

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 418**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 403/14 (2006.01)

A61K 31/454 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.02.2015 PCT/CN2015/072230**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.08.2015 WO15117551**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.02.2015 E 15746066 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.07.2018 EP 3106459**

54 Título: **Derivado de indolona sustituido con pirrol, método para su preparación, composición que comprende el mismo y su uso**

30 Prioridad:

10.02.2014 CN 201410046278

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

25.10.2018

73 Titular/es:

**SHIJIAZHANG YILING PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)
No. 238 Tianshan Street, Hi-Tech. Development District
Shijiazhuang, Hebei 050035, CN**

72 Inventor/es:

**HU, LIHONG;
ZHAO, SHAOHUA;
LIU, PENG;
LI, XIANGJUN;
AN, JUNYONG;
ZHOU, MENGXIA;
ZHANG, LILI y
YAO, ZIJIAN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 687 418 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

Derivado de indolona sustituido con pirrol, método para su preparación, composición que comprende el mismo y su uso

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a un derivado de indolona sustituido con pirrol o a sus sales farmacéuticamente aceptables, a una composición que comprende el mismo y a su uso. En particular, la presente invención se refiere a un derivado de indolona sustituido por pirrol como un inhibidor de tirosina cinasa de objetivo múltiple, a una composición farmacéutica que comprende el derivado, y a su uso médico.

Técnica anterior

- 10 El cáncer se ha convertido en la enfermedad que representa la mayor amenaza para la salud de los seres humanos en la sociedad moderna. Hasta la fecha, muchos medicamentos contra el cáncer disponibles en el mercado todavía son fármacos citotóxicos descubiertos en el siglo pasado, que destruyen un gran número de células normales durante el tratamiento tumoral, produciendo efectos secundarios intolerables para los pacientes, y surge otro problema difícil de resistencia a los medicamentos ya que estos medicamentos se utilizan ampliamente.
- 15 La inhibición del vaso tumoral representa un nuevo método desarrollado en la última etapa del siglo pasado para el tratamiento tumoral, y su investigación se basó en la teoría propuesta por Folkman de que la supervivencia, el crecimiento y la metástasis de los tumores dependen de una extensa red de neovasos (Folkman J. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 1971, 285, 1182 -1186). Se ha encontrado en una gran cantidad de investigación clínica que los tejidos tumorales contienen muchos neovasos, y el crecimiento y la metástasis de las células tumorales requieren una gran
- 20 cantidad de vasos para suministrar suficiente oxígeno y nutrientes. La inhibición de la neoangiogenia en tumores puede "mantener en inanición" células tumorales hasta la muerte, mientras que la inhibición de neovasos tiene poco impacto en las células normales porque hay muy pocos neovasos alrededor de células normales lo que da como resultado fármacos antitumorales basados en la inhibición de vasos que tienen características tales como alta eficiencia, seguridad y baja toxicidad.
- 25 La inhibición del vaso se puede clasificar en inhibición directa e inhibición indirecta. La inhibición directa es una acción sobre las células endoteliales vasculares para inhibir la angiogenia, la extensión y el soporte nutricional a las células tumorales de los vasos. El método principal que se usa actualmente aquí es la terapia metronómica con un fármaco citotóxico, que puede mitigar los efectos secundarios del fármaco citotóxico pero tiene dificultades para mejorar el daño causado por el fármaco en el cuerpo humano. La inhibición indirecta suprime la neoangiogenia
- 30 inhibiendo los factores angiogénicos requeridos para la angiogenia (Cao, Y *et al.*, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2001, 33, 357-369). El proceso de angiogenia incluye la activación de células endoteliales vasculares bajo la acción de un activador; la secreción de proteasas de las células endoteliales para degradar la membrana basal; la migración y proliferación de las células endoteliales; la formación de la luz de los neocapilares; y la captación de pericitos para estabilizar la estructura periférica de los neocapilares. En condiciones fisiológicas, existen dos tipos de factores que
- 35 actúan en la angiogenia, a saber, los inhibidores de la angiogenia y los factores proangiogénicos. Los inhibidores de la angiogenia se pueden clasificar en dos tipos principales según su especificidad funcional: un tipo son los inhibidores de la angiogenia que actúan específicamente en las células endoteliales, incluidos angiostatina, endostatina y similares; y el otro tipo son inhibidores de angiogenia que actúan de forma no específica sobre células endoteliales, incluidos citocinas, inhibidores de metaloproteinasas hísticas, inhibidores de serina proteasa, productos génicos
- 40 supresores de tumores y similares. Los factores proangiogénicos incluyen el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y similares (Hanks, S. K., *et al.*, *FASEB*, 1995, 9, 576-696). Pueden verse expresiones de alto nivel de diversos factores proangiogénicos en diferentes tipos de tumores, tal como una expresión de alto nivel de EGF normalmente observada en tumores de células epiteliales, y una expresión de alto nivel de
- 45 PDGF normalmente vista en el glioma. Las estrategias actuales para desarrollar un fármaco anticancerígeno contra la vía de neoangiogenia tumoral se centran principalmente en el aumento de los inhibidores de la angiogenia y la disminución de los factores proangiogénicos, en donde inhibiendo las expresiones de alto nivel de los factores proangiogénicos, especialmente al dirigirse a la vía de señalización VEGF/VEGFR, se ha convertido en el objetivo principal de los estudios actuales.
- 50 VEGF es una glicoproteína en el cuerpo humano y desempeña una función importante en la angiogenia. La familia VEGF humana incluye VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E y PLGF. VEGF puede actuar selectivamente sobre VEGFR (receptor de VEGF) que es una clase de proteínas transmembrana de tirosina cinasa. La unión de VEGF a VEGFR cambia la configuración de VEGFR, y da como resultado la dimerización del receptor y también la fosforilación de sitios de tirosina intracelular, activando de este modo las vías de transducción corriente abajo
- 55 (Joukov, V., *et al.*, *EMBO J.*, 1996, 15, 290- 298). Estudios exhaustivos demuestran que la vía de transducción de señalización VEGF VEGFR es la vía de migración y proangiogénica más importante en las células. Mediante la inhibición de esta vía, se puede inhibir el crecimiento y la migración de células endoteliales, y a su vez se puede inhibir el crecimiento de tumores. Actualmente, se han aprobado varios de estos medicamentos y más de 30 medicamentos están en ensayos clínicos. Un fármaco importante es un anticuerpo monoclonal VEGF biotecnológico

humanizado denominado bevacizumab (nombre comercial Avastin), que es el primer fármaco aprobado contra la angiogenia en tumores y es capaz de unirse específicamente a VEGF-A para bloquear la vía VEGF/VEGFR. Este fármaco alcanzó gran éxito inicialmente después de su aprobación, pero el problema de la resistencia al fármaco surgió gradualmente en su uso a largo plazo. Otros estudios ponen de manifiesto que la inhibición específica de VEGF-A hace que las células liberen una gran cantidad de otros factores proangiogénicos, como PLGF y FGF, y dicho fenómeno se denomina reacción de rescate de angiogenia. Para resolver el problema de resistencia a los medicamentos, una estrategia posible es desarrollar inhibidores de múltiples objetivos.

Sunitinib es solo un fármaco anticancerígeno de múltiples objetivos desarrollado por Pfizer, que es un inhibidor que actúa sobre las tirosina cinasas de múltiples objetivos y puede inhibir eficazmente las tirosina cinasas receptoras tales como VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, PDGFR- β y c-Kit, FLT-3. Al inhibir estas proteínas, sunitinib bloquea la expresión de diversos factores proangiogénicos en células cancerosas, de modo que se puede realizar un objetivo para suprimir la neoangiogenia y matar por inanición las células cancerosas (Abrams, T. J. *et al.*, *Mol. Cancer Ther.*, 2003, 2, 1011-1021). Además, sunitinib también presenta inhibición específica directa contra células cancerosas que tienen mutaciones en c-Kit y FLT-3. Sunitinib fue aprobado por la FDA en 2006, principalmente para el tratamiento de tumores del estroma gastrointestinal y carcinoma de células renales, como el primer medicamento contra el cáncer aprobado para dos tipos de indicaciones al mismo tiempo. Aunque sunitinib presenta una notable eficacia antitumoral, los efectos secundarios como falta de energía, depresión de la médula ósea y fiebre aún se encuentran en pacientes a quienes se administra clínicamente sunitinib. Sunitinib presenta una fuerte acumulación en los tejidos y no se puede tomar de forma continua, y en escenarios clínicos su administración se realiza de forma sucesiva durante cuatro semanas y luego se interrumpe durante dos semanas. Sin embargo, se demuestra en la investigación que la neoangiogenia en los tumores se recupera durante la retirada del fármaco. Por lo tanto, es necesario modificar la estructura química para reducir los efectos secundarios tóxicos, optimizar las posibilidades farmacéuticas y encontrar medicamentos más seguros y más eficaces. Sunitinib presenta una fuerte acumulación en los tejidos y no se puede tomar de forma continua, y en escenarios clínicos su administración se realiza de forma sucesiva durante cuatro semanas y luego se detiene durante dos semanas. Sin embargo, se muestra en la investigación que la neoangiogenia en los tumores se recupera durante la retirada del fármaco. Por lo tanto, es necesario modificar la estructura química para reducir los efectos secundarios tóxicos, optimizar la farmacología y encontrar medicamentos más seguros y más eficaces.

Compendio de la invención

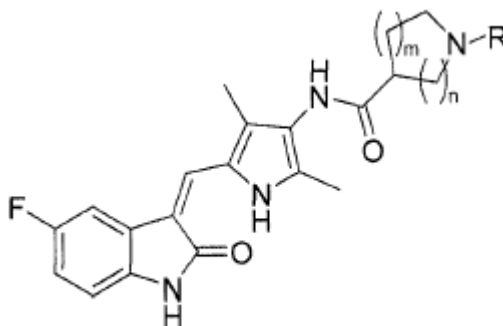
Un objetivo de la presente invención es proporcionar un inhibidor de receptor de tirosina cinasa de multiobjetivos con gran eficacia y baja toxicidad.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un grupo de derivados de indolona sustituidos con pirrol que inhiben el crecimiento tumoral.

Otro objetivo más de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprende los derivados de indolona sustituidos con pirrol.

Otro objetivo más de la presente invención es proporcionar el uso de los derivados de indolona sustituidos con pirrol y una composición farmacéutica que comprende los derivados de indolona sustituidos con pirrol.

