

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 710 199**

51 Int. Cl.:

**C07D 311/60** (2006.01)  
**C07D 311/64** (2006.01)  
**C07D 335/06** (2006.01)  
**C07D 407/04** (2006.01)  
**C07D 409/04** (2006.01)  
**A61K 31/352** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61P 37/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.09.2014 PCT/EP2014/070409**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **02.04.2015 WO15044229**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.09.2014 E 14771935 (5)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.11.2018 EP 3049400**

54 Título: **Nuevos inhibidores de PI3K/AKT/mTOR y usos farmacéuticos de los mismos**

30 Prioridad:

**25.09.2013 EP 13306312**

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

**23.04.2019**

73 Titular/es:

**UNIVERSITÉ DE RENNES I (33.3%)**  
**2, rue du Thabor, CS 46510**  
**35065 Rennes Cedex, FR;**  
**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (33.3%) y**  
**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA**  
**RECHERCHE MÉDICALE (INSERM) (33.3%)**

72 Inventor/es:

**JEAN, MICKAEL;**  
**FOUQUE, AMÉLIE;**  
**LEGEMBRE, PATRICK y**  
**VAN DE WEGHE, PIERRE**

74 Agente/Representante:

**SALVÀ FERRER, Joan**

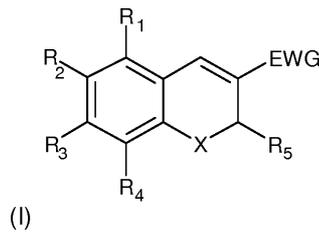
ES 2 710 199 T3

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

Nuevos inhibidores de PI3K/AKT/mTOR y usos farmacéuticos de los mismos

- 5 **[0001]** La presente invención se refiere a nuevos inhibidores de PI3K/AKT/mTOR, sus métodos de preparación y sus usos farmacéuticos.
- [0002]** Las fosfoinositidas 3-cinasas (también llamadas fosfatidilinositol 3- cinasas o PI3Ks) constituyen una familia de enzimas lípido cinasas que controlan un rango de procesos celulares a través de su regulación de una red de vías de transducción de señales, y han surgido como importantes objetivos terapéuticos en el contexto del cáncer, la inflamación y las enfermedades cardiovasculares.
- 10 **[0003]** Las PI3K se dividen en tres clases distintas: Clase I, II y III. Los PI3K de clase I son enzimas transductoras de señales intracelulares capaces de fosforilar el fosfatidilinositol-4,5-difosfato (PIP2) para formar el fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3). La formación de PIP3 cumple una función en la activación dependiente de PI3K de la ruta PI3K/AKT/mTOR.
- 15 **[0004]** Dado que PIP3 está restringido a la membrana plasmática, permite el reclutamiento de AKT y PDK1 (PDK1 o proteína cinasa 1 dependiente de fosfoinositida) en la membrana plasmática. La colocalización de PDK1 y AKT activados permite que AKT se fosforile por PDK1 en la treonina 308, lo que lleva a la activación parcial de AKT. AKT (también conocida como PKB, proteína cinasa B) es una proteína cinasa serina/treonina que regula la supervivencia y el metabolismo celular al unir y regular muchos efectores posteriores.
- 20 **[0005]** La activación completa de AKT se produce tras la fosforilación de la serina 473 por el complejo TORC2 que comprende la proteína cinasa mTOR (la diana en mamíferos de la rapamicina). La mTOR es una proteína cinasa clave que regula el crecimiento celular y el metabolismo para mantener la homeostasis celular y del organismo. mTOR se expresa de forma ubicua y constitutiva. Se encuentra en dos complejos: mTOR complejo 1 (mTORC1 o mTOR/raptor), que desempeña un papel en la regulación de la traducción y el crecimiento celular y mTOR complejo 2 (mTORC2 o mTOR/riCTOR), que regula varios sustratos, entre ellos AKT.
- 25 **[0006]** Se ha demostrado que la ruta de señalización de PI3K/AKT/mTOR es necesaria para una serie extremadamente diversa de actividades celulares, tales como crecimiento celular, proliferación, diferenciación, motilidad, supervivencia y tráfico intracelular. La inhibición de la ruta PI3K/AKT/mTOR puede tener un interés particular en la prevención y/o tratamiento de tumores benignos o malignos, diabetes, trastornos relacionados con la edad, trastornos autoinmunes y rechazo de trasplantes (Don Benjamin et al. Nature Reviews Drug Discovery, 868, noviembre de 2011, vol.10). También se ha demostrado que la inhibición de PI3K/AKT/mTOR implementa la agregación y activación de receptores de muerte en células tumorales (Beneteau, M. et al Localization of Fas/CD95 into the lipid rafts on down modulation of the phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathway. Molecular cancer research: MCR 6, 604-613, (2008); Pizon, M. et al. Actin-independent exclusion of CD95 by PI3K/AKT signalling: Implications for apoptosis. European journal of immunology 41, (2011)).
- 30 **[0007]** Ya se conocen varios inhibidores de la ruta PI3K/AKT (X. Mao et al., 2010; y Shu-Qiang Yin et al., 4 de abril de 2013), como S14161 y su análogo S14147.
- 35 **[0008]** Por lo tanto, los inhibidores de PI3K/AKT/mTOR son un objetivo prometedor para el desarrollo de fármacos, en particular en la prevención y/o el tratamiento de tumores benignos y/o malignos. Por lo tanto, existe la necesidad de proporcionar nuevos inhibidores de PI3K/AKT/mTOR.
- 40 **[0009]** El objetivo de la presente invención es proporcionar nuevos inhibidores de la ruta PI3K/AKT/mTOR, y más específicamente inhibidores de mTOR. En una realización, los compuestos de la invención pueden ser inhibidores competitivos de mTOR. Otro objetivo de la presente invención es proporcionar nuevos inhibidores de la ruta PI3K/AKT/mTOR, que demuestren un efecto citotóxico en células tumorales, para la prevención y/o el tratamiento de tumores, tales como tumores benignos y/o malignos.
- 45 **[0010]** Otro objetivo de la presente invención es proporcionar nuevos inhibidores de la ruta PI3K/AKT/mTOR, que eviten la migración de células tumorales, para la prevención y/o el tratamiento de tumores, en particular metástasis.
- 50 **[0011]** La presente solicitud describe un compuesto que tiene la fórmula (I):
- 55
- 60



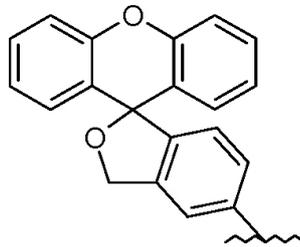
donde:

5 - X es O S;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> se eligen independientemente del grupo que consiste en:

H, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), alqueno (C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>), alquino (C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>), OH, un átomo de flúor, un átomo de bromo, un átomo de yodo, O (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>) alqueno-NHCO (C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>) alqueno- (C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>) heterocicloalquilo y O (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)

10 alqueno-NH-CS-NH-R" con R" siendo:



donde:

15

- R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> pueden formarse junto con los átomos de carbono que llevan un grupo arilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>); y

- R" y el heterocicloalquilo (C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>) están opcionalmente sustituidos con al menos un sustituyente seleccionado de OH y =O;

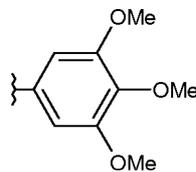
20 - EWG se elige del grupo que consiste en:

NO<sub>2</sub>, CHO, COR, CN, CN-OH, CONHR, CONRR' y COOR; siendo elegidos R y R' independientemente el uno del otro de grupos alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>);

- R<sub>5</sub> es un arilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>), un grupo heteroarilo (C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>), un cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>) o un grupo heterocicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>);

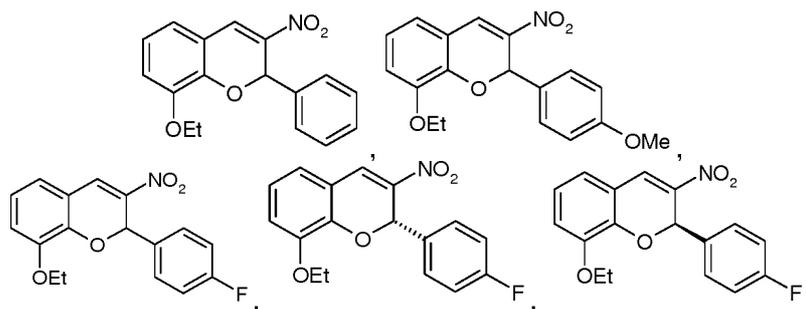
25 dichos arilo y heteroarilo están opcionalmente sustituidos con al menos un sustituyente elegido independientemente entre halógeno, alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>) y nitro;

R<sub>5</sub> siendo diferente del grupo:

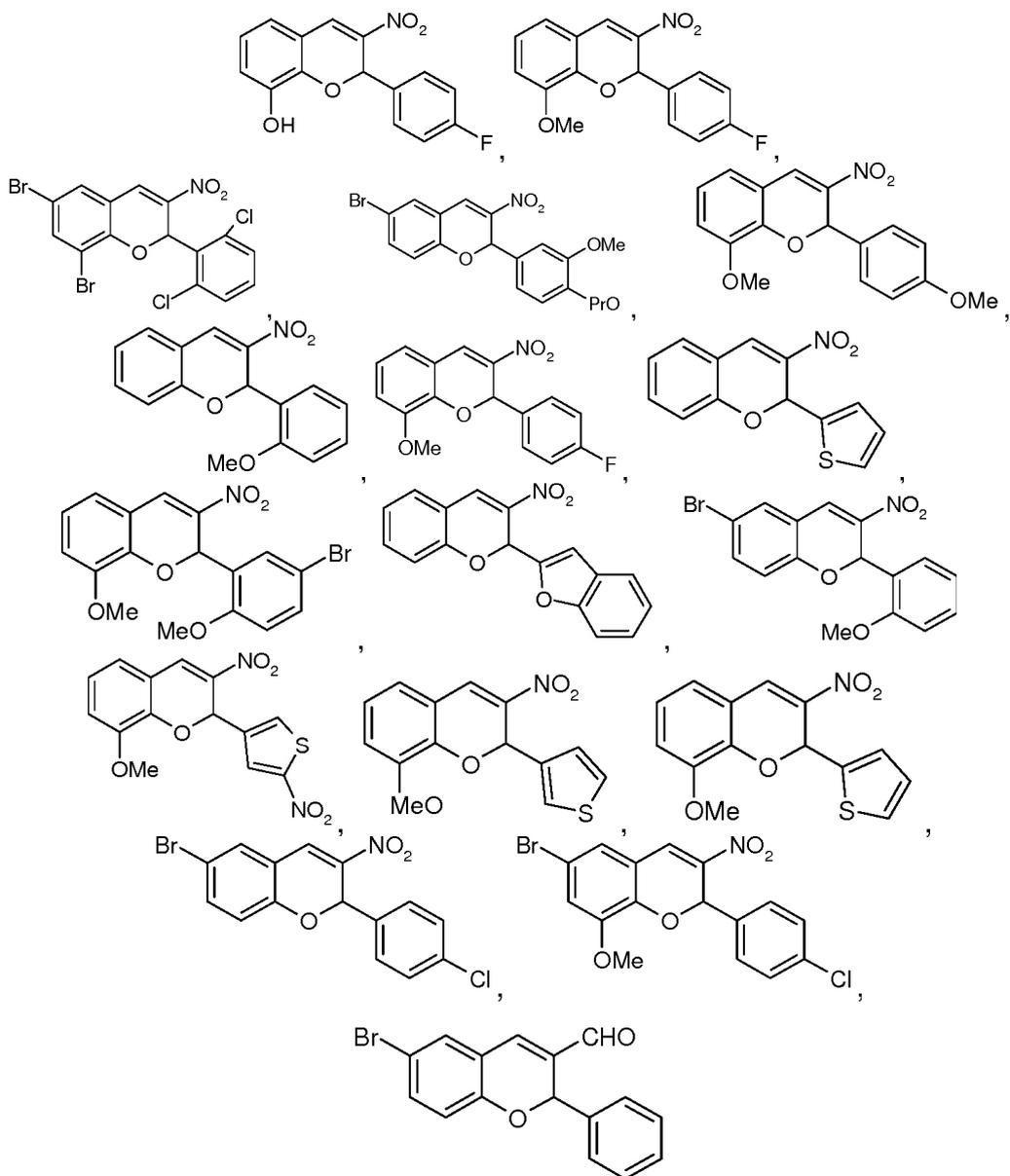


30

y en donde cuando EWG es COOMe, uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> o R<sub>4</sub> es distinto a H; y siempre que el compuesto de fórmula (I) no sea uno de los siguientes compuestos:



35



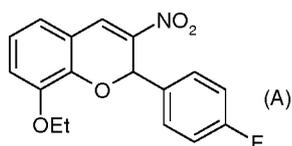
5

y

10 o sus sales, hidratos o sales hidratadas farmacéuticamente aceptables o sus estructuras cristalinas polimorfas, racematos, diastereómeros o enantiómeros.

**[0012]** El documento CN 101849934 describe un inhibidor de PI3K (también llamado compuesto A), de fórmula:

15



Este compuesto se ha probado de acuerdo con las mismas pruebas biológicas que los compuestos de la invención, como se describe a continuación.

20

**[0013]** Los compuestos de fórmula (I) son inhibidores de la ruta PI3K/AKT/mTOR. En una realización particular, son inhibidores de mTOR.

**[0014]** Estas moléculas inhiben la ruta de PI3K/AKT/mTOR y son más potentes que el compuesto A mencionado anteriormente y el conocido inhibidor de PI3K LY294002.

25

**[0015]** Incluso más sorprendentemente, los nuevos inhibidores de PI3K/AKT/mTOR también muestran un aumento del efecto citotóxico sobre las células tumorales.

5 **[0016]** El término "alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)" significa un grupo hidrocarburo alifático saturado que puede ser lineal o ramificado que tiene de 1 a 10 átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquilo preferidos tienen de 1 a 4 átomos de carbono en la cadena, los grupos alquilo preferidos son en particular grupos metilo o etilo. "Ramificado" significa que uno o más grupos alquilo inferior tales como metilo, etilo o propilo están unidos a una cadena de alquilo lineal.

10

**[0017]** El término "alquileo (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)" significa un radical divalente hidrocarbonado alifático saturado que puede ser lineal o ramificado con 1 a 10 átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquileo preferidos pueden tener 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono.

15 **[0018]** Por "cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>)" se entiende un grupo hidrocarbonado saturado cíclico que tiene de 3 a 10 átomos de carbono, en particular grupos ciclopropilo o ciclohexilo.

**[0019]** Por "alqueno (C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>)" se entiende un alquilo insaturado, que comprende al menos un doble enlace entre dos átomos de carbono y que comprende de 2 a 10 átomos de carbono, preferiblemente de 2 a 4 átomos de carbono.

20

**[0020]** Por "alquino (C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>)" se entiende un alquilo insaturado, que comprende al menos un enlace triple entre dos átomos de carbono y que comprende de 2 a 10 átomos de carbono, preferiblemente de 2 a 4 átomos de carbono, más preferiblemente 2 átomos de carbono.

25

**[0021]** El término "alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)" se refiere a un grupo alquil-O- en el que el alquilo se define anteriormente. Los grupos alcoxi preferidos son grupos metoxi o etoxi.

**[0022]** El término "arilo (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)" se refiere a un sistema de anillo de hidrocarburo aromático monocíclico, bicíclico o tricíclico en el que cualquier átomo del anillo capaz de sustitución puede estar sustituido con un sustituyente. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo.

30

**[0023]** El término "heteroarilo (C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>)" se refiere a un sistema de anillo de hidrocarburo aromático monocíclico, bicíclico o tricíclico, en el que cualquier átomo del anillo que pueda sustituirse puede estar sustituido por un sustituyente y en el que uno o más átomos de carbono se reemplazan por uno o más heteroátomos, tales como el(los) átomo(s) de nitrógeno, el(los) átomo(s) de oxígeno y el(los) átomo(s) de sulfuro; por ejemplo, 1 o 2 átomos de nitrógeno, 1 o 2 átomos de oxígeno, 1 o 2 átomos de sulfuro o una combinación de distintos heteroátomos.

35

**[0024]** El término "heterocicloalquilo" se refiere a un grupo alquilo mono o bicíclico en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados por uno o más heteroátomos, tales como el(los) átomo(s) de nitrógeno, el(los) átomo(s) de oxígeno y el(los) átomo(s) de sulfuro; por ejemplo, 1 o 2 átomos de nitrógeno, 1 o 2 átomos de oxígeno, 1 o 2 átomos de sulfuro o una combinación de distintos heteroátomos, como un átomo de sulfuro y dos átomos de nitrógeno. Los ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, tetrahidropirano y hexahidro-tieno[3,4-d]imidazol.

40

45

**[0025]** El término "halógeno" se refiere a los átomos del grupo 17 de la tabla periódica e incluye en particular átomos de flúor, cloro, bromo y yodo, más preferiblemente átomos de flúor, cloro y bromo.

**[0026]** Los compuestos aquí descritos pueden tener centros asimétricos. Los compuestos de la presente invención que contienen un átomo asimétricamente sustituido se pueden aislar en formas ópticamente activas o racémicas. Es bien conocido en la técnica cómo preparar formas ópticamente activas, tales como por resolución de formas racémicas o por síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos. Están previstas todas las formas quirales, diastereoméricas, racémicas y todas las formas isoméricas geométricas de un compuesto, a menos que la forma estereoquímica o la forma isomérica estén específicamente indicadas. En una realización, los compuestos de fórmula (I) están en la forma enantiomérica R. En otra realización, los compuestos de fórmula (I) están en la forma enantiomérica S.

50

55

**[0027]** El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales que retienen la efectividad biológica y las propiedades de los compuestos de la invención y que no son biológicamente o de otra manera indeseables farmacéuticamente. Las sales de adición de ácidos aceptables pueden prepararse a partir de ácidos orgánicos e inorgánicos, mientras que las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables pueden prepararse a partir de bases orgánicas e inorgánicas. Para una revisión de las sales farmacéuticamente aceptables, véase Berge, et al. ((1977) J. Pharm. Sd, vol. 66, 1). Por ejemplo, las sales incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares, así como sales preparadas a partir

60

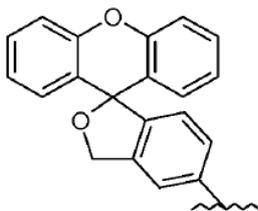
65

de ácidos orgánicos tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, pamoico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, fumárico, metanosulfónico y toluenosulfónico y similares.

5 **[0028]** En una realización particular, en la fórmula (I) como se define anteriormente, el EWG se elige del grupo que consiste en: NO<sub>2</sub>, CHO, COOR, CN, CN-OH y CONRR', siendo R y R' definidos anteriormente. Más particularmente, el EWG se elige entre NO<sub>2</sub>, CHO, COOMe, CN, CN-OH y CONMe<sub>2</sub>. Más particularmente, EWG es NO<sub>2</sub> o CHO.

10 **[0029]** En una realización particular, R<sub>1</sub> es H.

**[0030]** En una realización particular, R<sub>2</sub> es H, alquínilo(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>), Br, F, I, OH, O(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)alquilen-NH-CO(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)alquilen-(C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>)heterocicloalquilo o O(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)alquilen-NH-CS-NH-R" con R" siendo:



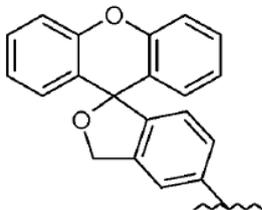
15

donde:

R" y el grupo heterocicloalquilo(C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>) están opcionalmente sustituidos con OH o = O;

20 o R<sub>2</sub> se forma con R<sub>3</sub> junto con los átomos de carbono que llevan un grupo arilo(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>).

