % a partir de **2-64** calculado, 43 % en dos etapas a partir de **2-61**).

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,73 (s, 1H, CH arilo), 5,94 (q, 2H, J = 1,5 Hz, CH vinílico), 5,59 (bs, 2H, NH), 3,91 (s, 3H, OCH₃), 2,69 (d, 6H, J = 4,5 Hz, NCH₃), 2,12 (d, 6H, CH₃ alílico, J = 1,0 Hz). ¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz): δ 165,8, 145,4, 140,0, 125,5, 124,2, 124,2, 123,3, 61,0, 26,5, 25,4. HRMS (ESI-TOF) calc. para C₁₇H₂₀N₂O₃Cl₂ (M+H)⁺: 371,0929, encontrado: 371,0915. Punto de fusión: se oscureció a 210 °C, se descompuso a 230 °C. IR (cm⁻¹, película fina en CDCl₃): 3383 (w), 3326 (b, w), 2979 (w), 2939 (w), 1663 (m), 1641 (m), 1608 (m), 1525 (m), 1368 (m).



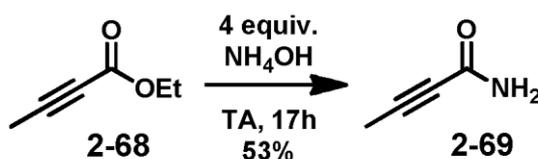
A un vial de 1-dram con una barra agitadora se le agregaron **2-65** (16,3 mg, 0,0440 mmol), K₂CO₃ (36,70 mg, 0,266 mmol), Pd/X-Phos (3,25 mg, 10,0 % molar) y X-Phos (2,20 mg, 10,5 % molar). Se cicló el vial entre vacío y argón tres veces y se agregó *i*-PrOH (1,75 mL), mientras se enjuagó el vial con argón. Se selló el vial con una tapa recubierta con Teflón y se sumergió en un baño de aceite a 110 °C. La reacción se dejó agitar con calentamiento durante 16 horas. Se eliminaron los materiales no solubles mediante filtración a través de Celite y se enjuagaron con CH₂Cl₂. Se evaporó el filtrado y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (0-5 % MeOH en EtOAc). Se aisló el compuesto **2-53** (12,6 mg, 0,0422 mmol, 96 %) como un sólido blanco.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,68 (s, 1H, CH arilo), 6,57 (d, 2H, *J* = 1,5 Hz, CH vinilo), 3,86 (s, 6H, N-CH₃), 3,50 (s, 3H, OCH₃), 2,50 (d, 6H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 125 MHz): δ 164,1, 146,1, 137,2, 136,3, 120,8, 119,8, 116,9, 62,4, 35,9, 19,2. **HRMS** (ESI-TOF) calc. para C₁₇H₁₈N₂O₃ (M+H)⁺: 299,1396, encontrado: 299,1385. **Punto de fusión**: >250 °C. **IR** (cm⁻¹, película fina en CDCl₃): 2962 (w), 1648 (s), 1619 (m), 1583 (s), 1445 (m), 1394 (m), 1354 (m), 1325 (m), 1035 (m).



En un vial de 7 mL con una barra agitadora, **2-53** (29,8 mg, 0,100 mmol) se disolvió en HNO₃ conc. (3 mL) y el vial se sumergió en un baño de aceite a 80 °C. Después de 15 minutos, se retiró el matraz del calor y se diluyó la solución con agua (4 mL), se transfirió a un embudo separador y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Se neutralizó cuidadosamente la fase acuosa con NaOH 10 M (un color oscuro persistió cuando se consumió el ácido) y se extrajo una vez más con CH₂Cl₂ (10 mL). Se cargaron los extractos orgánicos directamente en una columna de gel de sílice y se eluyó con un gradiente de 0 al 5 % de MeOH en EtOAc. Se aisló el producto como una fracción roja oscura que se evaporó hasta obtener un sólido rojo-naranja brillante. Se disolvió en 5 mL de CH₂Cl₂ y se filtró para eliminar un material amarillo poco soluble. Se evaporó el filtrado para producir SCH 538415 como un sólido rojo-naranja brillante (11,9 mg, 0,0399 mmol, 40 %). Los datos del espectro coinciden con el producto natural informado. SCH 538415 se puede purificar adicionalmente mediante sublimación (180 °C, 300 mtorr).

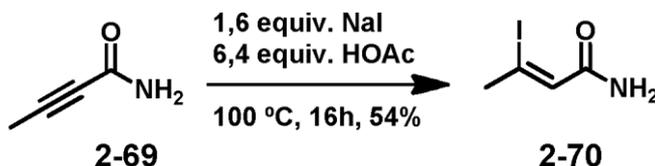
¹H-NMR para 2-10 (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,65 (d, 2H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 3,73 (s, 6H, NCH₃), 2,56 (d, 6H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico). **¹³C-NMR para 2-10** (CDCl₃, 125 MHz): δ 181,5, 178,9, 161,5, 149,1, 143,0, 126,6, 117,0, 34,2, 22,8. **HRMS para 2-10** (ESI-TOF) calc. para C₁₆H₁₄N₂O₄ (M+H)⁺: 299,1032, encontrado: 299,1020. **Punto de fusión para 2-10**: >250 °C. **IR para 2-10** (cm⁻¹, película fina en CDCl₃): 1662 (b, w), 1362 (w). **¹H-NMR para 2-66** (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,70 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 3,83 (s, 3H, NCH₃), 3,74 (s, 3H, NCH₃), 2,56 (s: solapamiento accidental - se ven dos señales separadas en otros espectros, 6H, CH₃ alílico). **¹³C-NMR para 2-66** (CDCl₃, 125 MHz): δ 180,4, 177,8, 161,2, 154,3, 148,9, 142,9, 142,5, 140,8, 127,2, 117,8, 115,4, 35,3, 34,2, 22,7, 16,9.



A un vial de 7 mL con una barra agitadora se le agregó 2-butinoato de etilo (506 mg, 4,51 mmol) y NH₄OH

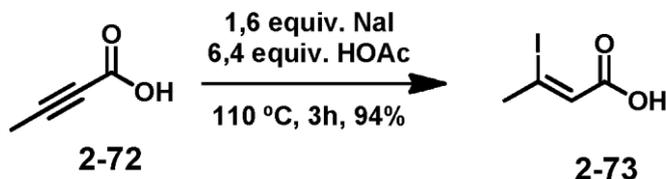
concentrado (~30 %, 1,5 mL, 18 mmol) y se agitó la solución bifásica vigorosamente durante 17 h, tiempo durante el cual se formó un precipitado blanco espeso. Se recogió este sólido mediante filtración y se secó al vacío para producir **2-69** como un sólido blanco (198 mg, 2,38 mmol, 53 %).

- 5 ¹H-NMR (d⁶-DMSO, 500 MHz): δ 7,813 (bs, 1H, NH), 7,362 (bs, 1H, NH), 1,91 (s, 3H, CH₃). ¹³C-NMR (d⁶-DMSO, 125 MHz): δ 154,4, 82,4, 75,9, 3,0. HRMS (EI) calc. para C₄H₅NO (M)⁺: 83,0371, encontrado: 83,0370. MP: 151-152,5 °C. IR (cm⁻¹, película fina en CDCl₃): 1665 (w), 1583 (w), 1369 (w).



- 10 A un vial de 1-dram con una barra agitadora se le agregó **2-69** (118 mg, 1,41 mmol), NaI (337 mg, 2,25 mmol) y ácido acético (0,52 mL, 9,1 mmol). Se cerró el vial con una tapa a rosca y se sumergió en un baño de aceite precalentado a 100 °C durante 16 h. Se diluyó la mezcla de reacción roja oscura con agua (20 mL) y EtOAc (20 mL), se trató con NaHSO₃ hasta que el color dejó de desaparecer (amarillo pálido), después se neutralizó con 8 mL de NaOH 1M. Se vertió esta mezcla en un embudo separador y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (1 x 10 mL). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con NaHCO₃ saturado (1 x 10 mL) y salmuera (1 x 10 mL), se secaron sobre MgSO₄ y se evaporaron para producir 162 mg (0,765 mmol, 54 %) de **2-70** como un sólido en escamas blanco.

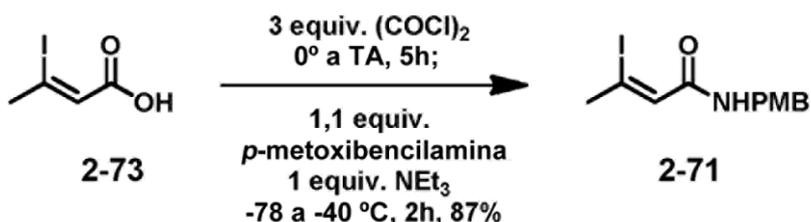
- 20 ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,28 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 5,80 (bs, 2H, NH₂), 2,69 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico). ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 165,4, 128,7, 105,7, 35,3. HRMS (ESI-TOF) calc. para C₄H₆NOI (M+H)⁺: 211,9572, encontrado: 211,9582. Punto de fusión: 87-92 °C. IR (cm⁻¹, película fina): 3332 (s), 3167 (s), 1665 (s), 1622 (s), 1425 (m), 1403 (s), 1260 (m).



- 25 A un matraz que contenía ácido 2-butinoico (0,503 g, 5,98 mmol), NaI (1,434 g, 9,57 mmol) y una barra agitadora, se le agregó ácido acético glacial (2,2 mL, 38 mmol) y se sumergió el matraz en un baño de aceite a 115 °C durante 3 h. Se vertió la mezcla de reacción en un matraz separador y se diluyó con agua (10 mL) y éter (10 mL). Se agregó NaHSO₃ hasta que el color de la solución se destiñó hasta un amarillo pálido, después se agitó la mezcla y se separó. Se extrajo la fracción acuosa con éter (3 x 10 mL), después se secaron las fracciones orgánicas combinadas sobre MgSO₄ y se evaporaron para producir **2-73** como un sólido blanco (1,19 g, 5,59 mmol, 94 %). El ácido **2-73** se puede recristalizar con una buena recuperación a partir de CHCl₃/heptano para producir cristales prismáticos grandes.

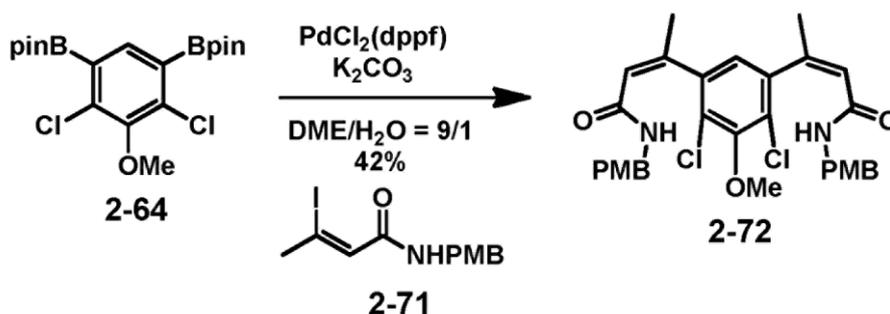
- 35 ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 12,19 (bs, 1H, COOH), 6,36 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, CH vinilo), 2,77 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 169,8, 125,4, 117,1, 37,3. HRMS (ESI-TOF) calc. para C₄H₅O₂I (M+Na)⁺: 234,9232, encontrado: 234,9234. Punto de fusión: 113-115 °C. IR (cm⁻¹, película fina en CDCl₃): 2978 (b, m), 2702 (m), 2589 (m), 2506 (m), 1699 (s), 1619 (s), 1434 (m), 1406 (m), 1303 (m), 1222 (s).

40



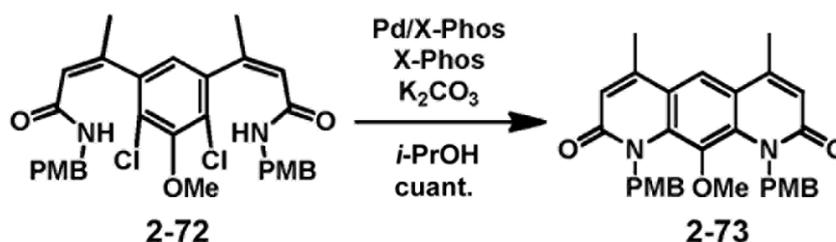
5 A un vial I-Chem secado en horno de 40 mL con una barra de agitación se le agregó **2-73** (1,03 g, 4,85 mmol) y se evacuó el matraz y se volvió a llenar con argón. Se agregó CH₂Cl₂ seco (12 mL) y se enfrió la solución en un baño de agua helada. Se agregó cloruro de oxalilo (1,25 mL, 14,3 mmol) mediante jeringa y se retiró el baño frío. Después
 10 de 5 h a temperatura ambiente, se evaporaron los componentes volátiles directamente del vial. Se agregó CH₂Cl₂ seco (10 mL) al aceite residual y se enfrió el vial en un baño seco de hielo/isopropanol. Se agregó p-metoxibencilamina recién destilada (740 mg, 5,39 mmol) por goteo mediante jeringa y luego NEt₃ (0,675 mL, 4,85 mmol). Se dejó que la mezcla se calentara a - 40 °C después de 2 h, después se le agregó HCl 1 M (20 mL) y se vertió la solución en un embudo separador con CH₂Cl₂ (10 mL). Se agitó y se separó. Se extrajo la fracción acuosa
 15 con CH₂Cl₂ (4 x 10 mL), después se secó sobre MgSO₄ y se evaporó hasta obtener un sólido blanco. Se suspendió el sólido en 50 mL de éter y se filtró en caliente a través de Celite. Se diluyó el filtrado con 50 mL de hexanos y se calentó a reflujo hasta el inicio de la cristalización. Después del enfriamiento, se recogieron cristales tostados pálidos de **2-71** mediante filtración (1,23 g). Se purificó el licor madre mediante cromatografía en columna (hexanos/EtOAc = 2/1), después se recristalizó a partir de éter/hexanos para producir el producto adicional como agujas blancas (169 mg). **2-71** total: 1,40 g, 4,24 mmol, 87 %.

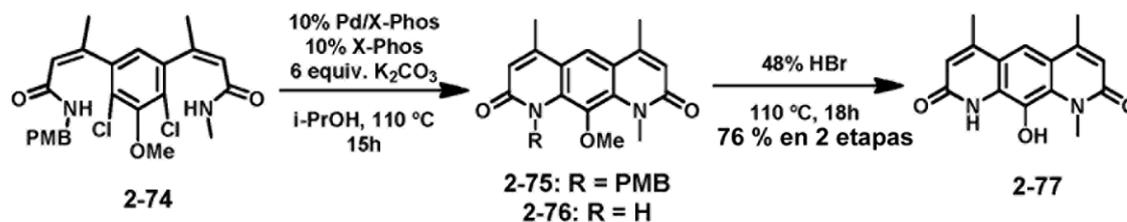
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7,20 (d, 2H, J = 8,0 Hz, CH arilo), 6,82 (d, 2H, J = 8,0 Hz, CH arilo), 6,35 (bs, 1H, NH), 6,23 (q, 1H, J = 1,5 Hz, CH vinílico), 4,37 (d, 2H, J = 3,5 Hz, NCH₂), 3,75 (s, 3H, OCH₃), 2,61 (d, 3H, J = 1,5 Hz, CH₃ alílico). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 164,7, 159,1, 130,0, 129,5, 128,9, 114,1, 106,5, 55,4, 43,1, 35,9. HRMS (ESI-TOF) calc. para C₁₂H₁₃NO₂I (M+H)⁺: 332,0148, encontrado: 332,0154. **Punto de fusión:** 95-98 °C. IR (cm⁻¹, película fina en CDCl₃): 3436 (w), 3311 (bw), 2959 (w), 2838 (w), 1656 (m), 1513 (s), 1465 (w), 1302 (w), 1250 (m), 1176 (m), 1088 (w), 1035 (m).



25 A un vial de 7 mL con una barra agitadora se le agregó **2-64** bruto (97 mg de masa total, 81 mg calculado y **2-64** 0,19 mmol), PdCl₂(dppf) (30,6 mg, 0,038 mmol, 20 % molar), K₂CO₃ (156 mg, 1,13 mmol) y **2-71** (155 mg, 0,468 mmol) y se evacuó el vial y se volvió a llenar con argón tres veces. Se agregaron agua (1 mL) y DME (9 mL) con jeringa después de la desgasificación de los disolventes mediante burbujeo con argón durante 45 minutos. El matraz
 30 se sumergió en un baño de aceite a 87 °C durante 2 h. Se vertió la mezcla en un embudo separador y se diluyó con agua (5 mL). Se extrajo la mezcla con EtOAc (2 x 5 mL). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre MgSO₄, se filtraron y se evaporaron hasta obtener un aceite rojo oscuro. Se disolvió el producto bruto en CH₂Cl₂ y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice. Se purificó adicionalmente el producto mediante recristalización a partir de cloroformo/heptanos. Se aisló el compuesto **2-72** como un sólido microcristalino (57,4 mg, 0,098 mmol, 42 % en dos etapas a partir de **2-61**).

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,99 (bs, 4H), 6,76-6,74 (m, 5H), 5,97 (d, 2H, J = 1,5 Hz, CH vinílico), 6,0-5,3 (bd, 2H), 4,3-4,1 (bd, 4H), 3,75 (s, 6H, OCH₃), 3,72 (s, 3H, OCH₃), 2,09 (bs, 6H, CH₃ alílico). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 165,1, 159 (bs), 145,3, 140 (bs), 131 (bs), 129,0, 125,6, 124,3, 123,5 (bs), 114,0, 60,8, 55,5, 42,9, 25,5.





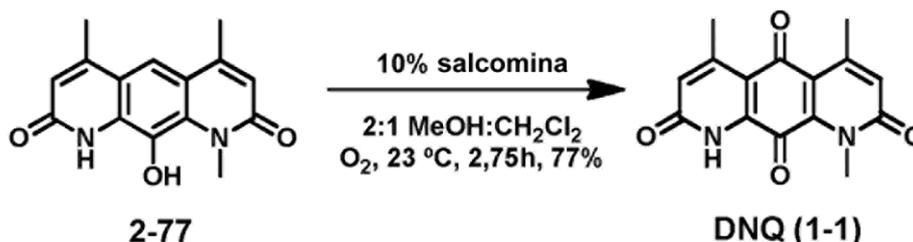
A un vial de 1-dram con una barra agitadora se le agregaron **2-74** (39,9 mg, 0,0835 mmol), K_2CO_3 (69,9 mg, 0,506 mmol), Pd/X-Phos (6,15 mg, 10,0 % molar) y X-Phos (4,03 mg, 10,1 % molar). Se cicló el vial entre vacío y argón tres veces y se agregó *i*-PrOH (3,4 mL), mientras se enjuagó el vial con argón. Se selló el vial con una tapa recubierta con Teflón y se sumergió en un baño de aceite a 110 °C. La reacción se dejó agitar con calentamiento durante 15 horas. Después del enfriamiento, se eliminaron los materiales no solubles mediante filtración a través de Celite y se enjuagaron con CH_2Cl_2 . En este momento, **2-75** se puede aislar en >95 % de rendimiento mediante purificación cromatográfica con entre el 0 y el 2,5 % de MeOH en EtOAc.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 7,64 (s, 1H, CH anisól), 7,09 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, PMB CH), 6,73 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, PMB CH), 6,65 (d, 1H, $J = 1,0$ Hz, CH vinilo), 6,52 (d, 1H, $J = 1,0$ Hz, CH vinilo), 5,30 (bd, 2H, CH_2 bencilo), 3,72 (s, 3H), 3,65 (s, 3H), 3,25 (bs, 3H), 2,52 (d, 3H, $J = 1,0$ Hz, CH_3 alílico), 2,46 (d, 3H, $J = 1,5$ Hz, CH_3 alílico).] Se evaporó el filtrado y se le agregaron una barra agitadora y 2 mL de HBr al 48 %. Se sumergió el matraz en un baño de aceite a 110 °C. [Después de 5 minutos de calentamiento, **2-76** se puede aislar en >95 % de rendimiento mediante dilución del ácido en agua y recolección del precipitado resultante. **$^1\text{H-NMR}$** (2:1 $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$, 500 MHz): δ 7,84 (s, 1H, CH arilo), 6,58 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, CH vinilo), 6,55 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, CH vinilo), 3,98 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 2,61 (d, 3H, $J = 1,0$ Hz, CH_3 alílico), 2,57 (d, 3H, $J = 1,5$ Hz, CH_3 alílico). **$^{13}\text{C-NMR}$** (CDCl_3 , 125 MHz): δ 164,7, 164,0, 149,9, 148,0, 134,7, 134,2, 133,9, 120,5, 120,1, 119,7, 117,8, 117,6, 62,8, 34,2, 19,5, 19,1. **HRMS** (ESI-TOF) calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 285,1239, encontrado: 285,1226].

Después de 17 horas, se retiró la reacción del calor. La mezcla se volvió cuidadosamente básica sobre un baño de hielo mediante el agregado de NaOH 10 M hasta que el precipitado se disolvió en una solución amarilla. Se retiró el sólido residual mediante filtración a través de un papel de filtro endurecido y se descartó. El filtrado se volvió ácido con HCl 1 M, con lo cual se formó un precipitado coloidal. Después, se centrifugó la mezcla (3220 x g durante 5 minutos). Se recogió el sólido gelatinoso semicompacto resultante mediante filtración a través de un papel de filtro endurecido y se secó hasta una masa constante al vacío para producir 17,2 mg de **2-77** como un sólido marrón claro (17,2 mg, 0,0636 mmol, 76 % durante 3 etapas).

$^1\text{H-NMR}$ (d-TFA, 500 MHz): δ 8,37 (s, 1H, CH arilo), 7,20 (s, 1H, CH vinilo), 7,03 (s, 1H, CH vinilo), 4,38 (s, 3H, NCH_3), 2,78 (s, 3H, CH_3 alílico), 2,75 (s, 3H, CH_3 alílico). **$^{13}\text{C-NMR}$** (d-TFA, 125 MHz): δ 167,2, 166,6, 160,4, 159,3, 135,7, 134,9, 133,6, 125,2, 123,6, 120,4, 119,9, 116,1, 39,6, 20,9, 20,2. **HRMS** (ESI-TOF) calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 271,1083, encontrado: 271,1076.

Punto de fusión: >250 °C. **IR** (cm^{-1} , película fina en CDCl_3): 3156 (b, m), 1674 (s), 1651 (s), 1589 (m), 1562 (m), 1432 (w), 1378 (m), 1351 (m), 1332 (m), 1052 (w).



A un vial de 7 mL que contenía **2-77** (17,2 mg, 0,0636 mmol), salcomina (2,08 mg, 0,0064 mmol) y una barra agitadora se le agregó MeOH (4 mL) y CH_2Cl_2 (2 mL). Un balón que contenía O_2 se colocó sobre la boca del vial y se agitó la mezcla a temperatura ambiente. Se disolvió el sólido después de aproximadamente 30 minutos. Después de 2,75 h de agitación, se evaporó el disolvente y se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH al 6 % en CH_2Cl_2). Se recogió **DNQ** como un sólido rosado-rojo brillante (13,9 mg, 0,0489 mmol, 77 %). El producto se puede purificar adicionalmente mediante sublimación (200 °C, 300 mtorr).

¹H-NMR (d⁵-piridina, 500 MHz): δ 6,81 (s, 1H, CH vinilo), 6,76 (s, 1H, CH vinilo), 4,97 (bs, NH), 3,99 (s, 3H, NCH₃), 2,57 (d, 3H, CH₃ alílico), 2,53 (d, 3H, CH₃ alílico). **HRMS** (ESI-TOF) calc. para C₁₅H₁₂N₂O₄(M+H)⁺: 285,0875, encontrado: 285,0864. **Punto de fusión**: >250 °C. **IR** (cm⁻¹, película fina en CDCl₃): 1656 (b, w), 1585 (w), 1469 (w), 1397 (w), 1379 (w), 1344 (w), 1290 (w), 1098 (w).

5

Ejemplo 2. Análisis de DNQ y derivados de DNQ.

Tabla 1. Propiedades de diversos compuestos y composiciones de la invención.