La presente invención proporciona un derivado de indolona sustituido con pirrol con una estructura mostrada en la fórmula general (I) a continuación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables:



40

en donde

m se selecciona de 0, 1 y 2;

n se selecciona de 1, 2 y 3; y

R se selecciona de hidrógeno, un alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado, un cicloalquilo C₃-C₇, carbonilo sustituido con un

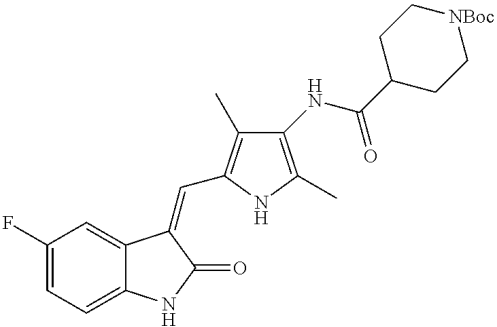
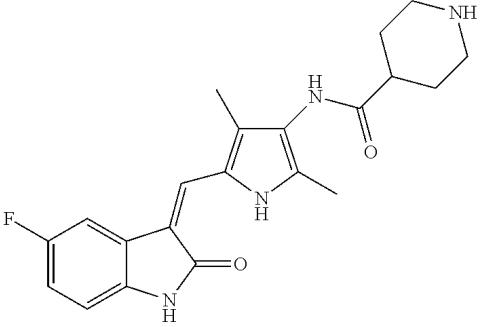
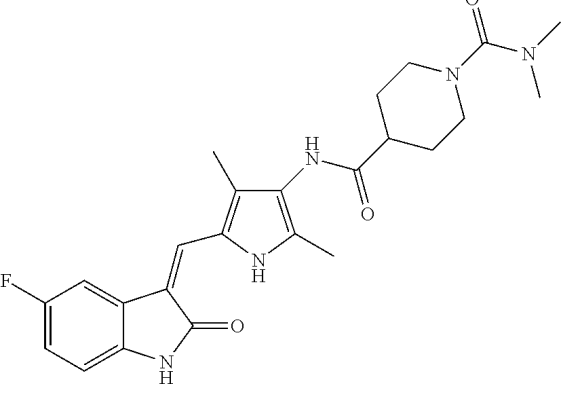
alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado, cicloalquil C₃-C₇ carbonilo, t-butoxicarbonilo, carbamoilo sustituido o un carbamoilo cíclico de 5 a 7 eslabones.

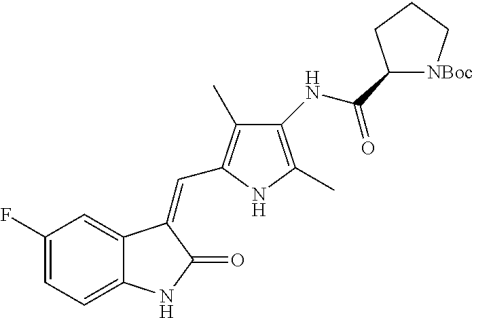
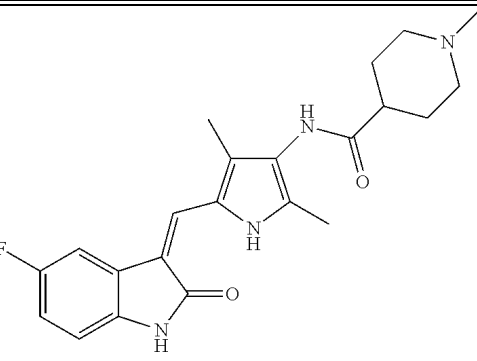
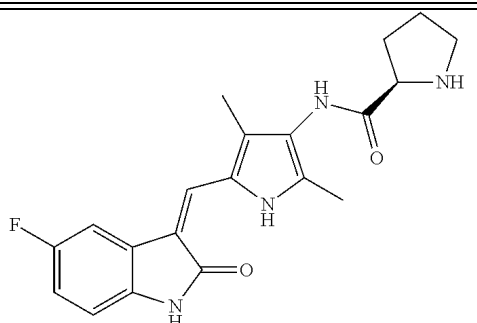
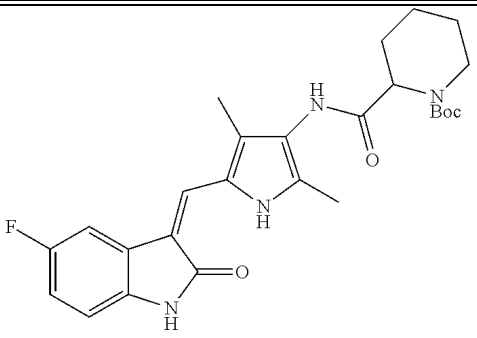
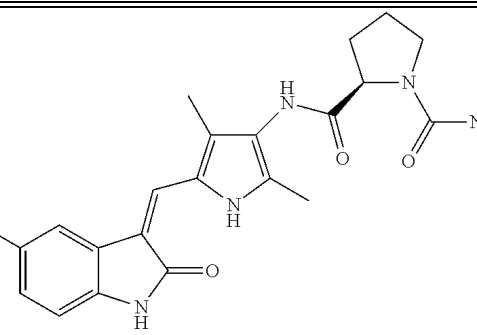
En el derivado de indolona sustituido con pirrol anterior, R se selecciona preferiblemente de hidrógeno, un alquilo C₁-C₃ lineal o ramificado, un cicloalquilo C₄-C₆, carbonilo sustituido con un alquilo C₁-C₃ lineal o ramificado, cicloalquil

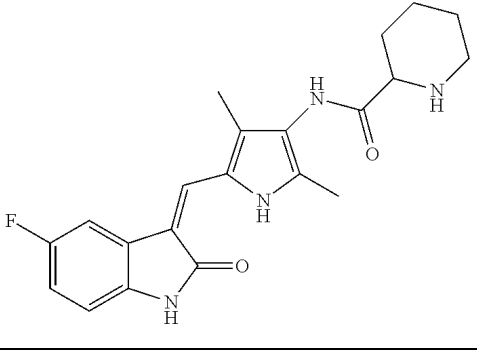
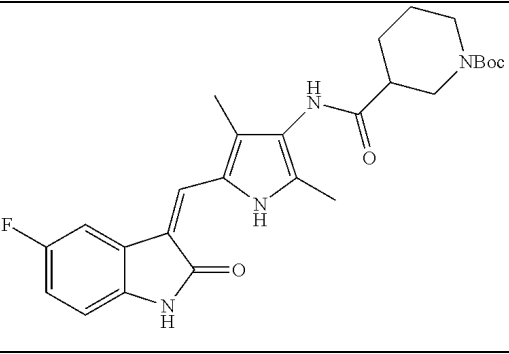
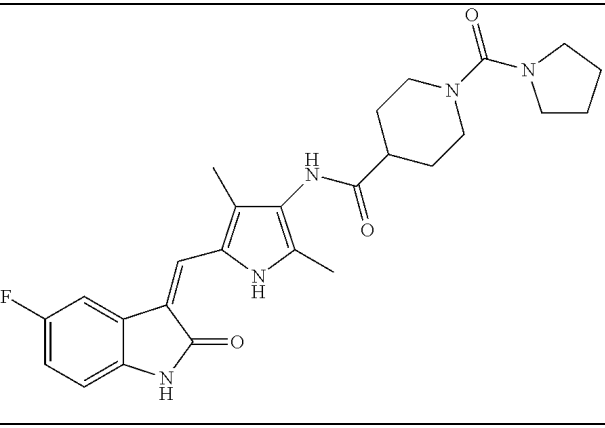
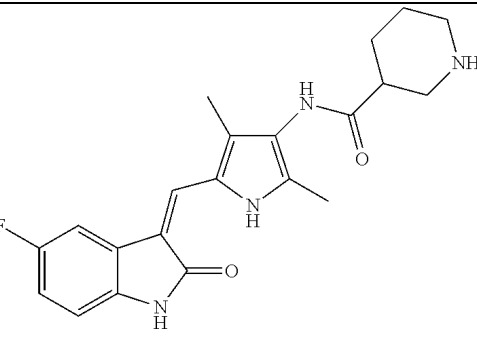
5 C₃-C₆ carbonilo, t-butoxicarbonilo, N,N-dimetilcarbamoilo, N,N-diethylcarbamoilo, N,N-dipropilcarbamoilo, pirrolidin-1-ilcarbonil, o piperidin-1-ilcarbonilo

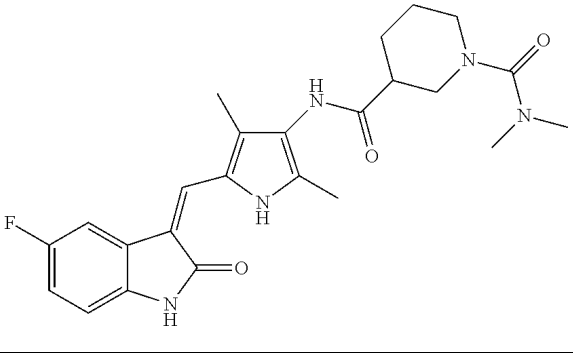
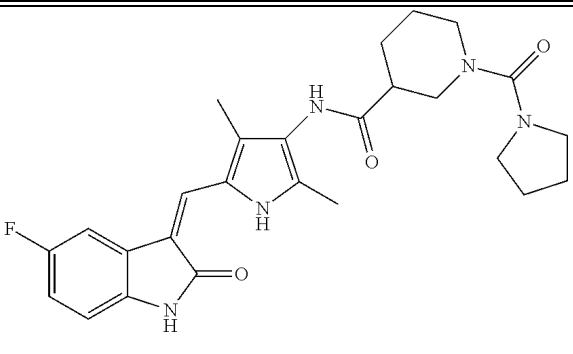
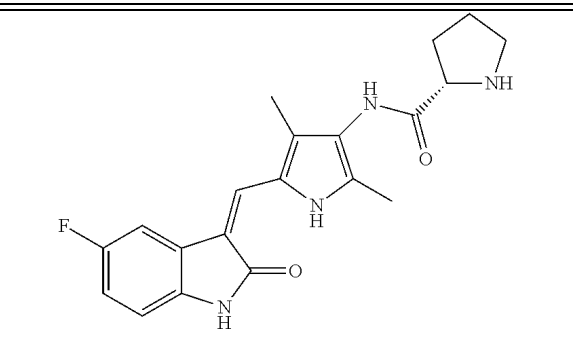
En el derivado de indolona sustituido con pirrol anterior, R se selecciona más preferiblemente de hidrógeno, metilo, t-butoxicarbonilo, N,N-dimetilcarbamoilo o pirrolidin-1-ilcarbonilo.