**[0031]** En una realización, R<sub>2</sub> es H, alquínilo(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>), Br, F, OH, alquilen(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)-NHCO(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>)alquilen-(C<sub>5</sub>)heterocicloalquilo u O(C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>)alquilen-NH-CS-NH-R" siendo R":



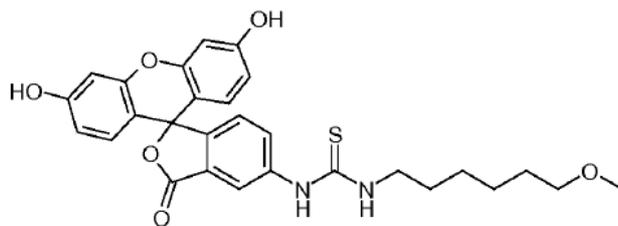
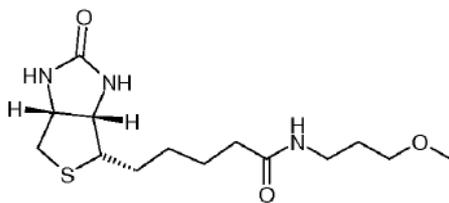
25

donde:

R" y el grupo heterocicloalquilo (C<sub>5</sub>) están opcionalmente sustituidos con al menos un sustituyente seleccionado de

30 OH o =O; o R<sub>2</sub> se forma con R<sub>3</sub> junto con los átomos de carbono que llevan un grupo fenilo.

**[0032]** En una realización particular, dicho heterocicloalquilo (C<sub>5</sub>) es un hexahidro-tieno[3,4-d]imidazol. En otra realización, R<sub>2</sub> se elige entre H, Br, OH, C<sub>2</sub>-alquínilo,



o R<sub>2</sub> se forma con R<sub>3</sub> junto con los átomos de carbono que llevan un grupo fenilo.

5 **[0033]** En otra realización, R<sub>2</sub> puede elegirse entre las formas H, Br, OH, C<sub>2</sub>-alquínilo o R<sub>2</sub> con R<sub>3</sub> junto con los átomos de carbono que llevan un grupo fenilo.

**[0034]** En una realización particular, R<sub>3</sub> es H, alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>) o se forma junto con R<sub>2</sub> y los átomos de carbono que llevan un arilo (C<sub>6</sub>- C<sub>10</sub>). Más particularmente, R<sub>3</sub> es H, alcoxilo(C<sub>1</sub>- C<sub>3</sub>) tal como OCH<sub>3</sub>, o se forma junto con R<sub>2</sub> y los átomos de carbono que llevan un grupo fenilo.

**[0035]** En una realización, R<sub>4</sub> es H, halógeno o alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>). En otra realización, R<sub>4</sub> es H, Br, Cl, F o alcoxilo(C<sub>1</sub>- C<sub>3</sub>). Más particularmente, R<sub>4</sub> es H, OCH<sub>3</sub>, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> o Br.

15 **[0036]** En una realización particular, R<sub>5</sub> es un arilo(C<sub>6</sub>- C<sub>10</sub>) o un heterocicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>) posiblemente sustituido. En otra realización, R<sub>5</sub> es un fenilo posiblemente sustituido o un grupo tetrahidropiranilo.

**[0037]** En una realización particular, R<sub>5</sub> es un grupo fenilo, sustituido con al menos un sustituyente elegido del grupo que consiste en: halógeno, nitro y alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>). Preferiblemente, R<sub>5</sub> es un grupo fenilo, sustituido con al menos un sustituyente elegido del grupo que consiste en: F, Br, Cl, NO<sub>2</sub> y OCH<sub>3</sub>. En una realización particular, R<sub>5</sub> es un grupo fenilo opcionalmente sustituido con F, Br, Cl o NO<sub>2</sub>. En una realización particular, R<sub>5</sub> es un fenilo sustituido en posición para. En una realización, R<sub>5</sub> no es un grupo tiofeno o un benzofurano.

**[0038]** En una realización particular, X es O. En una realización particular, X es S.

**[0039]** En una realización particular, EWG es NO<sub>2</sub>, CHO, COOMe, CN, CN-OH o CONMe<sub>2</sub> y X es O. En una realización particular, EWG es NO<sub>2</sub> y X es S.

**[0040]** En otra realización particular, R<sub>1</sub> y R<sub>3</sub> son H, EWG es NO<sub>2</sub>, CHO, COOMe, CN, CN-OH o CONMe<sub>2</sub> y X es O.

**[0041]** En una realización particular, EWG es NO<sub>2</sub>, CHO, COOMe, CN, CN-OH o CONMe<sub>2</sub>, X es O y R<sub>5</sub> es un fenilo posiblemente sustituido o un grupo tetrahidropiranilo.

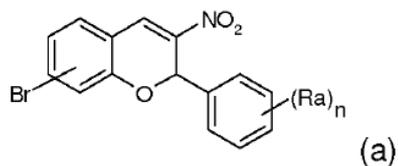
35 **[0042]** En una realización particular, EWG es NO<sub>2</sub>, CHO, COOMe, CN, CN-OH o CONMe<sub>2</sub>, X es O, R<sub>5</sub> es un fenilo posiblemente sustituido o un grupo tetrahidropiranilo y R<sub>4</sub> se elige entre H, OCH<sub>3</sub>, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> o Br .

**[0043]** En una realización particular, R<sub>2</sub> se forma junto con R<sub>3</sub> y con los átomos de carbono que llevan un grupo fenilo, EWG es NO<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> es H.

**[0044]** En una realización particular, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son H. En otra realización particular, R<sub>1</sub> y R<sub>3</sub> son H y R<sub>2</sub> es Br. En otra realización particular, R<sub>1</sub> y R<sub>3</sub> son H y R<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> son Br.

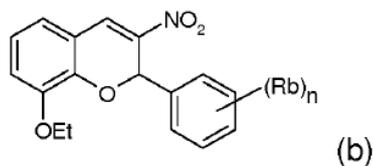
**[0045]** Las realizaciones particulares mencionadas anteriormente se pueden combinar entre sí.

**[0046]** La presente solicitud también describe compuestos que tienen la siguiente fórmula (a):



en donde Ra es igual o diferente y se elige entre F, Br, Cl o NO<sub>2</sub>; y n es 1 o 3.

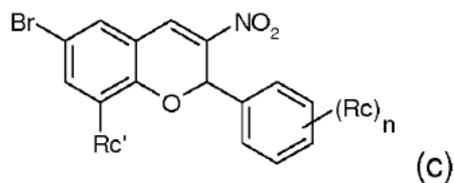
5 **[0047]** La presente solicitud también describe compuestos que tienen la siguiente fórmula (b):



en donde Rb es igual o distinto y se elige entre Br, Cl o NO<sub>2</sub>; y n es 1 o 3.

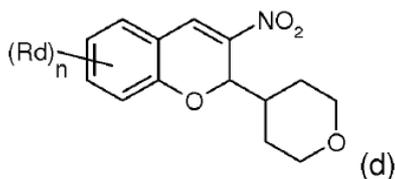
10

**[0048]** La presente solicitud también describe compuestos que tienen la siguiente fórmula (c):



15 en donde Rc es igual o distinto y se elige entre F, Br, Cl o NO<sub>2</sub>;  
Rc' es Br o OMe; y n es 1 o 3.

**[0049]** La presente solicitud también describe compuestos que tienen la siguiente fórmula (d):

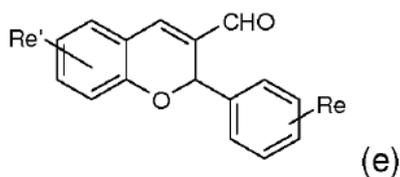


20

en donde Rd es igual o distinto y se elige entre Br o OMe y n es 1 o 2.

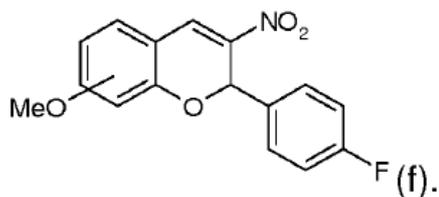
**[0050]** La presente solicitud también describe compuestos que tienen la siguiente fórmula (e):

25

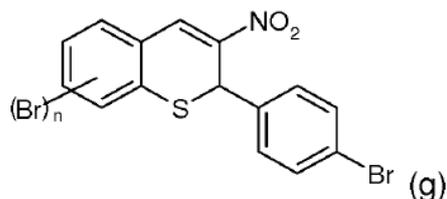


en donde Re es H, Br o F y Re' es Br u OEt.

30 **[0051]** La presente solicitud también describe compuestos que tienen la siguiente fórmula (f):



**[0052]** La presente solicitud también describe compuestos que tienen la siguiente fórmula (g):

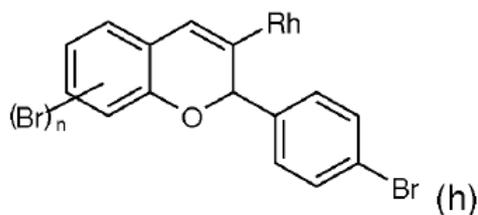


5

en donde n es 1 o 2.

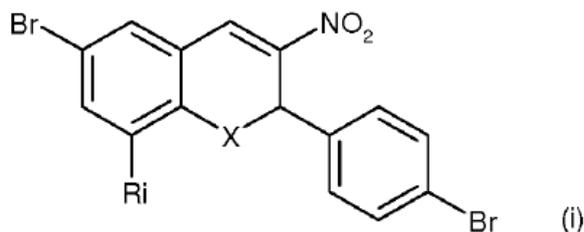
**[0053]** La presente solicitud también describe compuestos que tienen la siguiente fórmula (h):

10



en donde Rh se elige del grupo que consiste en COOMe, CONMe<sub>2</sub>, CNOH y CN, y en donde n es 1 o 2.

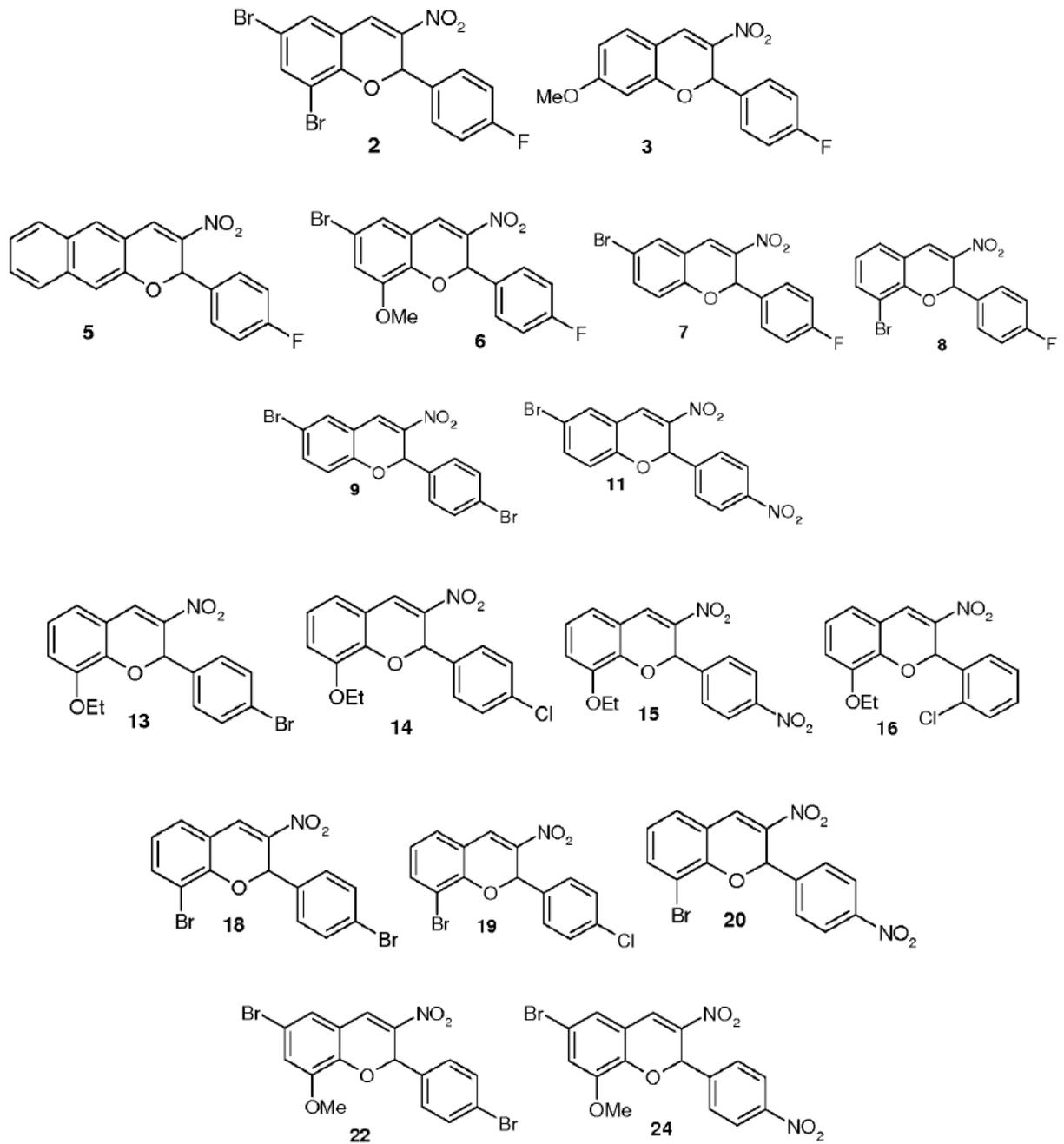
15 **[0054]** La presente invención se refiere a compuestos que tienen la siguiente fórmula (i):

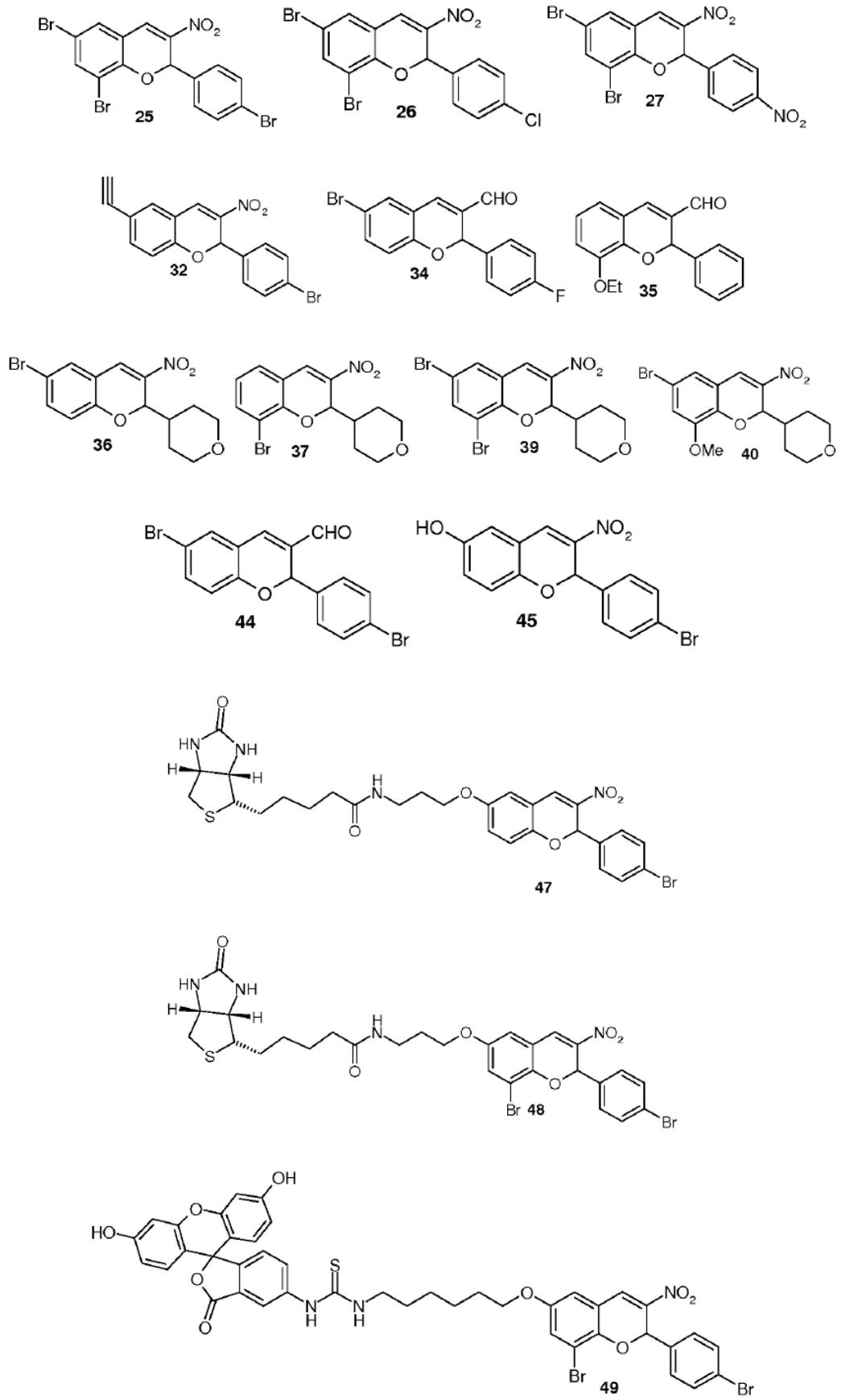


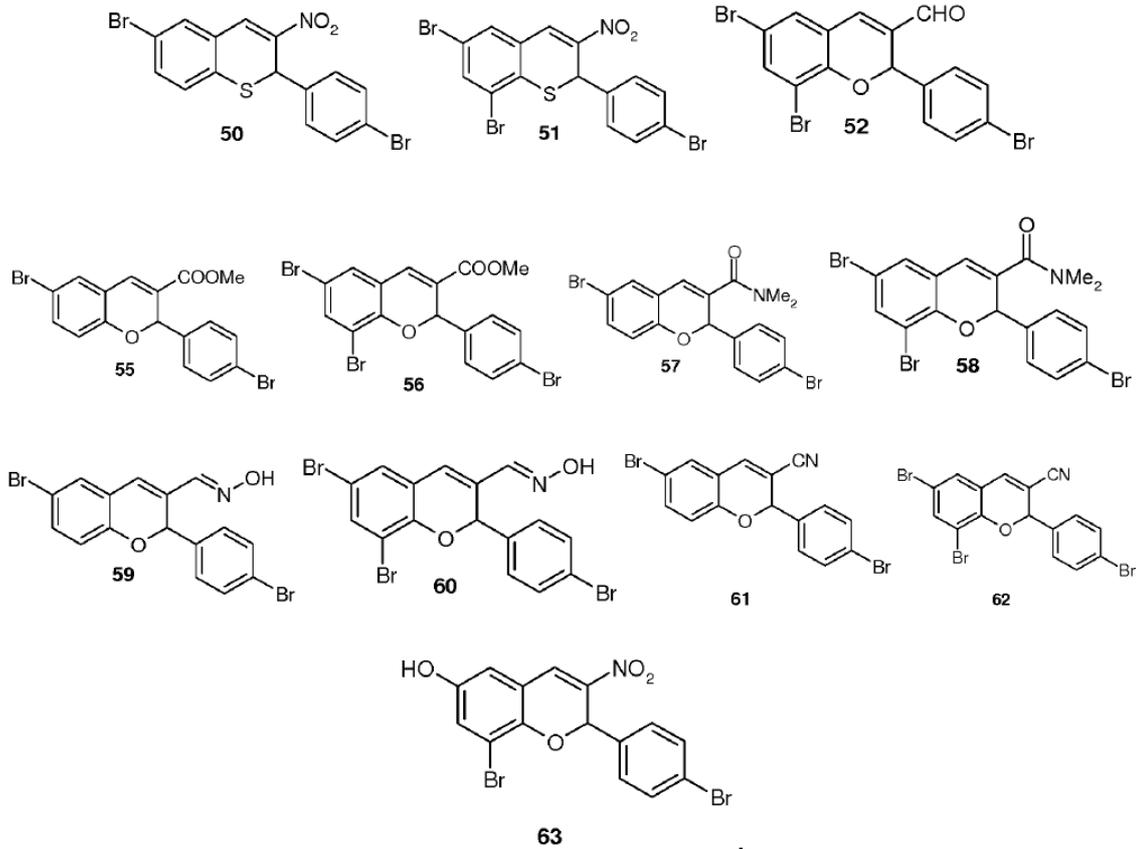
en donde X es O S y Ri se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), alqueno(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>), alquino(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>), OH, un átomo de flúor, un átomo de bromo y un átomo de yodo; o sus sales, hidratos o sales hidratadas farmacéuticamente aceptables o sus estructuras cristalinas polimorfas, racematos, diastereómeros o enantiómeros.

**[0055]** Preferiblemente, Ri se selecciona del grupo que consiste en H, un átomo de flúor, un átomo de bromo o un átomo de yodo y más preferiblemente, Ri es H o Br.