A: ID	B: IC ₅₀ de MCF7 (μM)	C: protección en veces de células MCF7 c/ dicoumarol 25 μM	D: velocidad inicial de NQO1 a 1 μM	E: K _m de NQO1 (μM)	F: V _{max} de NQO1 (μmol/min/proteína μmol)	G: Eficiencia catalítica (M ⁻¹ s ⁻¹)	H: Solubilidad en DMSO (mM)	I: Solubilidad en CH ₂ Cl ₂ (mM)	J: Solubilidad en THF (mM)	K: Solubilidad en CH ₂ Cl ₂ :MeOH 2:1 (mM)	L: Energía de unión (kcal/mol)
DNQ	0,19	7,8	1900 ± 100	1,0 ± 0,1	4000 ± 100	6,7E+07	3,1	0,7	0,42	8,5	14
SCH	3,9	3,5	32±2	10,6±0,4	402±6	6,3E+05	15	25	3,7	60	8
4-31	0,25	6,1	1900 ± 200	1,2 ± 0,1	4400 ± 100	6,1E+07	110	180	34	140	17
251	0,27	5,5	2100 ± 300	0,89 ± 0,12	4200 ± 200	7,9E+07	10	7,6	6,1	30	18
4-8	0,28	4,5	1400 ± 100	2,1 ± 0,2	4200 ± 100	3,3E+07	31	5,5	4,7	37	28
4-14	0,53	4,5	1500 ± 100	2,7 ± 0,2	5000 ± 200	3,1E+07	24	9,5	18	19	14
129	0,77	2,8	1300 ± 200	1,4 ± 0,1	3000 ± 100	3,6E+07	14	24	17	75	18
253	0,93	2,8	600 ± 100	3,6 ± 0,2	4400 ± 100	1,4E+07	10	6,1	4,6	18	21
255	3,4	1,6	250*	6,4*	1900*		4,2	2		10	
271	5	1,2	250±20	3,9±0,5	1070±80	4,6E+06	21	10	6,2	46	14
131	6,3	1,1	350±10	4,2±0,6	1600		10	17	12	49	10
37	36	0,9	75±4	1,5±0,3	200±20	2,2E+06	7,1	35	17	64	4
127	8	ND	320±60	1,4±0,1	750±20	8,9E+06	1,2	34	19	34	32
4-34	0,11±0,04	9	1700 ± 100	1,9 ± 0,1	5600 ± 200	4,9E+07	16	23	20	100	10
4-41	0,79±0,1	4	1600 ± 200	2,7 ± 0,1	6300 ± 100	3,9E+07	24	0,3	0,67	11	10
4-35	0,19±0,02	8	2000 ± 100	1,2 ± 0,2	4800 ± 200	6,7E+07	15	31	23	120	16
4-32	0,15±0,03	12	2100 ± 90	1,1 ± 0,1	4800 ± 200	7,3E+07	8,6	9,7	8,8	58	17
4-15	0,12 ± 10	10	1590 ± 70	1,5 ± 0,2	4100 ± 200	4,6E+07	8,9	3,9	3,4	32	20

Ejemplo 3. Efecto antitumoral en xenoinjerto de cáncer de pulmón A549 en ratones lampiños y potenciación de la radiación.

Una formulación de DNQ en HP β CD se concentró de forma suficiente para su dosificación a niveles razonables en ratones (~10 mg/kg a partir de una inyección de 200 μ L). Estamos experimentando activamente con DNQ en modelos de cáncer en ratones. El laboratorio Boothman ha realizado un estudio piloto de DNQ en un modelo de xenoinjerto subcutáneo A549 en ratones lampiños (Blanco y col., Cancer Res. 2010, 70, 3896). Como se ha demostrado que β -lap potencia el efecto de la radiación ionizante, y como DNQ y β -lap tienen mecanismos de citotoxicidad similares, se trataron ratones con o sin radiación ionizante para determinar si DNQ también potencia el efecto de la radiación (**figura 3**).

Se inocularon ratones lampiños atómicos con células NSCLC A549 y los tumores establecidos se dejaron crecer hasta ~200 mm³. Se asignaron los ratones a uno a seis grupos de tratamiento, cuatro ratones por grupo. Tres grupos recibieron DNQ (0, 2,5 o 5 mg/kg) mediante inyección en la vena de la cola en los días 1, 3, 5, 7 y 9. Las dosis de DNQ se eligieron basándose en la observación de que 10 mg/kg de DNQ provocaron reacciones adversas en los ratones. Los otros tres grupos recibieron el mismo régimen de DNQ y también recibieron 2 grays de radiación ionizante en cada día de tratamiento. Los volúmenes tumorales se midieron en las semanas posteriores (**figura 3**).

Debido a que cada grupo de tratamiento comprendía solamente cuatro animales, la significancia estadística de los resultados es baja. Sin embargo, un análisis de las tendencias promedio en la **figura 3** indica que ambos grupos que recibieron 5 mg/kg de DNQ experimentaron una tasa de crecimiento tumoral más lenta con respecto al control. Con estos resultados preliminares interesantes disponibles, se están buscando modelos de cáncer en ratones con grupos de tratamiento de tamaño completo.

La dosis máxima tolerada (MTD) de DNQ en ratones contenía una concentración similar de HP β CD que la MTD de β -lap. Aunque HP β CD se tolera en dosis muy altas mediante inyección IP (> 5 g/kg), la MTD de HP β CD mediante inyección IV para los ratones no se ha informado. La MTD de HP β CD mediante inyección IV en ratas se ha informado como aproximadamente 2,25 g/kg (Gould y Scott, Food Chem. Toxicol. 2005, 43, 1451). Si la MTD en los ratones es mucho más baja que eso, es posible que el vehículo esté provocando la toxicidad limitante de la dosis.

Debido a la dificultad de las inyecciones repetidas en las venas de la cola en ratones, nuestro grupo está utilizando administración IP del compuesto. La MTD de HP β CD parece ser mayor de la que se puede administrar incluso mediante una inyección de 1 mL de una solución acuosa saturada de HP β CD. Por lo tanto, cuando se inyecta IP, la dosis de HP β CD probablemente sea irrelevante. Se descubrió que MTD de DNQ es aproximadamente 5 mg/kg mediante inyección IP. Con esta dosis, los ratones se volvieron letárgicos y sin respuesta al tacto. Los efectos desaparecen después de 1-2 horas y los ratones regresan a un estado saludable. No se toleraron las inyecciones diarias de esta dosis, pero sí las dosis cada dos días.

Aunque el experimento del modelo de ratones proporcionó resultados alentadores, se señalaron dos inconvenientes para el uso futuro de DNQ: 1) el DNQ no es bien tolerado por los ratones en las dosis necesarias para ver un efecto anticanceroso, y 2) la solubilidad acuosa baja de DNQ requiere el uso de HP β CD, cuyo uso no es deseable desde el punto de vista de los costos y la toxicidad potencial.

Ejemplo 4. Síntesis y evaluación de derivados de DNQ.

Limitaciones de DNQ para administración *in vivo*. Aunque DNQ mostró una eficacia antitumoral prometedora en el modelo preliminar de cáncer murino, se previeron dos obstáculos potenciales para la futura administración de DNQ *in vivo*: solubilidad acuosa baja y una ventana terapéutica estrecha. Se confiaba en que un análisis de la relación estructura-actividad (SAR) de DNQ, posibilitado por la síntesis de una biblioteca de derivados, revelaría compuestos que son a la vez más solubles y equipotentes para DNQ. Se planificó determinar la MTD de dichos derivados en los ratones. Suponiendo que una citotoxicidad equivalente en el cultivo celular se traduciría en dosis antitumorales equivalentes en ratones, el compuesto con la MTD más alta proporcionaría la ventana terapéutica más amplia. Por lo tanto, nos propusimos descubrir un nuevo compuesto principal mediante 1) sintetización de una biblioteca de derivados de DNQ, 2) establecimiento de SAR de DNQ, 3) establecimiento de la relación estructura-solubilidad de DNQ, y 4) determinación de la MTD de los mejores derivados nuevos en ratones sanos. Mediante este proceso, se identificaría un nuevo compuesto principal y se exploraría su eficacia en múltiples modelos de cáncer en ratones.

Solubilidad acuosa baja. A pesar de poseer múltiples sitios para interacciones de enlace de hidrógeno con agua, DNQ es poco soluble (100 μ M en tampón de PBS a pH 7,4). Las dos posibles razones de la insolubilidad de DNQ son su capacidad de apilamiento de π en estado sólido y su doble enlace de hidrógeno intermolecular. Ambos efectos se muestran claramente en una estructura cristalina de DNQ (figura 4) informada recientemente por Li y sus

colaboradores que aislaron DNQ de una cepa de *Pseudonocardia* aislada del Mar de la China Meridional (Li y col., Mar. Drugs 2011, 9, 1428). Como SCH 538415 es menos potente que DNQ, la ruptura del enlace de hidrógeno intermolecular mediante sustitución en N-H podría producir derivados inactivos. Por lo tanto, se centró la atención en la alteración del apilamiento de π con la idea de que la ruptura de este apilamiento de π mediante el agregado de cadenas de alquilo cortas de rotación libre mejoraría la solubilidad acuosa a pesar de aumentar la lipofilidad.

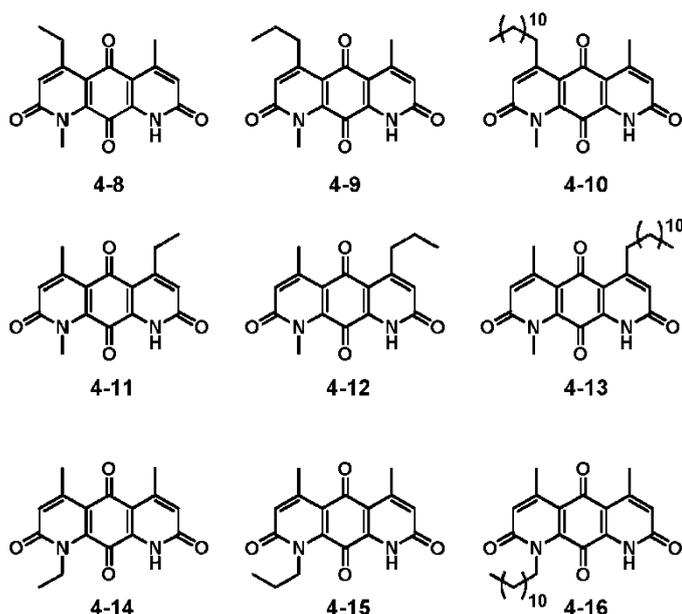
Se esperaba que la vía sintética para DNQ fuera susceptible de sustitución en las tres posiciones indicadas por las esferas de colores en la **figura 5**. Aunque se esperaba que la solubilidad acuosa de los derivados DNQ con cadenas alquílicas cortas sería mayor que la de DNQ, la lipofilidad de apéndices suficientemente largos superaría la ventaja de interrumpir el apilamiento de π y daría como resultado derivados menos solubles. La longitud óptima del alquilo para la máxima solubilidad acuosa se determinaría sintetizando una serie de derivados del n-alquilo y evaluando sus propiedades. El agregado de grupos funcionales polares (por ejemplo, -OH, -NH₂, -COOH, etc.) a DNQ se espera que tenga un fuerte efecto positivo en la solubilidad acuosa.

Mejora de la solubilidad en soluciones de HP β CD. Al igual que DNQ, β -lap presenta solubilidad acuosa baja (~160 μ M en PBS pH 7,4). Se descubrió que la disolución de β -lap en una solución de HP β CD produjo un aumento de ~150 veces de la solubilidad (HP β CD al 20 % en H₂O). Cuando DNQ se disolvió en solución de HP β CD, la solubilidad aumentó solo en 30 veces. La diferencia en el aumento de solubilidad en veces entre DNQ y β -lap se atribuye a lo siguiente: mientras que β -lap es insoluble debido a su alta lipofilidad (que se compensa con la complejación con HP β CD), DNQ es insoluble debido al empaquetado sólido estable, sobre lo cual HP β CD no presenta efectos. Los mismos derivados de DNQ descritos en la sección anterior probablemente se beneficiarían más por la disolución con HP β CD que la DNQ misma, considerando su mayor lipofilidad. Además, algunos apéndices pueden mostrar una afinidad muy alta por HP β CD, lo que daría lugar a importantes aumentos de la solubilidad. Por lo tanto, la solubilidad de todos los derivados, ya sean más o menos solubles en agua que DNQ, se evaluaría en presencia de HP β CD.

Mejora de la solubilidad en disolventes orgánicos. Otra forma en la que β -lap se ha administrado *in vivo* es encapsulada en micelas (Blanco y col., Cancer Res. 2010, 70, 3896). Mientras que las formulaciones liposómicas son útiles para los fármacos solubles en agua -atrapándolos en el interior acuoso del liposoma- las micelas atrapan los fármacos lipofílicos en su interior hidrofóbico. Por lo tanto, el derivado lipofílico propuesto de DNQ podría ser un buen candidato para formulaciones micelares. Se esperaba que la solubilidad de los derivados de DNQ en disolventes orgánicos -tales como DCM y THF- sería de órdenes de magnitud mayores que la solubilidad de DNQ en sí mismo debido a los efectos combinados de la desestabilización del apilamiento de π y el aumento de la lipofilidad.

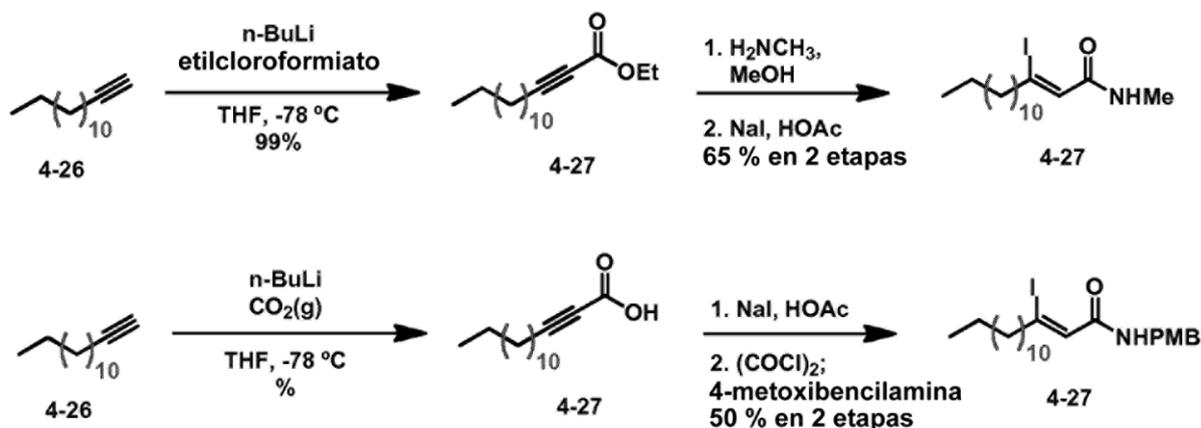
SAR previsto. Se ha identificado una gran cantidad de compuestos con estructuras diversas como sustratos de NQO1 (Colucci y col., Org. Biomol. Chem. 2008, 6, 637). Esta promiscuidad sugiere que la derivación de DNQ podría producir compuestos que también son sustratos para la enzima. El modelado molecular basado en estructuras cristalinas de NQO1 apoya esta noción. La **figura 6** (izquierda) muestra NQO1 con el inhibidor dicoumarol unido en el sitio activo (Asher y col., Biochemistry 2006, 45, 6372). Tal como se ha dibujado, la cumarina al oeste de DIC se apila en π con el cofactor FAD, mientras que la mitad oriental se extiende por una cavidad que se abre hacia el sitio activo. Las cadenas laterales de DNQ también deberían poder acceder a esta cavidad. Al noreste del sitio activo hay otra cavidad a través de la cual pasa FAD que potencialmente también podría permitir el acceso al sustrato. La mitad oeste del sitio activo está cerrada, cualquier cadena lateral que se vea forzada a permanecer en esa área reduciría la afinidad de unión del compuesto. El modelado molecular de DNQ en el sitio activo de NQO1 sugiere que DNQ se apilará en π con el resto de isoalloxazina del FAD (**figura 6**, derecha), pero que la orientación de DNQ en el hueco de unión puede no ser importante. La afinidad de las cadenas laterales de los derivados de DNQ para el sitio activo puede fortalecer la unión sustrato-enzima. Los compuestos que se unen demasiado débilmente a NQO1 serían sustratos pobres, pero los compuestos que se unen muy estrechamente serían inhibidores. Por lo tanto, los compuestos con propiedades de unión óptimas deberían ser las citotóxicas más potentes en el cultivo celular.

Un conjunto preliminar de nueve derivados debía sintetizarse para sondear el efecto de los sustituyentes sobre DNQ en las tres posiciones indicadas (**esquema 4.1**). Se evaluaría la potencia de estos compuestos en cultivo celular y su dependencia de NQO1 en cuanto a la citotoxicidad mediante el cotratamiento con dicoumarol. Basándose en la citotoxicidad dependiente de NQO1 de este conjunto inicial de derivados, se sintetizaría un segundo conjunto mayor para analizar adicionalmente el SAR. Los compuestos que son equipotentes a DNQ entonces serían evaluados en cuanto a sus propiedades de solubilidad en agua, en HP β CD y en disolventes orgánicos.

Esquema 4.1. Derivados DNQ Nueve

5 **Síntesis y citotoxicidad dependiente de NQO1 de un conjunto inicial de 9 derivados de DNQ.** Se sintetizó un conjunto de nueve derivados con cadenas de etilo, propilo o undecilo en cada una de tres posiciones que son fácilmente modificadas por la vía sintética existente para DNQ (**esquema 4.1**). Los ésteres alquínicos necesarios (del tipo **4-1** para los derivados **4-8** y **4-9**), los ácidos alquínicos (del tipo **4-3** para los derivados **4-11** y **4-12**) y las aminas primarias (del tipo **4-2** para los derivados **4-14** a **4-16**) estaban disponibles a nivel comercial y se utilizaron para fabricar los compuestos indicados a través de vías análogas a las de DNQ. Los alquinos necesarios para sintetizar los derivados **4-10** y **4-13** se sintetizaron a partir del alquino **4-17**, como se muestra en el **esquema 4.2**.

10

Esquema 4.2. Sistema de alquinos 4-19 y 4-21 para preparación de 4-10 y 4-13.

15 La citotoxicidad dependiente de NQO1 del primer conjunto de derivados se determinó en las células MCF-7 que expresan niveles altos de NQO1. Se expusieron las células a DNQ durante 2 horas en presencia o ausencia de DIC 25 μ M. Se retiraron los medios y se lavaron las células una vez con los medios, se agregaron nuevos medios y se incubaron las células durante 72 horas. La muerte celular se evaluó mediante el ensayo de sulforodamina B descrito anteriormente. Los valores IC_{50} para estos compuestos se enumeran en la **tabla 4.1**. Mientras que el derivado de etilo **4-8** fue equipotente con DNQ, el derivado de propilo **4-9** fue significativamente menos tóxico. El derivado de dodecilo **4-10** fue insoluble en DMSO (<0,1 mM) y no se pudo evaluar en este ensayo. Se descubrió que la sustitución frente al NH (**4-11** y **4-12**) fue poco tolerada, e incluso una sola adición de metileno provocó una pérdida significativa de toxicidad. Al igual que en el caso de **4-10**, el compuesto **4-13** no era soluble en DMSO. La sustitución del nitrógeno pareció ser bien tolerada (**4-14** y **4-15**). El derivado de dodecilo **4-16** estaba inactivo y no se pudo evaluar el efecto protector de DIC debido a la baja solubilidad.

20

25

5 Como prueba adicional de que la actividad de estos derivados de DNQ depende de su capacidad de ser reducidos por NQO1, se realizaron mediciones enzimáticas completas *in vitro*. Los resultados se muestran en la **tabla 4.1**. Se encontró una fuerte correlación entre la eficiencia catalítica de los sustratos *in vitro* y su toxicidad en cultivos celulares. Los derivados más activos en cultivo celular mostraron eficiencias catalíticas superiores a $3 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Esto proporciona pruebas contundentes de que la citotoxicidad de DNQ y sus derivados depende fundamentalmente de la actividad de NQO1 dentro de la célula.

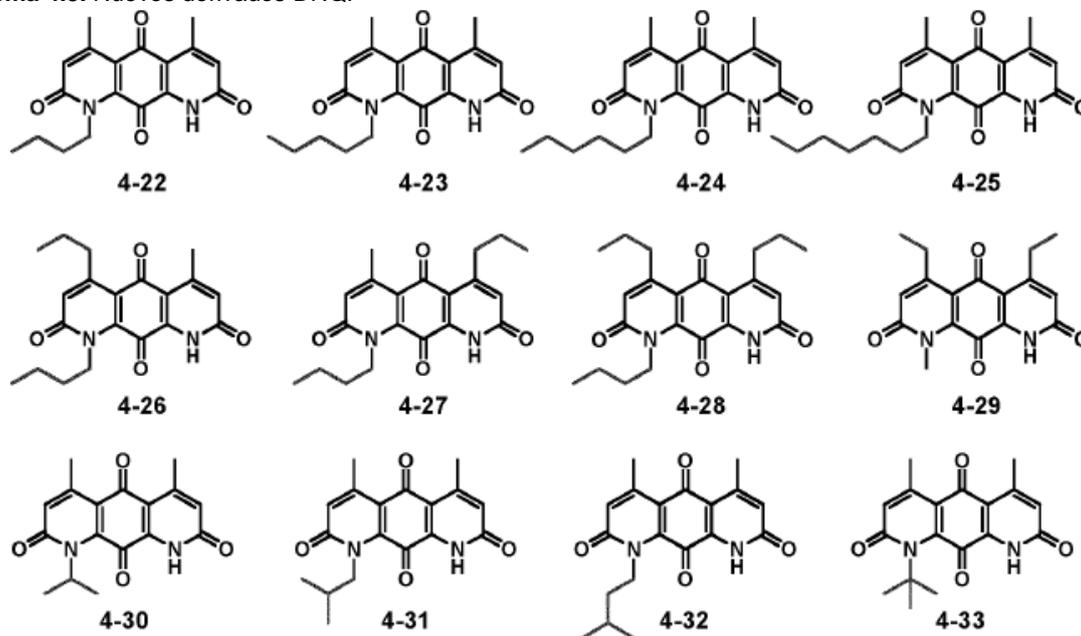
Tabla 4.1. Citotoxicidad y dependencia de NQO1 de nueve derivados de DNQ iniciales.

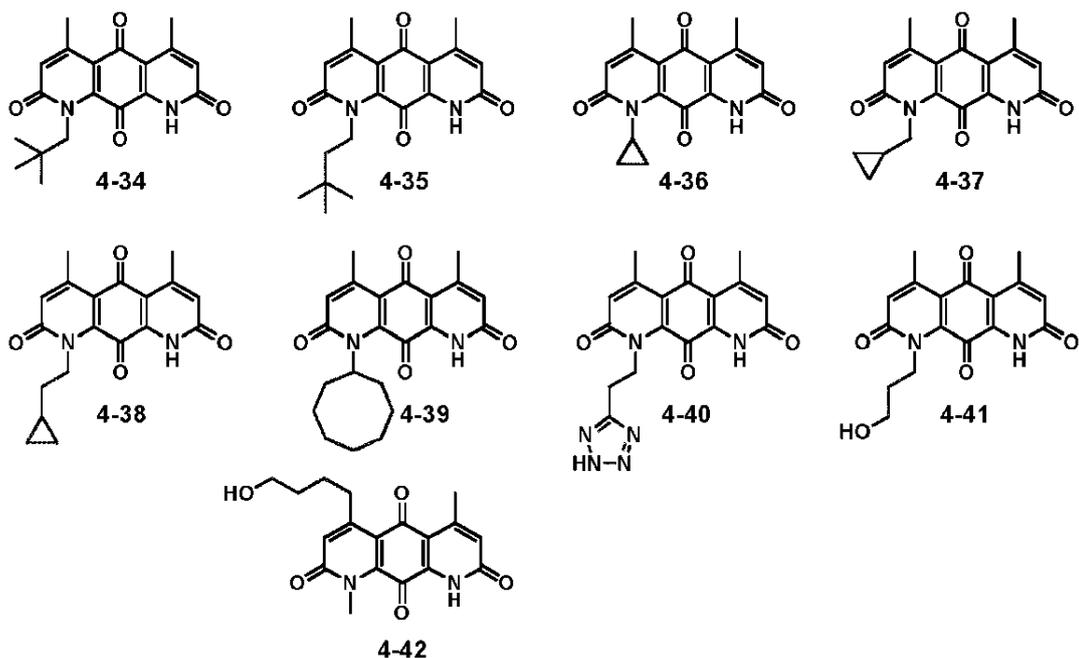
Compuesto	IC ₅₀ contra células MCF-7 ($\mu\text{M} \pm \text{s.e.}$)		Protección en veces por DIC	k _{cat} /K _M ($\text{M}^{-1} \text{s}^{-1} \times 10^7$)
		+ 25 μM DIC		
DNQ	0,13 \pm 0,02	1,7 \pm 0,3	14	6,7
4-8	0,28 \pm 0,06	1,3 \pm 0,4	4,5	3,3
4-9	0,90 \pm 0,25	2,6 \pm 0,6	2,8	1,4
4-10	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a
4-11	0,55 \pm 0,06	4,9 \pm 0,8	8,9	2,3
4-12	3,4 \pm 0,6	5,3 \pm 1,2	1,6	0,59
4-13	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a
4-14	0,20 \pm 0,01	3,4 \pm 0,2	17	3,1
4-15	0,13 \pm 0,01	1,3 \pm 0,4	10	4,6
4-16	8,0 \pm 1,6	- ^a	- ^a	0,89

^a Insuficientemente soluble para determinar.

10 **Síntesis y citotoxicidad dependiente de NQO1 de un segundo conjunto de derivados de DNQ.** Habiendo concluido que era probable que la sustitución del nitrógeno produjera derivados activos, se realizaron esfuerzos para sintetizar un segundo conjunto de derivados (**esquema 4.3**) para determinar la longitud óptima de una cadena de n-
 15 alquilo (**4-22 a 4-25**) así como el efecto de múltiples sustituciones (**4-26 a 4-29**), sustituyentes alquilo ramificados (**4-30 a 4-39**), y funcionalidades polares (**4-40 a 4-42**). Los desvíos de la vía sintética estándar se describen a continuación.