10 Según la presente invención, el derivado de indolona sustituido con pirrol se selecciona preferiblemente de los compuestos 1 a 15 a continuación:

Compuesto nº	Estructura del compuesto
1	
2	
3	

4	
5	
6	
7	
8	

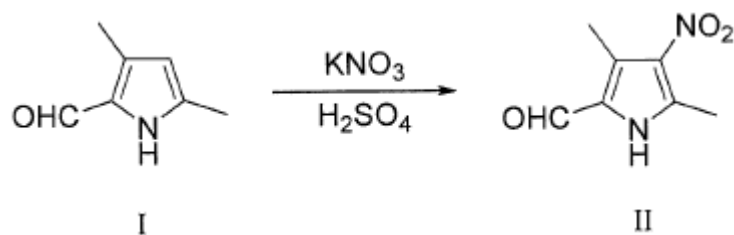
9	
10	
11	
12	

<p>13</p>	
<p>14</p>	
<p>15</p>	

Las sales farmacéuticamente aceptables del derivado de indolona sustituido con pirrol según la presente invención no están especialmente limitadas, y pueden ser hidrocloreto, fumarato, maleato, citrato, fosfato, sulfato, tartrato, metansulfonato, bencensulfonato, etc. El uso de hidrocloreto puede provocar gran cristalinidad y gran solubilidad, y mejorar la higroscopicidad. Por lo tanto, se prefiere el uso de hidrocloreto.

En el segundo aspecto de la presente invención, se describe un método para preparar el derivado de indolona sustituido con pirrol según la presente invención, que comprende las etapas siguientes:

(a) nitrar 3,5-dimetil-2-pirrolaldehído mostrado en la fórmula estructural I con KNO_3 en ácido sulfúrico concentrado, para producir un compuesto mostrado en la fórmula estructural II:

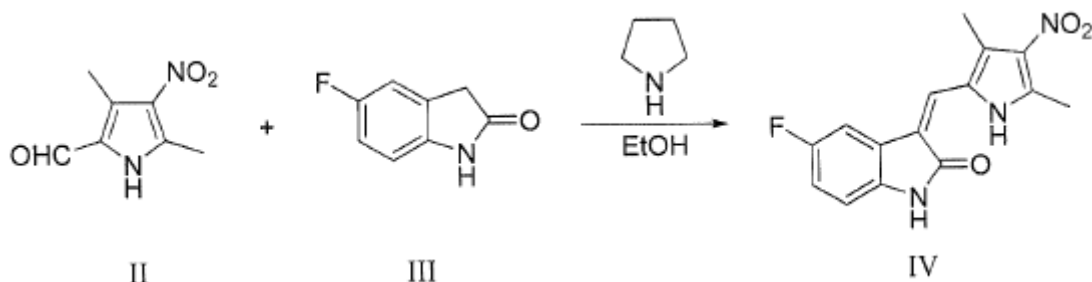


10

Específicamente, disolver 3,5-dimetil-2-pirrolaldehído mostrado en la fórmula estructural I en ácido sulfúrico concentrado, reducir la temperatura a aproximadamente -10°C , luego añadir KNO_3 , y permitir que la reacción continúe mientras se mantiene la temperatura; una vez completada la reacción, agregar en agua fría, seguido de agitación vigorosa y filtración, para obtener el compuesto II, que se recrystaliza a continuación para producir un producto puro;

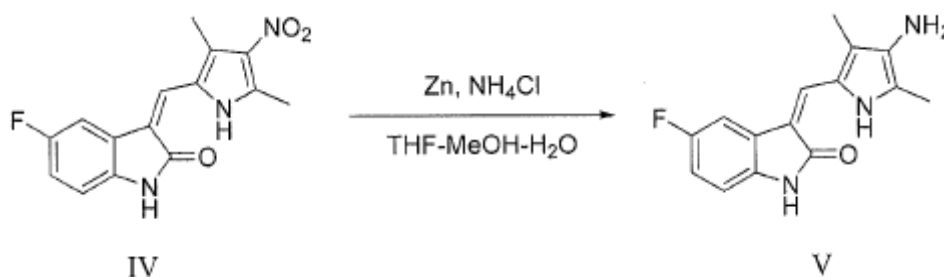
15

(b) condensar 3,5-dimetil-4-nitro-2-pirrolaldehído mostrado en la fórmula estructural II con 5-fluoroindolona mostrada en la fórmula estructural III bajo la catálisis de pirrolidina, para producir un compuesto mostrado en la fórmula estructural IV:



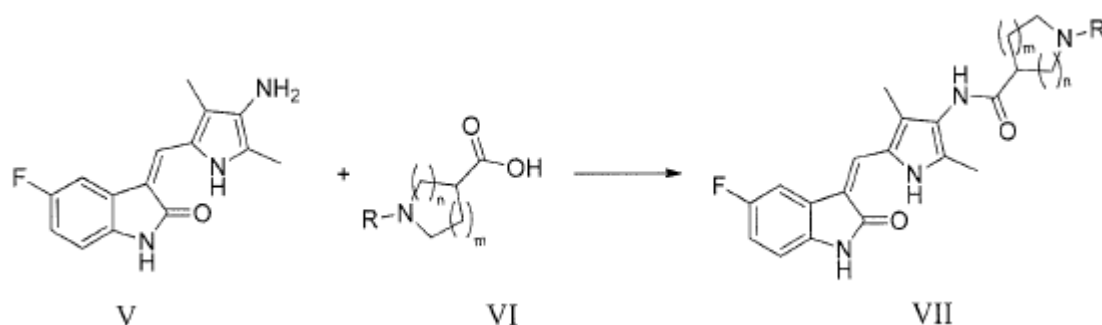
5 Específicamente, añadir 3,5-dimetil-4-nitro-2-pirrolaldehído mostrado en la fórmula estructural II a etanol, elevar la temperatura a 50°C, añadir a continuación 5-fluoroindolona mostrada en la fórmula estructural III, y dejar que proceda la reacción mientras mantiene la temperatura; una vez completada la reacción, realizar la filtración para obtener un producto puro del compuesto IV;

10 (c) reducir el compuesto mostrado en la fórmula estructural IV con polvo de zinc para producir un compuesto mostrado en la fórmula estructural V:



15 Específicamente, disolver el compuesto mostrado en la fórmula estructural IV en una solución mixta de tetrahidrofurano, agua y metanol, elevar la temperatura a 50°C, añadir cloruro de amonio saturado y polvo de cinc, y permitir que la reacción continúe mientras se mantiene la temperatura; una vez completada la reacción, evaporar el disolvente y realizar la extracción con acetato de etilo para obtener un producto puro del compuesto V;

(d) condensar el compuesto mostrado en la fórmula estructural V con un ácido correspondiente VI para producir un compuesto mostrado en la fórmula estructural VII:



20 Específicamente, disolver el compuesto mostrado en la fórmula estructural V en tetrahidrofurano, añadir un álcali (DIPEA, DMAP, piridina o similar) y un agente de condensación (EDCI, DCC o similar) a temperatura ambiente, y dejar que transcurra la reacción mientras se mantiene la temperatura; una vez completada la reacción, evaporar el disolvente para obtener un producto bruto del compuesto mostrado en la fórmula estructural VII, lavarlo con agua, seguido de aclarado con un disolvente (acetato de etilo, metanol o similar), para obtener un producto puro del compuesto VII.

25 Según la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más derivados de indolona sustituidos con pirrol mostrados en la fórmula general

(I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y la composición puede comprender además productos auxiliares farmacéuticamente convencionales tales como excipientes, edulcorantes y similares.

- Los derivados de indolona sustituidos con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según la presente invención tienen actividad inhibidora de tirosina cinasas, y pueden usarse en la fabricación de un medicamento para tratar tumores producidos por la expresión anormal de tirosina cinasas. Es decir, los derivados de indolona sustituidos con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según la presente invención se pueden usar para tratar tumores en los que interviene tirosina cinasa e inhibir el crecimiento celular de tumores de interés, que incluye administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de los derivados de indolona sustituidos con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables a un paciente. Los derivados de indolona sustituidos con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden usar para fabricar un medicamento para tratar tumores en los que interviene tirosina cinasa e inhibir el crecimiento celular de tumores de interés.

Efectos beneficiosos

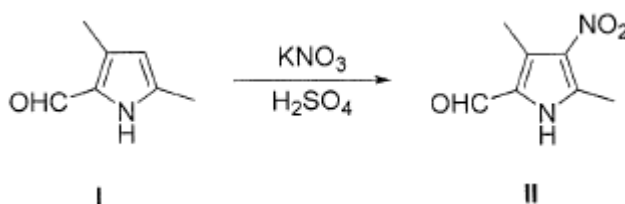
- Los derivados de indolona sustituidos con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables preparados según la presente invención presentan inhibición de muchas tirosina cinasas, y pueden inhibir el crecimiento tumoral como se demuestra generalmente en experimentos con animales. Particularmente, los derivados de indolona sustituidos con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según la presente invención tienen un nivel muy bajo de efectos secundarios tóxicos. Estos compuestos pueden usarse para tratar muchas enfermedades tumorales. Los compuestos según la invención son simples de sintetizar, fáciles de preparar y pueden sintetizarse a partir de materias primas ampliamente disponibles.

20 Descripción detallada de la invención

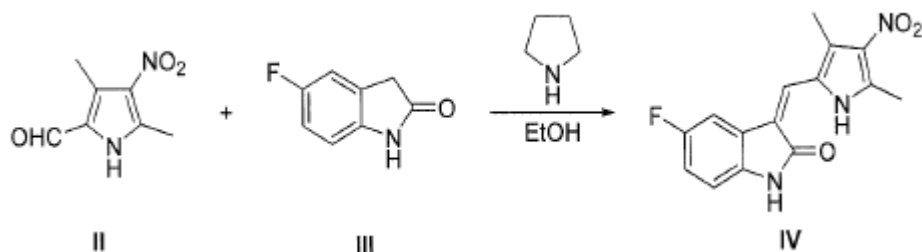
La presente invención se describirá con más detalle a continuación junto con ejemplos específicos, pero no se limita a esto.

- En los ejemplos de preparación siguientes, se determinó la ¹H-RMN con el aparato AMX300, 400, 500 de Varian Mercury; se determinó la MS con VG ZAB-HS o VG-7070 y Esquire 3000 plus-01005; todos los solventes se redistilaron antes de su uso; todos los disolventes anhidros usados se obtuvieron mediante secado según métodos normalizados; a menos que se indique lo contrario, todas las reacciones se llevaron a cabo bajo la protección de argón y se rastrearón con TLC; se realizaron tratamientos posteriores lavando con una solución saturada de NaCl y secando con MgSO₄ anhidro; a menos que se indique lo contrario, los productos se purificaron por cromatografía en columna de gel de sílice donde el gel de sílice es GF₂₅₄ de malla 200 a 300 fabricado por Qingdao Haiyang Chemical Co., Ltd. o Yantai Yuanbo Silica Gel Company.