**[0056]** La presente solicitud describe compuestos específicos que tienen una de las siguientes fórmulas:



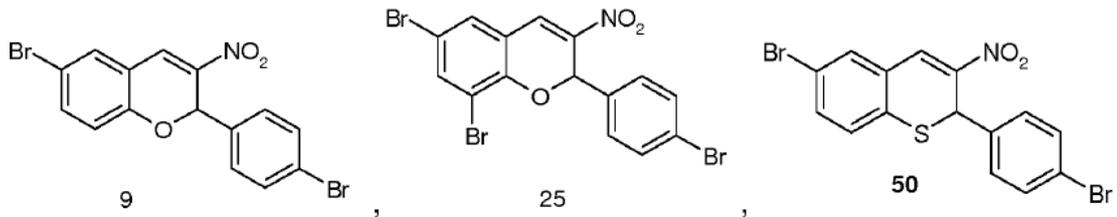




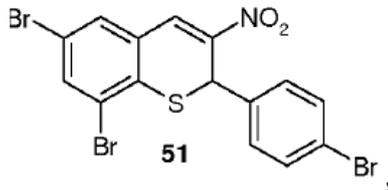
[0057]  
fórmulas:

Preferiblemente, algunos compuestos específicos de la invención tienen una de las siguientes

5



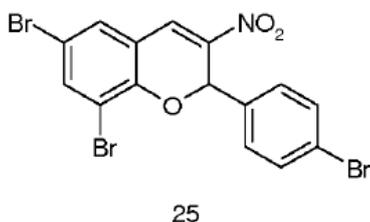
y



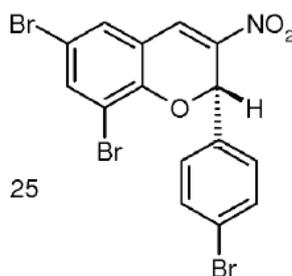
10 o sus sales, hidratos o sales hidratadas farmacéuticamente aceptables o sus estructuras cristalinas polimorfas, racematos, diastereómeros o enantiómeros.

[0058]

En una realización particular, el compuesto de fórmula (i) es:



**[0059]** En una realización particular, el compuesto de fórmula (I) es:



5

**[0060]** La presente solicitud también describe el compuesto de fórmula (I) definido anteriormente, para su uso para la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, enfermedades neurodegenerativas, cánceres, rechazo al trasplante, enfermedades caracterizadas por un envejecimiento prematuro y esclerosis tuberosa.

**[0061]** La presente invención también se refiere al compuesto de fórmula (i) definido anteriormente, para su uso para la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, enfermedades neurodegenerativas, cánceres, rechazo de trasplante y enfermedades caracterizadas por un envejecimiento prematuro, siendo dicha enfermedad preferentemente un cáncer, en particular cáncer de mama.

**[0062]** Por el término "cáncer" se entienden tumores sólidos malignos y/o cánceres hematológicos diseminados y/o su metástasis. Los términos "metástasis" o "enfermedades metastásicas" se refieren a tumores malignos secundarios formados por células de un tumor maligno primario, que se han trasladado a otra localización. El término "cánceres hematológicos" se refiere a los tipos de cáncer que afectan la sangre, la médula ósea y los ganglios linfáticos, como los mielomas, los linfomas o las leucemias.

**[0063]** Más particularmente, la invención se refiere al compuesto de fórmula (i) definido anteriormente para su uso para el tratamiento y/o prevención de leucemia, linfoma, cánceres colorrectales, cánceres pancreáticos, cánceres de pulmón, cánceres de ovario, cánceres de hígado, cáncer de mama, cánceres, más preferiblemente cánceres de mama triple negativos y enfermedades metastásicas.

**[0064]** Preferiblemente, los compuestos de acuerdo con la invención son útiles en la prevención y/o el tratamiento del cáncer de mama y/o la metástasis de tumores malignos primarios de mama. Por ejemplo, cáncer de mama, se puede mencionar cáncer de mama positivo para el receptor de estrógeno, cáncer de mama positivo para HER2, cáncer de mama positivo para el receptor de estrógeno resistente a antiestrógenos, cáncer de mama positivo para HER2 refractario a trastuzumab (receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 positivo), cáncer de mama y cáncer de mama triple negativo (Pradip De et al. Cancer Treat. Rev., 2013). Más preferiblemente, los cánceres de mama a prevenir y/o tratar son cánceres de mama triple negativos.

**[0065]** De hecho, se ha demostrado que los inhibidores de la ruta PI3K/AKT/mTOR tienen efectos antiproliferativos estadísticamente significativos (P. De et al. Cancer Treat. Rev. 2013). Una fracción estadísticamente significativa de pacientes con recaída de cáncer de mama y la ruta de señalización de PI3K/AKT/mTOR cumple una función fundamental en la resistencia a la quimioterapia observada en estos pacientes con cáncer de mama (Miller, T. W., Balko, J. M. & Arteaga, C. L. Phosphatidylinositol 3-kinase and antiestrogen resistance in breast cancer. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology 29, 4452-4461, (2011)). El cáncer de mama triple negativo, un subtipo que se distingue por la tinción inmunohistoquímica negativa para la expresión de los receptores de estrógeno y progesterona (ER/PR) y el receptor-2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) representa entre el 10 y el 20 % de todos los cánceres de mama. Los tumores triple negativos no pueden tratarse con terapia endocrina o terapias dirigidas a HER2. Dado que los cánceres triple negativos demuestran niveles más altos de activación de AKT en comparación con los cánceres de mama no triple negativos (Adamo, B. et al. Phosphatidylinositol 3-kinase pathway activation in breast cancer brain metastases. Breast cancer research : BCR 13, R125, (2011)), la inhibición de la ruta de señalización PI3K/AKT puede bloquear el proceso de supervivencia del tumor y la migración celular en este subgrupo agresivo de tumor maligno.

**[0066]** En una realización particular, el compuesto de fórmula (i) definido anteriormente se usa para la prevención y/o el tratamiento de la esclerosis tuberosa. La esclerosis tuberosa o el complejo de esclerosis tuberosa (TSC), también llamada enfermedad de Bourneville, es una rara enfermedad genética autosómica dominante multisistémica que causa tumores no malignos (tumores benignos) en el cerebro y en otros órganos vitales como los riñones, el corazón, los ojos, pulmones y piel. La TSC se puede caracterizar por la formación de hamartia, hamartomas (tumores benignos como angiofibroma facial y nódulos subependimales), angiomiolipomas renales (tumores benignos), linfangiomatosis pulmonar y, muy raramente, hamartoblastomas cancerosos.

**[0067]** En TSC, las mutaciones en los genes TSC1, que codifican para hamartina, y TSC2, que codifican para tuberina, conducen a un complejo de hamartintuberina que no inhibe la mTOR como debería. mTOR se expresa así de manera constitutiva en pacientes que sufren de TSC (Peter B. Crino et al., The New England Journal of Medicine, 28 de septiembre de 2006, 355; 1345-56).

**[0068]** Los compuestos de fórmula (I) también están diseñados como fármacos antienviejecimiento: se sabe que la inhibición de la ruta de mTOR tiene un efecto positivo en la vida útil de los ratones (Dudley W. Lamming et al., J. Clin. Invest. 2013 123 (3): 980-989). Por consiguiente, los compuestos de fórmula (I) se pueden usar para la prevención y/o el tratamiento de "enfermedades caracterizadas por un envejecimiento prematuro" tal como la progeria. Se ha demostrado que la rapamicina, un inhibidor de mTOR, mejora la senescencia prematura en células derivadas de pacientes con progeria Hutchinson-Gilford (Dudley W. Lamming et al., J. Clin. Invest. 2013; 123 (3): 980-989).

**[0069]** El papel de la ruta PI3K/AKT/mTOR en el envejecimiento está relacionado con trastornos relacionados con la edad, como los trastornos neurodegenerativos (Don Benjamin et al. Nature Reviews Drug Discovery, 868, noviembre de 2011, vol.10 y Dudley W Lamming et. al, J. Clin. Invest. 2013; 123 (3): 980-989). El término "enfermedades neurodegenerativas" incluye patologías caracterizadas por la pérdida progresiva de la estructura y/o función de las neuronas, que a veces conducen a su muerte. Entre las enfermedades neurodegenerativas, se pueden citar la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer o la enfermedad de Huntington.

**[0070]** Además, se ha demostrado que la inhibición de la ruta PI3K/AKT/mTOR cumple una función en la diabetes, trastornos relacionados con la edad, trastornos autoinmunes y rechazo de trasplantes (Don Benjamin et al. Nature Reviews Drug Discovery, 868, noviembre de 2011, vol.10).

**[0071]** Los compuestos de fórmula (I) definidos anteriormente también pretenden prevenir y/o tratar la diabetes tipo II (Dudley W. Lamming et. al, J. Clin. Invest. 2013; 123 (3): 980-989).

**[0072]** Los términos "enfermedades inflamatorias" se refieren a enfermedades caracterizadas por una inflamación crónica. Por "inflamación" se entienden los fenómenos por los cuales el cuerpo humano generalmente se defiende contra la agresión y puede manifestarse en varios síntomas como hinchazón, calor o enrojecimiento de la piel. Los términos "enfermedades autoinmunes" se refieren a enfermedades en las cuales el sistema inmunológico está desregulado, lo que significa que la respuesta inmune del cuerpo contra sustancias o tejidos normalmente presentes en el cuerpo es inapropiada. Entre las enfermedades autoinmunes, se puede citar la enfermedad de Crohn o el lupus eritematoso sistémico (lupus). El término "rechazo de trasplante" se refiere a la reacción del huésped contra el injerto o la enfermedad de injerto contra huésped. En una realización, el compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente se puede usar como un fármaco inmunosupresor, más particularmente como un fármaco inmunosupresor para prevenir el rechazo del trasplante.

**[0073]** En el contexto de la invención, el término "tratar" o "tratamiento", como se usa en este documento, significa revertir, aliviar, inhibir el progreso o prevenir el trastorno o afección al que se aplica dicho término, o uno o

más síntomas de tal trastorno o enfermedad.

**[0074]** La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica, que comprende un compuesto que tiene la fórmula (i) como se define anteriormente, en asociación con al menos un excipiente  
5 farmacéuticamente aceptable.

**[0075]** La presente invención también se refiere a un fármaco, que comprende un compuesto que tiene la fórmula (i) como se define anteriormente.

10 **[0076]** Si bien es posible que los compuestos de la invención que tienen la fórmula (i) se administren solos, se prefiere presentarlos como composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas, tanto para uso veterinario como para uso humano, útiles según la presente invención, comprenden al menos un compuesto que tiene la fórmula (i) como se definió anteriormente, junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables y  
15 posiblemente otros ingredientes terapéuticos.

**[0077]** En ciertas realizaciones preferidas, los ingredientes activos necesarios en terapia de combinación pueden combinarse en una única composición farmacéutica para administración simultánea.

20 **[0078]** Como se usa en este documento, el término "farmacéuticamente aceptable" y sus variaciones gramaticales, como se refieren a composiciones, vehículos, diluyentes y reactivos, se usan de manera intercambiable y representan que los materiales pueden administrarse a un mamífero sin la producción de efectos fisiológicos indeseables, tales como náuseas, mareos, trastornos gástricos y similares.

25 **[0079]** La preparación de una composición farmacológica que contiene ingredientes activos disueltos o dispersados en la misma se entiende bien en la técnica y no es necesario que se limite en base a la formulación. Normalmente, tales composiciones se preparan como inyectables, como soluciones líquidas o suspensiones; sin embargo, también pueden prepararse formas sólidas adecuadas para disolución, o suspensiones, en líquido antes de su uso. La preparación también puede ser emulsionada. En particular, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en forma de dosificación sólida, por ejemplo, cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos, grageas o  
30 gránulos.

**[0080]** La elección del vehículo y el contenido de sustancia activa en el vehículo se determinan generalmente de acuerdo con la solubilidad y las propiedades químicas del compuesto activo, el modo particular de administración y las disposiciones que deben observarse en la práctica farmacéutica. Por ejemplo, se pueden usar excipientes  
35 como lactosa, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato dicálcico y agentes desintegrantes tales como almidón, ácidos alginicos y ciertos silicatos complejos combinados con lubricantes como estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio y talco para preparar los comprimidos. Para preparar una cápsula, es ventajoso usar lactosa y polietilenglicoles de alto peso molecular. Cuando se usan suspensiones acuosas, pueden contener agentes emulsionantes o agentes que facilitan la suspensión. También se pueden usar diluyentes tales como sacarosa,  
40 etanol, polietilenglicol, propilenglicol, glicerol y cloroformo o mezclas de estos.

**[0081]** Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse en una formulación adecuada para seres humanos y animales mediante administración tópica o sistémica, incluidas oral, rectal, nasal, bucal, ocular, sublingual, transdérmica, rectal, tópica, vaginal, parenteral (incluidas subcutánea, intraarterial, intramuscular,  
45 intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural), suboccipital e intraperitoneal. Se apreciará que la ruta preferida puede variar, por ejemplo, con la enfermedad del destinatario.

**[0082]** Las formulaciones pueden prepararse en forma de dosificación unitaria mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Tales métodos incluyen la etapa de asociar el ingrediente  
50 activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el ingrediente activo con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto.

#### Descripción de las figuras:

55

**[0083]**

La Figura 1 y la Figura 6 muestran el porcentaje de muerte celular de las células T leucémicas Jurkat, en comparación con la concentración de algunos compuestos de fórmula (I).

60

Las Figuras 2, 3, 4 y 5 muestran el porcentaje de muerte celular de las células T leucémicas CEM, frente a la concentración de algunos compuestos de fórmula (I).

La Figura 7 y la Figura 8 muestran la actividad PI3K, representada por el nivel de fosforilación de AKT, frente al  
65 tiempo de incubación de células CEM con compuestos de fórmula (I) a una concentración de 10  $\mu$ M.

La Figura 9 y la Figura 10 muestran el porcentaje de muerte celular de células de cáncer de mama triple negativas (respectivamente líneas celulares MDAMB-468 y MDA-MB-231), frente a la concentración de algunos compuestos de fórmula (I).

5

La Figura 11 muestra una parte del cinoma realizado por KinaseProfiler™ con el compuesto 25 a 1  $\mu\text{M}$ . Muestra la selectividad del compuesto 25 para la proteína mTOR con respecto a 243 cinasas humanas.

La Figura 12 muestra la unión del compuesto 48 a mTOR y su actividad inhibidora. La Figura 12A muestra la inhibición de la fosforilación de AKT en la serina 473 y de 4EBP1 en la treonina 37/46. La Figura 12B muestra la unión del compuesto 48 a la proteína mTOR.

La Figura 13 muestra la tolerancia *in vivo* del compuesto 25 en ratones. La Figura 13A muestra el peso corporal de los ratones analizados en gramos frente al tiempo en días. La Figura 13B muestra el porcentaje de supervivencia de los ratones analizados frente al tiempo en días.

La Figura 14 muestra la actividad citotóxica de los compuestos de la invención en células TSC2<sup>-/-</sup> y TSC2<sup>+/+</sup>. La Figura 14A muestra el número de células TSC2<sup>-/-</sup> (círculos blancos) y TSC2<sup>+/+</sup> (círculos negros) obtenidas en cultivo a lo largo del tiempo (en horas). La Figura 14B muestra el porcentaje de muerte celular (actividad metabólica) de TSC2<sup>-/-</sup> (círculos blancos) y TSC2<sup>+/+</sup> (círculos negros) frente a la concentración de compuesto 25 en  $\mu\text{M}$ . La Figura 14C muestra el porcentaje de muerte celular (actividad metabólica) de TSC2<sup>-/-</sup> (círculos blancos) y TSC2<sup>+/+</sup> (círculos negros) frente a la concentración de rapamicina en  $\mu\text{M}$ .

La Figura 15 muestra los resultados de una inmunotransferencia que demuestra que el compuesto 25 inhibe la actividad de mTORC1 en células TSC2<sup>-/-</sup>.

La Figura 16 muestra los resultados de una inmunotransferencia que demuestra que el compuesto 25 inhibe las actividades de mTORC1 y mTORC2.

La Figura 17 muestra que el compuesto 25 inhibe la migración celular de células MDA-MB-231 (Figura 17B) y de células BT549 (Figura 17A).

**[0084]** Los siguientes ejemplos muestran la inhibición mejorada de PI3K/AKT/mTOR y el aumento del efecto citotóxico de los compuestos de fórmula (I). Algunos ejemplos preparativos también se dan a continuación, sin limitación de la presente invención.

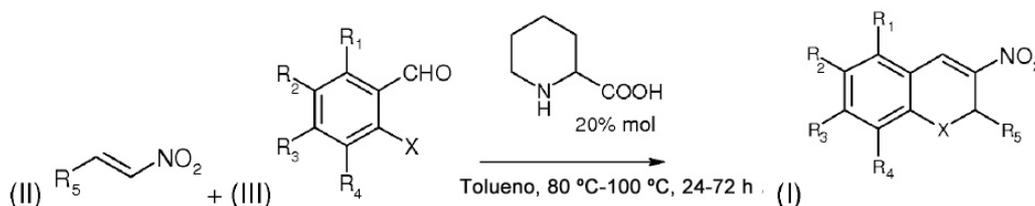
#### EJEMPLOS PREPARATIVOS:

##### **1. Preparación de los compuestos 1 a 40:**

40

Procedimiento general para preparar compuestos de fórmula (I) en donde EWG es NO<sub>2</sub>:

**[0085]**



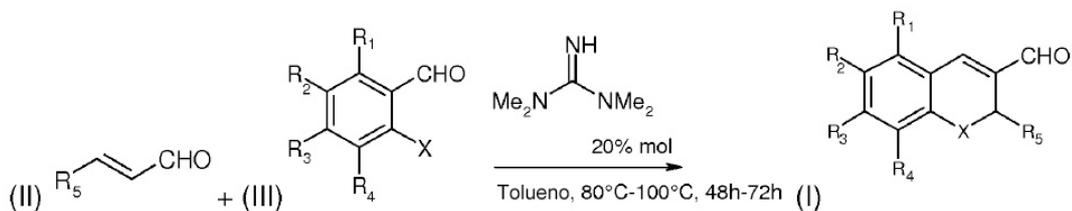
45

**[0086]** La mezcla de derivado de nitroestireno (1 mmol), compuesto de salicilaldehído (1 mmol) y ácido pipercolico (0,2 mmol) en 1,5 ml de tolueno seco se calentó a 80-100 °C durante 24-72 h bajo una atmósfera de nitrógeno (conversión seguida por TLC). Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se cargó directamente en la columna de gel de sílice para que la separación diera el cromeno deseado (rendimientos = 40-75 %). La temperatura ambiente está comprendida entre 18 °C y 25 °C.

**[0087]** R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> y X se definen anteriormente.

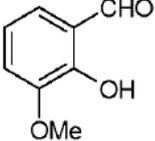
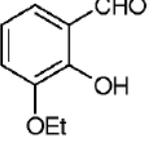
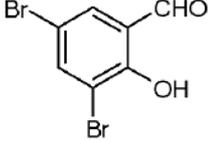
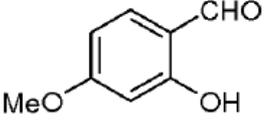
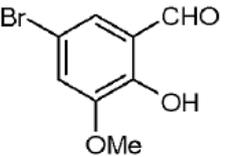
Procedimiento general para preparar compuestos de fórmula (I) en donde EWG es CHO:

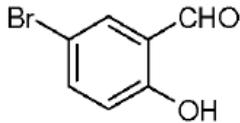
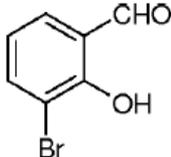
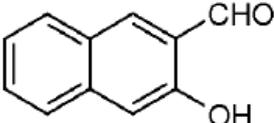
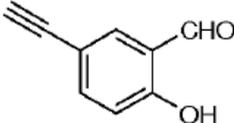
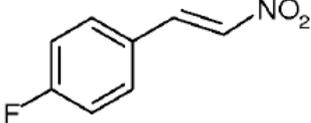
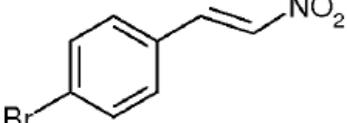
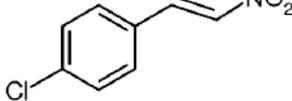
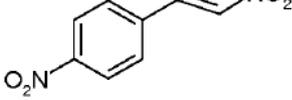
**[0088]**

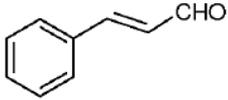
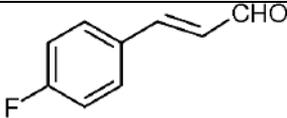
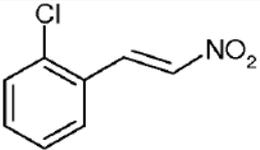
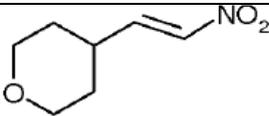


**[0089]** La mezcla de derivado de cinamaldehído (1 mmol), compuesto de salicilaldehído (1 mmol) y 1,1,3,3-tetrametilguanidina (0,2 mmol) en 1,5 ml de tolueno seco se calentó a 80-100 °C durante 48-72 h bajo atmósfera de 5 nitrógeno (conversión seguida por TLC). Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se cargó directamente en la columna de gel de sílice para que la separación diera el cromeno deseado (rendimientos = 30-55 %). La temperatura ambiente está comprendida entre 18 °C y 25 °C.