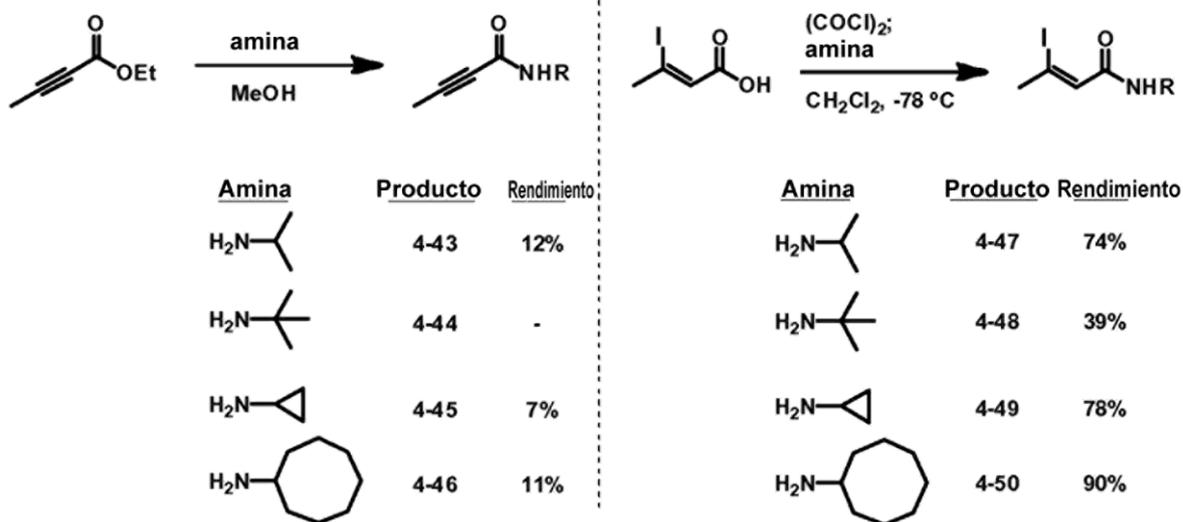
Esquema 4.3. Nuevos derivados DNQ.





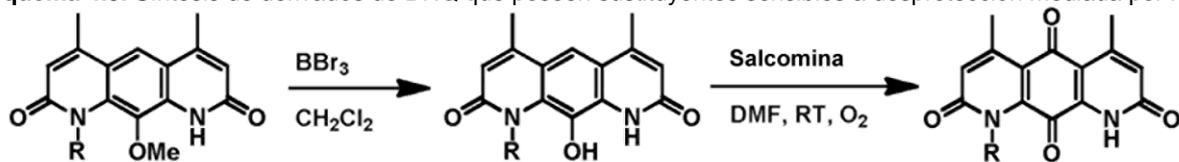
Síntesis de un segundo conjunto de derivados de DNQ. Mientras que la mayoría de los derivados fueron sintetizados siguiendo el mismo protocolo utilizado para sintetizar DNQ, algunos derivados requirieron modificaciones menores de la vía. Las aminas más obstaculizadas estéricamente reaccionaron lentamente con etil-2-butanoato para generar las amidas alquílicas correspondientes, lo que produjo rendimientos bajos. Se descubrió que las amidas deseadas se podían sintetizar más eficientemente utilizando la vía diseñada para la síntesis de la amida **2-71** protegida con PMB (**esquema 4.4**).

10 **Esquema 4.4.** Síntesis de amidas que poseen sustituyentes voluminosos en el nitrógeno.



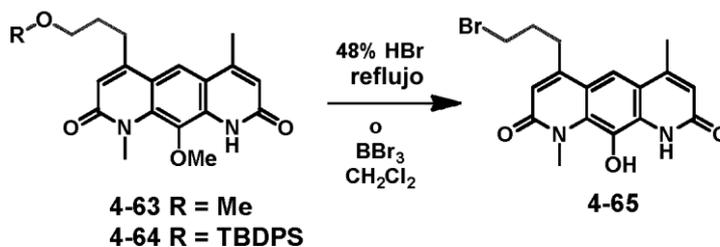
Se descubrió que otros derivados eran sensibles a las condiciones ácidas rigurosas utilizadas para desproteger el fenol en la penúltima etapa. En este caso, se utilizó el siguiente protocolo de dos etapas (**esquema 4.5**). La eliminación del grupo de protección PMB se logró en el reflujo de TFA y se aisló el producto mediante cromatografía. El tratamiento con BBr_3 en DCM a temperatura ambiente reveló el fenol que se utilizó sin purificación. La oxidación en condiciones estándar con salcomina proporcionó el derivado de DNQ deseado. Los derivados **4-36** y **4-38** no se recuperaron después de que los precursores **4-59** y **4-61** se sometieron a la oxidación; los motivos de esto se desconocen.

20

Esquema 4.5. Síntesis de derivados de DNQ que poseen sustituyentes sensibles a desprotección mediada por HBr

	<u>Compuesto</u>	<u>Compuesto</u>	<u>Rendimientos en dos etapas</u>
4-51 R = 	4-57	4-30	21%
4-52 R = 	4-58	4-36	0%
4-53 R = 	4-59	4-37	29%
4-54 R = 	4-60	4-38	0%
4-55 R = 	4-61	4-39	21%
4-56 R = 	4-62	4-41	40%

Además de **4-36** y **4-38**, los derivados **4-33**, **4-40** y **4-42** no se sintetizaron con éxito. Naturalmente, la amidación intramolecular en la vía al derivado de *t*-butilo **4-33** no pudo proporcionar el producto tricíclico extremadamente congestionado incluso a temperatura elevada y calentamiento prolongado. En condiciones para la desprotección general de **4-63** o **4-64** en la vía hacia el derivado **4-42**, el alcohol colgante se convirtió en bromuro de alquilo y los intentos de volver a convertir el bromuro en alcohol no tuvieron éxito (**esquema 4.6**). Se desconoce el motivo por el que la conversión al bromuro durante la desprotección ocurrió durante la síntesis del derivado **4-42** pero no del **4-41**.

Esquema 4.6. Bromación inesperada de alcoholes protegidos 4-63 y 4-64 durante desprotección global

Citotoxicidad dependiente de NQO1 de un segundo conjunto de derivados de DNQ. Se analizaron los derivados de DNQ sintetizados en cuanto a su toxicidad para las células MCF-7 con o sin DIC. Los datos de estos experimentos se presentan en la **tabla 4.2**. Se descubrió que la mayoría de estos compuestos eran equipotentes con DNQ y mostraron una fuerte dependencia de NQO1 desinhibido. Se toleraron cadenas alquilo lineales de hasta seis carbonos de longitud (**4-24**), mientras que el derivado de *n*-heptilo **4-25** fue algo menos activo. El único derivado de alquilo ramificado que fue significativamente menos tóxico que DNQ fue el compuesto de ciclooctilo **4-39**. Esta tolerancia a los sustituyentes estéricamente exigentes se corresponde con un sitio activo de NQO1 flexible y promiscuo. La baja actividad del derivado de hidroxilo **4-41** puede ser el resultado de una baja unión con el sitio activo de NQO1 ampliamente hidrofóbico o con una interacción sustrato-enzima excesivamente fuerte debido a la unión de hidrógeno. Alternativamente, debido a que la eficiencia catalítica de **4-41** es equivalente a muchos de los derivados más potentes, **4-41** podría estar limitado por otros factores tales como la permeabilidad celular.

Tabla 4.2. Citotoxicidad y dependencia de NQO1 de un segundo conjunto de derivados de DNQ.

Compuesto	IC ₅₀ contra células MCF-7 ($\mu\text{M} \pm \text{s.e.}$)		Protección en veces por DIC	k _{cat} /K _M ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1} \times 10^7$)
		+ 25 μM DIC		
DNQ	0,13 ± 0,02	1,8 ± 0,3	14	6,7
4-22	0,27 ± 0,04	1,5 ± 0,4	5,5	7,9
4-23	0,20 ± 0,01	2,0 ± 0,9	10	5,0
4-24	0,29 ± 0,04	3,0 ± 0,6	10	5,8
4-25	0,42 ± 0,11	4,5 ± 0,4	11	-
4-26	0,77 ± 0,19	2,2 ± 0,6	2,8	3,6
4-27	6,3 ± 1,1	6,8 ± 1,6	1,1	0,63
4-28	36 ± 11	31 ± 10	0,9	0,22
4-29	3,8 ± 1,2	4,8 ± 1,1	1,3	0,46
4-30	0,24 ± 0,02	2,1 ± 0,8	8,6	2,0
4-31	0,23 ± 0,02	1,1 ± 0,1	4,8	6,1
4-32	0,18 ± 0,03	1,8 ± 0,5	10	7,3
4-34	0,23 ± 0,01	2,1 ± 0,7	8,9	4,9
4-35	0,22 ± 0,04	1,6 ± 0,6	7,1	6,7
4-37	0,22 ± 0,01	1,4 ± 0,2	6,1	2,8
4-39	0,83 ± 0,07	4,1 ± 0,8	3,8	1,7
4-41	0,68 ± 0,15	3,4 ± 0,6	5,0	3,9

5 **Solubilidad de derivados de DNQ.** Para establecer la relación entre la estructura y la solubilidad de los derivados de DNQ, se evaluó la solubilidad de cada derivado en tampón de PBS (pH 7.4), DCM, THF, DMSO y una mezcla de metanol al 33 % en DCM. Los resultados se presentan en la **tabla 4.3** y se muestran gráficamente en las siguientes secciones. Las descripciones de las **figuras 7-11** indican compuestos «activos» (IC₅₀ < 500 nM) y en general compuestos «inactivos» (IC₅₀ > 500 nM).

Tabla 4.3. Solubilidad de derivados de DNQ en PBS, HP β CD y diversos disolventes orgánicos.

Compuesto	PBS (μM)	HP β CD (mM)	DMSO (mM)	CH ₂ Cl ₂ (mM)	2:1 CH ₂ Cl ₂ :MeOH (mM)
DNQ	115	3,3	3,1	0,7	8,5
4-8	439	4,4	31	5,5	37
4-9	59	-	10	6,1	18
4-10	<5	-	< 0,1	1,8	6,4
4-11	105	-	16	11	35
4-12	35	-	4,2	2,0	10
4-13	<5	-	< 0,1	1,5	5,9
4-14	319	5,7	24	9,5	19
4-15	39	6,3	8,9	3,9	32
4-16	<5	-	1,2	34	34
4-22	17	4,0	10	7,6	30
4-23	<5	5,0	17	22	95
4-24	<5	6,0	18	32	140
4-25	<5	3,0	13	30	-
4-26	<5	-	14	24	75
4-27	<5	-	10	17	49
4-28	<5	-	7,1	35	64
4-29	84	-	21	10	46
4-30	41	3,7	21	5,6	79
4-31	115	13	110	180	140
4-32	6	4,7	8,6	9,7	58
4-34	24	9,4	16	23	100
4-35	7	19	15	31	120
4-37	114	4,3	25	13	51
4-39	24	-	71	120	46
4-41	485	-	24	0,3	11

10 **Solubilidad acuosa.** La solubilidad acuosa de los compuestos se determinó mediante un ensayo LC-MS como se describe en la memoria descriptiva anterior. Se aplicó la curva de calibración generada para DNQ a los derivados bajo el supuesto de que el perfil UV de los derivados de DNQ sería similar al de DNQ.

Después de la sonicación y la filtración, la mayoría de las soluciones acuosas eran incoloras. Las soluciones de DNQ, **4-31** y **4-37** eran ligeramente amarillas, mientras que **4-8**, **4-14** y **4-41** eran sustancialmente más coloreadas. La solución de **4-8**, **4-14** y **4-41** se diluyó 10 veces con PBS antes del análisis LC-MS para garantizar que las concentraciones se encontraran dentro del intervalo de la curva de calibración. Los resultados se proporcionan en la **tabla 4.3** y la **figura 7**.

Como se predijo, los compuestos **4-8** y **4-14** fueron más solubles que DNQ a pesar de su mayor lipofilidad. Sin embargo, a medida que la lipofilidad de los derivados aumentó aún más, la solubilidad disminuyó. Algunos derivados, tales como **4-31** y **4-37**, fueron sustancialmente más solubles que los derivados de lipofilidad similar tales como **4-22** y **4-23**, lo que indica cierta ventaja del volumen estérico moderado cerca del nitrógeno. No resulta sorprendente que el compuesto **4-41** fuera el derivado de DNQ más soluble. Esto resalta la necesidad de realizar una serie de derivados portadores de alcohol en un intento de encontrar derivados más activos.

Solubilidad de derivados de DNQ en HPβCD. Aunque nos satisfizo encontrar derivados activos de DNQ que fueron hasta 4 veces más solubles en agua, suficientemente solubles para infusión IV continua para administración humana, este nivel de solubilidad fue insuficiente para estudios en animales mediante inyección en bolo. Por lo tanto, se determinó la solubilidad de todos los derivados más activos (IC_{50} inferior a 500 nM) en una solución de HPβCD al 20 %. Se utilizó el mismo protocolo de modulación de pH descrito para DNQ en la memoria descriptiva anterior. Los resultados se presentan en la **tabla 4.3** y la **figura 8**. Aunque todos los compuestos fueron más solubles en HPβCD que en el tampón solo, el aumento en veces de la solubilidad varió ampliamente.

Se observó, en general, que cuanto más lipofílico sea el compuesto, mayor será la mejora de la solubilidad por HPβCD. Cabe destacar en particular **4-35** que, aunque es muy poco soluble en agua, es el derivado más soluble en HPβCD, con un aumento en veces de ~3000. Este aumento en veces de la solubilidad se encuentra entre los más altos que se han informado para las formulaciones de HPβCD (Stella y He, «Cyclodextrins» *Toxicol. Pathol.* **2008**, 36,30). Además de ser el derivado más soluble, **4-35** también parece ser el menos sensible al pH ácido. A medida que el pH de la solución se baja más allá de la pK_a del protón de N-H, los derivados se vuelven sustancialmente menos solubles y se precipitan rápidamente. Esto es especialmente cierto en el caso de **4-8**. Sin embargo, una vez disuelto con HPβCD en una solución básica, **4-35** permaneció en la solución incluso cuando el pH se volvió ácido. Esto puede ser el resultado de una orientación de unión entre **4-35** y HPβCD que favorece tanto una unión estrecha del *t*-butilo en el hueco de ciclodextrina así como un enlace de hidrógeno fuerte entre la lactama desprotonada y los hidroxilos en el borde de la cavidad. Este enlace de hidrógeno debe ser lo suficientemente fuerte como para «ocultar» la lactama desprotonada de los protones en el agua a granel circundante. Este fenómeno de estabilidad a pH ácido se muestra en menor medida con los otros derivados. Es probable que el compuesto **4-8** esté orientado con el grupo etilo en la cavidad de la ciclodextrina, lo que da lugar a que la lactama desprotonada se exponga al disolvente a granel. Esto explicaría la fuerte dependencia de la solubilidad de este compuesto del pH de la solución.

Solubilidad en disolventes orgánicos. La solubilidad de los derivados de DNQ en disolventes orgánicos se determinó midiendo la cantidad necesaria de un disolvente determinado para disolver una cantidad conocida de compuesto. Se agregó disolvente al compuesto en alícuotas de 50 μ l y se sonicó la suspensión. Este proceso se repitió hasta que todo el sólido se disolvió, lo que dejó una solución roja clara. En general, el criterio de valoración estaba muy bien definido. Se evaluó la solubilidad en DMSO, diclorometano y metanol al 33 % en diclorometano (**figuras 9, 10 y 11**, respectivamente).

Todos, excepto algunos derivados, fueron más solubles en disolventes orgánicos que DNQ. Solo el derivado de alcohol **4-41** y los derivados con cadenas de dodecilo (**4-10** y **4-13**) fueron menos solubles. Dos compuestos, el derivado activo **4-31** y un derivado menos activo **4-39**, se destacaron como mucho más solubles que los otros tanto en DMSO como en diclorometano. Mientras que suponemos que la solubilidad del compuesto de ciclooctilo **4-39** proviene de su completa ruptura del apilamiento de π , así como su alta lipofilidad, no podemos explicar la impresionante solubilidad de **4-31**. Otros compuestos, tales como el derivado de *n*-hexilo activo **4-24** mostraron buena solubilidad y parecen ser candidatos razonables para las formulaciones micelares.

Propiedades de 4-31 medidas por Absorption Systems. Se envió una muestra del compuesto **4-31** a Absorption Systems, una empresa que se especializa en la formulación preclínica y los estudios de estabilidad. Analizaron una gran cantidad de formulaciones y excipientes, pero no encontraron condiciones que solubilizaran mejor **4-31** que la formulación de HPβCD descrita anteriormente. Midieron algunas propiedades físicas de **4-31**, incluida la pK_a , logP y logD. A través de titulaciones potenciométricas, midieron la pK_a de **4-31** como 8,0. El logP (octanol/KCl 0,15 M coeficiente de partición del compuesto no ionizado) resultó ser 1,8. Los valores de logD (octanol/KCl 0,15 M coeficiente de partición del compuesto ionizado) a diversos pH se muestran en la **tabla 4.4**.

Tabla 4.4. logD del compuesto **4-31** entre pH 3,0 y pH 9,0.

pH	3,0	4,0	6,8	7,0	8,0	9,0
----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

logD 1,78 1,78 1,76 1,75 1,49 0,76

Absorption Systems midió la estabilidad de **4-31** durante la incubación en plasma de ratas, perros y humanos, sangre completa y microsomas de hígado. Informaron que **4-31** no muestra señales de degradación después de 2 horas en plasma o sangre completa o después de 1 hora en microsomas de hígado de cualquiera de las tres especies. Esto contrasta fuertemente con β -lap, que según se ha informado se degrada completamente en aproximadamente 30 min en sangre completa.

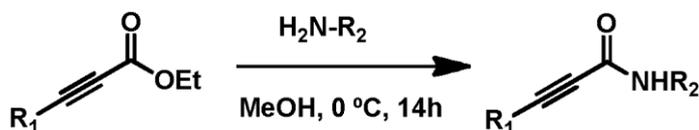
Dosis máxima tolerada en ratones. Se encontró que trece de los 30 derivados sintetizados eran aproximadamente equipotentes a DNQ en cultivo celular y eran al menos tan solubles como DNQ en HP β CD. Todos estos derivados se están evaluando actualmente en cuanto a su dosis máxima tolerada (MTD) en ratones sanos. Los compuestos se formulan en HP β CD y se administran mediante inyección IP a dos ratones una vez al día durante cinco días. Los resultados iniciales para DNQ y nueve de los derivados se muestran en la **tabla 4.5**. MTD se muestra tanto en mg/kg como en μ mol/kg para facilitar la comparación directa con DNQ sin que los mayores pesos moleculares de los derivados confundan los resultados. Todos los derivados producen el mismo fenotipo en ratones: en MTD, los ratones son letárgicos y no responden al tacto durante hasta una hora, después de lo cual se recuperan completamente. Hasta ahora, **4-35** es el más tolerado; es tolerado a una concentración 3,5 veces mayor que DNQ.

Tabla 4.5. Dosis máxima tolerada de DNQ y nueve derivados en ratones.

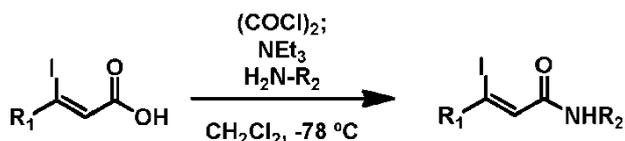
	mg/kg	μ mol/kg
DNQ	5	18
4-8	≤ 10	≤ 35
4-14	10	35
4-15	≥ 14	≥ 44
4-23	≥ 15	≥ 44
4-24	≥ 16	≥ 44
4-31	14	44
4-32	15	44
4-34	≥ 15	≥ 44
4-35	22	62

En resumen, presentamos nuestros esfuerzos para desarrollar derivados de desoxiniboquinona como nuevos candidatos para el tratamiento personalizado del cáncer. Se identificó DNQ a través de un tamiz de alto rendimiento para citotoxicidad y posteriormente se diseñó una vía sintética flexible y modular para DNQ y sus derivados. Se demostró que DNQ destruye las células a través de una generación rápida de ROS y que la generación de ROS se produjo a través de un proceso de biorreducción/oxidación de 2 electrones mediado exclusivamente por NQO1. Se demostró que DNQ fue capaz de ralentizar el crecimiento tumoral en un modelo de cáncer de ratón, pero que las dosis más eficaces fueron poco toleradas por los ratones. Después se sintetizó una biblioteca de derivados de DNQ y se evaluó su citotoxicidad, solubilidad y tolerancia en ratones. A través de este proceso, se identificó una serie de compuestos que son más solubles, equipotentes y mejor tolerados por los ratones que DNQ. Los más prometedores de estos derivados se están evaluando en modelos de cáncer en ratones para identificar una molécula candidata para su evaluación adicional en ensayos preclínicos y clínicos en seres humanos.

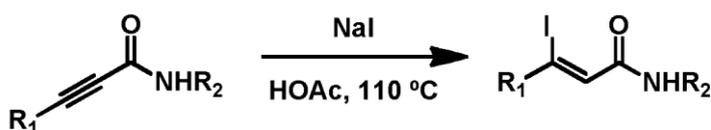
Preparación de derivados de DNQ. Los materiales y los procedimientos son análogos a los descritos en el ejemplo 1.



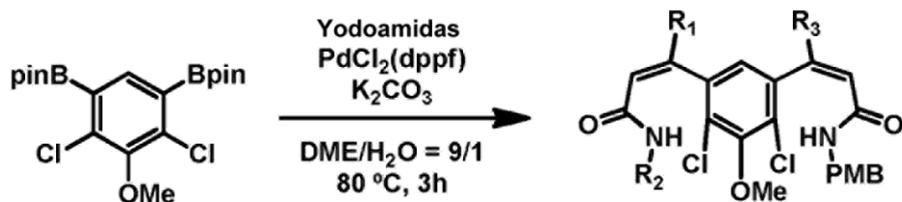
Protocolo general A: amidación de éster. A una solución de éster alquínico (1 equiv.) en metanol (2 mM), se le agregó alquilamina enfriada en un baño de agua helada (1,2 equiv.). Se agitó la reacción a 0 °C durante 14 h. Se evaporó el disolvente directamente a partir del matraz y se separó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice para producir la alquilamida deseada.



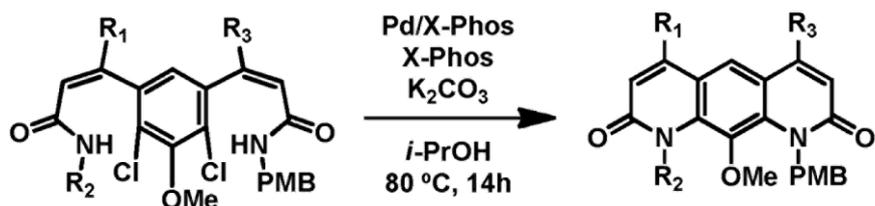
Protocolo general B: amidación de cloruro ácido. A un matraz Schlenk secado en horno con una barra de agitación, se le agregó ácido de yodo-73, se evacuó el matraz y se volvió a llenar con argón. Se agregó CH₂Cl₂ seco y se enfrió la solución en un baño de agua helada. Se agregó cloruro de oxalilo (3 equiv.) mediante jeringa y se retiró el baño frío. Después de 5 h a temperatura ambiente, se evaporaron los componentes volátiles directamente del matraz. Se agregó CH₂Cl₂ seco (10 mL) al aceite residual y se enfrió el vial en un baño seco de hielo/isopropanol. Se agregó p-metoxibencilamina recién destilada (1,1 equiv.) por goteo mediante jeringa y luego NEt₃ (1,2 equiv.). Se agitó la mezcla durante 10 minutos y luego se dejó que se calentara a temperatura ambiente. Se agregó HCl 1 M (20 mL) y se vertió la solución en un embudo separador con CH₂Cl₂ (10 mL), se agitó y se separó. Se extrajo la fracción acuosa con CH₂Cl₂ (4 x 10 mL), después se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. Se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice.



Protocolo general C: hidroyodinación. Se combinaron alquilamida (1 equiv.), NaI (2 equiv.) y ácido acético (10 equiv.) y se calentaron a 115 °C durante 8 h. Se determinó la finalización de la reacción mediante la eliminación de alícuotas para el análisis ¹H-NMR. Se diluyó la mezcla de reacción roja oscura con agua y CH₂Cl₂, se trató con NaHSO₃ hasta quedar incolora y se neutralizó cuidadosamente con una solución acuosa saturada de NaHCO₃. Se vertió esta mezcla en un embudo separador con CH₂Cl₂, se agitó y se separó. Se extrajo la fracción acuosa con CH₂Cl₂. Se lavaron las fracciones orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se evaporaron para producir la yodoamida deseada.

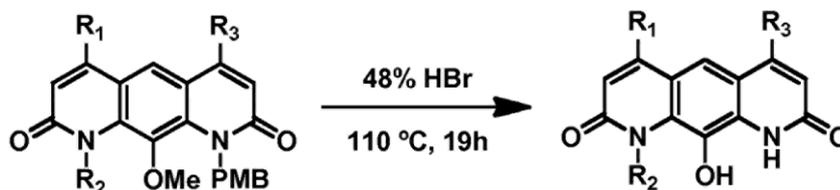


Protocolo general D: acoplamiento cruzado de Suzuki. A un matraz Schlenk con una barra agitadora se le agregó 4-6 bispinacolboronato (recristalizado) puro (1 equiv.), PdCl₂(dppf) (20 % molar), K₂CO₃ (6 equiv.) y ambas yodoamidas deseadas (1,3 equiv. de amida con PMB, 1,5 equiv. de N-alkilamida) y se evacuó el matraz y se volvió a llenar con argón tres veces. Se agregaron agua (1 mL) y DME (9 mL) con jeringa después de la desgasificación de los disolventes mediante burbujeo con argón durante 45 minutos. El matraz se sumergió en un baño de aceite a 80 °C durante 3 h. Se vertió la mezcla en un embudo separador y se diluyó con agua (5 mL). Se extrajo la mezcla con EtOAc (2 x 20 mL). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre MgSO₄, se filtraron y se evaporaron hasta obtener un aceite rojo oscuro. Se disolvió el producto bruto en CH₂Cl₂ y se separó mediante cromatografía en gel de sílice. La pureza del producto de diamida fue altamente variable y el producto se sometió a amidación intramolecular sin purificación adicional.