Ejemplo de preparación 1: Preparación del compuesto 1



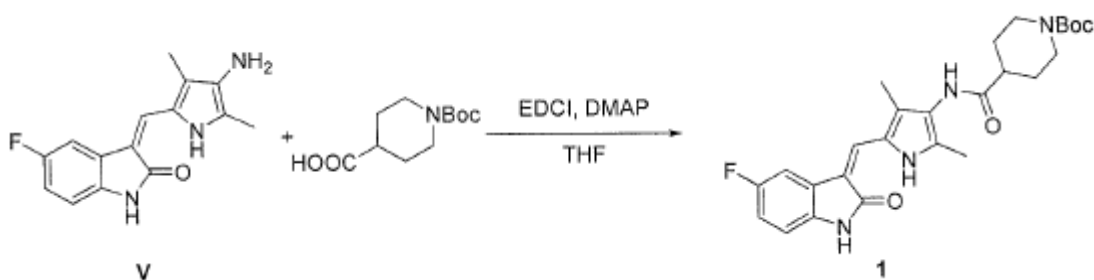
- Se disolvió 3,5-dimetil-2-pirroléaldehído I como materia prima (5 g, 40 mmol) en 60 ml de ácido sulfúrico concentrado, a continuación se redujo la temperatura del sistema a -10°C, temperatura a la cual se añadió lentamente KNO₃ (4,35 g, 42 mmol) en lotes durante aproximadamente 2 h, durante las cuales la temperatura se mantuvo a -10°C, y la solución se agitó más durante aproximadamente 2 h a esta temperatura una vez completada la adición de KNO₃. Una vez completada la reacción según lo indicado por TLC, la solución resultante se añadió a 1 l de agua con hielo, y se extrajo dos veces con un total de 1 l de acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con una solución saturada de NaCl, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró. A continuación, los disolventes orgánicos se eliminaron por evaporación a presión reducida para obtener 7 g de producto en bruto, que se añadió a 10-20 ml de acetato de etilo, seguido de agitación vigorosa, para obtener 5 g de producto puro del compuesto deseado II.



- El compuesto II (1,68 g, 10 mmol) y el compuesto III (1,8 g, 12 mmol) se añadieron a 50 ml de etanol anhidro, y se le agregó tetrahidropirrol (850 mg, 12 mmol) a temperatura ambiente. El sistema se volvió amarillo tras la adición. La temperatura se elevó a 50°C, y la reacción se dejó avanzar durante 2 horas a esta temperatura. Una vez completada la reacción, el sistema se filtró directamente, y la torta del filtro se lavó con un pequeño volumen de etanol y acetato de etilo, para obtener 2,7 g del producto puro del compuesto deseado IV. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,14 (s, 1H), 7,88 (dd, $J = 9,2, 2,4$ Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,05-6,97 (m, 1H), 6,88 (dd, $J = 8,5, 4,5$ Hz, 1H), 2,64 (s, 3H), 2,58 (s, 3H).

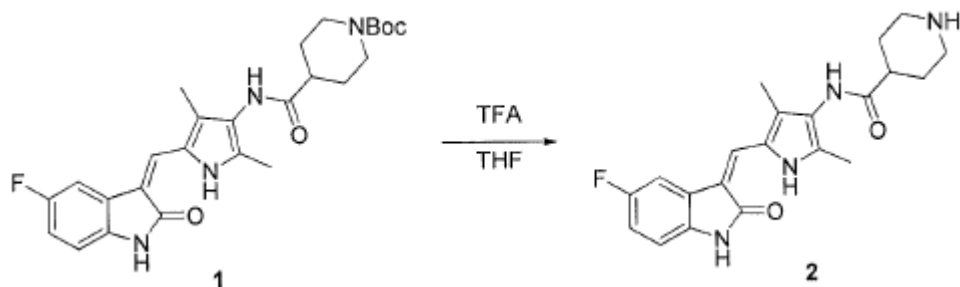


- El compuesto IV (900 mg, 3 mmol) se colocó en un matraz de dos bocas de 500 ml y luego se añadieron 200 ml de tetrahidrofurano, 100 ml de metanol, 60 ml de agua y 60 ml de solución saturada de cloruro de amonio. A continuación la temperatura se elevó a 50°C, y se añadió polvo de cinc (1,8 g, 30 mmol) en agitación, seguido de 2 horas de reacción en esta condición, durante la cual el sistema se volvió transparente primero y luego turbio. Una vez el sistema se volvió turbio, la terminación de la reacción vino indicada por LC-MS. Una vez completada la reacción, el disolvente se eliminó por evaporación. El sistema se ajustó para que fuera alcalino con una solución saturada de carbonato de sodio y se extrajo dos veces con un total de 2 l de acetato de etilo. La capa de acetato de etilo se lavó con una solución saturada de NaCl, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró. A continuación los disolventes orgánicos se eliminaron por evaporación a presión reducida para obtener el compuesto deseado V (800 mg).



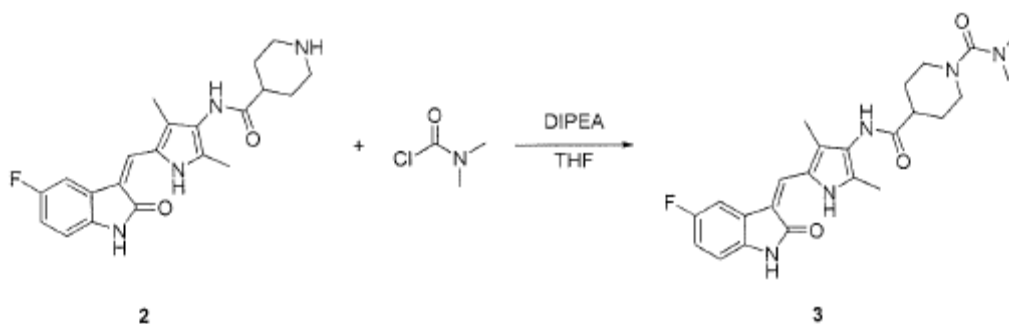
- El compuesto V (270 mg, 1 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (20 ml), y se añadieron a éste ácido a temperatura ambiente 4-piperidinacarboxílico protegido con Boc (270 mg, 1,2 mmol), EDCI (220 mg, 1,1 mmol), DIPEA (260 mg, 2 mmol) y una cantidad catalítica de DMAP. Después de la adición, la reacción se dejó seguir a temperatura ambiente durante aproximadamente 8 h, y su terminación vino indicada por TLC. Una vez completada la reacción, la solución de tetrahidrofurano se separó por evaporación, y se añadieron un gran volumen de acetato de etilo y agua para el reparto, seguido de filtración para obtener un producto en bruto del compuesto deseado. El producto en bruto se lavó con metanol para obtener un producto puro del compuesto 1. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13,59 (s, 1H), 10,83 (s, 1H), 9,12 (s, 1H), 7,71 (dd, $J = 9,5, 2,6$ Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,93-6,86 (m, 1H), 6,86-6,81 (m, 1H), 3,99-3,95 (m, 2H), 3,10-2,94 (m, 1H), 2,79-2,75 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 1,82-1,78 (m, 2H), 1,55-1,45 (m, 2H), 1,41 (s, 9H).

Ejemplo de preparación 2: Preparación del compuesto 2



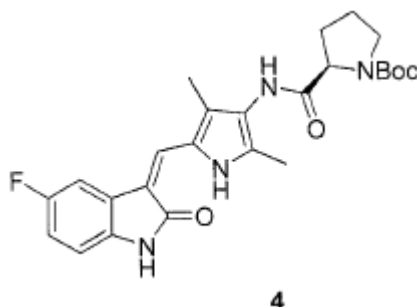
Se añadió el compuesto 1 (480 mg, 1 mmol) a 10 ml de tetrahidrofurano, y se agregaron 10 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente. A continuación, la temperatura se elevó a 50°C y se dejó proseguir la reacción durante aproximadamente 2 h, cuya finalización se indicó por LC-MS. Una vez completada la reacción, la mayor parte de la solución se separó por evaporación, y el resto se neutralizó con una solución saturada de carbonato de sodio, seguido de filtración para obtener un producto en bruto. El producto en bruto se enjuagó con acetato de etilo y metanol para obtener un producto puro del compuesto 2. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,60 (s, 1 H), 10,85 (s, 1 H), 9,26 (s, 1 H), 7,71 (dd, *J* = 9,5, 2,4 Hz, 1 H), 7,67 (s, 1 H), 6,94-6,86 (m, 1H), 6,87-6,83 (m, 1H), 3,34 (d, *J* = 12,3 Hz, 2H), 3,06-2,89 (m, 2H), 2,74-2,59 (m, 1H), 2,18 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,05-1,94 (m, 2H), 1,89-1,74 (m, 2H).

Ejemplo de preparación 3: Preparación del compuesto 3



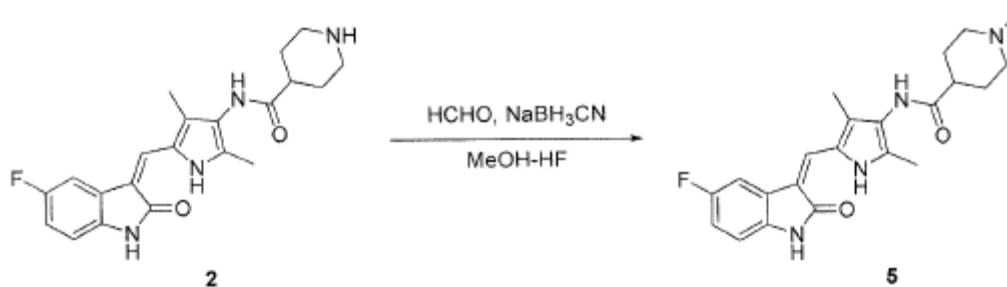
Se añadió el compuesto 2 (383 mg, 1 mmol) a 20 ml de tetrahidrofurano, y se le agregaron DIPEA (260 mg, 2 mmol) y cloruro de dimetilcarbamoilo (214 mg, 2 mmol) a temperatura ambiente. A continuación, se dejó continuar la reacción durante aproximadamente 12 h, y se completó casi como se indica por TLC. Una vez completada la reacción, se eliminaron por evaporación los disolventes, y el sólido se enjuagó con 20 ml de acetato de etilo y 10 ml de metanol, para obtener un producto puro del compuesto deseado 3. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,58 (s, 1H), 10,82 (s, 1H), 9,10 (s, 1H), 7,70 (dd, *J* = 9,5, 2,5 Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,95-6,86 (m, 1H), 6,85-6,77 (m, 1H), 3,87-3,70 (m, 1H), 3,63-3,54 (m, 2H), 2,86-2,58 (m, 8H), 2,18 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 1,85-1,76 (m, 2H), 1,71-1,55 (m, 2H).