**[0090]** R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> y X se definen anteriormente. Los productos de partida utilizados se obtuvieron de la siguiente manera:

Compuesto de fórmula (III)	Compuestos correspondientes de fórmula (I)
 CAS [148-53-8] vendido por Aldrich	1.
 CAS [492-88-6] vendido por Aldrich	13 a 16 y 35.
 CAS [90-59-5] vendido por Aldrich	2, 25 a 27 y 39.
 CAS [673-22-3] vendido por Aldrich	3.
 CAS [5034-74-2] vendido por Aldrich	6, 22 a 24 y 40.

 <p>CAS [1761-61-1] vendido por Aldrich</p>	7, 9 a 11, 33, 34 y 36.
 <p>CAS [1829-34-1] vendido por Aldrich</p>	8, 18 a 20 y 37.
 <p>preparado de acuerdo con B. Legoin et al., Eur. J. Org. Chem. 2010, 5503-5508.</p>	5.
 <p>preparado de acuerdo con Y. Xu et al., Chem. Eur. J., 2010, 16, 12898-12903.</p>	32.
Compuestos de fórmula (II)	Compuestos correspondientes de fórmula (I)
 <p>CAS [706-08-1] vendido por Aldrich</p>	1 a 3 y 5 a 8.
 <p>CAS [5153-71-9] vendido por Aldrich</p>	9, 13, 18, 22, 25 y 32.
 <p>CAS [706-07-0] vendido por Aldrich</p>	10, 14, 19, 23 y 26.
 <p>preparado de acuerdo con J. A. Burkhard et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2011, 50, 5379-5382.</p>	11, 15, 20, 24 y 27.

 CAS [104-55-2] vendido por Aldrich	33, 35.
 CAS [51791-26-5] vendido por Aldrich	34.
 CAS [3156-34-1] vendido por Aldrich	16.
 preparado de acuerdo con D. A. DiRocco, T. Rovis, J. Am. Chem. Soc., 2011, 133, 10402-10405.	36, 37, 39 y 40.

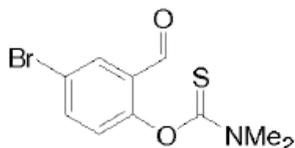
## 2. Preparación de los compuestos 41 a 63:

### Preparación de los compuestos 50 y 51

5

Ácido dimiltiocarbámico O-(4-bromo-2-formilfenilo) éster

[0091]



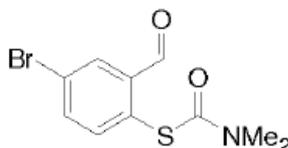
10

[0092] A una disolución de 5-bromosalicilaldehído (5,0 g, 25,0 mmol) en acetonitrilo seco (25 ml) se le añadió carbonato de potasio (13,75 g, 100,0 mmol, 4,0 eq.) a temperatura ambiente. Después de 10 minutos, se añadió cloruro de dimiltiocarbamoilo (3,7 g, 30,0 mmol, 1,2 eq.) y la mezcla se calentó a reflujo durante 4 h. Luego, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc y se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El compuesto del título se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice mediante PE/EtOAc 9/1 a 7/3 como eluyente que proporciona un sólido amarillo (5,5 g, 77 %). Pf = 144-146 °C. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 3,42 (s, 3H), 3,47 (s, 3H), 7,03 (d, J = 8,5, 1H), 7,72 (dd, J = 8,5, 2,2, 1H), 8,02 (d, J = 2,2, 1H), 9,99 (s, 1H). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ 39,0, 43,5, 119,9, 126,3, 130,5, 132,1, 137,6, 154,3, 186,7, 186,7.

15

Ácido dimiltiocarbámico S-(4-bromo-2-formilfenil) éster

25 [0093]



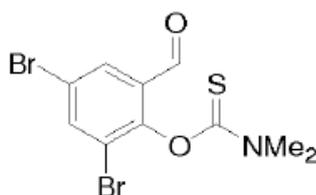
**[0094]** El O-(4-bromo-2-formilfenil) éster del ácido dimetiltiocarbámico (5,4 g, 18,7 mmol) se calentó sin diluir a 150 °C durante 15 h, luego se enfrió a temperatura ambiente. El compuesto del título se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice mediante PhMe/Et<sub>2</sub>O 95/5 a 90/10 como eluyente que proporciona un sólido amarillo (1,1 g, 20 %). Pf = 116-118 °C. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ 3,03 (s, 3H), 3,16 (s, 3H), 7,42 (d, J = 8,2, 1H), 7,70 (dd, J = 8,2, 2,4, 1H), 8,14 (d, J = 2,4, 1H), 10,25 (s, 1H). <sup>13</sup>CRMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ 37,1, 37,3, 124,9, 131,1, 131,6, 136,5, 138,7, 138,9, 164,6, 189,8.

6-bromo-2-(4-bromofenil)-3-nitro-2H-tiocromeno (50)

**[0095]** A una disolución de éster S-(4-bromo-2-formilfenil) de ácido dimetiltiocarbámico (200 mg, 0,69 mmol) en metanol (4,3 ml) se le añadió una solución acuosa de NaOH (0,8 M, 4,3 ml, 3,45 mmol, 5 eq.) a temperatura ambiente. Después de 2 h, se añadió una disolución acuosa al 10 % (p/v) de ácido cítrico seguida de agua y la mezcla se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El tioenol bruto resultante se disolvió en tolueno seco y se añadió 1-bromo-4-(2-nitrovinil)benzoceno (158 mg, 1 eq., 0,69 mmol) seguido de ácido pipecólico (45 mg, 0,5 eq., 0,35 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 12 h, luego se enfrió a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a presión reducida y el compuesto del título se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice mediante PE/PhMe 4/1 como eluyente, lo que proporciona un sólido amarillo (115 mg, 39 %).

Éster O-(2,4-dibromo-6-formilfenilo) de ácido dimetiltiocarbámico

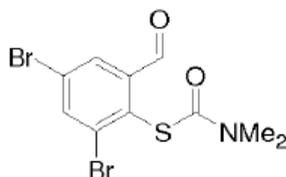
**[0096]**



**[0097]** A una disolución de 3,5-dibromosalicilaldehído (1,2 g, 4,3 mmol) en tetrahidrofurano seco (10 ml) se le añadió hidruro de sodio (60 % en aceite, 0,19 g, 4,7 mmol, 1,1 eq.) a 0 °C. Después de 15 minutos a 0 °C y 1 hora a temperatura ambiente, se añadió una disolución de cloruro de dimetiltiocarbamoilo (0,65 g, 5,2 mmol, 1,2 eq.) en tetrahidrofurano seco (2 ml) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Luego se añadió una solución acuosa saturada de NH<sub>4</sub>Cl y la mezcla se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El compuesto del título se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice mediante PE/Et<sub>2</sub>O 9/1 a 7/3 como eluyente, que proporciona un sólido amarillo (0,4 g, 25 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 3,48 (s, 3H), 3,49 (s, 3H), 7,96 (d, J = 2,4, 1H), 7,99 (d, J = 2,4, 1H), 9,94 (s, 1H). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ 39,2, 43,8, 119,6, 120,2, 130,8, 132,3, 140,4, 151,9, 185,1, 186,2.

Éster S-(2,4-dibromo-6 formilfenil) de ácido dimetiltiocarbámico

**[0098]**



**[0099]** El éster O-(2,4-dibromo-6-formilfenil) de ácido dimetiltiocarbámico (0,26 g, 0,71 mmol) se calentó solo a 150 °C durante 15 h, luego se enfrió a temperatura ambiente. El compuesto del título se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice mediante PhMe/Et<sub>2</sub>O 9/1 como eluyente, que proporciona un sólido amarillo (0,17 g, 53 %). Pf = 134-136 °C. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 3,04 (s, 3H), 3,22 (s, 3H), 8,06 (d, J = 2,2, 1H), 8,09 (d, J = 2,2, 1H), 10,25 (s, 1H). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ 37,3, 37,4, 125,2, 130,7, 132,6, 133,0, 140,0, 140,9, 163,1, 189,7

6,8-dibromo-2-(4-bromofenil)-3-nitro-2H-tiocromeno (51)

**[0100]** A una solución de éster S-(2,4-dibromo-6-formilfenil) de ácido dimetiltiocarbámico (160 mg, 0,43 mmol) en metanol (2,7 ml) se añadió una disolución acuosa de NaOH (0,8 M, 2,7 ml, 2,15 mmol, 5 eq.) a temperatura

ambiente. Después de 2 h, se añadió una disolución acuosa al 10 % (p/v) de ácido cítrico seguida de agua y la mezcla se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El tiofenol crudo resultante se disolvió en tolueno seco y se añadió 1-bromo-4-(2-nitrovinil) benceno (98 mg, 1 eq., 0,43 mmol) seguido de ácido pipercolico (28 mg, 0,5 eq., 0,22 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 12 h, luego se enfrió a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a presión reducida y el compuesto del título se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice mediante PE/PhMe 4/1 como eluyente, seguido de una cromatografía preparativa de capa fina mediante PE/PhMe 3/2 como eluyente, que proporciona un sólido amarillo (40 mg, 19 %).

#### 10 Preparación de compuestos 44 y 52

**[0101]** Una disolución de derivado de salicilaldehído se colocó en tolueno seco y se le añadió 1-bromo-4-(2-nitrovinil) benceno (1,1 eq.) seguido de tetrametilguanidina (0,5 eq.) y ácido benzoico (0,5 eq.). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 16 h, luego se enfrió a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a presión reducida y el compuesto del título se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice mediante PhMe/Et<sub>2</sub>O 7/3 como eluyente, que da un sólido amarillo.

#### Preparación de compuestos 55 y 56

20 **[0102]** A una disolución de ácido carboxílico 53 o 54 en metanol, se añadió cloruro de tionilo (1,6 eq.). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 20 h, luego se enfrió a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a presión reducida y el compuesto del título se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice mediante PhMe/PE 3/1 como eluyente.

#### 25 Preparación de compuestos 57 y 58

**[0103]** A una disolución de ácido carboxílico 53 o 54 en cloruro de metileno en presencia de una gota de DMF, se añadió cloruro de oxalilo (1,15 eq.). La mezcla de reacción se agitó 20 h a temperatura ambiente y se añadieron Me<sub>2</sub>NH.HCl (2 eq.) y Et<sub>3</sub>N (5 eq.). La mezcla de reacción se agitó 4 h a temperatura ambiente y después de la adición de HCl 1 M, la fase acuosa se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El compuesto del título se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice mediante CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt 8/2 como eluyente.

#### Preparación de los compuestos 59 y 60

35 **[0104]** A una solución de aldehído 44 o 52 en metanol, se añadieron sucesivamente clorhidrato de hidroxilamina (5 eq.) y trietilamina (5 eq.). La mezcla de reacción se agitó 16 h a temperatura ambiente. Después de la adición de HCl 1 M, la solución se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El compuesto del título se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice mediante PhMe/PE 7/3 como eluyente.

#### Preparación de ciano 61 y 62

45 **[0105]** Una disolución de aldehído 44 o 52 y NH<sub>2</sub>OH.HCl (1,5 eq.) en DMSO se agitó a 100 °C durante 20 h. Después de la adición de agua, la solución se extrajo con Et<sub>2</sub>O. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y el filtrado se concentró a presión reducida. El compuesto del título se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice mediante PE/AcOEt 85/15 como eluyente.

#### Datos analíticos:

50 8-etoxi-2-(4-fluorofenil)-3-nitro-3,4-dihidro-2H-cromeno (compuesto A)

**[0106]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ (ppm) = 1,36 (s, 3 H, J = 7,1 Hz), 3,97-4,08 (m, 2 H, J = 7,1 Hz), 6; 64 (s, 1 H), 6,93-6,99 (m, 5 H), 7,37 (d, 1 H; J = 5,2 Hz), 7,38 (d, 1 H, J = 5,2 Hz), 8,03 (s, 1 H).  
55 <sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ (ppm) = 164,2, 162,2, 148,0, 143,0, 141,3, 132,6, 129,5, 128,9, 128,8, 122,6, 122,2, 118,9, 118,7, 115,8, 115,6, 65,2, 14,7.

2-(4-fluorofenil)-8-metoxi-3-nitro-3,4-dihidro-2H-cromeno (1)

60 **[0107]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ (ppm) = 4,11 (s, 3 H), 6,93 (s, 1 H), 7,24-7,30 (m, 5 H), 7,66 (d, 2 H), 7,69 (d, 1 H), 8,33 (s, 1 H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ (ppm) = 164,3, 162,3, 148,7, 142,5, 141,3, 132,6, 129,3, 129,0, 128,9, 122,6, 122,1, 118,6, 115,9, 115,7, 56,3.

65 6,8-dibromo-2-(4-fluorofenil)-3-nitro-3,4-dihidro-2H-cromeno (2)

## ES 2 710 199 T3

- [0108]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ (ppm) = 6,68 (s, 1 H), 7,02 (m, 2 H), 7,34 (d, 1 H), 7,36 (d, 1 H), 7,40 (s, 1 H), 7,65 (s, 1 H), 7,94 (s, 1 H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ (ppm) = 164,4, 162,4, 149,3, 142,5, 139,1, 131,6, 128,9, 128,8, 127,4, 120,6, 116,9, 116,2, 116,0, 114,8, 112,4.
- 2-(4-fluorofenil)-7-metoxi-3-nitro-3,4-dihidro-2H-cromeno (3)
- [0109]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ (ppm) = 6,39 (d, 1 H), 6,53 (s, 1 H), 6,57 (dd, 1 H), 7,0 (m, 2 H), 7,24 (d, 1 H), 7,34-7,36 (m, 2 H), 8,04 (s, 1 H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ (ppm) = 165,2, 164,2, 162,3, 155,4, 138,2, 133,0, 131,8, 129,9, 129,0, 115,9, 115,8, 110,0, 109,9, 102,3, 55,7.
- 2-(4-fluorofenil)-3-nitro-3,4-dihidro-2H-benzo[g]cromeno (5)
- [0110]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm) = 6,49 (s, 1 H), 6,90-6,97 (m, 4 H), 7,23-7,31 (m, 5 H), 7,99 (s, 1 H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ (ppm) = 164,9, 161,6, 153,3, 141,0, 134,5, 132,8, 132,7, 130,5, 129,4, 129,1, 128,9, 128,5, 127,1, 122,7, 117,8, 117,3, 116,0, 115,7.
- 6-bromo-2-(4-fluorofenil)-8-metoxi-3-nitro-3,4-dihidro-2H-cromeno (6)
- [0111]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm) = 3,76 (s, 3 H), 6,59 (s, 1 H), 6,94-7,03 (m, 4 H), 7,49 (d, 1 H), 7,53 (d, 1 H), 7,92 (s, 1 H).
- 6-bromo-2-(4-fluorofenil)-3-nitro-3,4-dihidro-2H-cromeno (7)
- [0112]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm) = 6,54 (s, 1 H), 6,75 (d, 1 H, J = 8,6 Hz), 7,00 (t, 2 H, J = 8,6 Hz), 7,32 (d, 1 H, J = 5,2 Hz), 7,35 (d, 1 H, J = 5,2 Hz), 7,45 (d, 1 H, J = 2,3 Hz), 7,96 (s, 1 H).
- 8-bromo-2-(4-fluorofenil)-3-nitro-3,4-dihidro-2H-cromeno (8)
- [0113]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm) = 6,60 (s, 1 H), 6,81 (t, 1 H), 6,90 (t, 2 H), 7,20 (dd, 1 H), 7,27-7,30 (m, 2 H), 7,44 (dd, 1 H), 7,94 (s, 1 H).
- 6-bromo-2-(4-bromo-fenil)-3-nitro-2H-cromeno (9)
- [0114]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm) = 6,52 (s, 1 H), 6,77 (d, 1 H, J = 8,6 Hz), 7,23 (d, 2 H, J = 8,6 Hz), 7,45 (m, 4 H), 7,61 (dd, 1 H, J = 6,1 y 2,9 Hz), 7,97 (s, 1 H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ (ppm) = 73,8, 114,8, 119,1, 119,6, 124,0, 128,0, 128,7, 132,2, 132,5, 135,2, 136,9, 141,7, 152,2.
- 6-bromo-2-(4-cloro-fenil)-3-nitro-2H-cromeno (10)
- [0115]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm) = 6,54 (s, 1 H), 6,77 (d, 1 H, J = 8,6 Hz), 7,29-7,32 (m, 4 H), 7,39-7,46 (m, 2 H), 7,97 (s, 1 H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ (ppm) = 73,7, 114,7, 119,0, 119,5, 127,9, 128,3, 128,4, 129,2, 129,8, 130,2, 132,4, 134,7, 135,7, 136,8, 137,6, 141,6, 152,0.
- 6-bromo-2-(4-nitro-fenil)-3-nitro-2H-cromeno (11)
- [0116]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm) = 6,66 (s, 1 H), 6,81 (d, 1 H, J = 8,6 Hz), 7,43-7,56 (m, 4 H), 8,02 (s, 1H), 8,21 (m, 2H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ (ppm) = 73,2, 115,2, 119,0, 119,3, 124,2, 128,0, 128,6, 132,7, 137,2, 141,0, 142,9, 148,5, 152,0.
- 2-(4-bromo-fenil)-8-etoxi-3-nitro-2H-cromeno (13)
- [0117]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ (ppm) = 1,39 (t, 3 H, J = 6,9 Hz), 4,04 (q, 2 H, J = 7,1 Hz), 6,62 (s, 1 H), 6,69 (m, 3 H), 7,28 (m, 2 H), 7,44 (dd, 2 H, J = 8,4 y 1,6 Hz), 8,03 (s, 1 H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ (ppm) = 14,7, 65,0, 73,2, 118,5, 118,8, 122,1, 122,7, 123,4, 128,5, 129,6, 131,8, 135,7, 141,0, 142,8, 147,9.
- 2-(4-cloro-fenil)-8-etoxi-3-nitro-2H-cromeno (14)

**[0118]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 1,38 (t, 3 H, J = 7 Hz), 3,97-4,08 (m, 2 H), 6,63 (s, 1 H), 6,91-6,96 (m, 3 H), 7,25-7,34 (m, 4 H), 8,03 (s, 1 H).  
 $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) = 14,7, 65,0, 73,1, 118,6, 118,9, 122,2, 122,6, 128,3, 129,0, 129,6, 135,3, 141,1, 142,9, 148,0.

5

2-(4-nitro-fenil)-8-etoxi-3-nitro-2H-cromeno (15)

**[0119]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 1,41 (t, 3 H, J = 7,0 Hz), 4,06 (m, 2 H), 6,74 (s, 1 H), 6,95 (m, 3 H), 7,58 (d, 2 H, J = 8,5 Hz), 8,07 (s, 1 H), 8,15 (d, 2 H, J = 8,9 Hz).

10  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) = 14,7, 64,9, 72,6, 118,4, 118,6, 122,2, 123,1, 123,9, 127,7, 130,1, 140,5, 142,4, 143,7, 147,9, 148,28.

2-(2-cloro-fenil)-8-etoxi-3-nitro-2H-cromeno (16)

15 **[0120]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 1,29 (t, 3 H, J = 7,0 Hz), 3,94 (q, 2 H, J = 3,6 Hz), 7,00 (m, 3 H), 7,11-7,27 (m, 3 H), 7,28 (m, 2 H), 7,49 (dd, 1 H, J = 1,0, 7,9 Hz), 8,17 (s, 1 H).

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) = 14,7, 65,8, 70,8, 118,9, 120,6, 122,5, 122,6, 127,0, 128,0, 130,5, 130,6, 130,9, 133,0, 134,5, 140,1, 143,2, 148,14.

20 8-bromo-2-(4-bromo-fenil)-3-nitro-2H-cromeno (18)

**[0121]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 6,67 (s, 1 H), 6,92 (t, 1 H, J = 7,9 Hz), 7,29 (m, 2 H), 7,46 (m, 2 H), 7,45-7,61 (m, 2 H), 8,03 (s, 1 H).

25  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) = 72,8, 111,5, 119,4, 123,7, 123,8, 128,5, 128,9, 129,6, 132,1, 135,2, 137,5, 141,5, 150,1.