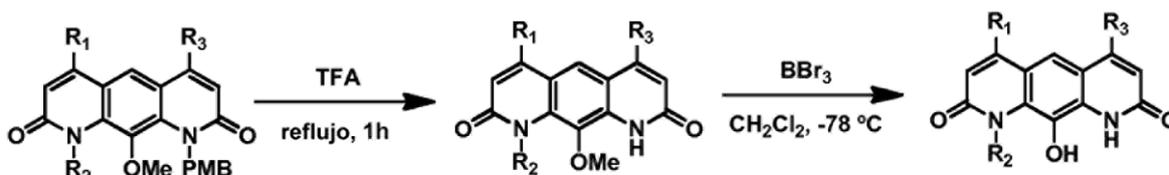


Protocolo general E: amidación de arilo intramolecular. En un matraz Schlenk o un vial con una tapa recubierta

con Teflón se combinaron el material de partida de diamida, K_2CO_3 (6 equiv.), Pd/X-Phos (10 % molar) y X-Phos (10 % molar). Se cicló el matraz entre vacío y argón tres veces y se le agregó *i*-PrOH con argón mediante jeringa. Se calentó la mezcla a 80 °C con agitación durante 14 h. Se eliminaron los materiales no solubles mediante filtración a través de Celite y se enjuagaron con CH_2Cl_2 . Se evaporó el filtrado y se utilizó el residuo directamente en la siguiente etapa.

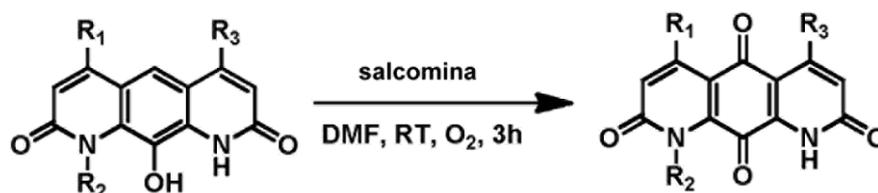


Protocolo general F: desprotección de HBr. Se disolvió diazaantraceno bruto en HBr al 48 % y se calentó a 110 °C. Después de 19 horas, se retiró la reacción del calor. Se enfrió la mezcla en un baño de hielo y se volvió cuidadosamente básica mediante el agregado de NaOH 10 M. Se retiró el sólido residual mediante filtración a través de un papel de filtro endurecido y se descartó. El filtrado se volvió ácido con HCl 1 M, con lo cual se formó un precipitado coloidal. Después, se centrifugó la mezcla (3220 x g durante 5 minutos). Se recogió el sólido gelatinoso semicompacto resultante mediante filtración a través de un papel de filtro endurecido y se secó hasta una masa constante al vacío para producir el diazaantraceno deseado en una pureza frecuentemente alta según se evaluó mediante NMR.

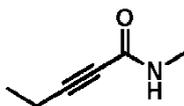


Protocolo general G: Desprotección de BBr_3 y oxidación sin aislamiento. Para los sustratos que resultaron sensibles a la desprotección global por parte de HBr, se empleó el siguiente protocolo. El producto de amidación intramolecular (protocolo general E) se disolvió en TFA y se calentó a reflujo durante 1 h. Después, se evaporó el disolvente y se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice.

En un matraz Schlenk que contenía el material desprotegido de PMB bajo Ar, se agregó DCM y se enfrió la solución en un baño de hielo seco/isopropanol. Se agregó BBr_3 (6 equiv.) mediante jeringa y se agitó la solución hasta que el material de partida se consumió como se muestra mediante TLC. Se inactivó el BBr_3 residual mediante el agregado de solución conc. de $NaHCO_3$ hasta obtener un pH neutro. Se evaporaron los disolventes. Se oxidó el residuo y el derivado de DNQ resultante se purificó utilizando el protocolo general H.



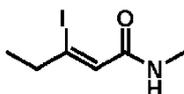
Protocolo general H: oxidación. A un matraz que contenía el material de partida de diazaantraceno se le agregó salcomina (10 % molar) y DMF. Un balón que contenía O_2 se colocó sobre la boca del matraz y se agitó la mezcla a temperatura ambiente. Se disolvió el sólido después de aproximadamente 30 minutos. Después de 3 h de agitación, se diluyó la mezcla con un volumen de DCM y hexanos y se cargó directamente en una columna de cromatografía formada por una capa de alúmina básica (5 cm) bajo una capa de gel de sílice (5 cm) preparada en DCM. La columna se enjuagó con cantidades crecientes de metanol (0-2 %) en DCM hasta que la banda roja del producto ingresó en la capa de alúmina que retuvo el producto, lo que permitió eliminar las impurezas de coelución. A continuación, el producto se liberó de la alúmina básica añadiendo HOAc al 1 % a la fase móvil. Se evaporaron las fracciones rojas y se purificaron mediante cromatografía a través de gel de sílice (0-5% MeOH en DCM) para obtener el derivado DNQ deseado como un sólido naranja, rojo o rojo-rosado.



Sintetizado mediante el protocolo general A. 78 % de rendimiento.

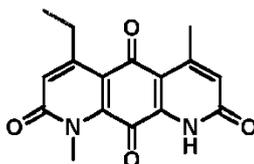
5 ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,1 (bs, 1H), 2,99 (d, 3H, *J* = 5,0 Hz, rotámero secundario), 2,81 (d, 3H, *J* = 5,0 Hz, rotámero principal), 2,35 (t, 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero secundario), 2,22 (t, 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero principal), 1,19 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, rotámero secundario), 1,13 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, rotámero principal). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 154,50, 88,44, 74,95, 26,58, 12,93, 12,40.

10



Sintetizado mediante el protocolo general C. 92 % de rendimiento.

15 ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,28 (q, 1H, *J* = 1,5 Hz, CH vinilo), 5,9 (bs, 1H, NH), 2,88 (d, 3H, *J* = 5,0 Hz, NCH₃), 2,62 (dq, 2H, *J* = 1,5 Hz, 7,5 Hz, CH₂ alílico), 1,11 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, -CH₃). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 166,14, 127,91, 115,56, 40,94, 26,39, 14,67. HRMS (ESI-TOF) calc. para C₆H₁₁NOI (M+H)⁺: 239,9885, encontrado: 239,9885.



4-8

20

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 7,4 % de rendimiento en 4 etapas.

25 ¹H-NMR (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 500 MHz): δ 6,81 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 6,67 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 3,92 (s, 3H), 3,09 (dq, 2H, *J* = 7,0, 0,5 Hz, CH₂ alílico), 2,64 (d, 3H, *J* = 1,5 Hz, CH₃ alílico), 1,26 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, CH₃). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 181,33, 175,31, 162,29, 161,90, 155,57, 151,68, 140,24, 138,50, 127,15, 125,27, 118,83, 115,06, 33,98, 27,88, 21,83, 13,55. HRMS (ESI-TOF) calc. para C₁₆H₁₅N₂O₄ (M+H)⁺: 299,1032, encontrado: 299,1034.

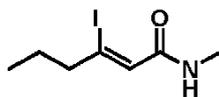
30



Sintetizado mediante el protocolo general A. 92% de rendimiento.

35 ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,04 (bs, 1H, rotámero principal NH), 5,89 (bs, 1H, rotámero secundario), 2,99 (d, 3H, *J* = 5,0 Hz, rotámero secundario), 2,81 (d, 3H, *J* = 5,0 Hz, rotámero principal), 2,33 (t, 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero secundario), 2,22 (t, 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero principal), 1,59 (sext., 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero secundario), 1,54 (sext., 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero principal), 0,99 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, rotámero secundario), 0,96 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, rotámero principal). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 54,47 (principal), 87,18 (principal), 75,76 (principal), 29,87 (secundario), 26,58 (principal), 21,43 (principal), 20,97 (secundario), 20,65 (principal), 13,60 (principal). HRMS (ESI) calc. para C₇H₁₂NO (M+H)⁺: 126,0919, encontrado: 126,0920.

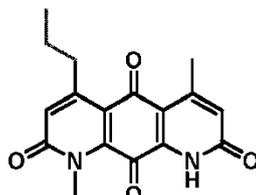
40



Sintetizado mediante el protocolo general C. 96% de rendimiento.

45

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,40 (bs, 1H, NH), 6,30 (s, 1H, CH vinilo), 2,82 (d, 3H, *J* = 5,0 Hz, NCH₃), 2,53 (t, 2H, *J* = 7,0 Hz, CH₂ alílico), 1,54 (sext., 2H, *J* = 7,5 Hz), 0,86 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz). **¹³C-NMR**(CDCl₃, 125 MHz): δ 165,86, 128,49, 114,01, 49,03, 26,30, 22,52, 12,82. **HRMS** (ESI-TOF) calc. para C₇H₁₃NOI (M+H)⁺: 254,0042, encontrado: 254,0045.



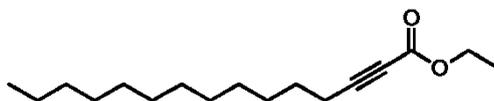
4-9

5

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 3,4% de rendimiento en 4 etapas.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,80 (s, 1H, CH vinilo), 6,68 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 3,93 (s, 3H), 2,98 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz, CH₂ alílico), 2,62 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 1,61 (q, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,03 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, CH(CH₃)₂). **HRMS** (ESI-TOF) calc. para C₁₇H₁₇N₂O₄ (M+H)⁺: 313,1188, encontrado: 313,1189.

10

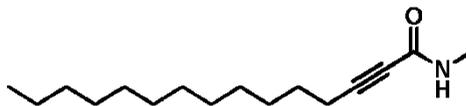


A un matraz Schlenk secado en horno se le agregó 1-tetradecina (0,748 g, 3,85 mmol) y THF (10 mL). Se enfrió a -78 °C. Se le agregó n-BuLi (2,7 mL, 4,32 mmol) por goteo y después se agitó durante 10 minutos. Se le agregó cloroformiato de etilo (0,56 mL, 5,86 mmol), después se dejó calentar la reacción a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente y se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice. Se recogió el producto como un aceite incoloro (1,01 g, 3,79 mmol, 98,5 % de rendimiento).

15

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 4,19 (q, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,30 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,56 (pent., 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,37 (bpent., 2H, *J* = 8,0 Hz), 1,29 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz), 1,28-1,21 (m, 16H), 0,86 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 125 MHz): δ 154,06, 89,66, 73,33, 61,91, 32,10, 29,82, 29,81, 29,77, 29,60, 29,53, 29,21, 29,04, 27,73, 22,87, 14,29, 14,21.

20

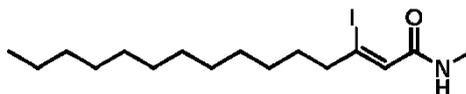


Sintetizado mediante el protocolo general A. 66% de rendimiento.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,42 (bs, 1H, rotámero principal NH), 6,24 (bs, 1H, rotámero secundario NH), 2,93 (d, 3H, *J* = 5,0 Hz, rotámero secundario NCH₃), 2,75 (d, 3H, *J* = 5,0 Hz, rotámero principal NCH₃), 2,29 (t, 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero secundario CH₂ alílico), 2,18 (t, 2H, *J* = 7,0 Hz, *J* = 7,0 Hz, rotámero principal CH₂ alílico), 1,50 (pent., 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero secundario), 1,45 (pent., 2H, *J* = 7,5 Hz, rotámero principal), 1,29 (bpent., 2H, *J* = 7,5 Hz, rotámero principal), 1,25-1,13 (m, 16H), 0,79 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz). **¹³C-NMR**(CDCl₃, 125 MHz): δ 157,35 (secundario), 154,47 (principal), 94,59 (secundario), 87,17 (principal), 75,50 (principal), 73,14 (secundario), 31,92 (principal), 29,66 (principal), 29,64 (2C, principal), 29,48 (principal), 29,36 (principal), 29,10 (principal), 28,90 (principal), 27,83 (principal), 26,43 (principal), 22,69 (principal), 18,57 (principal), 14,11 (principal).

30

35

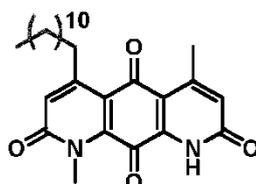


40

Sintetizado mediante el protocolo general C. 100% de rendimiento.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,27 (s, 1H, CH vinilo), 5,74 (bs, 1H, NH), 2,89 (d, 3H, *J* = 4,5 Hz), 2,59 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,56 (bt, 2H, *J* = 7,0), 1,33-1,22 (m, 18H), 0,88 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 125 MHz): δ 165,96, 128,50, 114,45, 47,23, 32,07, 29,81, 29,80, 29,77, 29,66, 29,51, 29,50, 29,36, 28,44, 26,36, 22,84, 14,29.

45

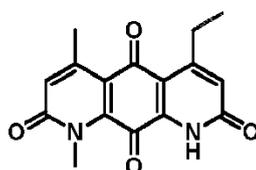


4-10

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 7,0% de rendimiento en 4 etapas.

- 5 ¹H-NMR (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 500 MHz): δ 6,78 (s, CH vinilo), 6,67 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 3,91 (s, 3H), 3,03 (t, *J* = 8,0 Hz), 2,64 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 1,58 (p, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,44 (p, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,27-1,4 (m, 16H), 0,89 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz). ¹³C-NMR (d-TFA, 125 MHz): δ 182,13, 176,16, 166,58 (bs), 163,92 (bs), 160,66, 141,89, 139,75, 128,19 (bs), 126,92, 125,93, 120,93, 38,25, 37,45, 33,96, 32,05, 31,63 (2C), 31,57, 31,52, 31,41, 31,36, 31,15, 24,53, 23,41, 14,85.

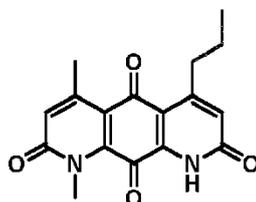
10



4-11

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 6,2% de rendimiento en 4 etapas.

- 15 ¹H-NMR (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 500 MHz): δ 6,78 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 6,70 (s, 1H, CH vinilo), 3,92 (s, 3H), 3,09 (qd, 2H, *J* = 7,5, 1,0 Hz), 2,64 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 1,26 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, CH(CH₃)₂).

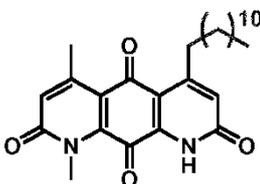


4-12

- 20 Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 11% de rendimiento en 4 etapas.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 9,48 (bs, 1H, NH), 6,79 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, CH vinilo), 6,69 (s, 1H, CH vinilo), 3,93 (s, 3H), 3,00 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,61 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 1,62 (sext., 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,04 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz). HRMS (ESI-TOF) calc. para C₁₇H₁₇N₂O₄ (M+H)⁺: 313,1188, encontrado: 313,1187.

25

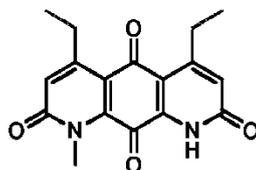


4-13

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 20% de rendimiento en 4 etapas.

- 30 ¹H-NMR (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 500 MHz): δ 6,78 (s, CH vinilo), 6,67 (s, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,03 (t, *J* = 7,5 Hz), 2,64 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 1,58 (p, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,44 (p, 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,27-1,4 (m, 16H), 0,89 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz). ¹³C-NMR (d-TFA, 125 MHz): δ 182,21, 176,18, 166,64, 166,55, 165,56, 158,87, 141,347, 140,27, 128,14,

127,13, 126,09, 120,54, 37,93, 36,73, 33,95, 31,84, 31,61 (2H), 31,54, 31,42, 31,38, 31,34, 31,13, 24,50 24,37, 14,79.



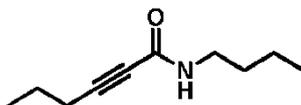
4-29

5

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 17% de rendimiento en 4 etapas.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 10,28 (bs, 1H), 6,83 (s, 1H, CH vinilo), 6,75 (s, 1H, CH vinilo), 3,93 (s, 3H), 3,07 (dq, 2H, J = 7,5 Hz, 1,0 Hz), 3,04 (dq, 2H, J = 7,5 Hz, 1,0 Hz), 1,25 (t, 3H, J = 7,5 Hz), 1,24 (t, 3H, J = 7,5 Hz). ¹³C-NMR (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 125 MHz): δ 181,29, 175,34, 162,29, 162,15, 157,28, 155,52, 140,00, 138,78, 33,96, 27,90, 27,27, 13,62, 13,34.

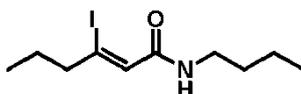
10



15 Sintetizado mediante el protocolo general A. 68% de rendimiento.

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 153,76 (principal), 89,96 (principal), 75,94 (principal), 43,21 (secundario), 39,66 (principal), 32,77 (secundario), 31,51 (principal), 21,43 (principal), 20,96 (secundario), 20,67 (principal), 20,14 (principal), 19,83 (secundario), 13,8 (principal), 13,8 (secundario), 13,6 (principal), 13,6 (secundario). HRMS (ESI) calc. para C₁₀H₁₅NO (M+H)⁺: 168,1388, encontrado: 168,1382.

20

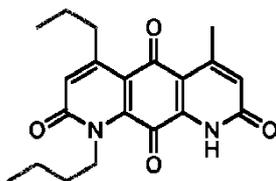


25 Sintetizado mediante el protocolo general C. 98% de rendimiento.

25

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,26 (s, 1H, CH vinilo), 3,25 (q, 2H, J = 7,0 Hz), 2,51 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 1,54 (sext., 2H, J = 7,5 Hz), 1,48 (pent., 2H, J = 7,5 Hz), 1,32 (sext., 2H, J = 8,0 Hz), 0,86 (t, 3H, J = 7,0 Hz), 0,85 (t, 3H, J = 7,5 Hz). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 165,13, 128,87, 113,51, 49,01, 39,36, 31,54, 22,51, 20,27, 13,81, 12,83. HRMS(ESI-TOF) calc. para C₁₀H₁₉NOI (M+H)⁺: 296,0511, encontrado: 296,0503.

30



4-26

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 6,3% de rendimiento en 4 etapas.

35 ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 9,46 (s, 1H, NH), 6,77 (s, 1H, CH vinilo), 6,67 (d, 1H, J = 1,0 Hz, CH vinilo), 4,50 (m, 2H), 2,97 (t, 2H, J = 7,5 Hz, CH₂ alílico), 2,61 (d, 3H, J = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 1,69 (pent., 2H, J = 8,0 Hz), 1,60 (sext., 2H, J = 7,5 Hz), 1,47 (sext., 2H, J = 8,0 Hz), 1,03 (t, 3H, J = 7,5 Hz, CH₃), 0,99 (t, 3H, J = 7,5 Hz, CH₃). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 181,73, 175,37, 161,47, 160,91, 153,23, 151,31, 139,49, 137,78, 128,40, 127,82, 119,67, 114,98, 46,35, 39,15, 31,40, 23,14, 22,40, 20,40, 14,28, 13,93. HRMS (ESI-TOF) calc. para C₂₀H₂₃N₂O₄(M+H)⁺: 355,1658, encontrado: 355,1655.

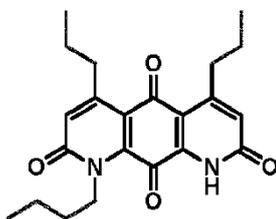
40



4-27

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 6,7% de rendimiento en 4 etapas.

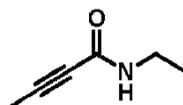
- 5 **¹H-NMR** (CDCl₃, 500 MHz): δ 9,52 (s, 1H, NH), 6,77 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 6,68 (s, 1H, CH vinilo), 4,52-4,49 (m, 2H), 2,99 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz, CH₂ alílico), 2,59 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 1,68 (pent., 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,61 (sext., 2H, *J* = 8,0 Hz, CH₂CH₂CH₃), 1,47 (sext., 2H, *J* = 8,0 Hz, CH₂CH₂CH₃), 1,04 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, CH₃), 1,00 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, CH₃). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 125 MHz): δ 181,67, 175,28, 161,28, 160,96, 155,41, 149,27, 138,84, 138,25, 128,69, 127,59, 120,12, 114,40, 46,20, 36,30, 31,40, 23,53, 22,88, 20,39, 14,13, 13,92. **HRMS** (ESI-TOF) calc. para C₂₀H₂₃N₂O₄ (M+H)⁺: 355,1658, encontrado: 355,1658.



4-28

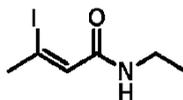
Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 13% de rendimiento en 4 etapas.

- 15 **¹H-NMR** (CDCl₃, 500 MHz): δ 9,67 (s, 1H, NH), 6,77 (s, 1H, CH vinilo), 6,68 (s, 1H, CH vinilo), 4,49 (m, 2H), 2,98 (t, 2H, *J* = 7,0 Hz, CH₂ alílico), 2,95 (t, 2H, *J* = 7,0 Hz, CH₃ alílico), 1,69 (pent., 2H, *J* = 8,5 Hz, CH), 1,72-1,65 (m, 2H), 1,65-1,55 (m, 4H), 1,47 (sext., 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,03 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz), 1,03 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz), 1,00 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, CH₃). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 125 MHz): δ 181,70, 175,33, 161,47, 160,79, 155,34, 153,19, 139,15, 138,01, 127,93, 127,62, 120,10, 114,69, 46,31, 37,09, 36,23, 31,41, 23,25, 22,98, 20,40, 14,28, 14,14, 13,93. **HRMS**(ESI-TOF) calc. para C₂₂H₂₇N₂O₄ (M+H)⁺: 383,1971, encontrado: 383,1969.



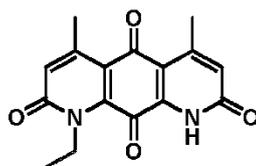
- 25 Sintetizado mediante el protocolo general A. 83% de rendimiento.

- 30 **¹H-NMR** (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,25 (bs, 1H), 3,35 (pent., 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero secundario NCH₂), 3,23 (pent., 2H, *J* = 7,5 Hz, rotámero principal), 1,95 (s, 3H, rotámero secundario), 1,85 (s, 3H, rotámero principal), 1,12 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, rotámero secundario), 1,08 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz, rotámero principal). **¹³C-NMR**(CDCl₃, 125 MHz): δ 153,58 (principal), 82,80 (principal), 75,05 (principal), 38,20 (secundario), 34,66. (principal), 15,91 (secundario), 14,51 (principal), 3,93 (secundario), 3,59 (principal). **HRMS** (ESI) calc. para C₆H₁₀NO (M+H)⁺: 112,0762, encontrado: 112,0764.



- 35 Sintetizado mediante el protocolo general C. 98% de rendimiento.

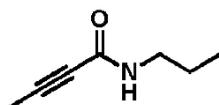
- 40 **¹H-NMR** (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,28 (bs, 1H, NH), 6,22 (s, 1H, CH vinilo), 3,30 (pent., 2H, *J* = 7,5 Hz, NCH₂), 2,59 (s, 3H, CH₃ alílico), 1,12 (s, 3H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 125 MHz): δ 164,85, 129,28, 105,58, 35,75, 34,45, 14,74. **HRMS** (ESI-TOF) calc. para C₆H₁₁NOI (M+H)⁺: 139,9885, encontrado: 139,9884.



4-14

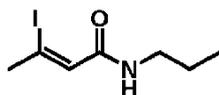
Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 13% de rendimiento en 4 etapas.

- 5 $^1\text{H-NMR}$ (2:1 $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$, 500 MHz): δ 6,76 (d, 1H, $J = 1,0$ Hz, CH vinilo), 6,67 (d, 1H, $J = 1,0$ Hz, CH vinilo), 4,51 (q, 2H, $J = 8,0$ Hz), 2,36 (m, 6H, CH_3 alílico), 1,45 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz).



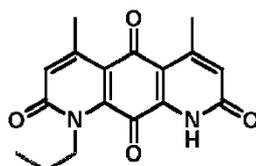
10 Sintetizado mediante el protocolo general A. 71% de rendimiento.

- 15 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 5,99 (bs, 1H), 3,31 (q, 2H, $J = 7,0$ Hz, rotámero secundario NCH_2), 3,20 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz, rotámero principal NCH_2), 1,98 (s, 3H, rotámero secundario CH_3 alílico), 1,89 (s, 3H, rotámero principal CH_3 alílico), 1,50 (sext., 2H, $J = 7,5$ Hz), 0,89 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): δ 153,71 (principal), 89,96 (principal), 75,13 (principal), 45,15 (secundario), 41,57 (principal), 23,92 (secundario), 22,69 (principal), 11,39 (principal), 11,18 (secundario), 3,69 (principal).



20 Sintetizado mediante el protocolo general C. 98% de rendimiento.

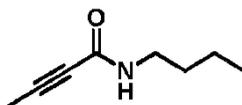
- 25 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6,23 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, CH vinilo), 6,22 (bs, 1H, NH), 3,23 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz, NCH_2), 2,60 (d, 3H, $J = 1,5$ Hz, CH_3 alílico), 1,53 (sext., 2H, $J = 7,0$ Hz), 0,90 (t, 3H, 7,5 Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): δ 164,98, 129,47, 105,47, 41,34, 35,76, 22,77, 11,61. HRMS (ESI-TOF) calc. para $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NOI}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 254,0042, encontrado: 254,0044.