20 Ejemplo de preparación 4: Preparación del compuesto 4



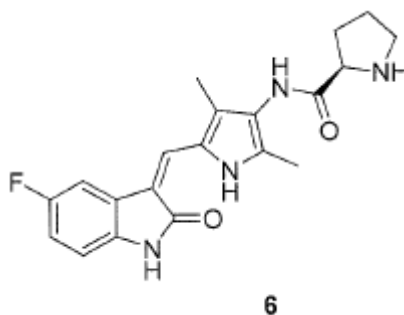
El protocolo fue el mismo que para el método de síntesis 1 anterior, excepto que se usó una prolina protegida con Boc en lugar de ácido piperidincarboxílico protegido con Boc para obtener el compuesto deseado 4. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 13,59 (s, 0,6H), 13,58 (s, 0,4H), 10,84 (s, 1H), 9,20 (s, 0,6H), 9,13 (s, 0,4H), 7,70 (dd, *J* = 9,5, 2,5 Hz, 1H), 7,66 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 6,89 (dd, *J* = 12,5, 5,5 Hz, 1H), 6,83 (dd, *J* = 8,4, 4,7 Hz, 1H), 4,38-4,15 (m, 1H), 3,52-3,41 (m, 1H), 3,35-3,28 (m, 1H), 2,35-2,22 (m, 1H), 2,21 (s, 2H), 2,18 (s, 3H), 2,16 (s, 1H), 1,98-1,79 (m, 3H), 1,43 (s, 3H), 1,39 (s, 6H) (el sustituyente Boc no puede rotar libremente para producir un isómero).

Ejemplo de preparación 5: Preparación del compuesto 5



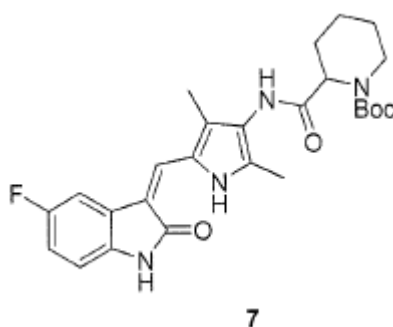
Se añadió el compuesto 2 (383 mg, 1 mmol) a 20 ml de disolvente mixto (1:1) de tetrahidrofurano y metanol, y una solución acuosa de formaldehído (500 mg, 5 mmol) y cianoborohidruro sódico (120 mg, 2 mmol) se añadieron al mismo a temperatura ambiente. Después de la adición, se dejó continuar la reacción durante 12 h, y su proceso se controló por TLC. Una vez completada la reacción, los disolventes se separaron por evaporación y el compuesto deseado **5** se obtuvo por cromatografía en columna. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 13,58 (s, 1H), 10,83 (s, 1H), 9,05 (s, 1H), 7,70 (dd, $J = 9,5, 2,4$ Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,93-6,86 (m, 1 H), 6,85-6,80 (m, 1 H), 2,87-2,77 (m, 2 H), 2,36-2,21 (m, 1 H), 2,17 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 1,94-1,59 (m, 6H).

10 Ejemplo de preparación 6: Preparación del compuesto 6



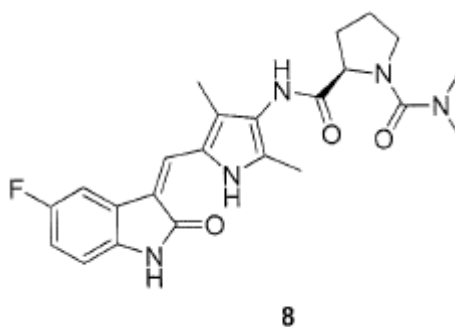
La síntesis del compuesto 6 era la misma que para el compuesto 2, excepto que se utilizó el compuesto 4 en lugar del compuesto 1 para obtener el compuesto deseado **6**. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 13,60 (s, 1H), 10,83 (s, 1H), 9,23 (s, 1H), 7,71 (dd, $J = 9,3, 2,4$ Hz, 1H), 7,67 (s, 1H), 6,93-6,87 (m, 1H), 6,83 (dd, $J = 8,4, 4,6$ Hz, 1H), 3,70 (dd, $J = 8,7, 5,5$ Hz, 1H), 2,91 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H), 2,18 (s, 2H), 2,16 (s, 2H), 2,10 -1,98 (m, 1H), 1,85-1,74 (m, 1H), 1,72-1,63 (m, 2H).

Ejemplo de preparación 7: Preparación del compuesto 7



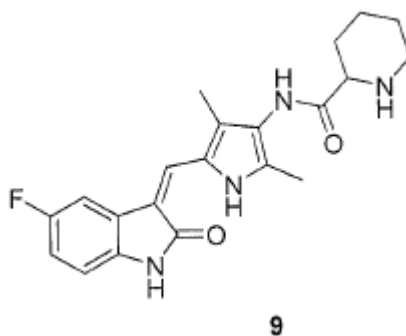
La síntesis del compuesto 7 fue la misma que para el compuesto 1, excepto que se utilizó ácido 2-piperidinacarboxílico protegido con Boc en lugar de ácido 4-piperidinacarboxílico protegido con Boc para obtener el compuesto deseado **7**. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 13,60 (s, 1H), 10,84 (s, 1H), 9,16 (s, 1H), 7,71 (dd, $J = 9,5, 2,5$ Hz, 1H), 7,67 (s, 1H), 6,94-6,87 (m, 1H), 6,85-6,81 (m, 1H), 4,79-4,63 (m, 1 H), 3,87-3,75 (m, 1H), 3,30-3,09 (m, 1H), 2,19 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,81-1,59 (m, 3H), 1,41 (s, 9H), 1,44-1,22 (m, 3H).

Ejemplo de preparación 8: Preparación del compuesto 8



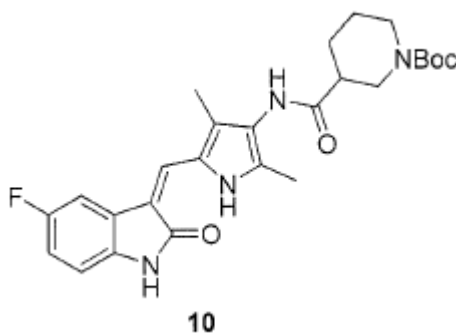
La síntesis del compuesto 8 fue la mismo que para el compuesto 3, excepto que se utilizó el compuesto 4 en lugar del compuesto 2 para obtener el compuesto deseado **8**. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 13,59 (s, 1H) , 10,84 (s, 1H), 8,99 (s, 2H), 7,74-7,68 (m, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,93-6,86 (m, 1H), 6,83 (dd, $J = 8,4, 4,6$ Hz , 1H), 4,39 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 3,60-3,44 (m, 1H), 3,43-3,37 (m, 1H), 2,80 (s, 6H), 2,28-2,20 (m, 1H), 2,16 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 1,97-1,88 (m, 1H), 1,87-1,70 (m, 2H).

Ejemplo de preparación 9: Preparación del compuesto 9



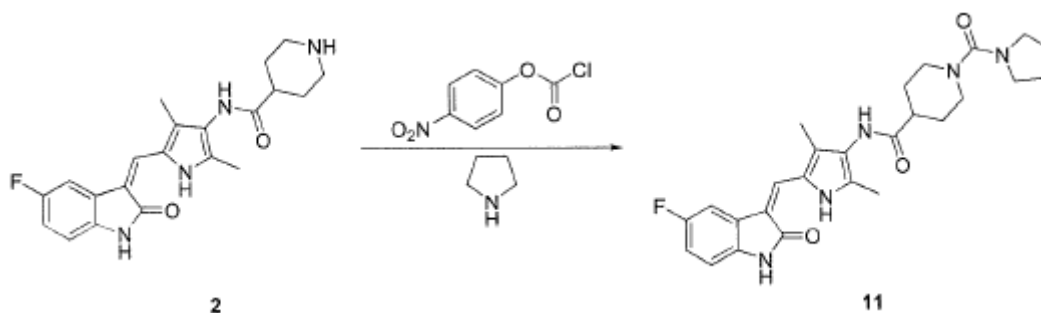
10 La síntesis del compuesto 8 fue la misma que para el compuesto 3, excepto que se utilizó el compuesto 4 en lugar del compuesto 2 para obtener el compuesto deseado **9**. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 13,59 (s, 1H) , 10,83 (s, 1H), 8,97 (s, 1H), 7,70 (dd, $J = 9,6, 2,5$ Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,92-6,86 (m, 1H), 6,84-6,81 (m , 1H), 3,30-3,25 (m, 1H), 2,99 (d, $J = 13,2$ Hz, 1H), 2,60 (t, $J = 11,3$ Hz, 1H), 2,18 (s, 2H), 2,16 (s, 2H) , 1,91-1,73 (m, 2H), 1,56-1,33 (m, 4H).

15 Ejemplo de preparación 10: Preparación del compuesto 10



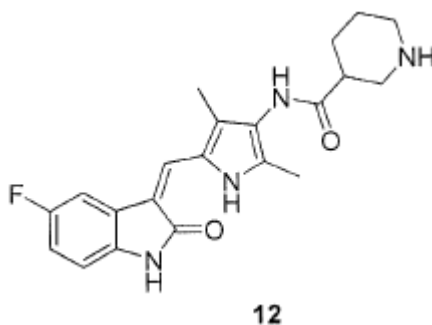
La síntesis del compuesto 10 fue la misma que para el compuesto 3, excepto que se utilizó el compuesto 4 en lugar del compuesto 2 para obtener el compuesto deseado **10**. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 13,59 (s, 1H) , 10,83 (s, 1H), 9,20 (s, 1H), 7,71 (dd, $J = 9,4, 2,5$ Hz, 1H), 7,67 (s, 1H), 6,89 (dd, $J = 13,8, 6,7$ Hz, 1H), 6,86-6,82 (m, 1H), 4,13-4,02 (m, 1H), 3,89 (d, $J = 13,1$ Hz, 1H), 2,94-2,72 (m, 2H), 2,48-2,41 (m, 1H), 2,18 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,01-1,94 (m, 1H), 1,73-1,57 (m, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,39-1,24 (m, 1H).