8-bromo-2-(4-cloro-fenil)-3-nitro-2H-cromeno (19)

**[0122]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 6,69 (s, 1 H), 6,93 (t, 1 H, J = 7,7 Hz), 7,28-7,35 (m, 5 H), 7,56 (dd, 1 H, J = 6,5 y 1,5 Hz), 8,03 (s, 1 H).

30  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) = 73,7, 111,4, 119,3, 123,6, 128,2, 128,8, 129,0, 129,50, 134,6, 135,5, 137,5, 141,5, 150,0.

8-bromo-2-(4-nitro-fenil)-3-nitro-2H-cromeno (20)

35

**[0123]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 6,80 (s, 1 H), 6,94 (t, 1 H, J = 7,0 Hz), 7,31 (dd, 1 H, J = 7,0 y 1,0 Hz), 7,59 (m, 3 H), 8,07 (s, 1 H), 8,20 (d, 2 H, J = 7,0 Hz).

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) = 73,3, 111,5, 119,2, 124,1, 124,5, 127,8, 129,4, 129,7, 129,8, 136,0, 137,8, 143,0, 149,9.

40

6-bromo-2-(4-bromo-fenil)-8-metoxi-3-nitro-2H-cromeno (22)

**[0124]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 3,82 (s, 3 H), 6,60 (s, 1 H), 7,04 (d, 1 H, J = 2,1 Hz), 7,08 (d, 1 H, J = 2,1 Hz), 7,24 (td, 2 H, J = 2,2 y 8,3 Hz), 7,47 (td, 2 H, J = 2,2 y 8,6 Hz), 7,95 (s, 1 H).

45  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) = 56,5, 73,6, 111,4, 119,7, 119,5, 123,9, 128,0, 128,5, 129,5, 132,1, 135,1, 141,7, 149,3.

6-bromo-2-(4-cloro-fenil)-8-metoxi-3-nitro 2H-cromeno (23)

50 **[0125]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 3,82 (s, 3 H), 6,60 (s, 1 H), 7,08 (dd, 2 H, J = 13,1 y 2,0 Hz); 7,3 (s, 4 H), 7,95 (s, 1 H).

6-bromo-2-(4-nitro-fenil)-8-metoxi-3-nitro-2H-cromeno (24)

55 **[0126]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 3,86 (s, 3 H) 6,75 (s, 1 H), 7,07 (d, 1 H, J = 2,1 Hz), 7,11 (d, 1 H, J = 2,1 Hz), 7,55 (td, 2 H, J = 2,0 y 8,5 Hz), 7,99 (s, 1 H), 8,19 (td, 2 H, J = 2,0 y 8,9 Hz).

6,8-dibromo-2-(4-bromo-fenil)-3-nitro-2H-cromeno (25)

60 **[0127]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 6,67 (s, 1 H), 7,24 (m, 2 H), 7,40 (d, 1 H, J = 2,2 Hz), 7,48 (m, 2 H, J = 8,5 y 1,95 Hz), 7,67 (d, 1 H, J = 2,2 Hz), 7,95 (s, 1 H).

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) = 73,9, 112,4, 114,8, 120,6, 124,1, 127,5, 128,4, 129,5, 121,5, 132,2, 132,7, 134,6, 139,1, 142,2, 149,2.

65 6,8-dibromo-2-(4-cloro-fenil)-3-nitro-2H-cromeno (26)

## ES 2 710 199 T3

**[0128]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 6,68 (s, 1 H), 7,41 (d, 1 H, J = 2,0 Hz), 7,43 (d, 2 H, J = 8,0 Hz), 7,49 (m, 2 H, J = 8,0 Hz), 7,67 (d, 1 H, J = 2,0 Hz), 7,98 (s, 1 H).

5 6,8-dibromo-2-(4-nitro-fenil)-3-nitro-2H-cromeno (27)

**[0129]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 8,28 (d, 2 H, J = 8,3 Hz), 8,00 (s, 1 H), 7,70 (dd, 1 H, J = 1,0 y 2,2 Hz), 7,58 (td, 2 H, J = 2,0 y 8,5 Hz), 7,44 (d, 1 H, J = 2,2 Hz), 6,80 (s, 1 H).

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) = 73,4, 112,4, 115,3, 120,3, 124,2, 127,8, 128,1, 131,8, 139,5, 142,4, 148,98.

10

2-(4-bromo-fenil)-6-etinil-3-nitro-2H-cromeno (32)

**[0130]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 3,06 (s, 1 H), 6,54 (s, 1 H), 6,82 (d, 1 H, J = 6,0 Hz), 7,23 (m, 2 H), 7,45 (m, 4 H), 8,00 (s, 1 H).

15  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  (ppm) = 155,4, 141,3, 137,9, 135,4, 133,9, 132,1, 128,7, 128,5, 124,0, 117,8, 117,5, 116,7, 81,8, 73,9.

6-bromo-2-fenil-2H-cromeno-3-carbaldehído (33)

20 **[0131]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 6,32 (s, 1H), 6,76 (d, 1 H, J = 8,2 Hz), 7,27-7,32 (m, 5 H), 7,34-7,38 (m, 3 H), 9,65 (s, 1 H).

6-bromo-2-(4-fluoro-fenil)-2H-cromeno-3-carbaldehído (34)

25 **[0132]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 6,29 (s, 1 H), 6,76 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 6,97 (m, 2 H), 7,27-7,32 (m, 3 H), 7,38 (m, 3 H), 9,65 (s, 1 H).

8-etoxi-2-fenil-2H-cromeno-3-carbaldehído (35)

30 **[0133]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 1,37 (t, 3 H, J = 7,0 Hz), 4,04 (q, 2 H, J = 3,9), 6,43 (s, 1 H), 6,86 (m, 2 H), 6,92 (m, 1 H, J = 5,3 Hz), 7,25 (m, 3 H), 7,35 (m, 2 H), 7,38 (s, 1 H); 9,67 (s, 1 H).

6-bromo-3-nitro-2-(tetrahidro-piran-4-il)-2H-cromeno (36)

35 **[0134]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 1,45 (m, 2 H), 1,68 (m, 2 H), 2,07 (m, 1 H); 3,27 (m, 2 H), 3,95 (m, 2 H); 5,48 (d, 1 H, J = 6,4 Hz), 6,85 (d, 1 H, J = 8,6 Hz), 7,40 (d, 1 H, J = 2,3 Hz), 7,45 (dd, 1 H, J = 8,6 y 2,3 Hz), 7,79 (s, 1 H).

8-bromo-3-nitro-2-(tetrahidro-piran-4-il)-2H-cromeno (37)

40

**[0135]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 1,45 (m, 2 H); 1,83 (m, 2 H), 2,07 (m, 1 H), 3,28 (m, 2 H), 3,97 (m, 2 H), 5,60 (d, 1 H, J = 6,7 Hz), 6,91 (t, 1 H, J = 7,7 Hz), 7,24 (dd, 1 H, J = 6,2 y 1,4 Hz), 7,58 (dd, 1 H, J = 6,5 y 1,5 Hz), 7,86 (s, 1 H).

45 6,8-dibromo-3-nitro-2-(tetrahidro-piran-4-il)-2H-cromeno (39)

**[0136]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 1,43 (m, 2 H), 1,76 (m, 2 H), 2,05 (m, 1H, H-5), 3,28 (m, 2 H), 3,98 (m, 2 H), 5,59 (d, 1 H, J = 6,6 Hz), 7,37 (d, 1 H, J = 2,2 Hz), 7,71 (d, 1 H, J = 2,2 Hz), 7,78 (s, 1 H).

50 6-bromo-8-metoxi-3-nitro-2-(tetrahidro-piran-4-il)-2H-cromeno (40)

**[0137]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm) = 1,49 (m, 2 H), 1,72 (m, 2 H), 2,04 (m, 1 H), 3,26 (m, 2 H), 3,89 (s, 3 H); 3,98 (m, 2 H), 5,53 (d, 1 H, J = 6,86 Hz), 7,04 (d, 1 H, J = 2,1 Hz), 7,07 (d, 1 H, J = 2,1 Hz), 7,78 (s, 1 H).

55 6-bromo-2-(4-bromofenil)-2H-cromeno-3-carbaldehído (44)

**[0138]** Pf = 144-146 °C.  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  6,27 (s, 1H), 6,76 (d, J = 8,5, 1H), 7,19 (d, J = 8,5, 2H), 7,35-7,40 (m, 4H), 7,43 (s, 1H), 9,66 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  73,7, 113,9, 119,0, 121,5, 123,0, 128,5, 131,5, 131,8, 134,0, 136,2, 137,4, 139,2, 153,4, 189,6.

2-(4-bromo-fenil)-3-nitro-2H-cromen-6-ol (45)

(MMJ)

65

**[0139]**  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6,47 (s, 1H), 6,71-6,86 (m, 2H), 6,80 (s, 1H), 7,22 (d, J = 8,5, 2H), 7,44 (d, J = 8,5, 2H), 7,97 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  73,2, 115,6, 118,1, 118,4, 121,6, 123,5, 128,7, 129,6, 131,9, 135,6, 141,3, 146,6, 151,6.

5 Compuesto (47)

(MJ / 4 / 140-1)

**[0140]**  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,39-1,47 (m, 2H), 1,62 1,74 (m, 4H), 1,93-2,02 (m, 2H), 2,21 (t, J = 7,4, 2H), 2,68 (d, J = 12,8, 1H), 2,84-2,88 (dd, J = 4,7, 12,8, 1H), 3,08-3,14 (m, 1H), 3,38-3,45 (m, 2H), 3,96 (t, J = 6,0, 2H), 4,24-4,27 (m, 1H), 4,41-4,45 (m, 1H), 5,57 (bs, 1H), 6,44 (t, J = 5,6, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,53 (bs, 1H), 6,77 (d, J = 8,6, 1H), 6,85 (t, J = 2,7, 1H), 6,88 (dd, J = 2,9, 8,6, 1H), 7,21 (d, J = 8,4, 2H), 7,43 (d, J = 8,4, 2H), 8,02 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  25,6, 28,0, 28,1, 29,1, 35,8, 36,9, 40,5, 55,6, 60,3, 61,8, 66,7, 73,3, 114,6, 114,6, 118,4, 118,4, 121,4, 121,4, 123,5, 128,7, 129,7, 131,9, 135,6, 141,2, 147,2, 154,0, 163,9, 173,6.

15

Compuesto (48)

(MJ/4/188-2)

**[0141]**  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,38-1,44 (m, 2H), 1,60 1,74 (m, 4H), 1,94-1,99 (m, 2H), 2,21 (t, J = 7,2, 2H), 2,68 (d, J = 12,7, 1H), 2,84-2,88 (m, 1H), 3,09-3,13 (m, 1H), 3,38-3,41 (m, 2H), 3,94 (t, J = 5,8, 2H), 4,24-4,27 (m, 1H), 4,41-4,45 (m, 1H), 5,51 (bs, 1H), 6,41 (bs, 1H), 6,53 (bs, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,84 (t, J = 2,2, 1H), 7,11 (d, J = 2,0, 1H), 7,25 (dd, J = 2,2, 8,6, 2H), 7,44 (d, J = 8,6, 2H), 8,02 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  25,5, 27,9, 28,0, 29,0, 35,8, 36,5, 40,5, 55,5, 60,1, 61,6, 66,7, 73,4, 111,5, 114,5, 114,5, 119,5, 123,6, 123,7, 123,7, 128,4, 129,2, 129,2, 131,9, 135,0, 142,0, 142,0, 144,0, 154,0, 163,9, 173,4.

25

Compuesto (49)

(MJ/4/191-1)

30

**[0142]**  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,37-1,47 (m, 4H), 1,57-1,63 (m, 2H), 1,69-1,74 (m, 2H), 3,50-3,53 (m, 2H), 3,95 (t, J = 6,2, 2H), 6,56 (dd, J = 2,2, 8,6, 2H), 6,60 (d, J = 8,6, 2H), 6,67 (d, J = 2,2, 2H), 6,72 (s, 1H), 7,17 (d, J = 8,2, 1H), 7,26 (d, J = 2,7, 1H), 7,28 (d, J = 2,7, 1H), 7,34 (d, J = 8,5, 2H), 7,57 (d, J = 8,5, 2H), 7,71-7,74 (m, 1H), 8,07 (bs, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 9,85 (bs, 1H), 10,11 (s, 2H).

$^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{DMSO}$ )  $\delta$  25,1, 26,0, 28,2, 28,4, 30,7, 35,7, 68,3, 72,8, 82,9, 102,1, 109,6, 110,2, 112,4, 115,8, 119,9, 122,7, 122,8, 128,9, 129,0, 129,7, 131,7, 135,3, 141,6, 142,8, 151,7, 153,8, 159,3, 162,2, 168,4.

35

6-bromo-2-(4-bromofenil)-3-nitro-2H-tiocromeno (50)

**[0143]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  5,50 (s, 1H), 7,05 (d, J = 8,6, 2H), 7,13 (d, J = 8,4, 1H), 7,36 (d, J = 8,6, 2H), 7,44 (dd, J = 8,4, 2,2, 1H), 7,61 (d, J = 2,2, 1H), 8,13 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  39,2, 119,7, 122,7, 127,8, 128,7, 129,8, 130,6, 131,0, 132,1, 134,2, 135,1, 138,3, 144,0.

6,8-dibromo-2-(4-bromofenil)-3-nitro-2H-tiocromeno (51)

45

**[0144]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  5,59 (s, 1H), 7,06 (d, J = 8,5, 2H), 7,38 (d, J = 8,6, 2H), 7,57 (d, J = 1,9, 1H), 7,71 (d, J = 1,9, 1H), 8,10 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  40,1, 119,2, 122,1, 122,9, 127,9, 130,5, 130,8, 132,3, 133,1, 133,3, 138,1, 138,2, 144,1.

50 6,8-dibromo-2-(4-bromofenil)-2H-cromeno-3-carbaldehído (52)

**[0145]**  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  6,42 (s, 1H), 7,19 (d, J = 8,2, 2H), 7,33 (s, 1H), 7,34 (d, J = 2,2, 1H), 7,42 (d, J = 8,2, 2H), 7,65 (d, J = 2,2, 1H), 9,72 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  74,1, 112,2, 114,0, 122,6, 123,1, 128,2, 130,6, 131,8, 134,8, 136,8, 138,5, 138,6, 150,4, 189,3.

55

Ácido 6-bromo-2-(4-bromofenil)-2H-cromeno-3-carboxílico (53)

**[0146]** Pf = 208-210 °C.  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{DMSO}-d_6$ , 300 MHz)  $\delta$  6,23 (s, 1H), 6,78 (d, J = 8,6, 1H), 7,22-7,32 (m, 2H), 7,38 (dd, J = 8,6, 2,5, 1H), 7,50-7,60 (m, 2H), 7,66 (d, J = 2,5, 1H), 7,74 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{DMSO}-d_6$ , 75 MHz)  $\delta$  74,0, 112,9, 118,6, 122,1, 122,5, 125,9, 129,3, 131,1, 131,9, 131,6, 134,4, 137,7, 151,6, 165,3.

60

Ácido 6,8-dibromo-2-(4-bromofenil)-2H-cromeno-3-carboxílico (54)

65

**[0147]** Pf = 256-258 °C. <sup>1</sup>H RMN (DMSO- d<sub>6</sub>, 300 MHz) δ 7,71 (d, J = 2,3, 1H), 6,37 (s, 1H), 7,29 (d, J = 8,4, 2H), 7,56 (d, J = 8,5, 2H), 7,71 (d, J = 2,3, 1H), 7,73-7,78 (m, 2H).  
<sup>13</sup>C RMN (DMSO- d<sub>6</sub>, 75 MHz) δ 75,1, 111,5, 113,8, 122,8, 124,1, 127,3, 129,6, 131,2, 131,5, 132,2, 136,8, 137,8, 149,1, 165,5.

5

Metil-6-bromo-2-(4-bromofenil)-2H-cromeno-3-carboxilato (55)

**[0148]** Pf = 118-120 °C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ 3,77 (s, 3H), 6,22 (s, 1H), 6,67 (d, J = 7,9, 1H), 7,21 (d, J = 8,5, 2H), 7,27-7,31 (m, 2H), 7,41 (d, J = 8,5, 2H), 7,59 (s, 1H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ 52,2, 74,7, 113,7, 118,7, 122,0, 123,1, 125,1, 128,9, 131,1, 131,8, 132,2, 134,9, 137,5, 152,3, 164,7.

10

Metil 6,8-dibromo-2-(4-bromofenil)-2H-cromo-3carboxilato (56)

**[0149]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ 3,81 (s, 3H), 6,36 (s, 1H), 7,21-7,31 (m, 3H), 7,38-7,48 (m, 2H), 7,55 (d, J = 2,2, 1H), 7,57 (s, 1H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) δ 52,4, 75,0, 111,9, 113,9, 123,1, 123,2, 126,1, 128,7, 130,2, 131,8, 131,9, 137,0, 137,3, 149,4, 164,5.

15

20 6-bromo-2-(4-bromofenil)-*N,N*-dimetil-2H-cromeno-3-carboxamida (57)

**[0150]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 2,96 (s, 6H), 6,18 (s, 1H), 6,54 (s, 1H), 6,71 (d, J = 8,6, 1H), 7,19 (d, J = 2,4, 1H), 7,27 (d, J = 1,3, 3H), 7,44 (d, J = 8,4, 2H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ 35,2, 38,5, 76,8, 113,5, 118,1, 121,8, 122,9, 123,2, 128,6, 130,0, 130,4, 131,8, 133,4, 137,9, 151,6, 167,8.

25

6,8-bromo-2-(4-bromofenil)-*N,N*-dimetil-2H-cromeno-3-carboxamida (58)

**[0151]** <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 2,99 (s, 6H), 6,29 (s, 1H), 6,56 (s, 1H), 7,15 (d, J = 2,2, 1H), 7,22-7,34 (m, 2H), 7,44 (d, J = 8,5, 2H), 7,52 (d, J = 2,2, 1H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ 35,3, 38,5, 111,3, 113,7, 122,9, 123,0, 123,1, 128,4, 129,2, 131,3, 131,8, 136,0, 137,3, 148,6, 162,3, 167,5.

30

6-bromo-2-(4-bromofenil)-2H-cromeno-3-carbaldehído oxima (59)

**[0152]** Pf = 158-160 °C. <sup>1</sup>H RMN (DMSO- d<sub>6</sub>, 500 MHz) δ 6,28 (s, 1H), 6,74 (d, J = 8,7, 1H), 7,09 (s, 1H), 7,29 (dd, J = 8,5, 3,2, 3H), 7,47 (d, J = 2,4, 1H), 7,49-7,57 (m, 2H), 7,97 (s, 1H), 11,44 (s, 1H).  
<sup>13</sup>C RMN (DMSO- d<sub>6</sub>, 125 MHz) δ 74,3, 113,5, 119,0, 122,4, 124,3, 126,0, 130,0, 130,0, 130,2, 132,0, 133,0, 137,8, 147,6, 151,4.

35

40

6,8-bromo-2-(4-bromofenil)-2H-cromeno-3-carbaldehído oxima (60)

**[0153]** Pf = 214-216 °C. <sup>1</sup>H RMN (DMSO- d<sub>6</sub>, 500 MHz) δ 6,43 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 7,30 (d, J = 8,4, 2H), 7,52 (dd, J = 17,8, 5,4, 3H), 7,62 (d, J = 2,3, 1H), 8,01 (s, 1H), 11,57 (s, 1H).  
<sup>13</sup>C RMN (DMSO- d<sub>6</sub>, 125 MHz) δ 75,0, 111,4, 113,8, 122,6, 125,5, 125,5, 129,5, 129,9, 131,1, 132,0, 134,9, 137,4, 147,4, 148,3.

45

6-bromo-2-(4-bromofenil)-2H-cromeno-3-carbonitrilo (61)

**[0154]** Pf = 136-138 °C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 5,88 (s, 1H), 6,75 (d, J = 8,6, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,27 (d, J = 2,3, 1H), 7,31 (d, J = 8,4, 2H), 7,37 (dd, J = 8,7, 2,4, 1H), 7,50-7,56 (m, 2H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ 75,6, 107,8, 114,5, 116,1, 118,8, 120,7, 124,0, 128,8, 130,6, 132,3, 135,7, 135,7, 137,1, 151,9.

50

55 6,8-dibromo-2-(4-bromofenil)-2H-cromeno-3-carbonitrilo (62)

**[0155]** Pf = 196-198 °C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 6,01 (s, 1H), 7,23 (d, J = 1,1, 2H), 7,33 (d, J = 8,5, 2H), 7,54 (d, J = 8,5, 2H), 7,63 (d, J = 2,2, 1H).  
<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ 75,8, 108,6, 112,1, 114,6, 115,8, 121,6, 124,1, 128,5, 129,8, 132,3, 135,2, 136,6, 138,3, 148,9.