4-15

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 13% de rendimiento en 4 etapas.

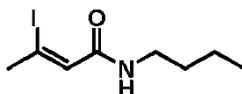
- 30 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6,77 (d, 1H, $J = 1,0$ Hz, CH vinilo), 6,68 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, CH vinilo), 4,60 (m, 2H), 2,62 (d, 3H, $J = 1,5$ Hz, CH_3 alílico), 2,60 (d, 3H, $J = 1,0$ Hz, CH_3 alílico), 1,73 (sext., 2H, $J = 8,0$ Hz, CH), 1,04 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): δ 181,48, 175,09, 161,87, 161,75, 151,69, 149,97, 139,36, 138,58, 127,43, 127,21, 119,48, 114,79, 22,87, 22,20, 21,81, 10,72.



Sintetizado mediante el protocolo general A. 78 % de rendimiento.

- 40 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6,01 (bs, 1H), 3,34 (q, 2H, $J = 7,0$ Hz, rotámero secundario NCH_2), 3,23 (q, 2H, $J = 6,0$ Hz, rotámero principal NCH_2), 1,98 (s, 3H, rotámero secundario CH_3 alílico), 1,89 (s, 3H, rotámero principal CH_3 alílico), 1,46 (pent., 2H, $J = 7,0$ Hz), 1,31 (sext., 2H, $J = 7,5$ Hz), 0,88 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz):

δ 153,71 (principal), 89,96 (principal), 75,13 (principal), 45,15 (secundario), 41,57 (principal), 23,92 (secundario), 22,69 (principal), 11,39 (principal), 11,18 (secundario), 3,69 (principal).

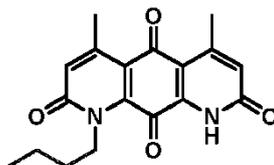


5

Sintetizado mediante el protocolo general C. 97% de rendimiento.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6,23 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, CH vinilo), 3,26 (q, 2H, $J = 7,0$ Hz, NCH_2), 2,59 (d, 3H, $J = 1,5$ Hz, CH_3 alílico), 1,48 (p, 2H, $J = 7,5$ Hz), 1,32 (sext., 2H, $J = 7,5$ Hz), 0,87 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): δ 164,93, 129,47, 105,41, 39,35, 35,75, 31,55, 20,26, 13,83. HRMS (ESI-TOF) calc. para $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NOI}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 268,0198, encontrado: 268,0197.

10

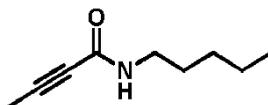


4-22

15 Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 9,9% de rendimiento en 4 etapas.

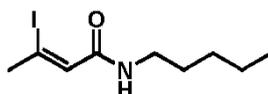
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 9,54 (bs, 1H), 6,77 (q, 1H, $J = 1,0$ Hz, CH vinilo), 6,68 (q, 1H, $J = 1,0$ Hz, CH vinilo), 4,53-4,50 (m, 2H), 2,62 (d, 3H, $J = 1,0$ Hz, CH_3 alílico), 2,60 (d, 3H, $J = 1,0$ Hz, CH_3 alílico), 1,68 (pent., 2H, $J = 7,5$ Hz), 1,47 (sext., 2H, $J = 7,5$ Hz), 1,00 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz). HRMS (ESI-TOF) calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 313,1188, encontrado: 313,1190.

20



25 Sintetizado mediante el protocolo general A. 86% de rendimiento.

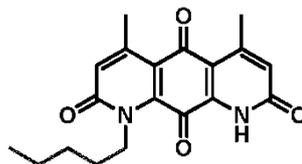
HRMS (ESI) calc. para $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 154,1232, encontrado: 154,1231.



30 Sintetizado mediante el protocolo general C. 81% de rendimiento.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6,22 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, CH vinilo), 5,77 (bs, 1H, NH), 3,32 (q, 2H, $J = 7,0$ Hz, NCH_2), 2,64 (d, 3H, $J = 1,5$ Hz, CH_3 alílico), 1,55 (pent., 2H, $J = 7,0$ Hz), 1,35-1,30 (m, 4H), 0,89 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz). HRMS (ESI-TOF) calc. para $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NOI}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 282,0355, encontrado: 282,0356.

35

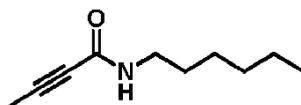


4-23

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 11% de rendimiento en 4 etapas.

40 $^1\text{H-NMR}$ (2:1 CDCl_3 : CD_3OD , 500 MHz): δ 6,76 (d, 1H, $J = 1,0$ Hz, CH vinilo), 6,67 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, CH vinilo), 4,48-4,43 (m, 2H), 2,63 (d, 3H, $J = 1,5$ Hz, CH_3 alílico), 2,63 (d, 3H, $J = 1,0$ Hz, CH_3 alílico), 1,77 (pent., 2H, $J = 7,5$ Hz), 1,48-1,40 (m, 4H), 0,95 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (2:1 CDCl_3 : CD_3OD , 125 MHz): δ 181,47, 175,05, 161,83,

161,68, 151,66, 149,89, 139,31, 138,53, 127,40, 127,19, 119,45, 114,75, 46,52, 28,82, 28,48, 22,87, 22,07, 21,81, 13,58. **HRMS** (ESI-TOF) calc. para $C_{19}H_{21}N_2O_4$ (M+H)⁺: 341,1501, encontrado: 341,1496.

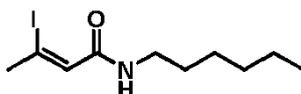


5

Sintetizado mediante el protocolo general A. 79% de rendimiento.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 5,85 (bs, 1H, rotámero principal NH), 3,35 (q, 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero secundario), 3,23 (q, 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero principal), 2,00 (s, 3H, rotámero secundario), 1,91 (s, 3H, rotámero principal), 1,48 (pent., 2H, *J* = 7,0 Hz), 1,33-1,23 (m, 6H), 0,86 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz). **HRMS**(ESI) calc. para $C_{10}H_{18}NO$ (M+H)⁺: 168,1388, encontrado: 168,1391.

10

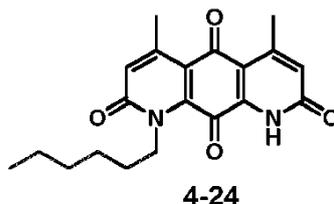


15

Sintetizado mediante el protocolo general C. 98% de rendimiento.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,22 (q, 1H, *J* = 1,5 Hz, CH vinilo), 5,73 (bs, 1H, NH), 3,32 (q, 2H, *J* = 7,0 Hz), 2,64 (d, 3H, *J* = 1,5 Hz, CH₃ alílico), 1,55 (pent., 2H, *J* = 7,0 Hz), 1,38-1,27 (m, 6H), 0,88 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz). **HRMS** (ESI-TOF) calc. para $C_{10}H_{19}NOI$ (M+H)⁺: 296,0511, encontrado: 296,0510.

20

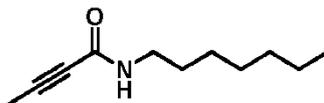


Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 12% de rendimiento en 4 etapas.

¹H-NMR (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 500 MHz): δ 6,76 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 4,45 (m, 2H), 2,63 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 2,63 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 1,76 (pent., 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,46 (pent., 2H, *J* = 7,0 Hz), 1,40-1,34 (m, 4H), 0,92 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz). **¹³C-NMR** (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 125 MHz): δ 181,46, 175,04, 161,82, 161,66, 151,65, 149,88, 139,30, 138,53, 127,40, 127,20, 119,44, 114,74, 46,57, 31,18, 28,76, 26,36, 22,87, 22,35, 21,81, 13,58. **HRMS** (ESI-TOF) calc. para $C_{20}H_{23}N_2O_5$ (M+H)⁺: 355,1658, encontrado: 355,1660.

25

30

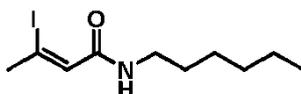


Sintetizado mediante el protocolo general A. 55% de rendimiento.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 5,95 (bs, 1H, NH), 3,34 (q, 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero secundario NCH₂), 3,22 (dt, 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero principal), 1,98 (s, 3H, rotámero secundario), 1,89 (s, 3H, rotámero principal), 1,47 (pent., 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,30-1,20 (m, 8H), 0,84 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz). **¹³C-NMR**(CDCl₃, 125 MHz): δ 156,51 (secundario), 153,65 (principal), 89,75 (secundario), 82,97 (principal), 75,14 (principal), 72,80 (secundario), 43,44 (secundario), 39,93 (principal), 31,84 (principal), 30,67 (secundario), 29,44 (principal), 29,04 (principal), 28,97 (secundario), 26,94 (principal), 26,59 (secundario), 22,69 (principal).

35

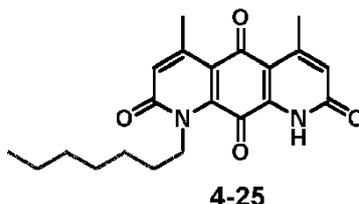
40



Sintetizado mediante el protocolo general C. 86 % de rendimiento.

45

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,24 (q, 1H, *J* = 1,5 Hz, CH vinilo), 5,73 (bs, 1H, NH), 3,33 (q, 2H, *J* = 6,5 Hz), 2,65 (d, 3H, *J* = 1,5 Hz, CH₃ alílico), 1,55 (pent., 2H, *J* = 7,0 Hz), 1,38-1,23 (m, 8H), 0,88 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz).

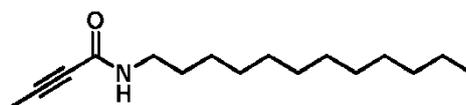


5

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 10 % de rendimiento en 4 etapas.

¹H-NMR (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 500 MHz): δ 6,76 (q, 1H, *J* = 1,5 Hz, CH vinilo), 6,66 (q, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 4,47-4,44 (m, 2H), 2,63 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 2,63 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 1,77 (bpent., 2H, *J* = 8,0 Hz), 1,46 (bpent., 2H, *J* = 8,0 Hz), 1,42-1,26 (m, 6H), 0,90 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz).

10

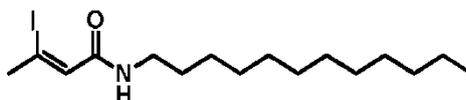


Sintetizado mediante el protocolo general A. 72% de rendimiento.

15

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 5,72 (bs, 1H, rotámero principal NH), 5,64 (bs, 1H, rotámero secundario NH), 3,37 (q, 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero secundario NCH₂), 3,26 (q, 2H, *J* = 7,0 Hz, rotámero principal NCH₂), 2,01 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, rotámero secundario CH₃ alílico), 1,93 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, rotámero principal CH₃ alílico), 1,50 (pent., 2H, *J* = 7,0 Hz), 1,34-1,20 (m, 18H), 0,87 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 153,61 (principal), 82,73 (principal), 75,05 (principal), 43,36 (secundario), 39,81 (principal), 31,92 (principal), 30,55 (secundario), 29,66 (principal), 29,64 (principal), 29,61 (principal), 29,56 (principal), 29,37 (principal), 29,31 (2C, principal), 26,90 (principal), 26,53 (secundario), 22,69 (principal), 14,12 (principal), 3,95 (secundario), 3,62 (principal).

20

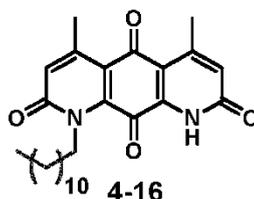


25

Sintetizado mediante el protocolo general C. 98% de rendimiento.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,22 (q, 1H, *J* = 1,5 Hz, CH vinilo), 5,93 (bs, 1H, NH), 3,29 (q, 2H, *J* = 6,0 Hz), 2,62 (d, 3H, *J* = 1,5 Hz, NCH₃), 1,52 (pent., 2H, *J* = 7,5 Hz), 1,35-1,20 (m, 18H), 0,85 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 164,97, 129,73, 105,42, 39,74, 35,80, 32,07, 29,80, 29,79, 29,74, 29,71, 29,59, 29,50, 29,46, 27,20, 22,84, 14,27.

30

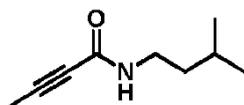


35

Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 15% de rendimiento en 4 etapas.

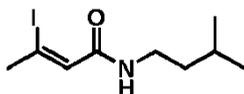
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 10,3 (bs, 1H, NH), 6,75 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 6,68 (s, 1H, CH vinilo), 4,48 (t, 2H, *J* = 8,0 Hz, NCH₂), 2,61 (d, 3H, *J* = 0,5 Hz, CH₃ alílico), 2,59 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 1,69 (pent., 2H, *J* = 7,5 Hz, NCH₂CH₂-), 1,42 (pent., 2H, *J* = 7,5 Hz, NCH₂CH₂CH₂-), 1,38-1,18 (m, 16H), 0,86 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz, -CH₂CH₃). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 181,78, 175,27, 161,27, 130,99, 151,38, 149,30, 139,13, 137,98, 128,64, 128,40, 119,69, 114,66, 46,50, 32,12, 29,87, 29,85, 29,81, 29,80, 29,55, 29,44, 29,39, 27,14, 23,55, 22,88, 22,44, 14,32. HRMS (ESI-TOF) calc. para C₂₆H₃₅N₂O₄ (M+H)⁺: 439,2597, encontrado: 439,2595.

40



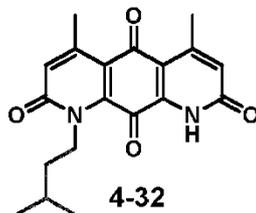
Sintetizado mediante el protocolo general A. 73% de rendimiento.

5 **HRMS** (ESI) calc. para $C_9H_{16}NO$ ($M+H$)⁺: 154,1232, encontrado: 154,1233.



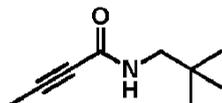
Sintetizado mediante el protocolo general C. 95% de rendimiento.

10 **¹H-NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 6,22 (q, 1H, $J = 1,5$ Hz, CH vinilo), 5,82 (bs, 1H, NH), 3,33 (dq, 2H, $J = 7,5, 1,0$ Hz), 2,63 (d, 3H, $J = 1,5$ Hz, CH_3 alílico), 1,64 (sept., 1H, $J = 6,5$ Hz), 1,43 (q, 2H, $J = 7,0$ Hz), 0,91 (d, 6H, $J = 6,5$ Hz). **HRMS** (ESI-TOF) calc. para $C_9H_{17}NOI$ ($M+H$)⁺: 282,0355, encontrado: 282,0351.



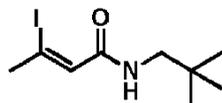
15 Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 12% de rendimiento en 4 etapas.

20 **¹H-NMR** (2:1 $CDCl_3:CD_3OD$, 500 MHz): δ 6,76 (q, 1H, $J = 1,0$ Hz, CH vinilo), 6,67 (q, 1H, $J = 1,5$ Hz, CH vinilo), 4,52-4,49 (m, 2H), 2,64 (d, 3H, $J = 1,0$ Hz, CH_3 alílico), 2,63 (d, 3H, $J = 1,0$ Hz, CH_3 alílico), 1,81 (sept., 1H, $J = 7,0$ Hz, CH), 1,68-1,63 (m, 2H, CH_2CH_2CH), 1,03 (d, 6H, $J = 6,5$ Hz, $CH(CH_3)_2$). **¹³C-NMR** (2:1 $CDCl_3:CD_3OD$, 125 MHz): δ 181,48, 175,02, 161,83, 161,65, 151,69, 149,89, 139,30, 138,50, 127,42, 127,23, 119,52, 114,77, 45,45, 37,28, 26,49, 22,89, 22,02, 21,83. **HRMS** (ESI-TOF) calc. para $C_{19}H_{21}N_2O_4$ ($M+H$)⁺: 341,1501, encontrado: 341,1507.



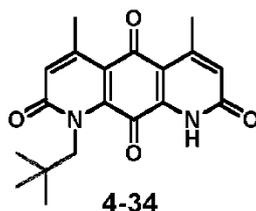
25 Sintetizado mediante el protocolo general A. 25% de rendimiento.

30 **¹H-NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 5,75 (bs, 1H, rotámero principal NH), 3,17 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz, rotámero secundario NCH_2), 3,09 (d, 2H, $J = 6,5$ Hz, rotámero principal NCH_2), 2,01 (s, 3H, rotámero secundario CH_3 alílico), 1,94 (s, 3H, rotámero principal CH_3 alílico), 0,93 (s, 9H, rotámero secundario), 0,92 (s, 9H, rotámero principal). **HRMS** (ESI) calc. para $C_9H_{16}NO$ ($M+H$)⁺: 154,1232, encontrado: 154,1233.



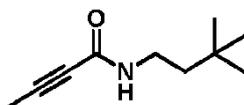
35 Sintetizado mediante el protocolo general C. 96% de rendimiento.

40 **¹H-NMR** ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 6,29 (q, 1H, $J = 1,5$ Hz, CH vinilo), 5,78 (bs, 1H, NH), 3,16 (d, 2H, $J = 6,0$ Hz), 2,66 (d, 3H, $J = 1,0$ Hz), 0,96 (s, 9H). **HRMS** (ESI-TOF) calc. para $C_9H_{17}NOI$ ($M+H$)⁺: 282,0355, encontrado: 282,0354.



Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 10 % de rendimiento en 4 etapas.

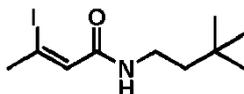
- 5 ¹H-NMR (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 500 MHz): δ 6,75 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 6,67 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 4,95 (bs, 1H), 4,86 (bs, 1H), 2,64 (s, 6H, CH₃ alílico), 0,87 (s, 9H, (CH₃)₃). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 181,20, 176,32, 162,40, 149,55, 141,41, 139,05, 127,31, 127,19, 119,33, 114,87, 51,10, 34,31, 27,58, 22,80, 21,67. HRMS (ESI-TOF) calc. para C₁₉H₂₁N₂O₄ (M+H)⁺: 341,1501, encontrado: 341,1498.



10

Sintetizado mediante el protocolo general A. 76% de rendimiento.

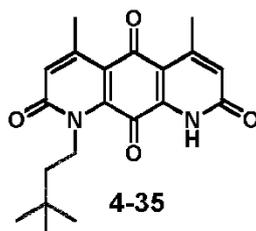
- 15 ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,00 (bs, 1H, rotámero secundario NH), 5,83 (bs, 1H, rotámero principal NH), 3,37-3,32 (m, 2H, rotámero secundario NCH₂), 3,27-3,23 (m, 2H, rotámero principal NCH₂), 1,99 (s, 3H, rotámero secundario CH₃ alílico), 1,89 (s, 3H, rotámero principal CH₃ alílico), 1,45-1,42 (m, 2H, rotámero secundario), 1,41-1,38 (m, 2H, rotámero principal), 0,91 (s, 9H, rotámero secundario), 0,89 (s, 9H, rotámero principal). HRMS (ESI) calc. para C₁₀H₁₈NO (M+H)⁺: 168,1388, encontrado: 168,1387.



20

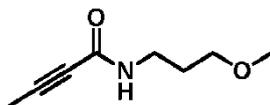
Sintetizado mediante el protocolo general C. 93% de rendimiento.

- 25 ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,20 (q, 1H, *J* = 1,5 Hz, CH vinilo), 5,60 (bs, 1H, NH), 3,37-3,33 (m, 2H), 2,65 (d, 3H, *J* = 1,5 Hz, NCH₃), 1,48-1,45 (m, 2H), 0,94 (s, 9H). HRMS (ESI-TOF) calc. para C₁₀H₁₉NOI (M+H)⁺: 296,0511, encontrado: 296,0513.



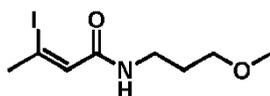
30 Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, F y H. 17% de rendimiento en 4 etapas.

- 35 ¹H-NMR (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 500 MHz): δ 6,75 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 6,66 (d, 1H, *J* = 1,0 Hz, CH vinilo), 4,57-4,53 (m, 2H), 2,63 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 2,62 (d, 3H, *J* = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 1,66 (m, 2H, CH₂CH₂C(CH₃)₃), 1,07 (s, 9H, C(CH₃)₃). ¹³C-NMR (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 125 MHz): δ 181,46, 174,98, 161,81, 161,60, 151,64, 149,82, 139,35, 138,45, 127,38, 127,21, 119,53, 114,74, 43,73, 41,45, 29,97, 28,87, 22,88, 21,81. HRMS (ESI-TOF) calc. para C₂₀H₂₃N₂O₄(M+H)⁺: 355,1658, encontrado: 355,1664.



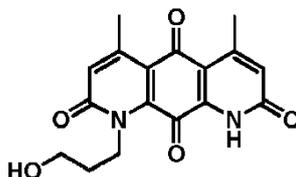
40 Sintetizado mediante el protocolo general A. 65% de rendimiento.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,27 (bs, 1H, rotámero principal NH), 6,02 (bs, 1H, rotámero secundario NH), 3,46 (t, 2H, J = 6,0 Hz), 3,38 (q, 2H, J = 6,5 Hz), 3,34 (s, 3H), 1,92 (s, 3H), 1,77 (pent., 2H, J = 6,0 Hz). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 156,37 (secundario), 153,62 (principal), 89,82 (secundario), 82,95 (principal), 75,00 (principal), 72,58 (secundario), 71,28 (principal), 70,45 (secundario), 58,77 (principal), 41,34 (secundario), 38,04 (principal), 30,15 (secundario), 28,87 (principal), 3,97 (secundario), 3,64 (principal).



10 **Sintetizado mediante el protocolo general C. 96% de rendimiento.**

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6,26 (bs, 1H, NH), 6,21 (d, 1H, J = 1,0 Hz, CH vinilo), 3,49 (t, 2H, J = 6,0 Hz), 3,42 (q, 2H, J = 6,5 Hz), 3,34 (s, 3H), 2,64 (d, 3H, J = 1,5 Hz), 1,81 (pent., 2H, J = 6,0 Hz). ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 164,90, 129,40, 105,51, 71,65, 58,93, 38,02, 35,78, 29,07.



Sintetizado mediante los protocolos generales D, E, G y H.

20 ¹H-NMR (2:1 CDCl₃:CD₃OD, 500 MHz): δ 6,76 (d, 1H, J = 1,0 Hz, CH vinilo), 6,65 (d, 1H, J = 1,0 Hz, CH vinilo), 4,58 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,70 (t, 2H, J = 6,0 Hz), 2,63 (d, 3H, J = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 2,63 (d, 3H, J = 1,0 Hz, CH₃ alílico), 2,06-2,01 (m, 2H). HRMS (ESI-TOF) calc. para C₁₇H₁₇N₂O₅ (M+H)⁺: 329,1137, encontrado: 329,1129.

25 **Modelado molecular de DNQ en NQO1.** DNQ (o derivado) se creó y una capa de agua de 10 Å se creó alrededor de la molécula. La estructura de DNQ después se redujo en cuanto a la energía utilizando MOE con un campo de fuerza de MMFF94x que emplea cálculos de fase gaseosa y un límite de 0,01. Las cargas se fijaron entonces utilizando un campo de fuerza de MMFF94. La estructura de NQO1 se descargó del PDB (2F1O). Uno de los homodímeros fue extraído y protonado. DNQ se modeló en el sitio activo de la proteína, usando el sitio de dicoumarol para identificar el sitio activo. Se acopló usando el programa Dock en MOE que usa Triangle Matching para la colocación de la pequeña molécula y London dG para rescatar la colocación de la pequeña molécula. Las 30 configuraciones superiores fueron inspeccionadas visualmente para asegurar que la molécula estaba dentro del sitio activo y el apilamiento de pi con la molécula FAD. Usando LigX, se protonó la mejor configuración y se minimizó la energía para obtener las energías de unión calculadas.

35 **Ejemplo 5. Inhibición de las células de cáncer de mama**

La figura 12 ilustra una realización de la eficacia de DNQ y el compuesto 4-31 contra la línea celular MDA-MB-231 (cáncer de mama) que expresa NQO1, la versión que no expresa NQO1 y ambas de estas líneas celulares donde NQO1 es inhibido por dicoumarol.

40 **Ejemplo 6. Formación del derivado de DNQ PAR-PARP1 en tumores de LLC *in vivo***

45 **Inmunotransferencia y anticuerpos:** los anticuerpos que detectan específicamente las proteínas α-PAR poli(ADP-ribosil)adas (BD Pharmingen, San Jose, CA) (por ejemplo, la especie más abundante, PARP1 poli(ADP-ribosil)ado, PAR-PARP1) y los anticuerpos de α-PARP1 (sc-8007, Santa Cruz Biotechnology) se usaron en diluciones de 1:4000 y 1:2000, respectivamente. Se monitorizó la α-tubulina en cuanto a la carga.

50 **Hiperactivación de PARP1 *in vivo* usando el modelo de carcinoma de pulmón de Lewis ortotópico (LLC):** Para generar un control conocido para controlar la formación de polimerasa 1 poli(ADP-ribosil)ada (PAR-PARP1) en células, se trataron células tumorales de LLC *in vitro* con peróxido de hidrógeno (H₂O₂, 0,5 μM) durante 15 minutos, y se separaron lisados de proteína de célula completa mediante SDS-PAGE usando el anticuerpo α-PAR (BD Pharmingen, San Jose, CA) descrito arriba. La formación de PAR-PARP1 después se evaluó mediante análisis de inmunotransferencia tal como se describió anteriormente en Huang y col., *Cancer Research*, 2012.