Ejemplo de preparación 11: Preparación del compuesto 11



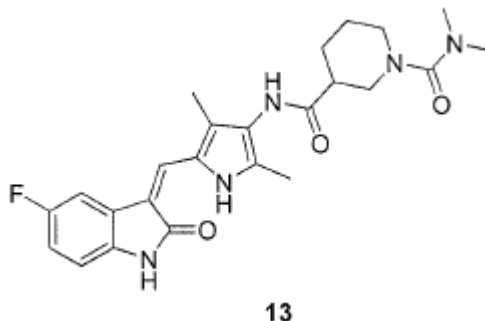
Se añadió el compuesto 2 (383 mg, 1 mmol) a 20 ml de tetrahidrofurano, y se le agregaron DIPEA (260 mg, 2 mmol) y cloroformiato de p-nitrofenilo (240 mg, 1,2 mmol) a temperatura ambiente. Después de la adición, se dejó seguir la reacción durante aproximadamente 12 h, y casi se completó como se indica por TLC. Una vez completada la reacción, se añadieron tetrahidropirrol (142 mg, 2 mmol) y una cantidad en exceso de DIPEA (260 mg, 2 mmol), seguido de una reacción adicional durante no menos de 12 h, que se controló por TLC. Una vez completada la reacción, los disolventes se eliminaron por evaporación, y el sólido se enjuagó con 20 ml de acetato de etilo y 10 ml de metanol, para obtener un producto puro del compuesto deseado **11**. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,58 (s, 1H), 10,82 (s, 1H), 9,09 (s, 1H), 7,70 (dd, *J* = 9,4, 2,5 Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,93-6,86 (m, 1H), 6,83 (dd, *J* = 8,5, 4,6 Hz, 1H), 3,70 (d, *J* = 13,5 Hz, 2H), 3,27 (t, *J* = 6,4 Hz, 4H), 2,73 (t, *J* = 11,6 Hz, 1H), 2,18 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 1,86-1,71 (m, 6H), 1,67-1,54 (m, 2H).

Ejemplo de preparación 12: Preparación del compuesto 12



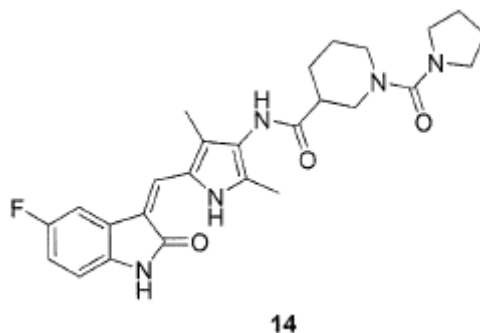
La síntesis del compuesto 12 fue la misma que para el compuesto 2, excepto que se usó el compuesto 10 en lugar del compuesto 1 para obtener el compuesto deseado **12**. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,59 (s, 1H), 10,90 (s, 1H), 9,17 (s, 0H), 7,69 (dd, *J* = 9,4, 2,4 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 6,94-6,82 (m, 2H), 3,67-3,52 (m, 2H), 3,15-2,56 (m, 3H), 2,45 (d, *J* = 10,0 Hz, 2H), 2,17 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 1,89 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 1,61 (d, *J* = 10,4 Hz, 2H), 1,42 (s, 1H).

Ejemplo de preparación 13: Preparación del compuesto 13



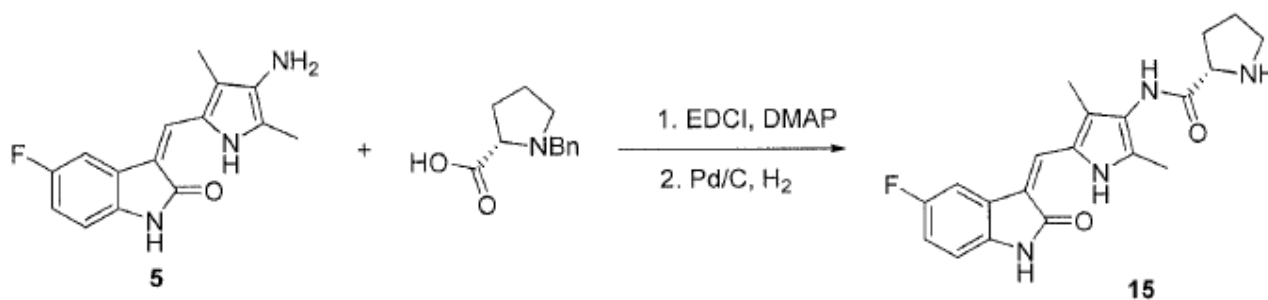
La síntesis del compuesto 13 fue la misma que para el compuesto 3, excepto que se usó el compuesto 12 en lugar del compuesto 2 para obtener el compuesto deseado **13**. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,59 (s, 1H), 10,83 (s, 1H), 9,18 (s, 1H), 7,71 (dd, *J* = 9,4, 2,4 Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,89 (dd, *J* = 9,2, 2,4 Hz, 1H), 6,86-6,80 (m, 1H), 3,72-3,59 (m, 1H), 3,51 (d, *J* = 13,2 Hz, 1H), 2,90-2,81 (m, 1H), 2,78-2,68 (m, 7H), 2,64-2,55 (m, 1H), 2,18 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 1,97 (d, *J* = 14,9 Hz, 1H), 1,73-1,57 (m, 2H), 1,53-1,38 (m, 1H).

Ejemplo de preparación 14: Preparación del compuesto 14



La síntesis del compuesto 14 fue la misma que para el compuesto 11, excepto que se usó el compuesto 12 en lugar del compuesto 2, para obtener el compuesto deseado **14**. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 13,59 (s, 1H), 10,83 (s, 1H), 9,18 (s, 1H), 7,71 (dd, $J = 9,4, 2,5$ Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,93-6,86 (m, 1H), 6,83 (dd, $J = 8,4, 4,8$ Hz, 1H), 3,75 (d, $J = 12,7$ Hz, 1H), 3,61 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H), 3,28 (s, 4H), 2,90-2,81 (m, 1H), 2,73 (t, $J = 11,4$ Hz, 1H), 2,60-2,50 (m, 1H), 2,06-1,91 (m, 1H), 1,76 (s, 4H), 1,74-1,59 (m, 2H), 1,55-1,39 (m, 1H).

Ejemplo de preparación 15: Preparación del compuesto 15



La síntesis en este procedimiento fue la misma que para el compuesto 6, excepto que se utilizó prolina D-N-Bn en lugar de la prolina L-N-Bn para obtener el compuesto deseado. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 13,60 (s, 1H), 10,83 (s, 1H), 9,23 (s, 1H), 7,71 (dd, $J = 9,3, 2,4$ Hz, 1H), 7,67 (s, 1H), 6,93-6,87 (m, 1H), 6,83 (dd, $J = 8,4, 4,6$ Hz, 1H), 3,70 (dd, $J = 8,7, 5,5$ Hz, 1H), 2,91 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H), 2,18 (s, 2H), 2,16 (s, 2H), 2,10-1,98 (m, 1H), 1,85-1,74 (m, 1H), 1,72-1,63 (m, 2H).

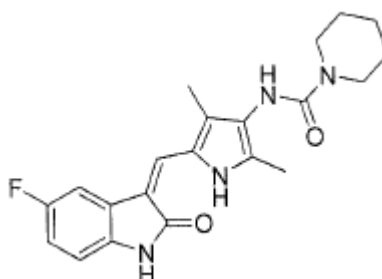
Ejemplo de preparación 16: Preparación del hidrocloreto del compuesto 6

15 Se diluyeron 0,5 ml de solución saturada de HCl en etanol 10 veces con etanol anhidro, y se añadió a ésta el compuesto 6 (368 mg, 1 mmol), seguido de agitación durante 5 a 10 minutos. La solución de reacción se concentró a presión reducida, se lavó con un pequeño volumen de metanol, y luego se obtuvo hidrocloreto del compuesto 6.

Los hidrocloreto de todos los demás compuestos se pueden preparar por el método anterior, en el que el compuesto correspondiente reacciona con una solución diluida de HCl en etanol.

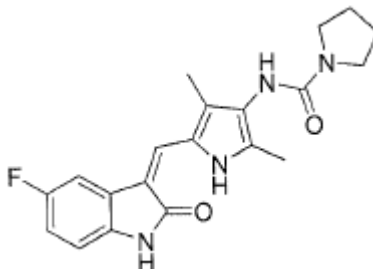
20 Con referencia a los ejemplos de preparación anteriores para derivados de indolona sustituidos con pirrol, también se pueden preparar otros derivados de este tipo mediante el método anterior.

El solicitante también sintetizó los siguientes compuestos comparativos 1-3 por métodos similares a los anteriores o por otros métodos bien conocidos en la técnica.



Compuesto comparativo 1

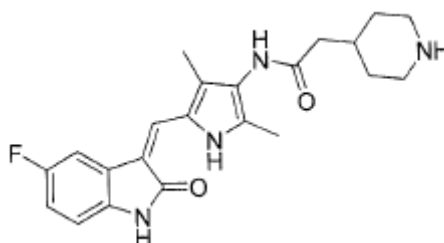
El compuesto comparativo 1 es el mismo que el compuesto 2, excepto que el piperidinilo en el lado derecho está unido al carbonilo por su átomo de N.



5

Compuesto comparativo 2

El compuesto comparativo 2 es el mismo que el compuesto 6, excepto que el pirrolidinilo en el lado derecho está unido al carbonilo por su átomo de N.



Compuesto comparativo 3

10 El compuesto comparativo 3 es el mismo que el compuesto 2, excepto que el piperidinilo en el lado derecho está unido al carbonilo por un grupo metileno.

Ejemplos

La presente invención se describirá con más detalle a continuación junto con ejemplos específicos, pero estos ejemplos no deben interpretarse como restrictivos de la presente invención.

15 Ejemplo experimental 1: Ensayo *in vitro* de actividad bioquímica en KDR tirosina cinasa

La actividad inhibidora *in vitro* de los compuestos en KDR (receptor de VEGF) tirosina cinasa se ensayó por el método HTRF (fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo). Se añadió una mezcla de un tampón de cinasa, el compuesto de la prueba o sunitinib, el sustrato y una solución de ATP a un volumen final de 10 µl en una placa de 384 pocillos, que se incubó a temperatura ambiente durante un período apropiado. Se añadieron 10 µl de SA-XL665 y un anticuerpo TK a cada pocillo, que se incubó a temperatura ambiente durante 1 h y se leyó con Synergy2.

20

Los resultados demostraron que todos los compuestos en los ejemplos anteriores tenían una actividad inhibidora significativa sobre KDR a las concentraciones de 0,1 M y 1 M, y los compuestos 3, 6, 8, 9, 11 y 13 eran similares a sunitinib en actividad.

Tabla 1. Actividad inhibidora *in vitro* de compuestos de ejemplo en KDR

	IC ₅₀ (nM)
2	290
3	78
5	141
6	83
8	66

9	89
11	74
12	142
13	77
14	143
15	65
Sunitinib	62
Estaurosporina*	8,14

* La estaurosporina se utilizó como referencia positiva.