60

8-bromo-2-(4-bromo-fenil)-3-nitro-2H-cromeno-6-ol (63)

(MJ/4/180-2)

65

**[0156]**  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,16 (bs, 1H), 6,61 (s, 1H), 6,77 (d, J = 2,9, 1H), 7,08 (d, J = 2,9, 1H), 7,24 (d, J = 8,5, 2H), 7,45 (d, J = 8,5, 2H), 8,05 (s, 1H).  
 $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  73,5, 111,6, 115,5, 119,7, 123,7, 124,4, 128,4, 128,7, 132,0, 135,0, 142,3, 144,1, 151,0.

5

## EJEMPLOS

**Ejemplo 1:** efecto citotóxico de los compuestos de fórmula (I).

10 **[0157]** Se ha demostrado que las líneas celulares Jurkat y CEM son adictas a la ruta de señalización PI3K/AKT/mTOR para sobrevivir y proliferar (Beneteau, M. et al. Localization of Fas/CD95 into the lipid rafts on down-modulation of the phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathway. *Molecular cancer research: MCR* 6, 604-613, (2008); Pizon, M. et al. Actin independent exclusion of CD95 by PI3K/AKT signalling: Implications for apoptosis. *European journal of immunology* 41, (2011)).

15

Protocolo:

**[0158]** Las líneas de células T leucémicas Jurkat y CEM se incubaron durante 24 horas (ver Figuras 1, 2, 3, 4 y 5) o durante 20 horas (ver Figura 6) con compuestos de fórmula (I) y con el compuesto A, en las concentraciones indicadas y la muerte celular se evaluó mediante el ensayo de viabilidad MTT, que estima el estado metabólico de la célula.

20

Resultados:

25 **[0159]** Los resultados se muestran en las Figuras 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Los compuestos de fórmula (I) desencadenan una fuerte señal de muerte celular en células CEM y Jurkat de acuerdo con la medición del ensayo de MTT.

**[0160]** En las figuras 1 y 2, el compuesto A muestra un porcentaje menor de muerte celular que la mayoría de los compuestos de fórmula (I).

30

**[0161]** En las figuras 3, 4 y 5, LY294002 muestra un porcentaje de muerte celular mucho más bajo que los compuestos de fórmula (I).

35 **[0162]** Estos resultados demuestran la fuerte actividad citotóxica de los compuestos de fórmula (I), en comparación con otros inhibidores de la ruta PI3K/AKT/mTOR como el compuesto A y LY294002.

**Ejemplo 2:** actividad inhibidora de la ruta PI3K/AKT/mTOR de los compuestos de fórmula (I).

40 Protocolo:

**[0163]** La célula CEM se incubó con 10  $\mu\text{M}$  de cada uno de los compuestos mencionados de fórmula (I) durante los tiempos indicados y luego las células se lisaron y se cargaron 100  $\mu\text{g}$  de proteína por línea y se resolvieron mediante SDS-PAGE. Los niveles de fosforilación de AKT (sello distintivo de la activación de PI3K) y  
 45 AKT total (control de carga) se analizaron mediante inmunoelectrotransferencia y la cantidad de fosforilación de AKT relativa a la cantidad total de proteína AKT se cuantificó mediante análisis densitométrico, se exploró la intensidad de cada banda y el nivel de fosforilación de AKT se declaró a la cantidad de AKT total y se representó el porcentaje de AKT fosforilado.

50 Resultados:

**[0164]** Como se muestra en las Figuras 7 y 8, los compuestos de fórmula (I) son inhibidores muy fuertes de la actividad PI3K/AKT, en particular los compuestos 9, 10, 13, 14, 18, 19 y 25 (ver Figura 8). Los otros compuestos probados también muestran una fuerte actividad inhibitoria (ver Figura 7).

55

**[0165]** Se debe tener en cuenta que el compuesto A, que se ha descrito en la técnica anterior como inhibidor de PI3K, muestra una actividad inhibidora muy débil sobre PI3K, incluso sin actividad inhibitoria (ver Figuras 7 y 8). Además, como se muestra en la Figura 8, los compuestos de fórmula (I) muestran una actividad inhibitoria más fuerte sobre la ruta PI3K/AKT/mTOR que LY294002.

60

**[0166]** Los resultados confirman que los compuestos de la invención inhiben fuertemente la ruta de PI3K/AKT/mTOR y son más potentes que otros inhibidores de la ruta de PI3K/AKT/mTOR tales como el compuesto A y LY294002, especialmente mucho más potentes que el compuesto A.

65 **Ejemplo 3:**  $\text{IC}_{50}$  *in cellulo* de compuestos de fórmula (I).

Protocolo:

5 **[0167]** Las células CEM se incubaron durante 2 horas con las concentraciones indicadas de cada uno de los compuestos mencionados de fórmula (I). Las células se lisaron y se cargaron 100 mg de proteína por línea en una SDS-PAGE. Las bandas de la fosforilación de AKT y la AKT completa observadas mediante inmunoelectrotransferencia se analizaron y cuantificaron mediante análisis densitométrico. Basándose en estos valores, se midió una IC<sub>50</sub> *in cellulo* (media concentración inhibitoria máxima) para cada compuesto de fórmula (I).

10 **[0168]** La IC<sub>50</sub> obtenida de los compuestos evaluado se menciona a continuación en la Tabla 1:

Tabla 1

Compuesto	<i>In vivo</i> IC <sub>50</sub> (µM)
9	0,4
10	2
13	8
14	10
18	1,5
19	>10
25	3
LY294002	>10

15 **[0169]** Cabe destacar que, entre los compuestos ensayados, el reactivo más eficaz designado como compuesto 9, posee una IC<sub>50</sub> *in cellulo* a 0,4 µM, que es mucho más eficiente que la IC<sub>50</sub> de LY294002, que es mayor que 10 mM.

**Ejemplo 4:** Compuestos de fórmula (I) como potentes inductores de muerte celular en células de cáncer de mama triple negativo.

20

Protocolo:

25 **[0170]** Las líneas de células tumorales triple negativas MDA-MB-231 y MDA-MB-468 se incubaron con las concentraciones indicadas de cada compuesto de fórmula (I) mencionado durante 24 horas y luego se evaluó la muerte celular mediante un ensayo de MTT.

Resultados:

30 **[0171]** En contraste con LY294002, los compuestos de fórmula (I) implementan una fuerte señal de muerte celular en células tumorales de mama triple negativas MDA-MB-231 y MDA-MB-468 (ver Figuras 9 y 10). Estos resultados confirman que los compuestos de fórmula (I) son de interés para prevenir y/o tratar los cánceres de mama, especialmente el cáncer de mama triple negativo.

35 **Ejemplo 5:** Compuestos de fórmula (I) como potentes inductores de muerte celular en células de cáncer de mama no triples negativas.

Protocolo:

40 **[0172]** Las líneas celulares de cáncer de mama positivo a ER MCF-7 y T47-D y las líneas celulares de cáncer de mama positivo a HER2 MDAMB-453 y BT474 (también positivo a ER) se incubaron con la concentración indicada de cada compuesto mencionado de fórmula (I) durante 24 horas y luego se evaluó la muerte celular mediante ensayo MTT.

Resultados:

45

**[0173]** Los resultados se muestran en las tablas a continuación:  
Para cada línea celular, el porcentaje de muerte celular (promedio de cuatro experimentos para las líneas celulares MCF-7 y T47-D, y dos experimentos para las líneas celulares MDA-MB-453 y BT474) se da en vista del aumento de la concentración de cada compuesto evaluado de la invención.

50

Línea celular MCF-7 (ER-positivo)

**[0174]**

Concentración (µM)	Porcentaje de muerte celular con compuesto 9	Porcentaje de muerte celular con compuesto 10	Porcentaje de muerte celular con compuesto 19	Porcentaje de muerte celular con compuesto 25	Porcentaje de muerte celular con compuesto 7	Porcentaje de muerte celular con compuesto LY294002
50	80,16	81,85	84,65	94,09	95,55	18,89
25	52,18	49,08	52,14	76,72	79,7	13,51
12,5	32,14	24,06	25,75	63,54	38,7	11,067
6,25	0	0	0	47,86	10,88	11,53

Línea celular T47-D (ER-positivo)

[0175]

5

Concentración (µM)	Porcentaje de muerte celular con compuesto 9	Porcentaje de muerte celular con compuesto 10	Porcentaje de muerte celular con compuesto 18	Porcentaje de muerte celular con compuesto 25	Porcentaje de muerte celular con compuesto 7	Porcentaje de muerte celular con compuesto LY294002
50	93,62	92,93	78,28	91,25	88,3	55,69
25	91,2	91,71	23,71	90,23	92,07	50,01
12,5	92,97	87,84	0	91,27	85,1	40,42
6,25	20,53	4,62	0	85,31	34,43	32,33

Línea celular MDA-MB-453 (HER2-positivo)

[0176]

10

Concentración (µM)	Porcentaje de muerte celular con compuesto 9	Porcentaje de muerte celular con compuesto 10	Porcentaje de muerte celular con compuesto 18	Porcentaje de muerte celular con compuesto 19	Porcentaje de muerte celular con compuesto 25	Porcentaje de muerte celular con compuesto 7	Porcentaje de muerte celular con compuesto LY294002
50	<b>98,67</b>	<b>99,07</b>	<b>100</b>	<b>101,13</b>	<b>100,76</b>	<b>100,25</b>	86,55
25	<b>97,49</b>	<b>98,46</b>	<b>93,72</b>	<b>98,05</b>	<b>99,35</b>	<b>102,46</b>	76,61
12,5	<b>87,47</b>	<b>93,07</b>	<b>81,73</b>	<b>91,89</b>	<b>95,09</b>	<b>97,05</b>	53,74
6,25	<b>71,22</b>	<b>76,17</b>	<b>45,963</b>	<b>53,93</b>	<b>89,213</b>	<b>65,61</b>	17,45
3,125	<b>53,8</b>	<b>70,42</b>	0	<b>24,69</b>	<b>85,57</b>	<b>52,93</b>	0
1,5625	<b>4,67</b>	<b>5,06</b>	0	0	<b>81</b>	<b>13,84</b>	0
0,78125	<b>7,56</b>	<b>7,8</b>	<b>3,17</b>	0	<b>9,09</b>	0	0
0,390625	<b>1,52</b>	<b>6,6</b>	<b>3,17</b>	0	0	<b>1,13</b>	0

Línea celular BT474 (ER-positivo/HER2-positivo)

15 [0177]

Concentración (µM)	Porcentaje de muerte celular con compuesto 9	Porcentaje de muerte celular con compuesto 10	Porcentaje de muerte celular con compuesto 25	Porcentaje de muerte celular con compuesto 7	Porcentaje de muerte celular con compuesto LY294002
50	<b>93,62</b>	<b>93,84</b>	<b>96,81</b>	<b>96,07</b>	77,2
25	<b>88,01</b>	<b>69,52</b>	<b>90,49</b>	<b>91,87</b>	62,79
12,5	<b>71,4</b>	<b>40,42</b>	<b>95,61</b>	<b>55,3</b>	48,7
6,25	25,95	0	<b>75,54</b>	<b>44,85</b>	35,35

[0178] Los porcentajes de muerte celular inducidos por los compuestos de fórmula (I) son más altos que los porcentajes de muerte celular inducidos por LY294002 con concentraciones de 6,25 a 50 µM. En algunos casos, los porcentajes de muerte celular inducidos por los compuestos de fórmula (I) son mayores que los porcentajes de muerte celular inducidos por LY294002 con concentraciones de 0,390625 a 50 µM.

[0179] Los compuestos de fórmula (I) implementan una fuerte señal de muerte celular en las células

tumorales MCF-7, T47-D, BT474 y MDA-MB 453. Estos resultados confirman que los compuestos de fórmula (I) son de interés para prevenir y/o tratar el cáncer de mama.

**Ejemplo 6:** Los compuestos de fórmula (I) inhiben la ruta de PI3K/AKT/mTOR y se unen a mTOR.

5

**[0180]** Figura 12A:

La inhibición del nivel de fosforilación de AKT en la serina 473, diana de mTORC2 y 4EBP1 (también llamada proteína 1 de unión al factor 4E de iniciación de la traducción eucariótica) en treoninas 37/46, que son dianas de mTORC1, por el compuesto 48 (compuesto 25 vinculado a biotina) se evaluó por inmunotransferencia. El total de AKT y 4EBP1 se agregaron como controles de carga.

10

**[0181]** Estos resultados muestran que la fosforilación de AKT y 4EBP1 disminuye con el aumento de las concentraciones del compuesto 48. Estos resultados muestran que los compuestos de fórmula (I) inhiben la ruta PI3K/AKT/mTOR mediante la inhibición de la fosforilación de los efectores posteriores de mTOR como AKT y 4EBP1.

15

**[0182]** Figura 12B:

Los compuestos 25 y 48 (compuesto 25 unido a biotina) (1  $\mu$ M) se incubaron con células T leucémicas CEM durante los tiempos indicados. Luego, las células se lisaron en tampón RIPA y la biotina se inmunoprecipitó mediante perlas magnéticas recubiertas con estreptavidina. Las perlas se lavaron y la presencia de mTOR se analizó en el complejo asociado con el compuesto 48 mediante inmunotransferencia.

20

**[0183]** Los resultados muestran que el compuesto 48 se une a mTOR. Por lo tanto, los compuestos de fórmula (I) se dirigen a la proteína mTOR en líneas celulares tumorales.

25

**Ejemplo 7:** Toxicidad de los compuestos de la invención *in vivo*

**[0184]** La actividad tóxica *in vivo* del compuesto 25 se estudió como se indica a continuación.

30

**[0185]** Los ratones recibieron inyecciones intravenosas repetidas del compuesto 25 (10 mg/kg) o vehículo. Los resultados muestran que el tratamiento con el compuesto 25 no mostró toxicidad en ratones: el peso corporal de los ratones analizados se mantuvo y todos los ratones sobrevivieron a los 7 días (ver Fig. 13A y 13B).

**Ejemplo 8:** Actividad citotóxica de los compuestos de la invención en células TSC2<sup>-/-</sup> y TSC2<sup>+/+</sup>.

35

**[0186]** Las células AML (AngioMioLipoma) de un paciente (donación generosa del Dr. M. Pende, París) se enriquecieron para células TSC2<sup>-/-</sup>, como modelo de esclerosis tuberosa. Estas células se han reconstituido con TSC2 de tipo salvaje (TSC2<sup>+/+</sup>). La proliferación celular se evaluó en células de angiomiolipomas y sus homólogos se reconstituyeron con TSC2 de tipo salvaje. La Figura 14A muestra el número de células obtenido en el tiempo.

40

**[0187]** La viabilidad celular se evaluó mediante un ensayo MTT. Las células se incubaron durante 16 horas en un medio que contenía suero de ternera fetal al 1 % suplementado con las concentraciones indicadas de los dos inhibidores de mTOR, compuesto 25 o rapamicina (ver Figuras 14B y 14C). Los datos representan la media y la desviación estándar de tres experimentos independientes.

45

**[0188]** Estos resultados muestran que las células TSC2<sup>-/-</sup> son más sensibles al compuesto 25 que las TSC2<sup>+/+</sup> de tipo salvaje. Además, el compuesto 25 de la invención es más eficaz para matar células TSC2<sup>-/-</sup> que la rapamicina, que se usa en el tratamiento de la esclerosis tuberosa.

50

**[0189]** Por lo tanto, los compuestos de la invención son útiles para tratar la esclerosis tuberosa y son más eficaces que la rapamicina.

**Ejemplo 9:** Los compuestos de la invención inhiben la actividad de mTORC1 en células TSC2<sup>-/-</sup>

55

**[0190]** Las células AML (1,10<sup>6</sup> células) deficitarias para TSC2 (TSC2<sup>-/-</sup>) o reconstituidas con TSC2 de tipo salvaje (TSC2<sup>+/+</sup>) (donación generosa del Dr. M. Pende, París) se trataron o no se trataron durante los tiempos indicados con 10  $\mu$ M de compuesto 25 o rapamicina y luego las células se lisaron. Se cargaron 100  $\mu$ g de proteína y se resolvieron mediante SDS-PAGE y se realizaron las inmunotransferencias indicadas. El total de S6 y  $\beta$ -actina sirven como controles de carga. S6 se fosforila por p70S6K en su serina 240 y 244. 4EBP1 se fosforila por mTORC1 en su treonina en las posiciones 37 y 46. p70S6K y 4EBP1 son sustratos directos de mTORC1. La fosforilación de 4EBP1 dirigida por mTORC1 se puede monitorizar mediante la aparición de una banda de alto peso molecular que desaparece en presencia del compuesto 25 o rapamicina (ver la Figura 15). Es de destacar que la restauración de la expresión de TS2 en células de AML reduce el nivel basal de la fosforilación de S6 y 4EBP1.

60

65

**[0191]** Estos resultados muestran que los compuestos de la invención, tales como el compuesto 25, inhiben

la actividad de mTORC1 en células TSC2<sup>+/+</sup>.

**Ejemplo 10:** Inhibición competitiva de mTOR por los compuestos de la invención.

5 **[0192]** A diferencia de la rapamicina, que cuando se une a FKBP12 interactúa con e inhibe la actividad cinasa de mTORC1, los inhibidores de mTOR competitivos se dirigen tanto a mTORC1 como a mTORC2.

**[0193]** Las células CEM (1,10<sup>6</sup> células) se incubaron con las concentraciones indicadas de compuesto 25 durante 2 horas y los lisados de las células se sometieron a análisis de inmunoelectrotransferencia. La actividad  
10 inhibitoria del compuesto 25 en los sustratos de mTORC1 p70S6KThr389 y 4EBP1-Thr37 y 46 y en el sustrato de mTORC2 Akt-Ser473 y en el sustrato de PDK1 Akt-Thr308 se evaluó mediante inmunotransferencia. El total de 4EBP1, p70S6K, Akt y  $\beta$ -actina sirven como controles de carga. Los compuestos de la invención y más particularmente el compuesto 25 pueden ser inhibidores competitivos de mTOR porque inhiben los sustratos mTORC1 (4EBP1 y p70S6K) y mTORC2 (AKT en S473) como se muestra en la Figura 16.

15 **Ejemplo 11:** Prevención de la migración celular por los compuestos de la invención en células de cáncer de mama triple negativo (TNBC)

**[0194]** CD95L (también conocido como FasL) pertenece a la familia TNF (Factor de Necrosis Tumoral) y es el  
20 ligando para el "receptor de la muerte" CD95 (Fas/APO1). Esta citoquina transmembrana puede ser escindida por metaloproteasas para producir un ligando soluble. Este CD95L procesado naturalmente (cl-CD95L) en pacientes con cáncer de mama triple negativo desencadena la migración de células cancerosas y, al hacerlo, aumenta el riesgo de diseminación metastásica en estos pacientes. A diferencia de la membrana unida a CD95L, cl-CD95L fracasa en inducir la apoptosis y en su lugar promueve la formación de un receptosoma atípico aquí denominado Motility-  
25 Inducing Signaling Complex (MISC).

**[0195]** La formación de MISC conduce a la inducción de la ruta de señalización de fosfoinositida 3-cinasa (PI3K) pronocogénica / diana en mamíferos de rapamicina (mTOR).

30 **[0196]** Las líneas celulares de TNBC (MDA-MB-231 y BT549) se preincubaron durante 1 hora en presencia o ausencia de una cantidad no citotóxica del compuesto 25 (1  $\mu$ M) y luego se trataron o no se trataron con CD95L (100 ng/ml) durante 24 horas. La migración celular se analizó mediante el ensayo de cámara de Boyden. Las células teñidas con Giemsa que migraban se lisaron y la absorbancia se midió a una longitud de onda de 560 nm. Los valores representan los medios  $\pm$ SEM de tres experimentos realizados de forma independiente.

35 \*  $p < 0,05$  según lo calculado mediante la prueba de Mann-Whitney de dos colas.

**[0197]** Los resultados muestran que 1  $\mu$ M del compuesto 25 fue suficiente para anular la migración de las células tumorales estimuladas con el factor promigratorio CD95L (véase la Figura 17).

#### 40 **Material y métodos de los ejemplos:**

##### **Anticuerpos y otros reactivos**

**[0198]** LY294002 y Wortmannin se adquirieron de Calbiochem (Merck Chemicals Ltd., Nottingham, Reino  
45 Unido). Los antisueros Anti-mTOR, anti-4EBP, anti-4EBP fosforilada, anti-AKT y anti-AKT fosforilada fueron de Cell Signaling Technology, Inc (Boston, MA, EE. UU.).