Se inyectaron por vía intravenosa (iv) células LLC ($1,0 \times 10^6$) en las venas de la cola de ratones hembra NOD/SCID de 18-20 gramos. El establecimiento de nódulos tumorales en los pulmones de los ratones expuestos se confirmó mediante bioluminiscencia y se trataron los ratones (5/grupo) por vía intravenosa (mediante inyección en la vena de la cola) con: (i) vehículo hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HP β CD) solo; (ii) DNQ (7,5 mg/kg); (ii) DNQ-87 (14 mg/kg); (iii) DNQ-107 (10 mg/kg); o (vi) DNQ 9-251 (20 mg/kg) disuelto en HP β CD. En los momentos específicos indicados (en minutos) después de la inyección del vehículo o del fármaco, los ratones fueron sometidos a eutanasia, se les extirparon los pulmones y se recolectaron los nódulos tumorales. Se prepararon extractos de células completas a partir de tejido tumoral y se evaluó la formación de PAR-PARP1 mediante análisis de inmunotransferencia. Se usaron los extractos de células tratadas con H₂O₂ como controles para monitorizar la formación de PAR-PARP1 en células tumorales de LLC. **La figura 13** muestra los análisis de inmunotransferencia de DNQ-87, DNQ-107 y DNQ-9-251.

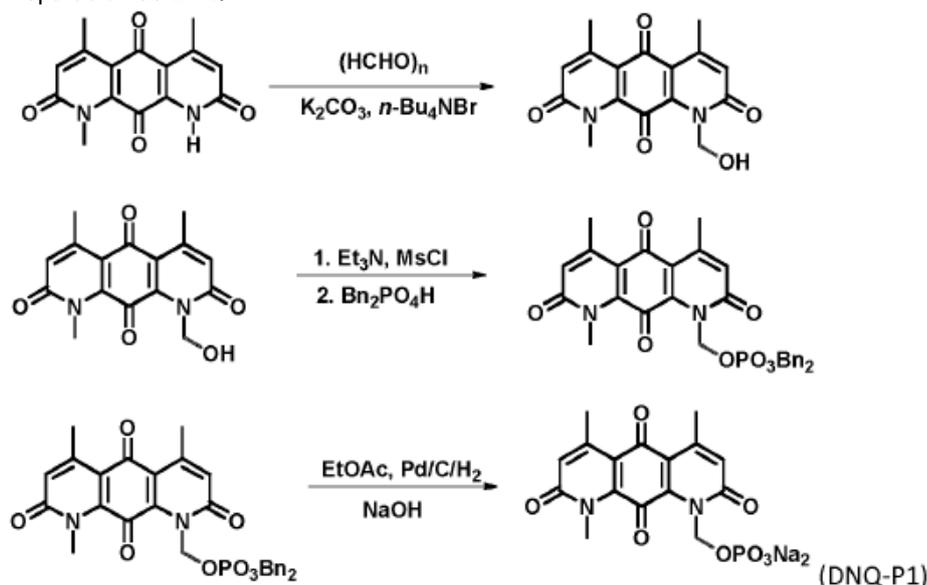
Resultados: usando un modelo de LLC ortotópico en ratones NOD/SCID hembra, se monitorizó la hiperactivación de PARP1 *in vivo* mediante la formación de PAR-PARP1 después de la exposición a DNQ, DNQ-87, DNQ-107 o DNQ 9-251. Cada fármaco de DNQ se usó en su dosis máxima tolerada (MTD) o cerca de esta. Los análisis del tejido tumoral de los ratones expuestos revelaron la formación de PAR-PARP1 después del tratamiento con DNQ, mientras que los tumores tratados con vehículo solo no mostraron hiperactivación de PARP1. Además, el tratamiento de los animales con tumores con DNQ-87, DNQ-107 o DNQ 9-251 no solo produjo la formación de PAR-PARP1, sino que se observaron mayores niveles de formación de PAR-PARP1 que en los ratones tratados con DNQ.

In vitro, DNQ-87 también fue un inductor eficiente de tipos específicos de daño al ADN. Al igual que DNQ y β -lapachona, DNQ-87 provocó grandes daños iniciales en una cadena única de ADN y lesiones en la base, medidos por ensayos de cometas alcalinos (no se muestran los datos). En cambio, la formación de la ruptura de la cadena doble de ADN (DSB) se retrasó (apareció 15-30 min después de SSB de ADN inicial y las lesiones de la base), como las células expuestas a DNQ-87 demostraron aumentos en la tinción nuclear de las proteínas (Ser-1981) ATM fosforiladas, γ -H2AX y DNA-PKcs fosforiladas que son sellos distintivos de los DSB expuestos (no se muestran los datos). Por ende, DNQ-87, al igual que DNQ y β -lapachona, son una formación de lesiones de SSB y base de ADN eficientes, con la formación retrasada de DSB más probablemente debido a la repetición de ADN.

Ejemplo 7. Preparación de compuestos de DNQ

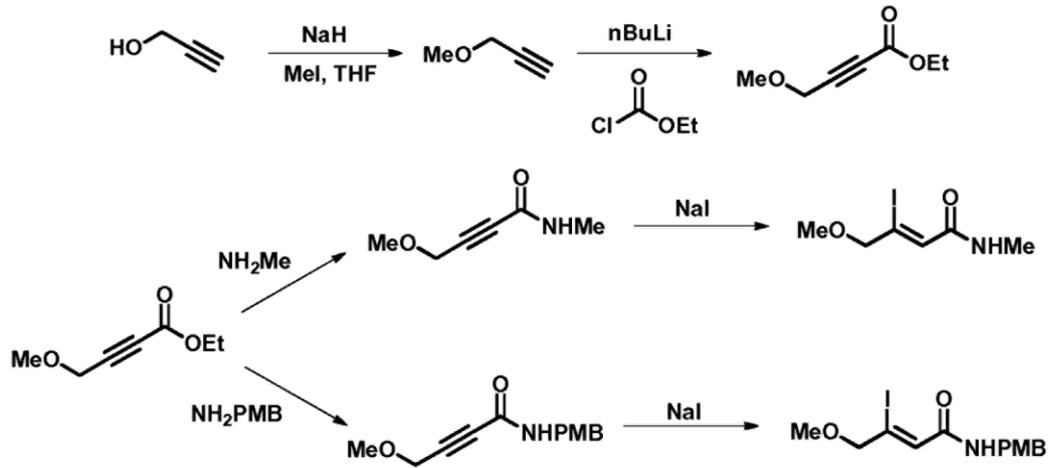
Diversos compuestos de DNQ, tales como DNQ-P1, DNQ-P2, DNQ-P3, DNQ-P4 y otros derivados, se pueden preparar a través de los procedimientos ilustrados en los **esquemas 7.1 a 7.4**. Los compuestos se pueden aislar como los ácidos fosfóricos o, por ejemplo, como las sales de sodio correspondientes. Los compuestos de fosfato pueden tener una solubilidad acuosa significativamente mayor que los compuestos de alquilo correspondientes.

Esquema 7.1. Preparación de DNQ-P1.



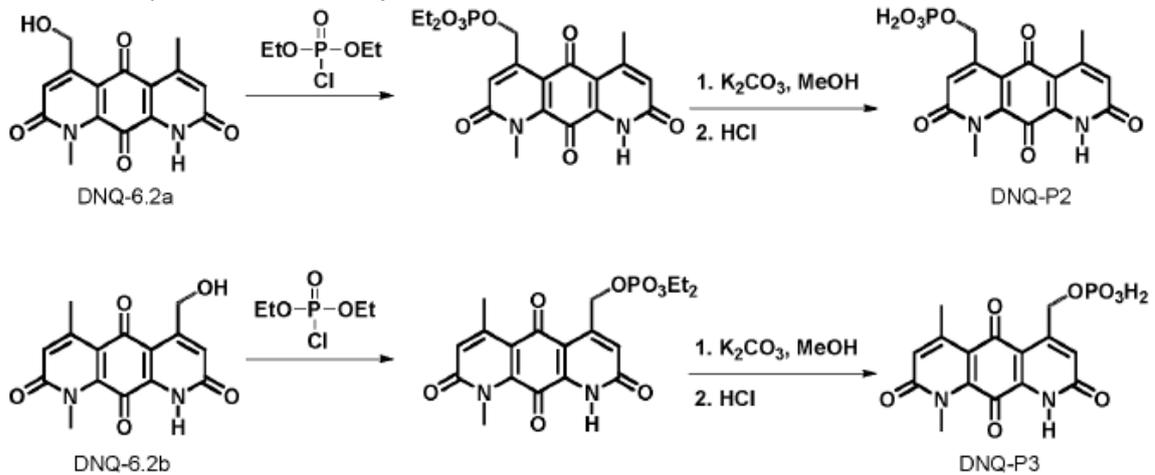
40

Esquema 7.2. Preparación de los intermedios DNQ-P2 y DNQ-P3.



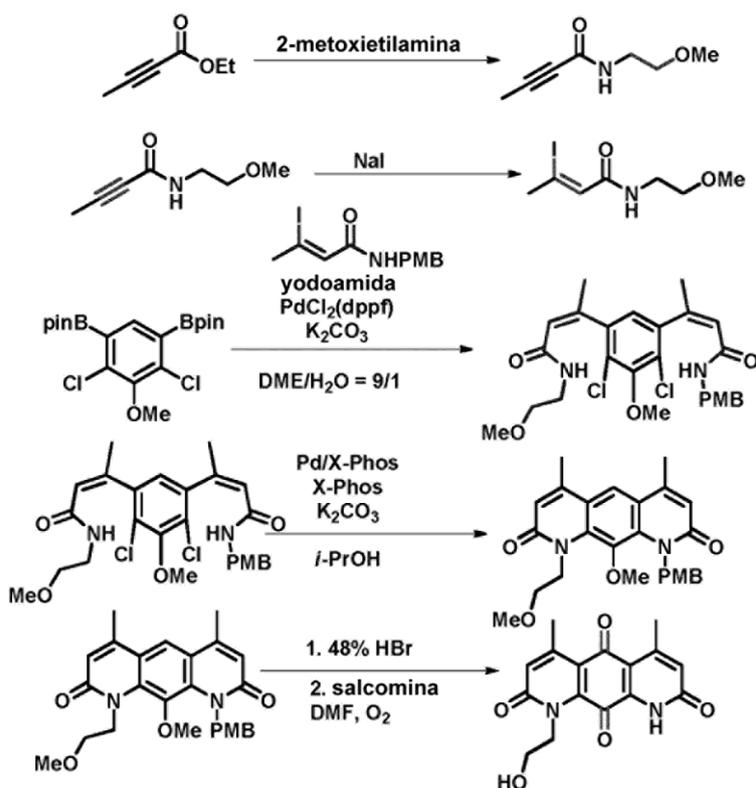
5 El acoplamiento cruzado, el cierre de anillos, la desprotección con HBr y la oxidación se pueden realizar como se muestra en el **esquema 1.14** y/o como se describe en el ejemplo 4 para proporcionar DNQ-6.2a o DNQ-6.2b, que después se pueden modificar para proporcionar DNQ-P2 o DNQ-P3, respectivamente, como se muestra en el **esquema 7.3**.

Esquema 7.3. Preparación de DNQ-P2 y DNQ-P3



10

Esquema 7.4. Preparación de DNQ-P4.



El intermedio final del **esquema 7.4** se puede convertir en DNQ-P4 a través de una vía similar a la empleada en el **esquema 7.3** para proporcionar el producto fosforilado, que se puede aislar fácilmente como una sal de sodio.

5

Ejemplo 8. Formas farmacéuticas de dosificación

Las formulaciones siguientes ilustran formas farmacéuticas de dosificación representativas que se pueden usar para la administración terapéutica o profiláctica de un compuesto de una fórmula descrita en la presente, un compuesto descrito específicamente en la presente o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este (en lo sucesivo denominado «compuesto X»):

10

<u>(i) Comprimido 1</u>	<u>mg/comprimido</u>	
«Compuesto X»		10,0
Lactosa		77,5
Povidona		15,0
Croscarmelosa sódica		12,0
Celulosa microcristalina		92,5
Estearato de magnesio		3,0
		210,0
<u>(ii) Comprimido 2</u>	<u>mg/comprimido</u>	
«Compuesto X»		20,0
Celulosa microcristalina		410,0
Almidón		50,0
Glicolato sódico de almidón		15,0
Estearato de magnesio		5,0
		500,0
<u>(iii) Cápsula</u>	<u>mg/cápsula</u>	
«Compuesto X»		10,0
Dióxido de silicio coloidal		1,5
Lactosa		465,5
Almidón pregelatinizado		120,0
Estearato de magnesio		3,0
		600,0

ES 2 678 649 T3

<u>(iv) Inyección 1 (1 mg/mL)</u>	<u>mg/mL</u>	
«Compuesto X» (forma ácida libre)		1,0
Fosfato de sodio dibásico		12,0
Fosfato de sodio monobásico		0,7
Cloruro sódico		4,5
Solución de hidróxido de sodio 1,0 N (ajuste de pH a 7,0-7,5)		c.s.p.
Agua para inyectables		c.s.p. 1 mL

<u>(v) Inyección 2 (10 mg/mL)</u>	<u>mg/mL</u>	
«Compuesto X» (forma ácida libre)		10,0
Fosfato de sodio monobásico		0,3
Fosfato de sodio dibásico		1,1
Polietilenglicol 400		200,0
Solución de hidróxido de sodio 0,1 N (ajuste de pH a 7,0-7,5)		c.s.p.
Agua para inyectables		c.s.p. 1 mL

<u>(vi) Aerosol</u>	<u>mg/bote</u>	
«Compuesto X»		20
Ácido oleico		10
Tricloromonofluorometano		5 000
Diclorodifluorometano		10 000
Diclorotetrafluoroetano		5 000

<u>(vii) Gel tópico 1</u>	<u>% en peso</u>	
«Compuesto X»		5 %
Carbómero 934		1,25 %
Trietanolamina (ajuste de pH a 5-7)		c.s.p.
Metilparabeno		0,2 %
Agua purificada		c.s.p. 100 g

<u>(viii) Gel tópico 2</u>	<u>% en peso</u>	
«Compuesto X»		5 %
Metilcelulosa		2 %
Metilparabeno		0,2 %
Propilparabeno		0,02 %
Agua purificada		c.s.p. 100 g

<u>(ix) Ungüento tópico</u>	<u>% en peso</u>	
«Compuesto X»		5 %
Propilenglicol		1 %
Base de ungüento anhidra		40 %
Polisorbato 80		2 %
Metilparabeno		0,2 %
Agua purificada		c.s.p. 100 g

<u>(x) Crema tópica 1</u>	<u>% en peso</u>	
«Compuesto X»		5 %
Cera de abejas blanca		10 %
Parafina líquida		30 %
Alcohol bencílico		5 %
Agua purificada		c.s.p. 100 g

<u>(xi) Crema tópica 2</u>	<u>% en peso</u>	
«Compuesto X»		5 %
Ácido esteárico		10 %
Monoestearato de glicerilo		3 %
Éter estearílico de polioxietileno		3 %
Sorbitol		5 %
Palmitato de isopropilo		2 %
Metilparabeno		0,2 %

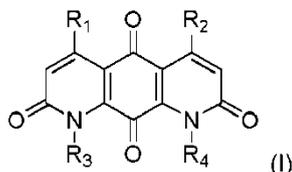
Agua purificada

c.s.p. 100 g

- Estas formulaciones se pueden preparar mediante procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica farmacéutica. Se apreciará que las composiciones farmacéuticas anteriormente mencionadas se pueden modificar de acuerdo con técnicas farmacéuticas bien conocidas para adaptarse a diferentes cantidades y tipos de ingrediente activo «Compuestos X». La formulación en aerosol (vi) se puede usar de manera conjunta con un dispensador de aerosol de dosis medidas estándar. Además, las proporciones e ingredientes concretos se dan meramente a título ilustrativo. Se pueden intercambiar los ingredientes por equivalentes adecuados y se pueden modificar las proporciones en función de las propiedades de la forma de dosificación de interés deseadas.
- Los términos y las expresiones que se han empleado se utilizan como términos descriptivos y no restrictivos y en el uso de dichos términos y expresiones no existe la intención de excluir ningún equivalente de las características que se muestran y se describen ni partes de estas, pero se reconoce que es posible realizar varias modificaciones comprendidas por el alcance de la invención reivindicada. Por lo tanto, se debe entender que si bien la presente invención ha sido descrita específicamente mediante realizaciones preferidas, realizaciones ejemplares y características opcionales, los expertos en la técnica pueden recurrir a la modificación y variación de los conceptos descritos en la presente y que dichas modificaciones y variaciones se consideran comprendidas por el alcance de la presente invención tal como se define en las reivindicaciones adjuntas. Las realizaciones específicas proporcionadas en la presente son ejemplos de realizaciones útiles de la presente invención y resultará evidente para el experto en la técnica que la presente invención se puede llevar a cabo utilizando una gran cantidad de variantes de los dispositivos, componentes de los dispositivos y etapas de los procedimientos presentados en la presente descripción. Tal como lo reconocerá el experto en la técnica, los procedimientos y dispositivos útiles para los presentes procedimientos pueden incluir una gran cantidad de elementos de la composición y el procesamiento y etapas opcionales.
- Aunque la presente invención se ha descrito con referencia a determinadas realizaciones de esta, otras realizaciones son posibles sin apartarse de la presente invención. Aunque la descripción en la presente contiene múltiples especificaciones, esto no debería interpretarse como limitativo del alcance de la invención, sino simplemente que proporciona ejemplos de algunas de las realizaciones preferidas de la invención. El alcance de las reivindicaciones adjuntas no debe limitarse, por lo tanto, a la descripción de ninguna de las realizaciones específicas que contiene la presente. Todas las realizaciones que estén comprendidas en el significado de las reivindicaciones, deben incluirse en ellas. Además, las ventajas descritas anteriormente no son necesariamente las únicas ventajas de la invención, y no se espera necesariamente que todas las ventajas descritas se logren con cada realización de la invención.
- Las referencias citadas en la presente indican el estado de la técnica a la fecha de su publicación o presentación y se pretende que esta información se pueda emplear en la presente, de ser necesario, para excluir realizaciones específicas que se encuentran en la técnica anterior. Por ejemplo, cuando los compuestos se reivindican genéricamente, se debe entender que los compuestos conocidos y disponibles en la técnica anterior a la invención del Solicitante, incluidos los compuestos para los que se proporciona una divulgación habilitante en las referencias citadas en la presente, no se incluyen en los compuestos reivindicados en la presente.
- Considerando las diversas realizaciones posibles a las cuales se le pueden aplicar los principios de la descripción, debe entenderse que las realizaciones ilustradas son meramente ejemplos de la descripción y no deben interpretarse como limitativas del alcance de la invención. En cambio, el alcance de la descripción se define de acuerdo con las siguientes reivindicaciones. Por lo tanto, se reivindica la invención como todo lo que queda comprendido dentro del alcance de estas reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



5

donde

- 10 R₁ y R₂ son de manera independiente grupos alquilo ramificados o no ramificados (C₁₋₄) y versiones cíclicas y/o insaturadas de los mismos;
 R₃ es hidrógeno; y
 R₄ es un grupo alquilo ramificado o no ramificado (C₁₋₁₀), y las versiones cíclicas y/o insaturadas de este, donde el grupo alquilo R₄ (C₁₋₁₀) está opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino y tiol;
 15 con la condición de que, cuando R₁ y R₂ son metilo, R₄ no es metilo;
 o una sal o solvato del mismo.

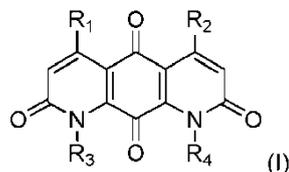
2. El compuesto de la reivindicación 1, donde R₁ es metilo.
 3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, donde R₂ es metilo.
 20 4. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde R₄ es metilo.
 5. El compuesto de la reivindicación 1, donde

- 25 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es 2-metil-propano;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es butilo;
 R₁ y R₄ son metilo; y R₂ es etilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es etilo;
 R₁ es metilo; R₂ es propilo; y R₄ es butilo;
 30 R₁ y R₄ son metilo; y R₂ es propilo;
 R₁ es propilo; y R₂ y R₄ son metilo;
 R₁ y R₂ son etilo; y R₄ es metilo;
 R₁ es propilo; R₂ es metilo; y R₄ es butilo;
 R₁ y R₂ son propilo; y R₄ es butilo;
 35 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es terc-butilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es hidroxipropilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es 3,3-dimetilbutilo [-CH₂CH₂C(CH₃)₂CH₃];
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es 3-metilbutilo [-CH₂CH₂CH(CH₃)CH₃];
 R₂ y R₄ son metilo; y R₁ es etilo;
 40 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es propilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es n-pentilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es n-hexilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es isopropilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es ciclooctilo;
 45 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es ciclopropilo;
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es metilciclopropilo; o
 R₁ y R₂ son metilo; y R₄ es etilciclopropilo.

6. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las
 50 reivindicaciones 1-5 y un diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
 7. Una composición que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 e hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD).

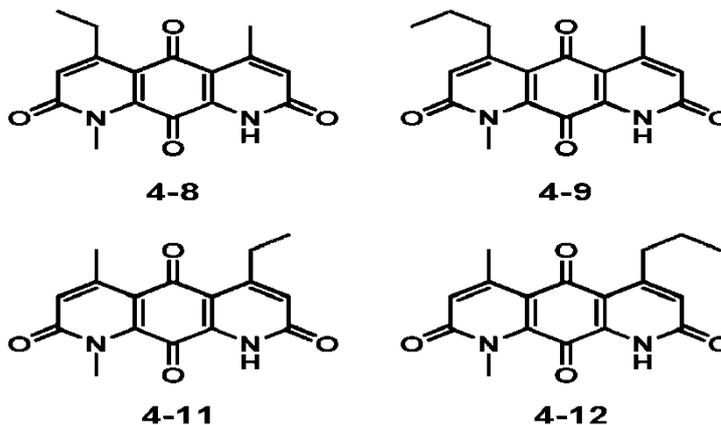
- 55 8. Un compuesto de fórmula (I) para uso en un procedimiento para tratar un paciente infectado con múltiples células cancerosas, donde las células cancerosas tienen niveles de NQO1 elevados, donde el procedimiento comprende:

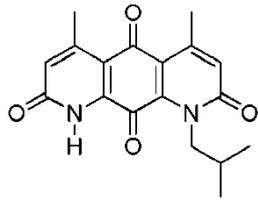
administrarle a un paciente que tiene células tumorales con niveles de NQO1 elevados una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de fórmula (I):



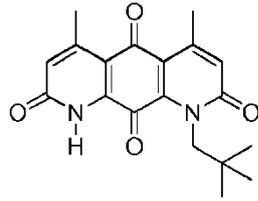
- 5
10
15
- donde
- R₁ y R₂ son de manera independiente grupos alquilo ramificados o no ramificados (C₁₋₄) y versiones cíclicas y/o insaturadas de los mismos;
R₃ es hidrógeno; y
R₄ es un grupo alquilo ramificado o no ramificado (C₁₋₁₀), y las versiones cíclicas y/o insaturadas de este, donde el grupo alquilo R₄ (C₁₋₁₀) está opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino y tiol, con la condición de que, cuando R₁ y R₂ son metilo, R₄ no es metilo;
donde las células de cáncer se tratan, se destruyen o su crecimiento se inhibe.

9. El compuesto para uso de la reivindicación 8 donde las células de cáncer son malignas.
10. El compuesto para uso de la reivindicación 9 donde las células de cáncer malignas son carcinoma de pulmón de células no pequeñas.
11. Un compuesto o una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para uso en un procedimiento para tratar una célula cancerosa que tiene un nivel de NQO1 elevado que comprende:
25 exponer la célula cancerosa a una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto o la composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde la célula de cáncer se trata, se destruye o su crecimiento se inhibe.
12. El compuesto o la composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, donde las células cancerosas se encuentran en forma de un tumor sólido.
13. El compuesto de la reivindicación 1; el compuesto para uso de la reivindicación 8; o el compuesto o la composición para uso de la reivindicación 11, donde el compuesto es:

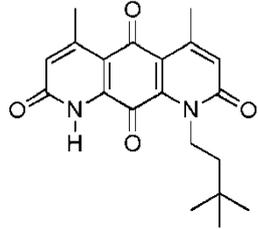




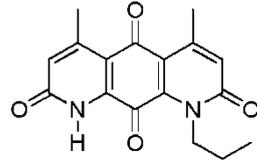
(4-31);



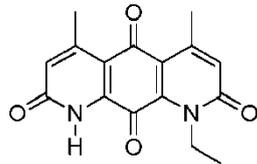
(9-253);



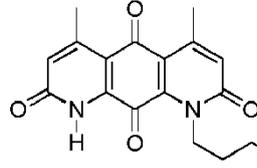
(9-251);



(10-41);

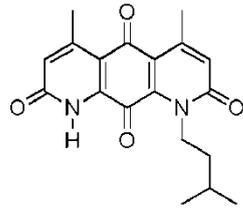


(109);

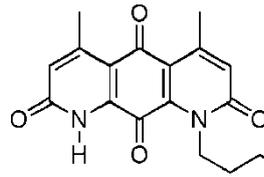


(9-281);

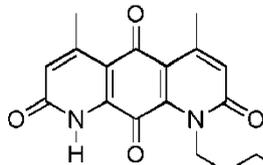
5



(9-249);



(9-255);



(9-257);

10

o una sal o solvato del mismo.