Ejemplo experimental 2: Ensayos de citotoxicidad a HUVEC y actividad sobre la proliferación *in vitro* inducida por VEGF de células HUVEC

Ensayos de actividad inhibidora sobre la proliferación inducida por VEGF de la estirpe de células epiteliales de las venas umbilicales humanas (HUVEC): las HUVEC se cultivaron en F-12K que contenía 10% de SFB, 18 u/ml de heparina y 30 g/ml de ECG, y las HUVEC en 4-8 pases se seleccionaron para el experimento. Las células se digirieron con pancreatina, se volvieron a poner en suspensión en medio de cultivo (1×10^5 /ml), y se añadieron a una placa de 96 pocillos con 100 μ l/pocillo, para cultivo adherente durante la noche. El cultivo se reemplazó por una solución de cultivo F-12K que contenía FBS al 5% y las células se cultivaron durante 24 h. Se añadió una solución de cultivo FBS F-12K al 5% que contenía el compuesto de prueba, sunitinib o una referencia y se incubó durante 30 minutos. Se añadió una solución de cultivo FBS F-12K al 0,1% que contenía VEGF165 a una concentración final de 30 ng/ml o el vehículo (DMSO) y las células se cultivaron bajo inducción durante 72 h. La solución de cultivo se eliminó pipeteando y se añadieron 120 μ l de solución de ensayo MTS a cada pocillo, que se incubó a 37°C. Se leyó la DO₄₉₀. El grupo tratado con una solución de cultivo FBS F-12K al 5% sirvió como referencia negativa. El valor de crecimiento estimulado por VEGF se obtuvo restando la DO del grupo de referencia negativa de la DO del grupo estimulado con VEGF165, y se usó para el cálculo de la inhibición. Se dibujó una curva de dosis-efecto usando el programa GraphPad Prism, y se calculó concentración efectiva media (CE₅₀).

Ensayos de citotoxicidad: las HUVEC anteriores se cultivaron en un medio de cultivo F-12K que contenía 10% de suero bovino fetal (FBS), 100 U/ml de penicilina, 100 μ g/ml de estreptomycin, 30 μ g/ml de ECGS y 18 u/ml de heparina. Las HUVEC que crecen en la fase exponencial se digirieron con pancreatina, y se ajustaron para tener un nivel apropiado de densidad celular utilizando un medio completo F-12K que contenía FBS al 5%, luego se inocularon 150 μ l de células en una placa de 96 pocillos a razón de 3.000 células/pocillo. 24 horas después, se añadieron 50 μ l del compuesto de prueba diluido 4 veces en un medio completo que contenía FBS al 5%, y se usó como referencia el mismo volumen de una solución diluida de DMSO. Después de cultivar las células durante 72 h más, se añadieron 20 μ l de MTS y 1 μ l de PMS a cada pocillo. 1-2 horas después, se midió la DO₄₉₀, con DO₆₅₀ como referencia. Se dibujó una curva de dosis-efecto usando el programa GraphPad Prism, y se calculó la concentración citotóxica media (CC₅₀). Se calculó el índice terapéutico (TI) del compuesto de prueba en HUVEC como $TI = CC_{50}/EC_{50}$.

Los resultados mostraron que todos los compuestos de ejemplo pueden inhibir significativamente la proliferación de las HUVEC estimulada por VEGF, con una actividad menor que la de sunitinib. Algunos de los compuestos (compuestos 2, 3, 5, 6, 8, 11, 13, 14 y 15), sin embargo, mostraron citotoxicidad a HUVEC considerablemente más baja que la de sunitinib. Los TI de los compuestos 2, 3, 5, 6, 8, 11, 14 y 15 fueron de 2 a 3 veces mayores que los de sunitinib, mostrando una ventana terapéutica mayor.

Para los compuestos comparativos 1 y 2, debido a que su anillo heterocíclico que contiene N en el extremo derecho está unido al carbonilo mediante un heteroátomo, su TI es básicamente igual que sunitinib y es significativamente menor que los de los compuestos de la presente invención. Para el compuesto comparativo 3, debido a que su anillo heterocíclico que contiene N en el extremo derecho está unido al carbonilo mediante un grupo metileno, su TI también es básicamente el mismo que el de sunitinib y es significativamente menor que los de los compuestos de la presente invención.

Tabla 2. Citotoxicidad para HUVEC, actividad sobre la proliferación *in vitro* inducida por VEGF e índice terapéutico de algunos compuestos.

Compuestos	CE ₅₀ (nM)	CC ₅₀ (nM)	TI = CC ₅₀ /EC ₅₀
2	16,15	> 20.000	> 1.238
3	13,74	> 20.000	> 1.456
5	18,43	> 20.000	> 1.085
6	13,35	17.566,77	1.316
8	11,35	> 20.000	> 1.762
11	13,93	> 20.000	> 1.436
14	13,04	> 20.000	> 1.534
15	14,21	17.732,12	1.247
Sunitinib	7,73	4.144,09	536
Compuesto comparativo 1	13,23	5.689,26	430
Compuesto comparativo 2	12,31	6.982,25	567
Compuesto comparativo 3	14,64	8.054,61	550

Ejemplo experimental 3: Ensayos de actividad inhibidora sobre la proliferación de la estirpe celular tumoral MV-4-11 procedente de seres humanos

5 La estirpe celular MV-4-11 de leucemia aguda procedente de seres humanos es una estirpe celular que tiene mutación o mutaciones en Flt-3. La actividad de antiproliferación *in vitro* de los compuestos en MV-4-11 se ensayó por el método MTS: las células que crecían en la fase exponencial se digirieron con pancreatina y se contaron; un número adecuado de células se volvió a poner en suspensión en una solución de cultivo, se añadió a una placa de 96 pocillos con 150 µl/pocillo, y se cultivó durante la noche; se añadió a cada pocillo una solución de cultivo de 50 µl que contenía un compuesto de prueba diluido en una etapa 4 veces o una referencia, seguido de un cultivo de 72 h; la solución de cultivo se eliminó pipeteando y se añadieron 120 µl de solución de ensayo MTS (100 µl de medio fresco y 20 µl de solución MTS) a cada pocillo, que se incubó a 37°C; se leyó la DO₄₉₀; y los datos se analizaron y procesaron usando el programa GraphPad Prism5, para calcular IC₅₀.

15 Los resultados demostraron que todos los compuestos ejemplares 1-15 tenían actividad de antiproliferación significativa en MV-4-11, y algunos de los compuestos tenían una actividad similar o mayor que la de sunitinib (ver la tabla a continuación). FLT-3 (tirosina cinasa 3 tipo FMS) es un receptor de tirosina cinasa de tipo III, ampliamente encontrada en los sistemas, el sistema inmunitario y el sistema nervioso. Las mutaciones en el gen FLT-3 y la sobreexpresión de FLT-3 producirían tumorigenia. La actividad de antiproliferación específica de los compuestos 1-15 en MV-4-11 también indica que los compuestos ejemplares son similares a sunitinib como inhibidor de FLT-3.

Tabla 3. Inhibición de algunos compuestos en la proliferación *in vitro* de la estirpe celular MV-4-11 de seres humanos.

Compuestos	IC ₅₀ (nM)	Inhibición máxima (%)
2	4,70	92,6
3	10,67	92,1
5	1,68	95,0
6	11,58	92,4
9	5,34	94,3
12	7,87	93,1
13	6,41	90,2
15	12,34	92,5
Sunitinib	3,94	94,4

Ejemplo experimental 4: Inhibición *in vivo* en el tumor trasplantado con MV-4-11 en ratones atímicos

Se cultivaron células MV-4-11 para proliferar *in vitro*, y las células que crecían en la fase exponencial se recogieron y se volvieron a poner en suspensión en un medio de cultivo EMEM sin suero. La suspensión celular se inyectó por vía subcutánea con una jeringuilla en la cavidad axilar de la extremidad anterior derecha de ratones atímicos Balb/c macho. Se observaron regularmente los animales y el crecimiento de tumores trasplantados. Cuando el volumen del tumor creció a aproximadamente 100 a 300 mm³, se seleccionaron los animales que tenían tumores de un tamaño adecuado y se distribuyeron al azar en grupos con 6 animales por grupo. A cada grupo se le administró por vía intragástrica un vehículo en blanco (CMC al 0,5%) o una suspensión del compuesto ejemplar 6 o sunitinib de ejemplo a una dosis de 80 mg/kg, una vez al día, durante un período de administración de 3 semanas. Durante el período de administración, se midió el diámetro de los tumores y el peso corporal (PC) de los animales, y se controló el estado vital de los animales. El experimento se terminó 3 semanas después de la administración, y los animales se sacrificaron con CO₂ y se sometieron a autopsia.

El volumen del tumor (VT) se calculó mediante la ecuación $VT = \frac{1}{2} \times a \times b^2$, en donde a es el diámetro mayor del tumor, y b es el diámetro más corto del tumor.

Los resultados demostraron que el día 21 de la administración intragástrica, los tumores en el grupo de referencia del vehículo habían crecido hasta casi 6 veces el volumen del original, mientras que los tumores en los grupos tratados con el compuesto 6 habían desaparecido por completo, y el compuesto 6 no tenía impacto significativo en el peso corporal de los animales. Aunque sunitinib también demostró un notable efecto antitumoral porque en la mayoría de los animales habían desaparecido sus tumores, el peso corporal de los animales se redujo significativamente y la toxicidad fue evidente.

Tabla 4. Inhibición del compuesto 6 en tumor trasplantado con MV-4-11 en ratones atímicos.

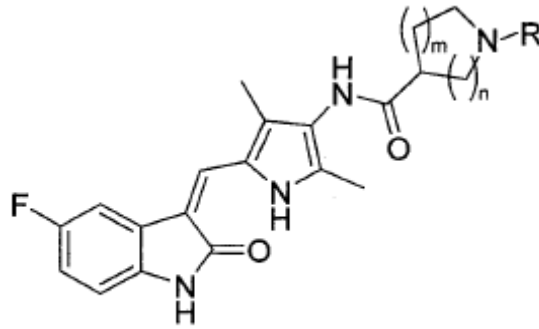
Grupo	Número de animales	Dosis (mg/kg)	D ₀		D ₂₁	
			VT	PC	VT	PC
Vehículo de referencia	6/6	—	243,76 ± 20,1	19,42 ± 0,08	1.443,81 ± 246,22	22,67 ± 0,48
Sunitinib	6/6	80	242,75 ± 20,58	19,47 ± 0,33	12,97 ± 2,47**	16,02 ± 0,56**
Compuesto 6	6/6	80	238,25 ± 13,18	20,42 ± 0,20	0,00 ± 0,00**	21,38 ± 0,37

** P <0,01 en comparación con la referencia del vehículo

Como se puede ver a partir de los resultados de los experimentos en tumores trasplantados con MV-4-11 en ratones atímicos, el compuesto 6 de la presente invención tiene un muy buen efecto inhibitor sobre tumores trasplantados con MV-4-11, porque una dosis de 80 mg/kg puede conducir a la desaparición completa de los tumores y tiene poco impacto en el peso corporal. Sunitinib reduce significativamente el peso corporal de los animales y presenta toxicidad obvia. Estos resultados demuestran que los compuestos de la presente invención tienen un efecto antitumoral comparable al del sunitinib, pero tienen menor toxicidad, una ventana terapéutica mayor y un valor superior en el desarrollo del fármaco.