##### **Líneas celulares**

50 **[0199]** Las líneas de células T leucémicas humanas Jurkat y CEM y las líneas de células T del linfoma H9 se cultivaron en RPMI suplementado con 8 % (v/v) de FCS inactivado por calor y L-glutamina 2 mM a 37 °C en una incubadora de CO<sub>2</sub> al 5 %. Las líneas celulares de cáncer de mama humano BT549, BT474, MDA-MB-231, MDA-MB-468, MDA-MB-453, T47D y MCF7 se cultivaron en DMEM complementado con 8 % v/v de suero de ternera fetal inactivado por calor (FCS) y 2 mM de glutamina L a 37 °C en una incubadora de CO<sub>2</sub> al 5 %. Todas las células  
55 procedían de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC, LGC Standards, Molsheim, Francia).

##### **Inmunoprecipitación del compuesto 25-biotina (compuesto 48)**

**[0200]** Se preincubaron células CEM (107 células) durante los tiempos indicados con 1  $\mu$ M de compuesto 25  
60 o compuesto 48, se lavaron con PBS y se lisaron usando tampón RIPA [Tris 50 mM pH 7,4, NP-40 al 1 %, Nadesoxicolato al 0,5 %, SDS al 0,1%, NaCl 150 mM, EDTA 2 mM, inhibidores de la proteasa y fosfatasa (Sigma)]. A continuación, el compuesto 48 se inmunoprecipitó usando perlas magnéticas recubiertas con estreptavidina (Ademtech, Burdeos, Francia) y después de un lavado exhaustivo, el complejo inmunitario se resolvió mediante SDS-PAGE y se reveló mTOR mediante inmunoelectrotransferencia.

65

### Inmunotransferencias

**[0201]** Excepto por los experimentos de inmunoprecipitación en los que las células se lisaron con tampón RIPA, las células se lisaron durante 30 min a 4 °C en tampón de lisis (HEPES 25 mM pH 7,4, Triton X-100 al 1 % v/v, NaCl 150 mM, EGTA 2 mM complementado con una mezcla de inhibidores de proteasa). La concentración de proteína se determinó mediante el método del ácido bicinconínico (Pierce, Rockford, IL, EE. UU.) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las proteínas se resolvieron mediante SDS-PAGE al 8, 10 o 12 % y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa (GE Healthcare, Buckinghamshire, Reino Unido). La membrana se bloqueó 15 min con TBST (Tris 50 mM, NaCl 160 mM, Tween 20 al 0,05 % v/v, pH 7,4) que contenía un 5% p/v de leche desnatada (TBSTM). El anticuerpo primario se incubó durante la noche a 4 °C en TBSTM. La membrana se lavó intensivamente (TBST) y luego se añadió IgG1 o IgG2a antirratón marcada con peroxidasa (CliniSciences, Nanterre, Francia) durante 45 min. Las proteínas se visualizaron con el kit de sustrato de quimioluminiscencia mejorada (ECL RevelBIOT®, Ozyme, Saint Quentin en Yvelines, Francia).

### 15 Ensayos de muerte celular

**[0202]** La viabilidad celular se evaluó mediante el ensayo de viabilidad de bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio (MTT) (1). En resumen, se cultivaron células ( $4 \times 10^4$  por pocillo) durante 20 h en placas de 96 pocillos de fondo plano con diversas concentraciones del inductor de apoptosis. Luego se agregaron a cada pocillo 0,015 ml de MTT (5 mg/ml en PBS) y se incubaron durante 4 horas a 37 °C. Los precipitados de sal de formazán se disolvieron agregando 0,115 ml de alcohol isopropílico que contenía ácido fórmico al 1 % (v/v), y la absorbancia se midió a 570 nm.

### Ensayos de motilidad *in vitro*

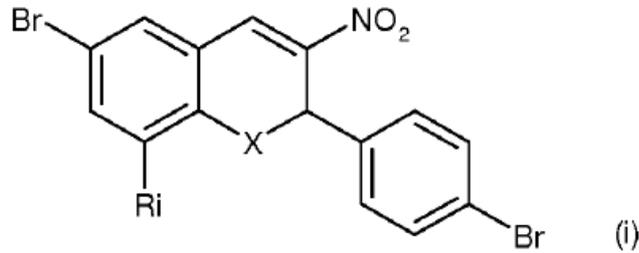
**[0203]** Después de la hidratación con membrana de las cámaras de Boyden (Millipore, Molsheim, Francia) que contienen membranas de poros de 8  $\mu$ m, se agregaron  $10^5$  células a la cámara superior. La cámara inferior se llenó con medio con bajo contenido de suero (1 %) en presencia o ausencia de cl-CD95L (100 ng/ml). Las células de cáncer de mama se incubaron durante 24 h. Para cuantificar la invasión, las células se fijaron con metanol y se tiñeron con Giemsa. Las células teñidas se eliminaron luego del lado superior de la membrana con un hisopo con punta de algodón y se tomaron cinco imágenes representativas de cada inserción de las células invasoras desde el lado contrario. Para cada experimento, las células invasoras se lisaron y se midió la absorbancia a 560 nm.

### Bibliografía

**[0204]** Weichert H, Blechschmidt I, Schroder S, Ambrosius H. The MTT-assay as a rapid test for cell proliferation and cell killing: application to human peripheral blood lymphocytes (PBL). *Allerg Immunol (Leipz)*. 1991;37:139-44.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la siguiente fórmula (i):

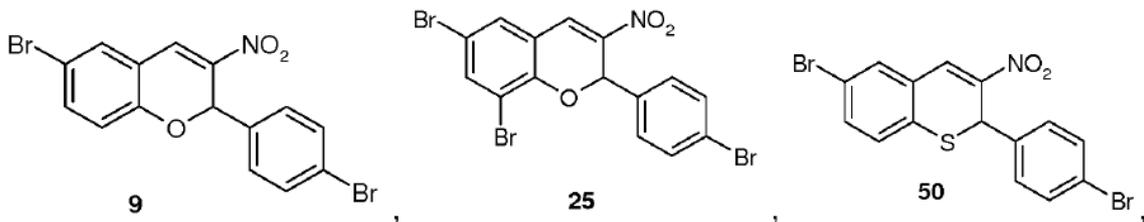


5

en donde X es O o S y Ri se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), alcoxilo (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), alqueno (C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>), alquinilo (C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>), OH, un átomo de flúor, un átomo de bromo y un átomo de yodo; o sus sales, hidratos o sales hidratadas farmacéuticamente aceptables o sus estructuras cristalinas polimorfas, racematos, diastereómeros o enantiómeros.

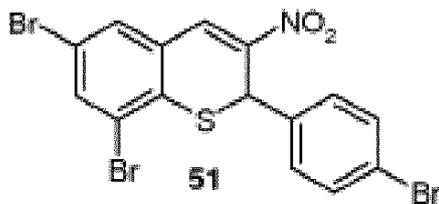
2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que Ri se selecciona del grupo que consiste en H, un átomo de flúor, un átomo de bromo o un átomo de yodo.

- 15 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene una de las siguientes fórmulas:



y

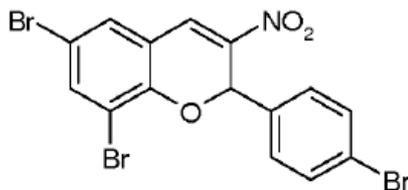
20



25

o sus sales, hidratos o sales hidratadas farmacéuticamente aceptables o sus estructuras cristalinas polimorfas, racematos, diastereómeros o enantiómeros.

- 30 4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene la siguiente fórmula:



o sus sales, hidratos o sales hidratadas farmacéuticamente aceptables o sus estructuras cristalinas polimorfas, racematos, diastereómeros o enantiómeros.

35

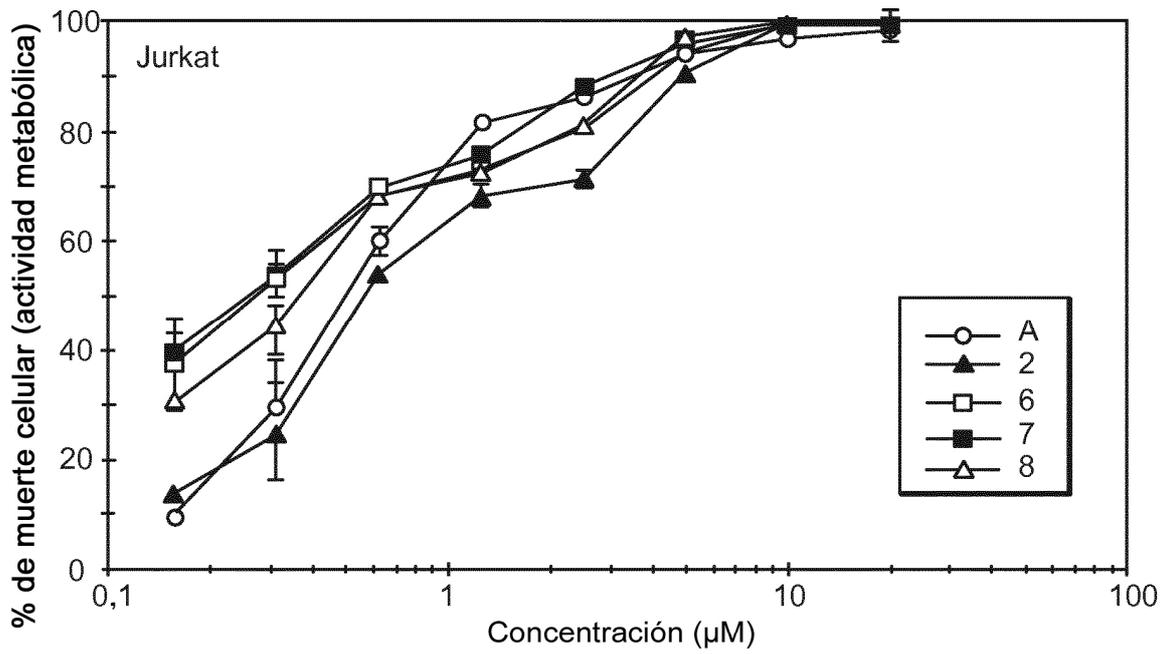
5. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para uso en la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: enfermedades inflamatorias,

enfermedades autoinmunes, enfermedades neurodegenerativas, cánceres, rechazo de trasplantes y enfermedades **caracterizadas por** un envejecimiento prematuro.

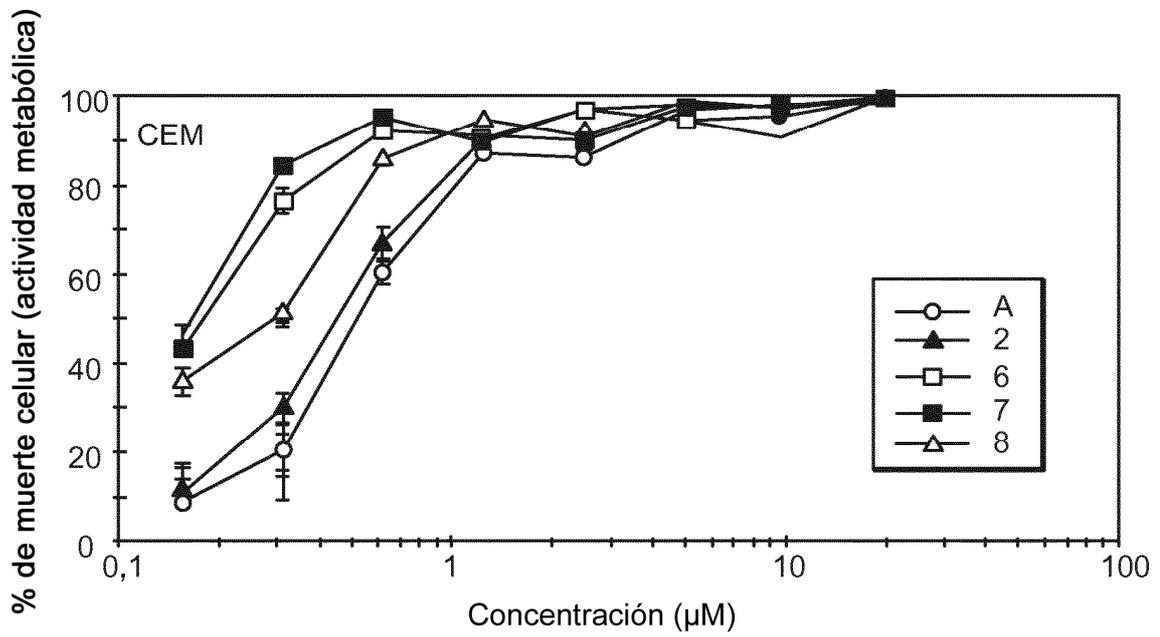
6. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la enfermedad se selecciona  
5 entre los cánceres.

7. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el cáncer es cáncer de mama.

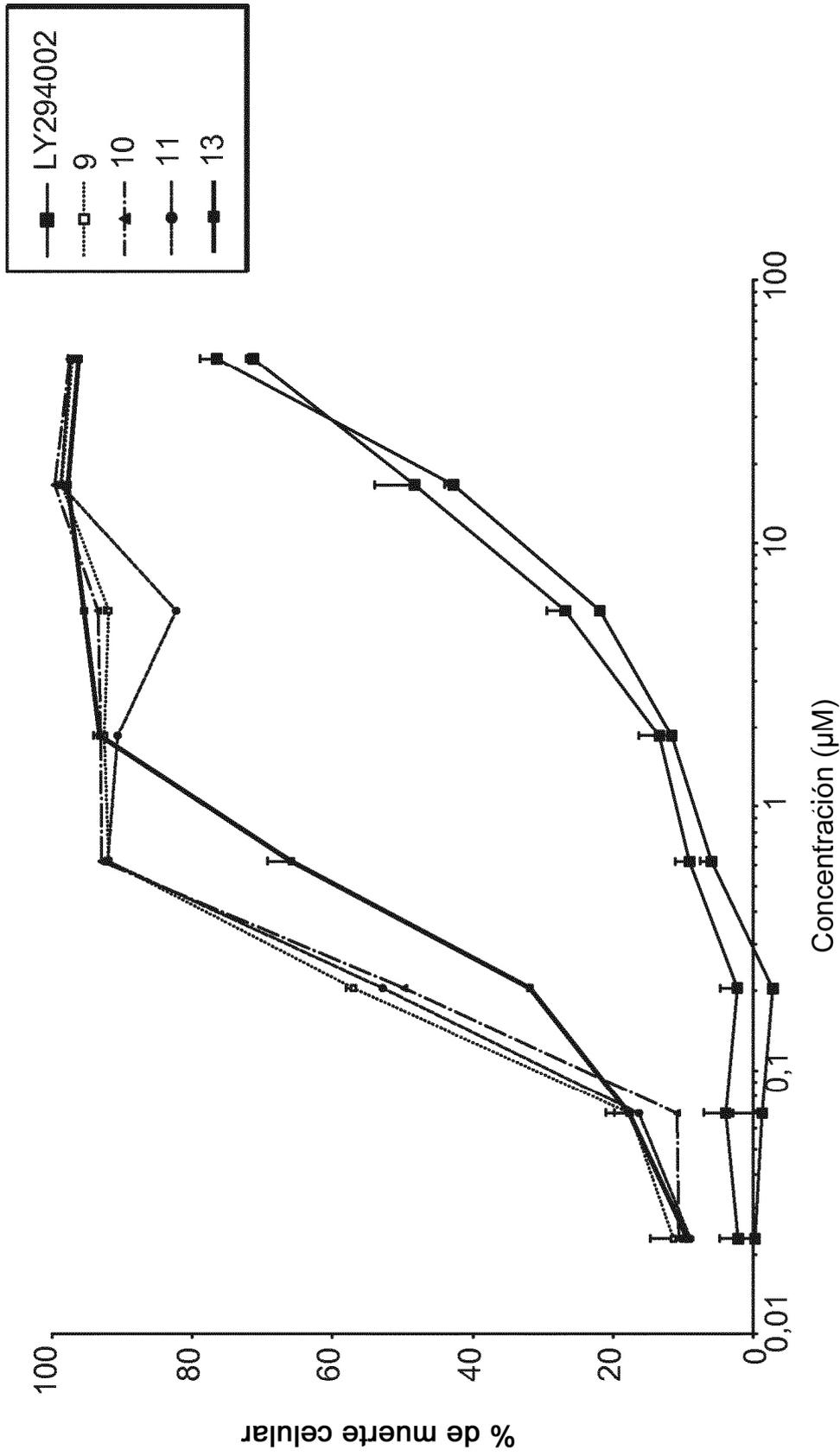
8. El compuesto que tiene la fórmula (i) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4,  
10 para uso en la prevención y/o el tratamiento de la esclerosis tuberosa.