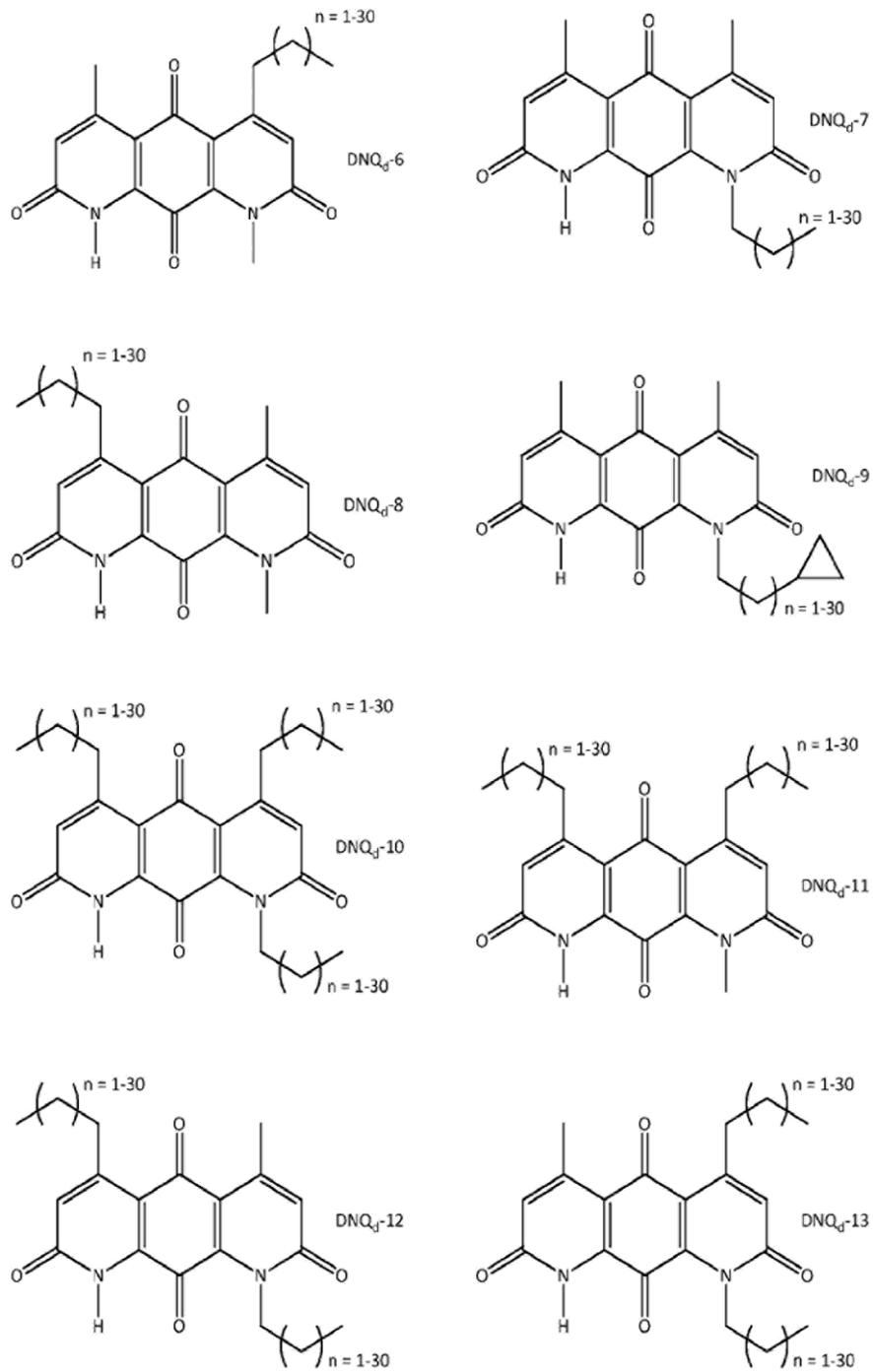


Figura 1

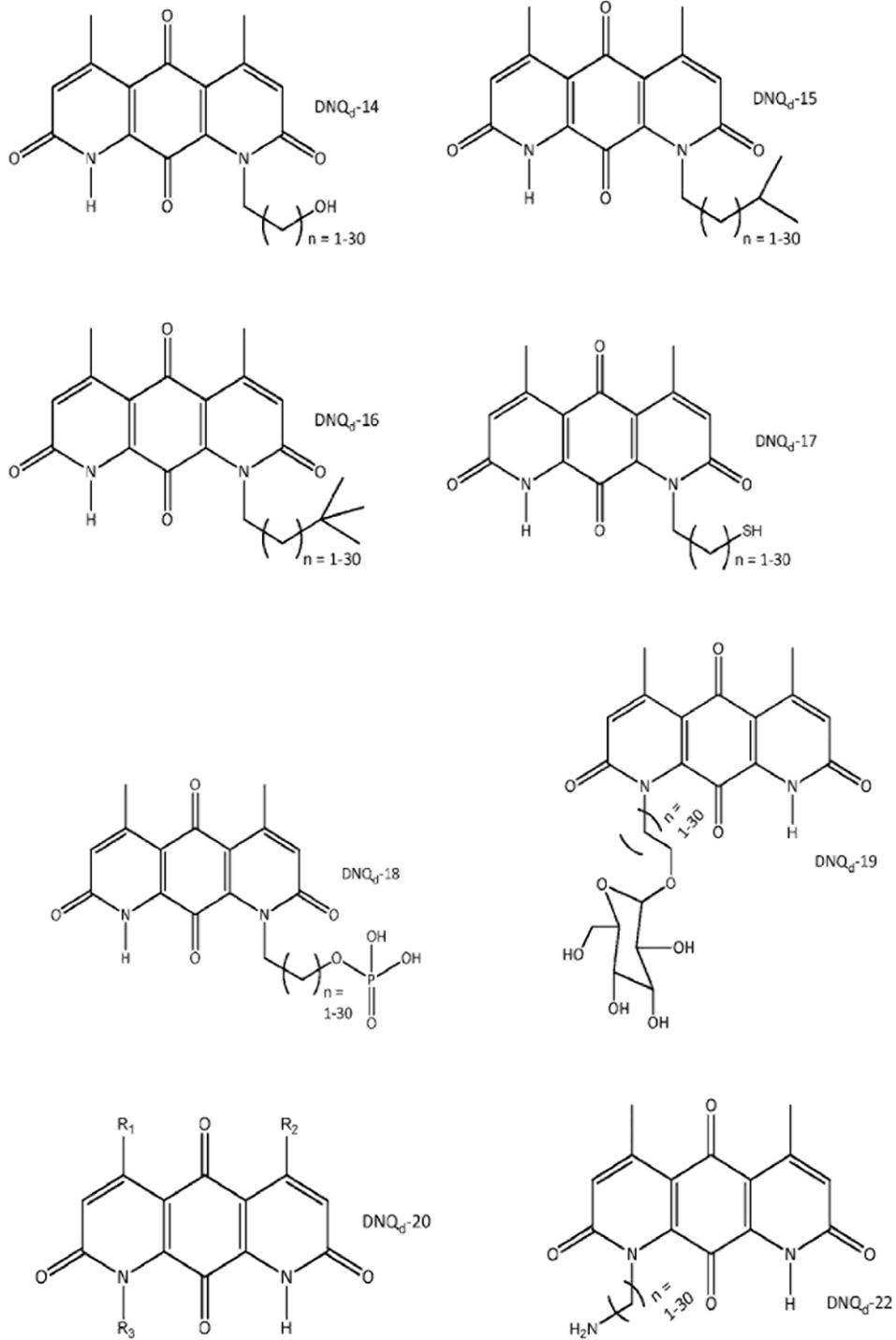


Figura 1 (continuación)

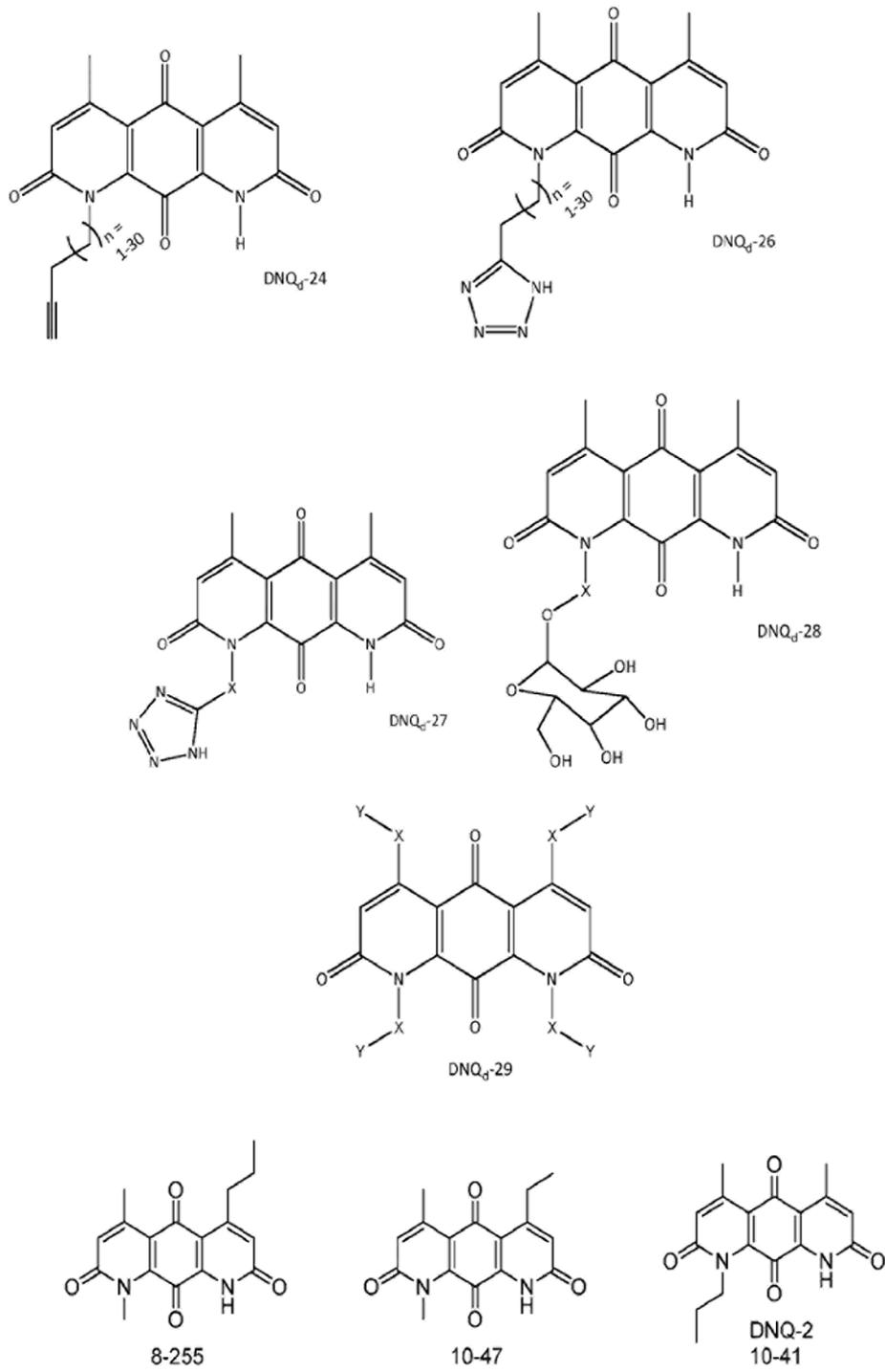


Figura 1 (continuación)

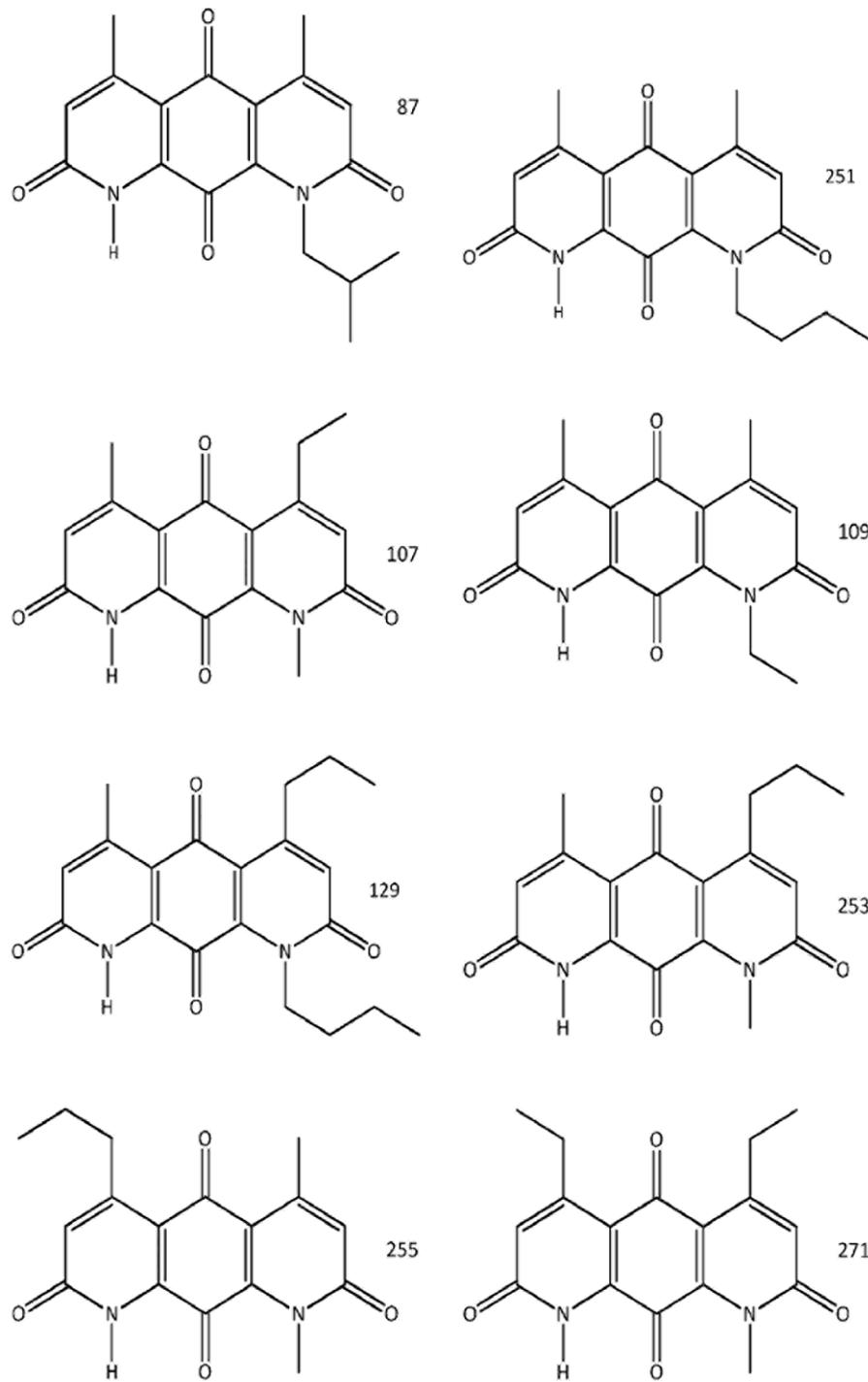


Figura 2

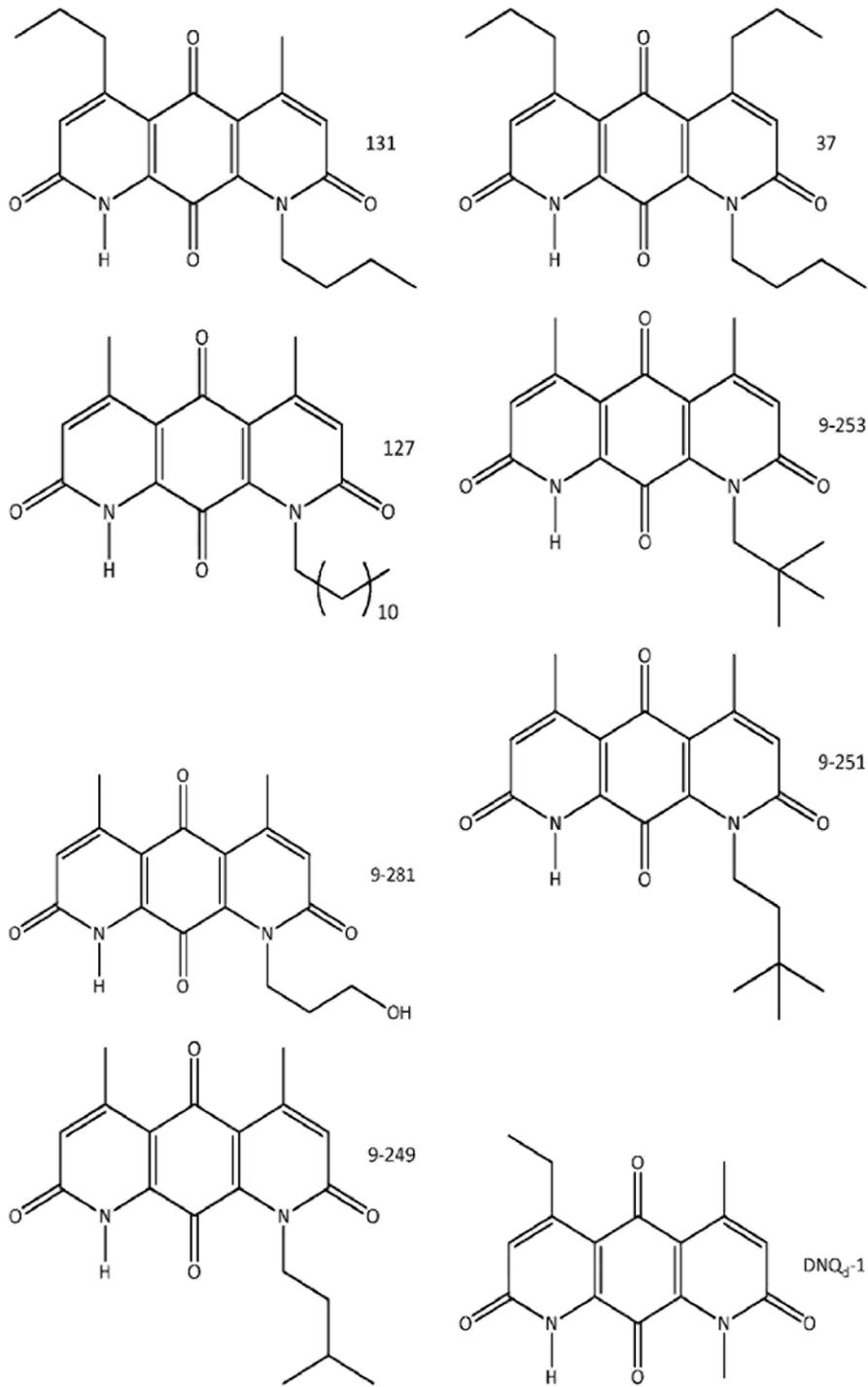


Figura 2 (continuación)

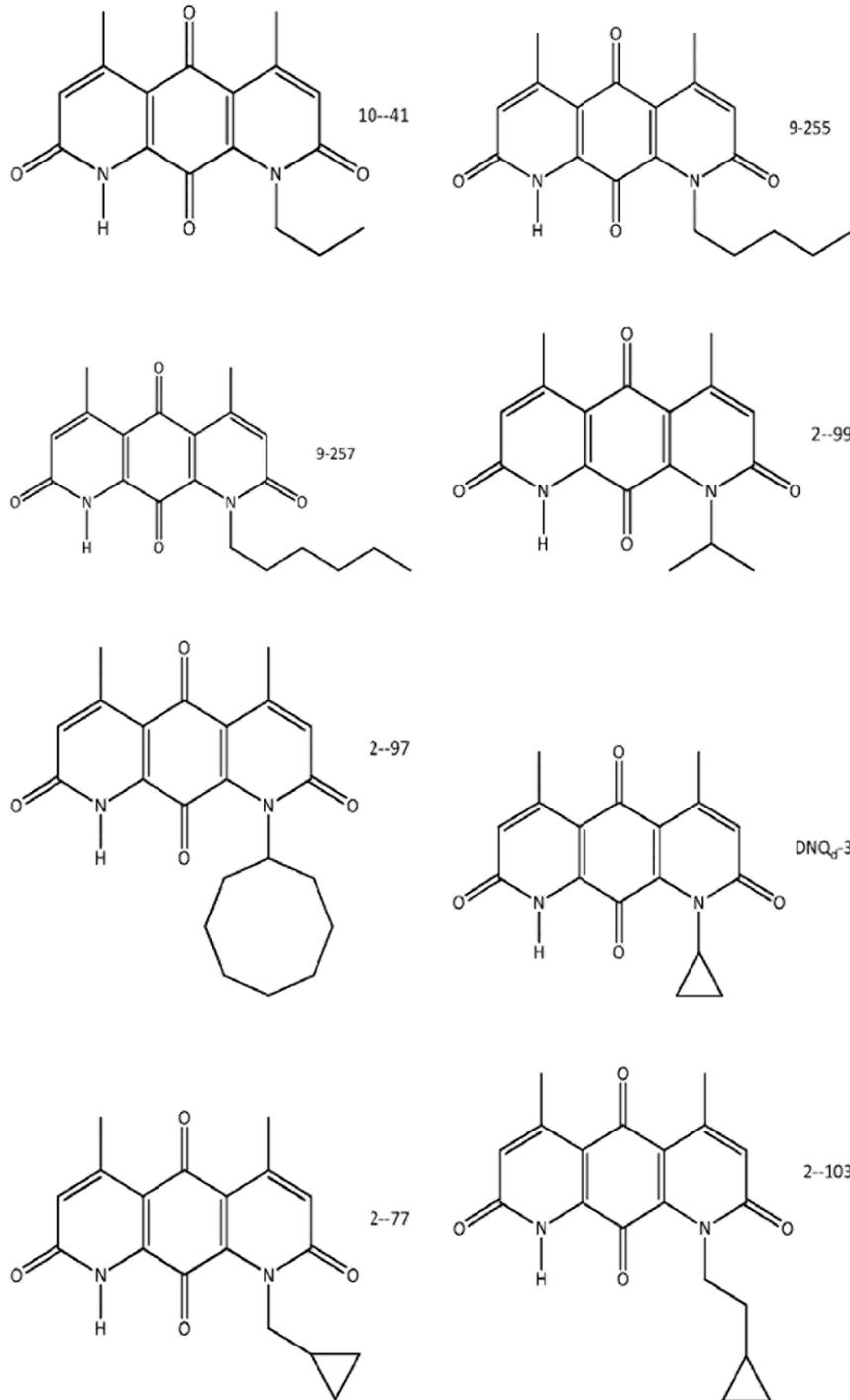


Figura 2 (continuación)

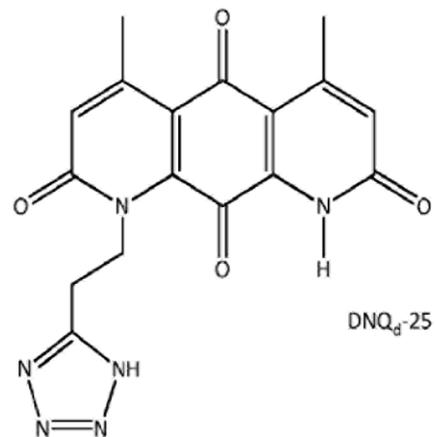
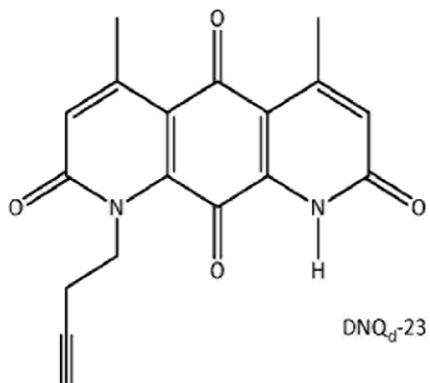
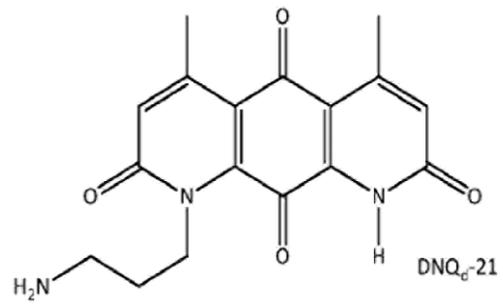
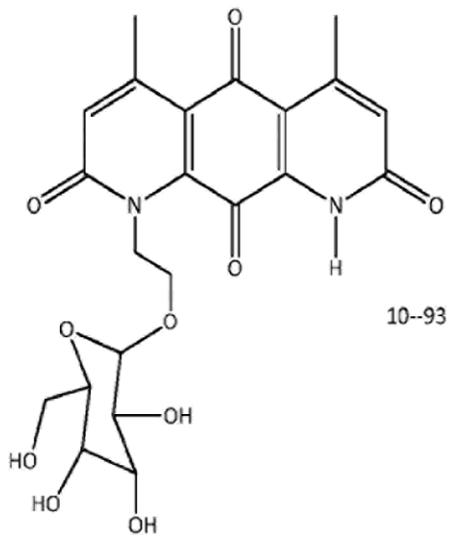
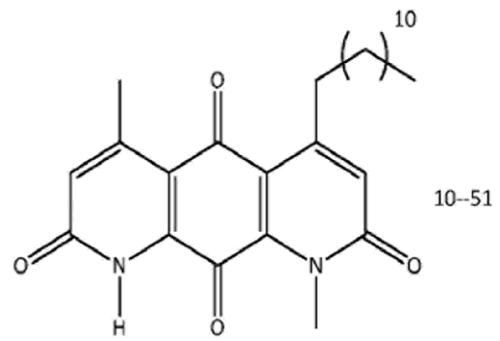
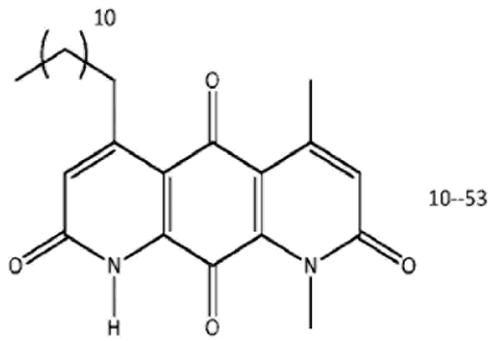