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de indolona sustituido con pirrol con una estructura mostrada en la fórmula general (I) a continuación, compuesto 4, compuesto 6, compuesto 7, compuesto 8, compuesto 9 o compuesto 15, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables:



(I)

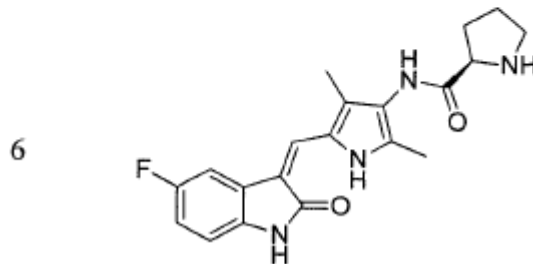
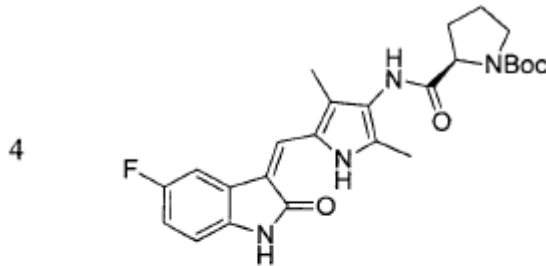
5

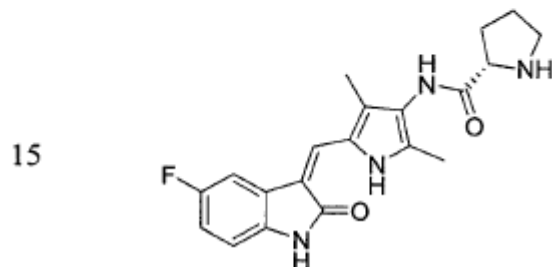
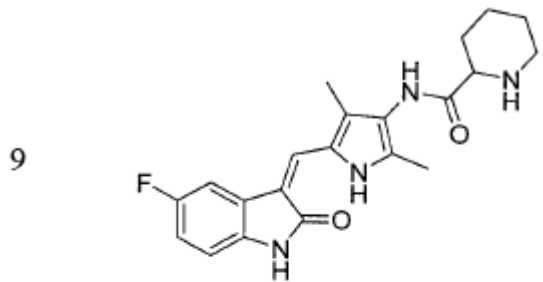
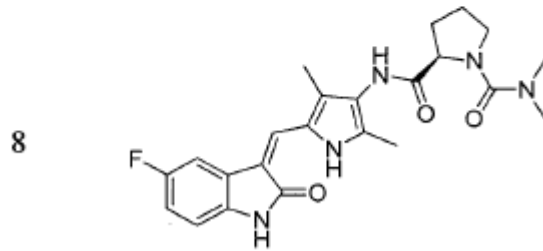
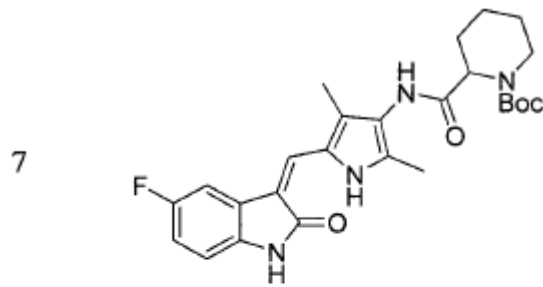
en donde m se selecciona de 0, 1 y 2;

n se selecciona de 1, 2 y 3; y

R se selecciona de hidrógeno, un alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado, un cicloalquilo C₃-C₇, carbonilo sustituido con un alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado, cicloalquil C₃-C₇ carbonilo, t-butoxicarbonilo, carbamoilo sustituido, o un carbamoilo

10 cíclico de 5 a 7 eslabones;

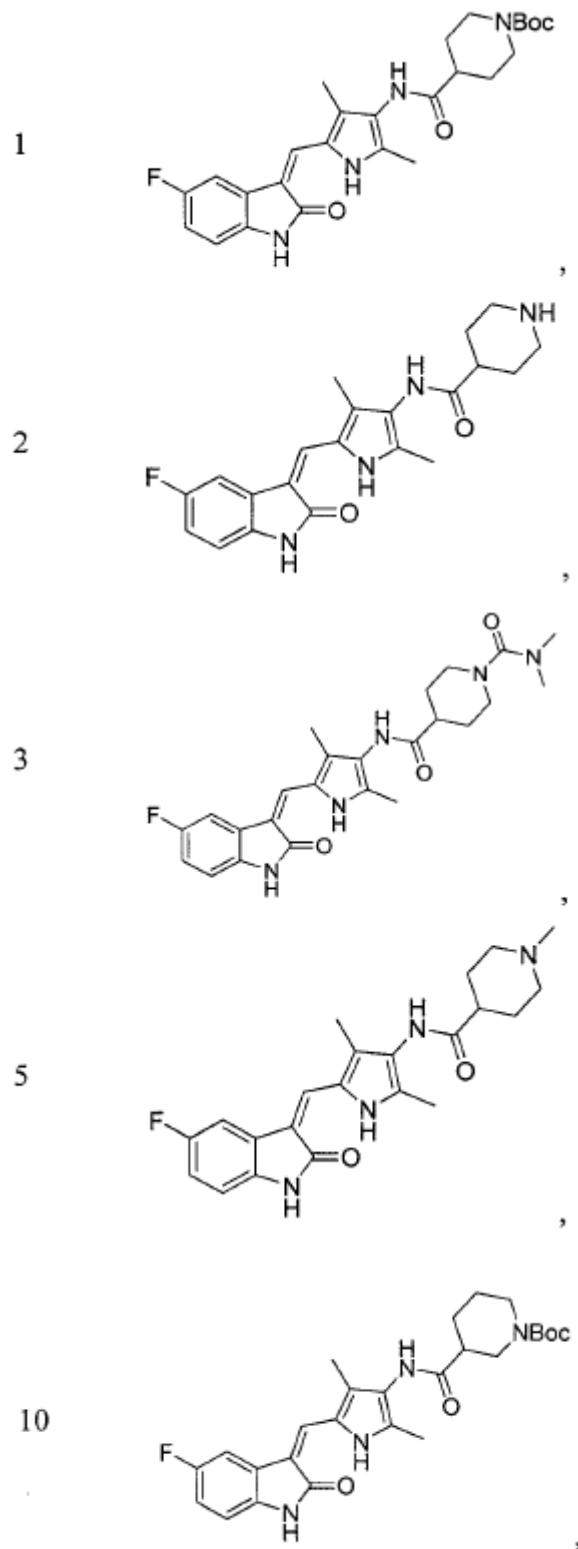


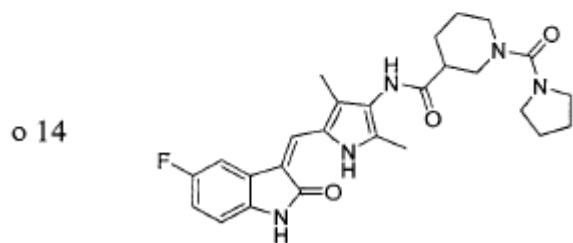
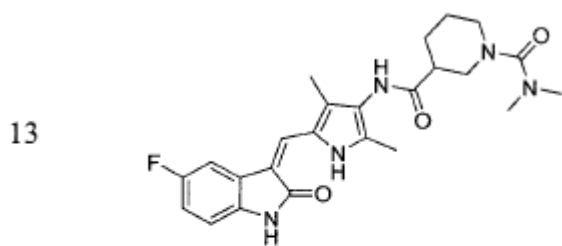
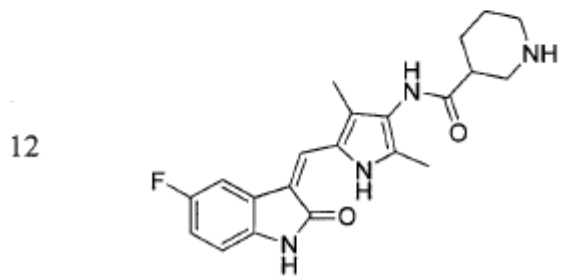
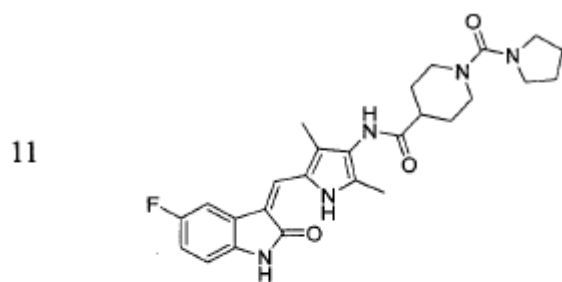


2. El derivado de indolona sustituido con pirrol según la reivindicación 1, en donde R se selecciona de hidrógeno, un alquilo C₁-C₃ lineal o ramificado, un cicloalquilo C₄-C₆, carbonilo sustituido con un alquilo C₁-C₃ lineal o ramificado, cicloalquilo C₃-C₆ carbonilo, t- butoxicarbonilo, N,N-dimetil carbamoilo, N,N-dietilcarbamoilo, N,N-dipropilcarbamoilo, 5 pirrolidin-1-il carbonilo o piperidin-1-ilcarbonilo.

3. El derivado de indolona sustituido con pirrol según la reivindicación 1, en donde R se selecciona de hidrógeno, metilo, t-butoxicarbonilo, N,N-dimetil carbamoilo o pirrolidin-1-ilformilo.

4. El derivado de indolona sustituido con pirrol según la reivindicación 1, en donde el derivado de indolona sustituido con pirrol con una estructura mostrada en la fórmula general (I) se selecciona de los compuestos 1 a 3, 5 y 10 a 14 a 10 continuación:





5. El derivado de indolona sustituido con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde las sales son hidroclouros.

6. Una composición farmacéutica, que comprende:

- 5 una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más derivados de indolona sustituidos con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, y
opcionalmente productos auxiliares.

7. Los derivados de indolona sustituidos con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o la composición farmacéutica según la reivindicación 6 para su uso en el
10 tratamiento del cáncer.

8. Los derivados de indolona sustituidos con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o la composición farmacéutica según la reivindicación 6 para su uso según la reivindicación 7, en donde la enfermedad es en un mamífero y está relacionada con el receptor de tirosina cinasa.

9. Los derivados de indolona sustituidos con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables según una
15 cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o la composición farmacéutica según la reivindicación 6 para su uso en el tratamiento y/o prevención (i) de tumores en los que interviene el receptor de tirosina cinasa o (ii) la proliferación de células tumorales y la migración dirigida por el receptor de tirosina cinasas, en un mamífero.

10. Los derivados de indolona sustituidos con pirrol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o la composición farmacéutica para su uso según la reivindicación según la reivindicación 8 o 9, en donde el mamífero es un ser humano.