Figura 2 (continuación)

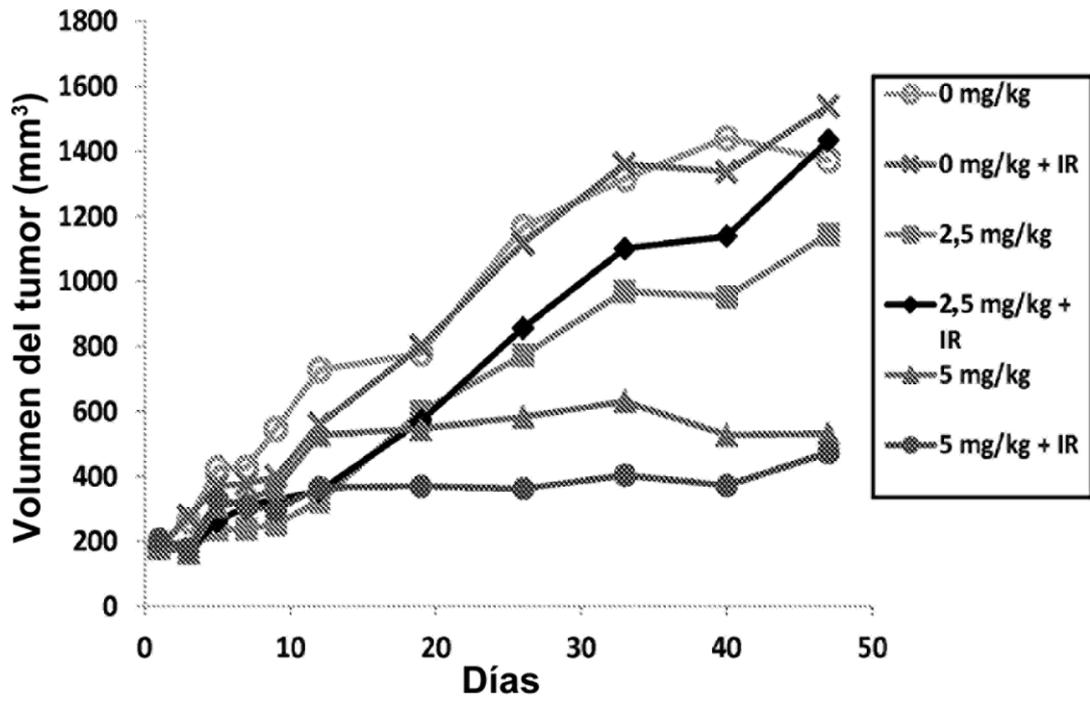


Figura 3

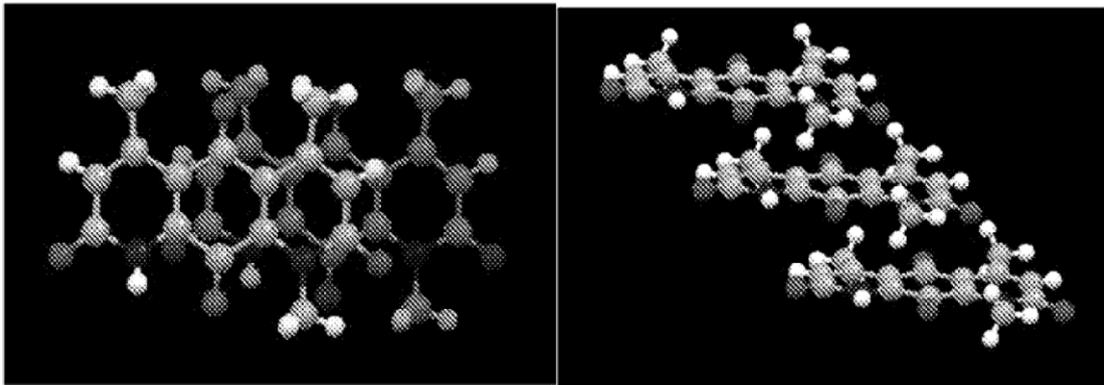


Figura 4

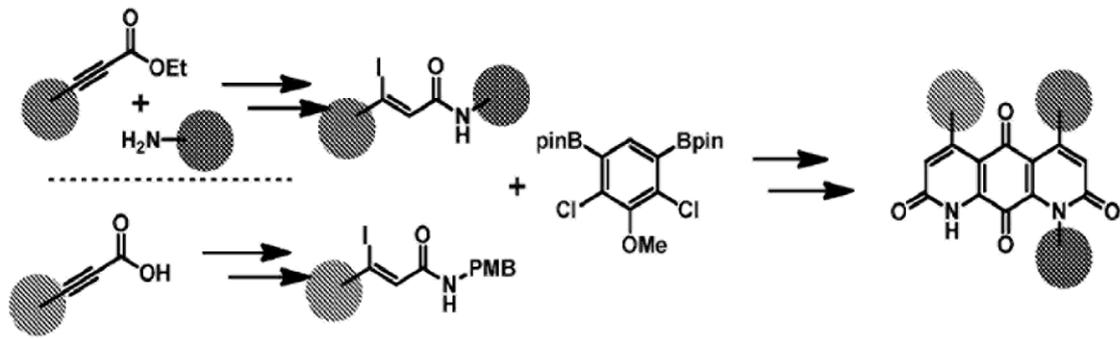


Figura 5

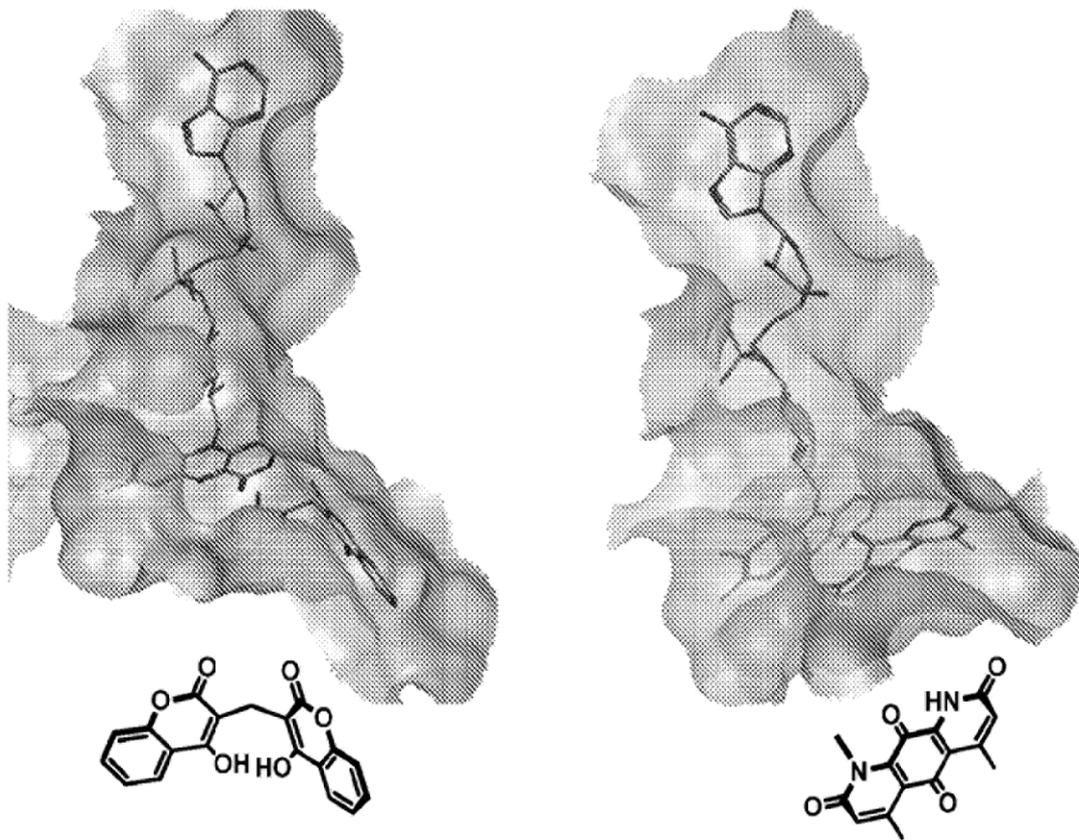


Figura 6

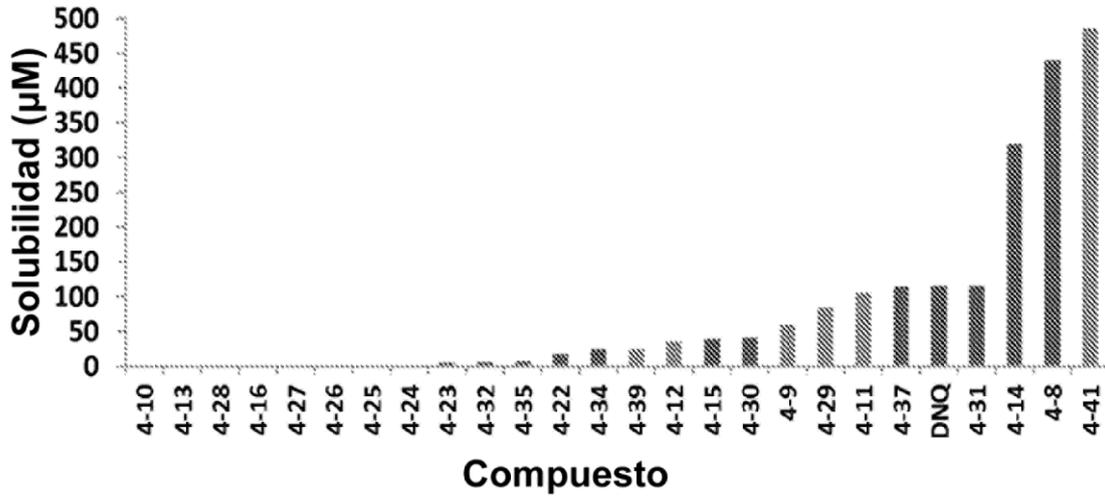


Figura 7

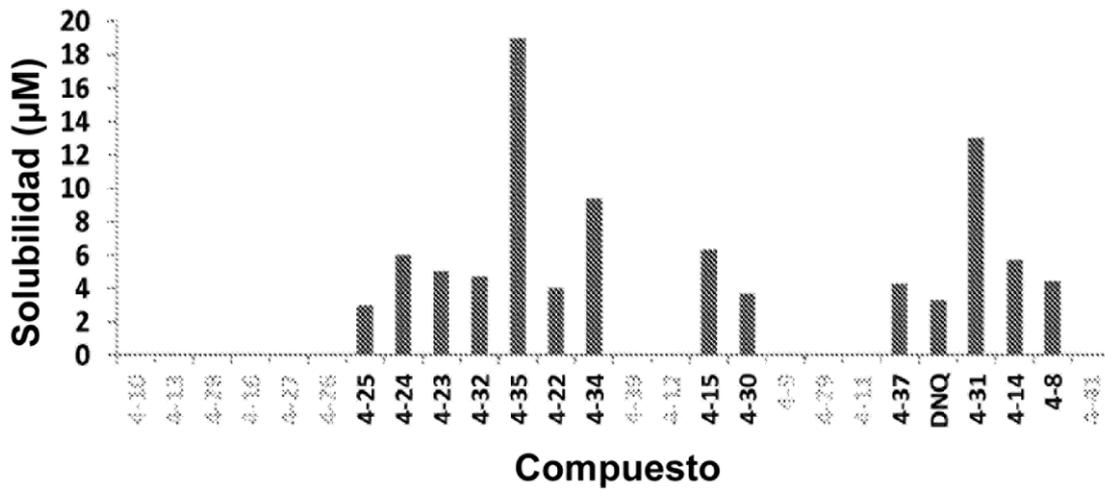


Figura 8

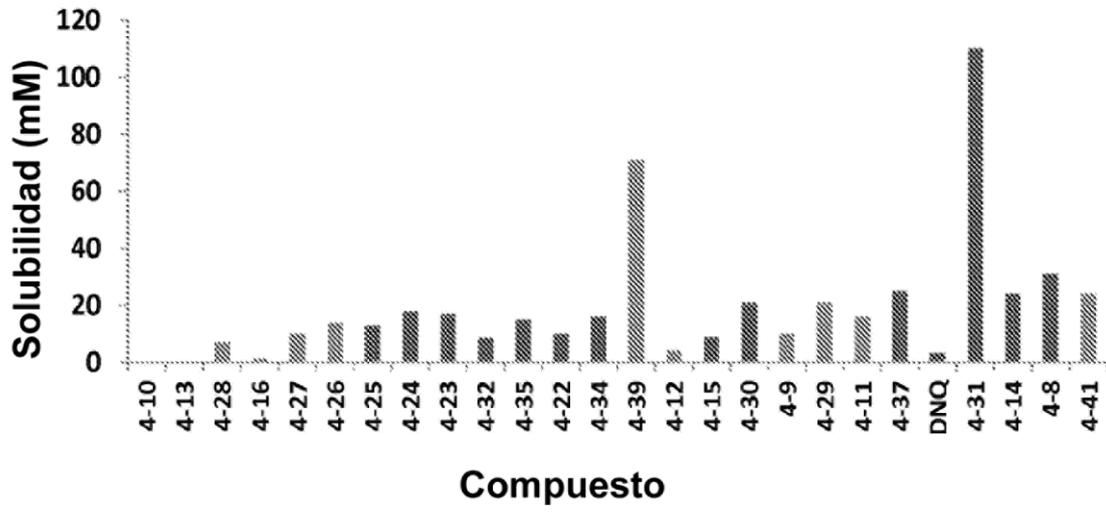


Figura 9

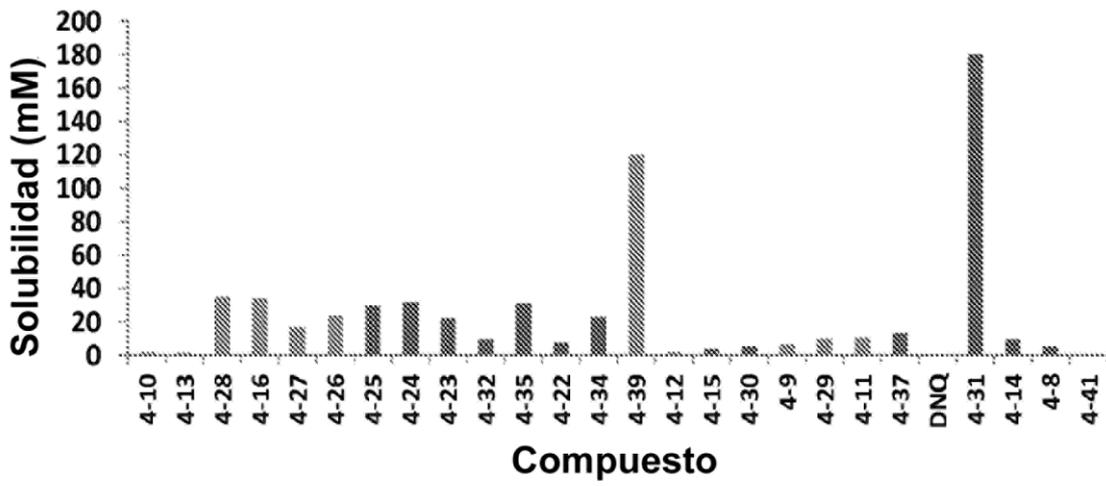
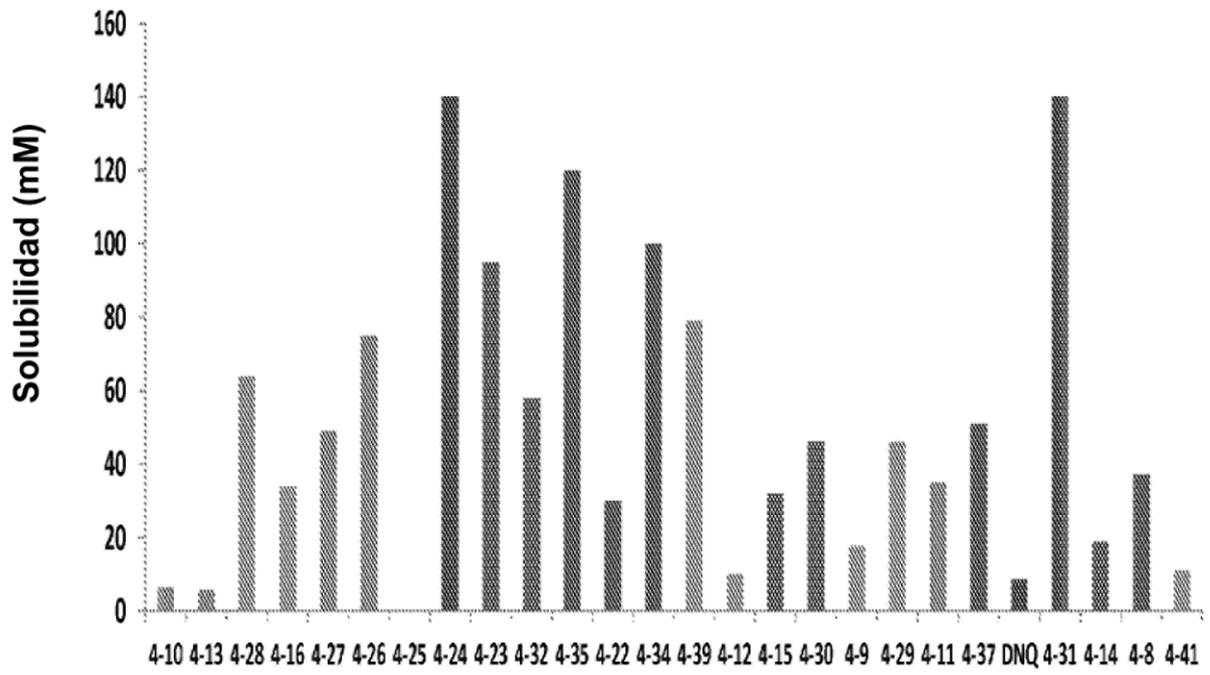


Figura 10



Compuesto

Figura 11

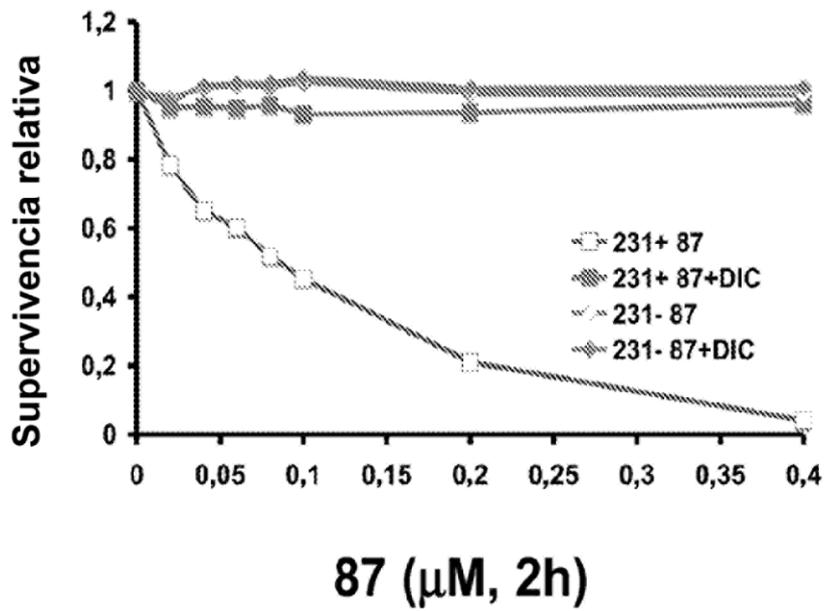
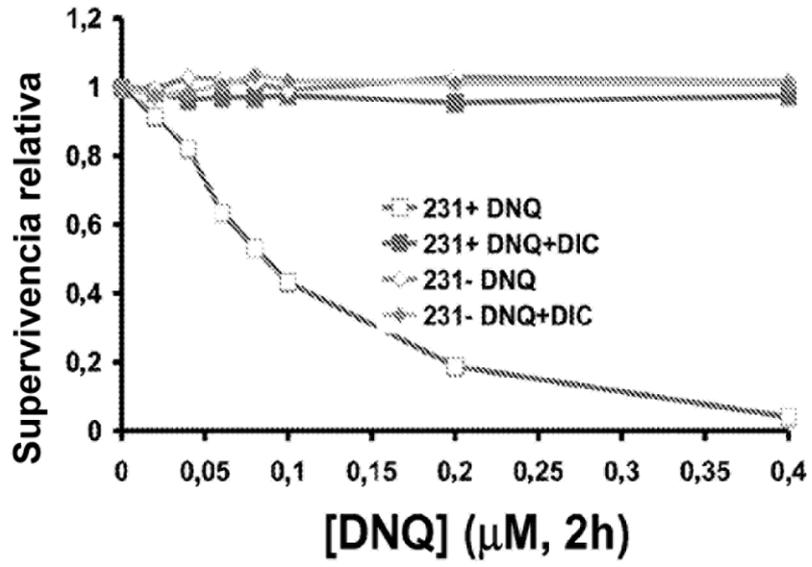


Figura 12

**Formación del derivado de DNQ PAR-PARP1
en tumores de LLC in vivo**

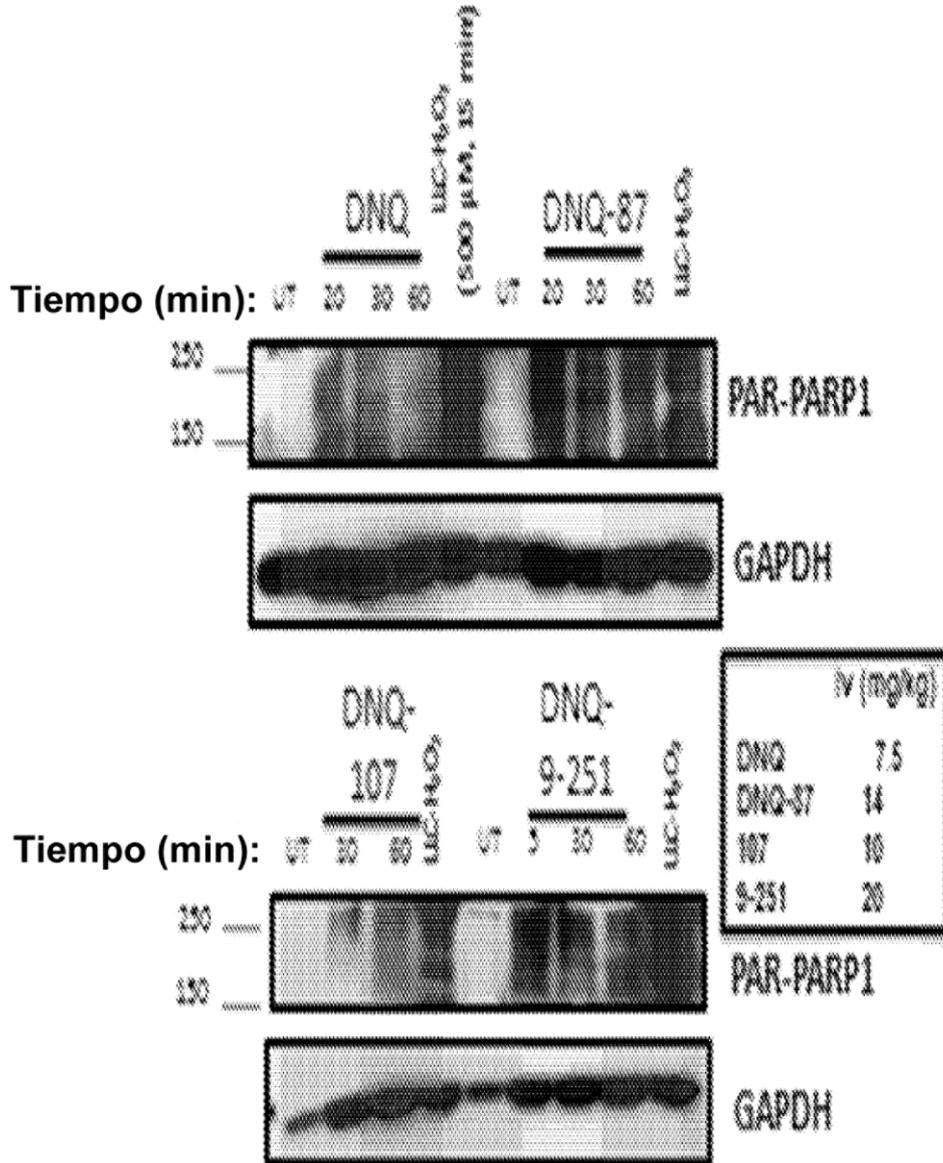


Figura 13