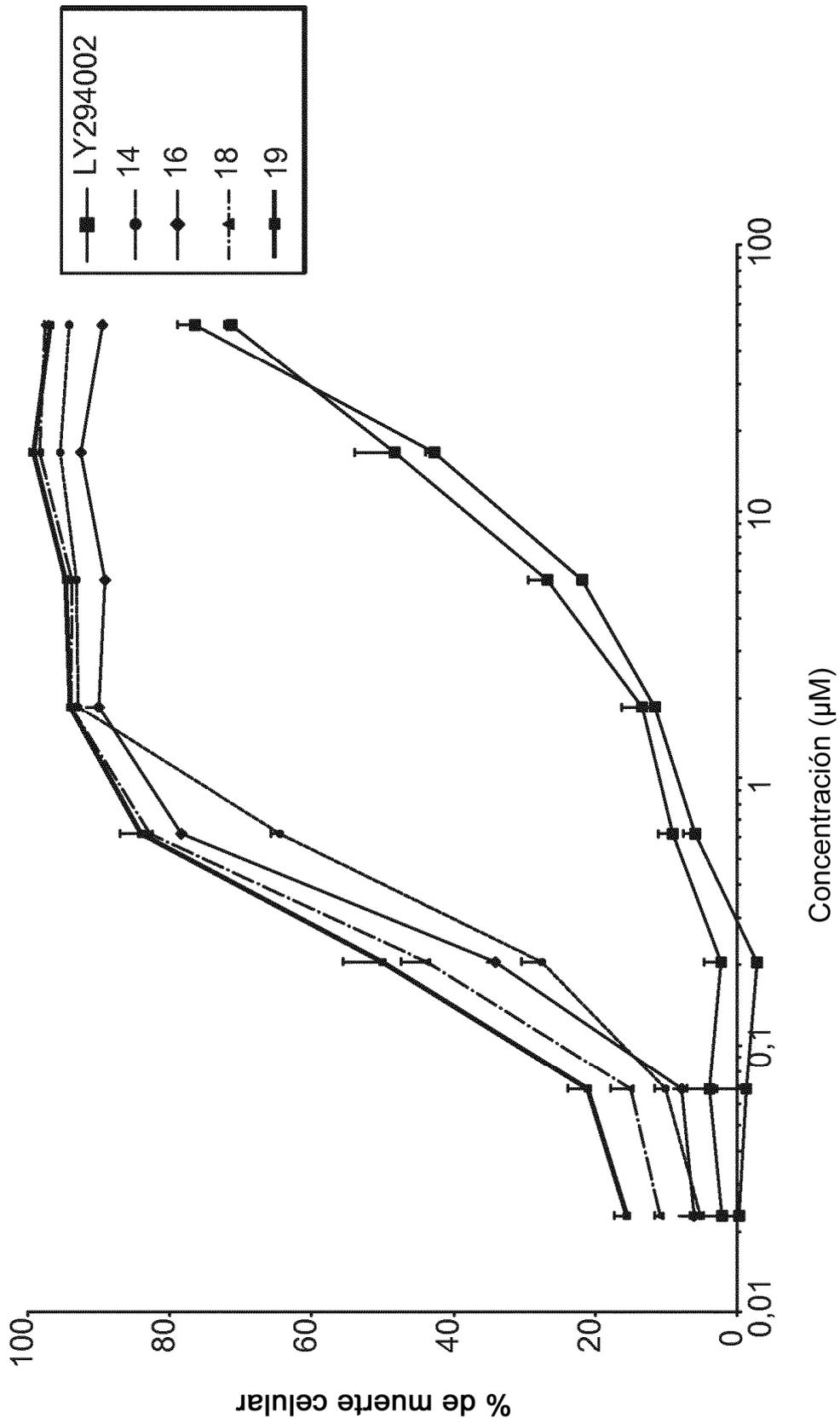
**FIG.1**



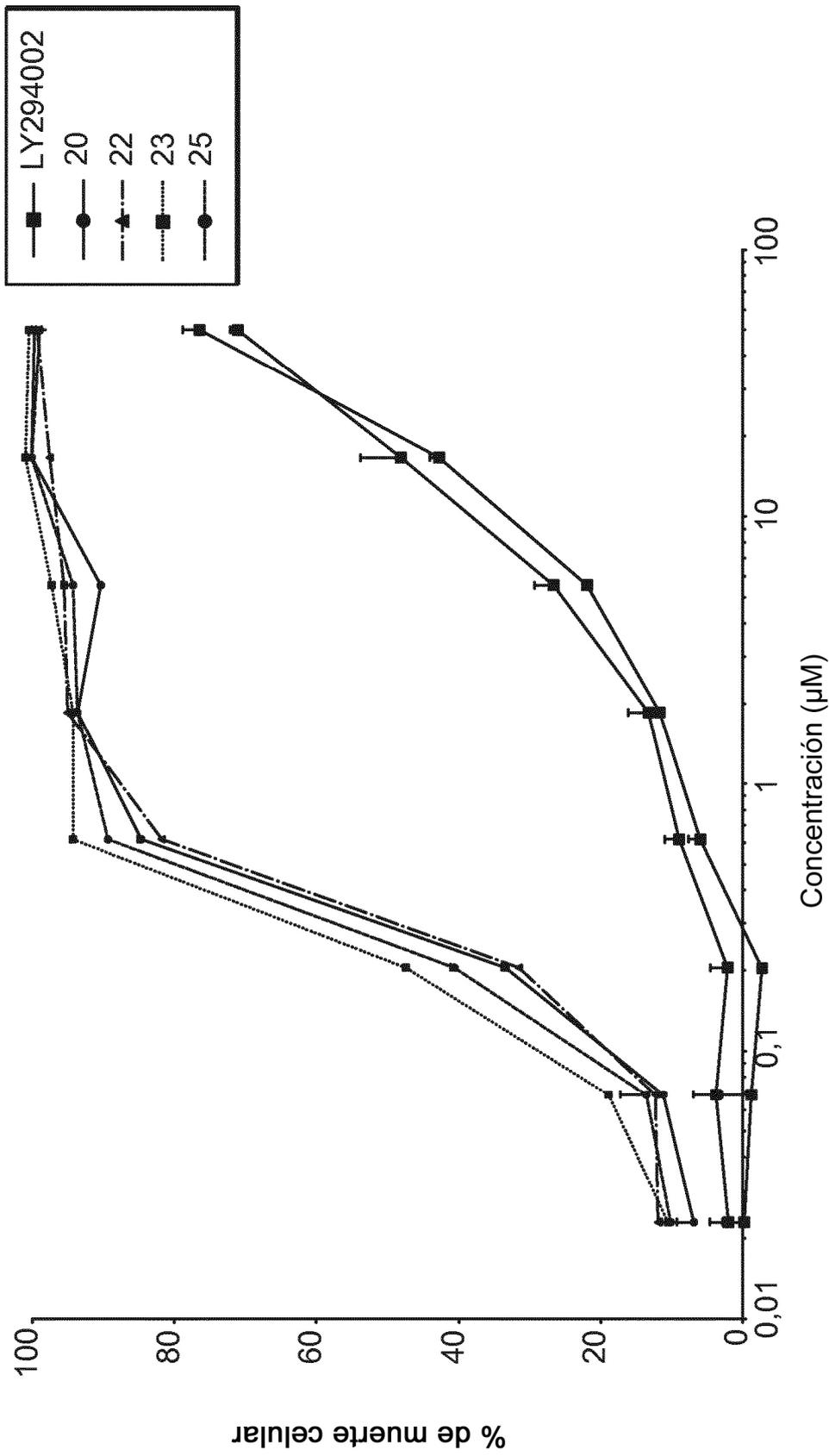
**FIG.2**



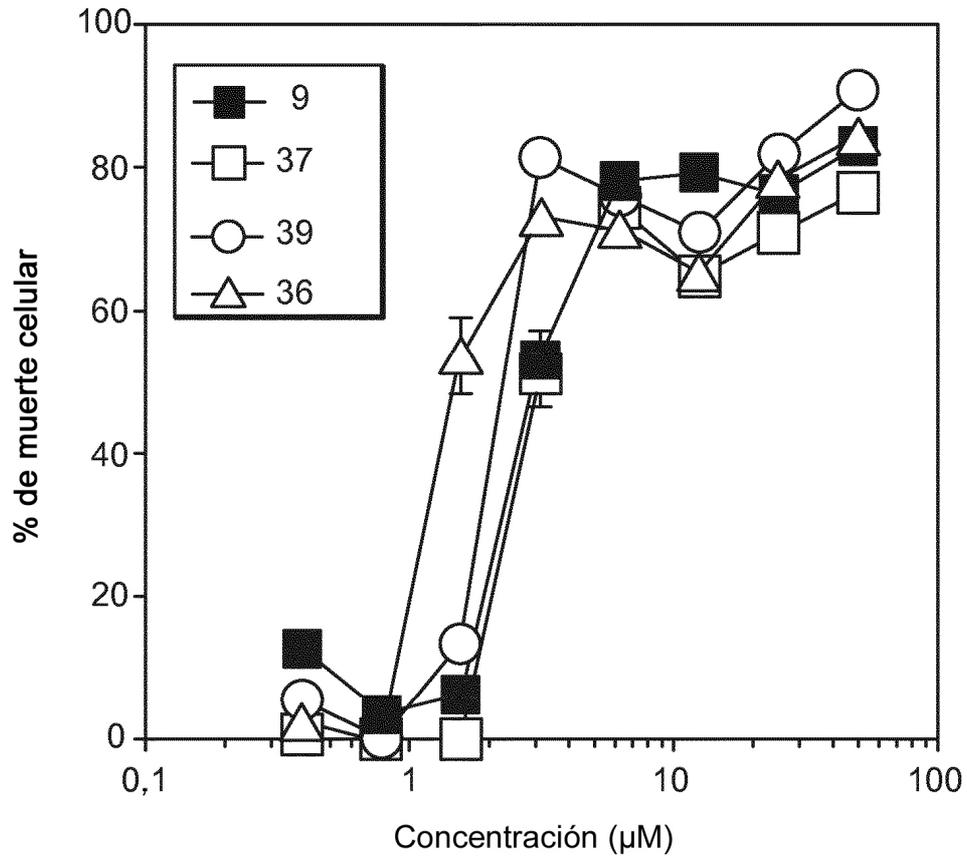
**FIG.3**



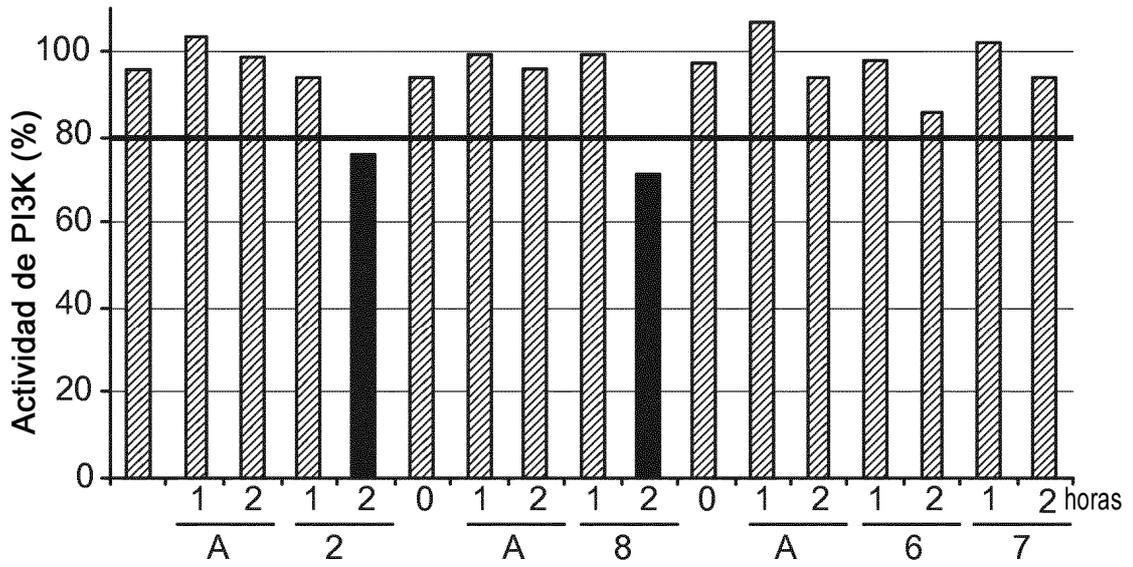
**FIG.4**



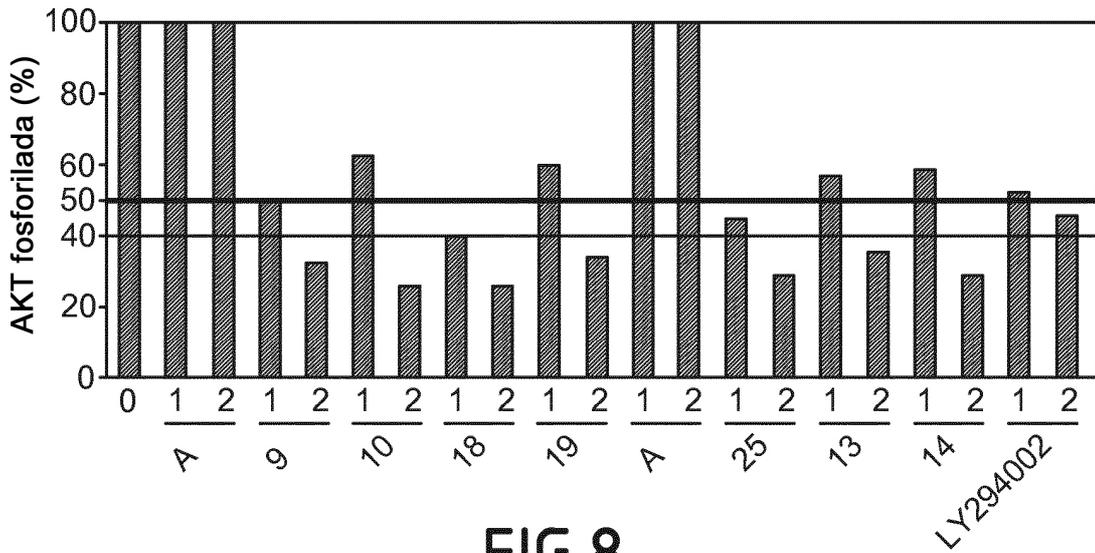
**FIG.5**



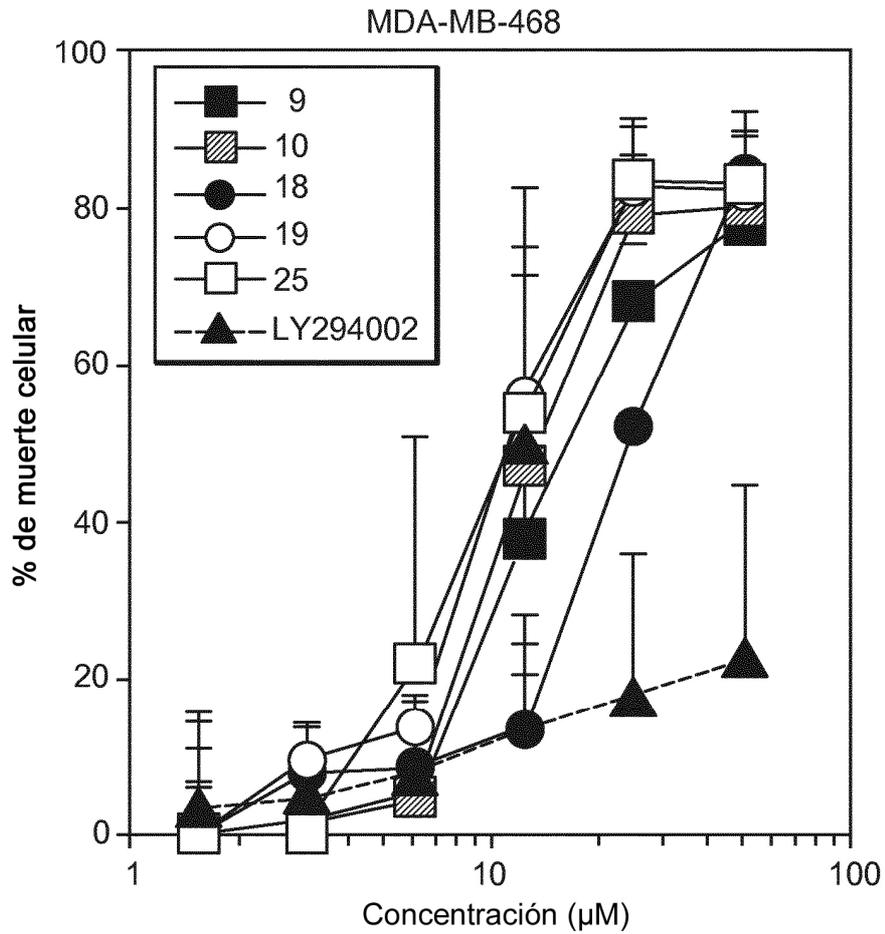
**FIG.6**



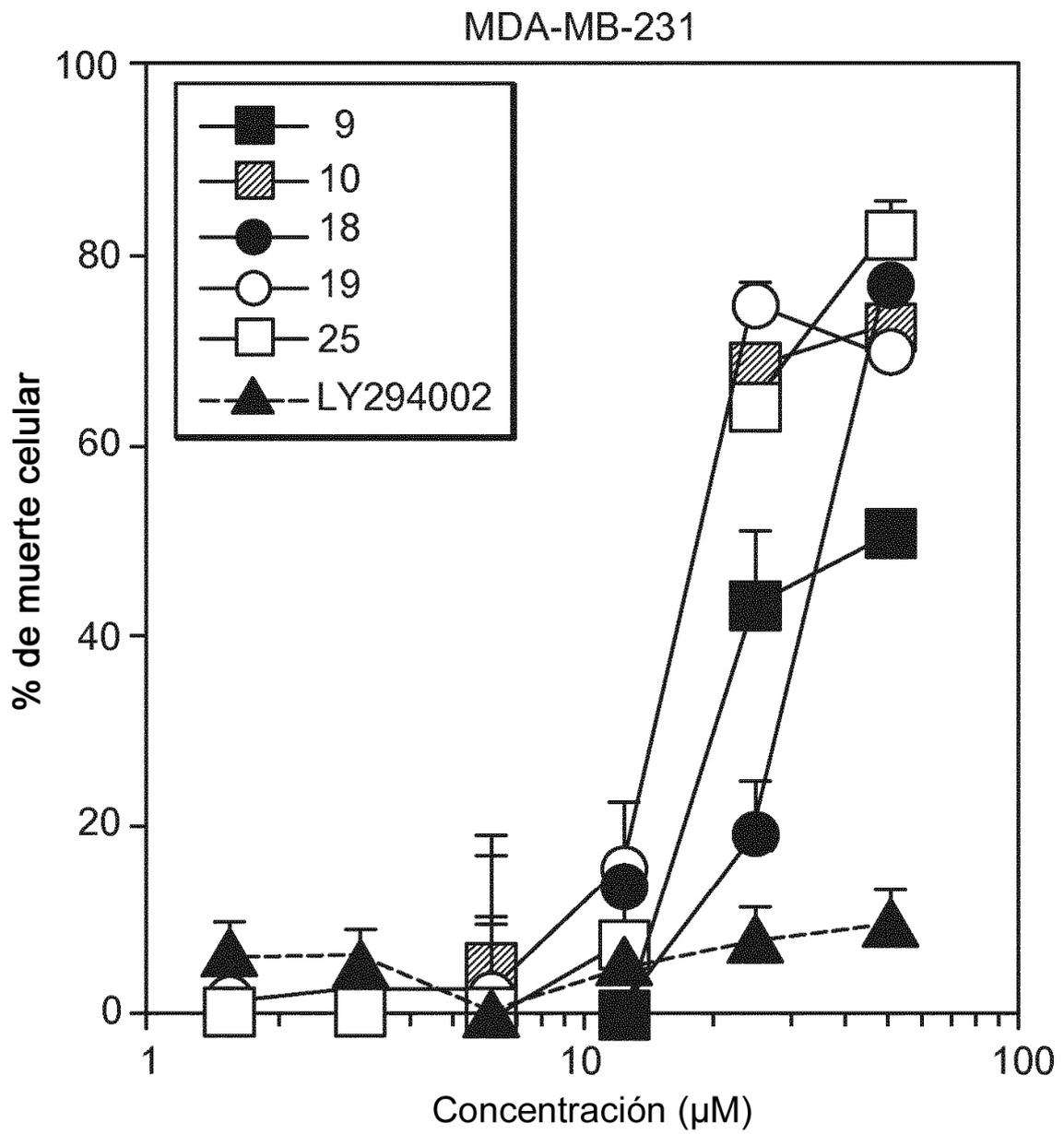
**FIG.7**



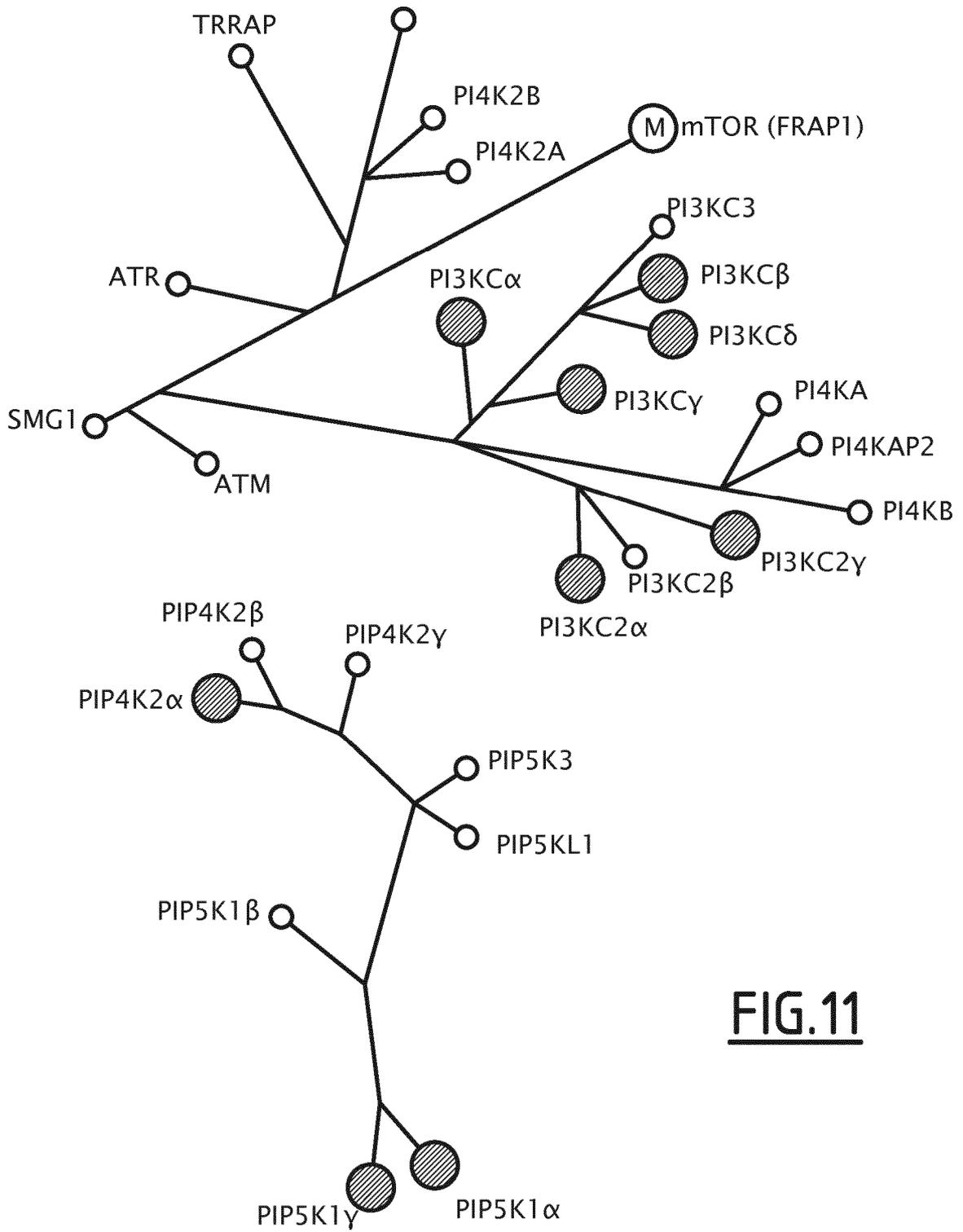
**FIG.8**



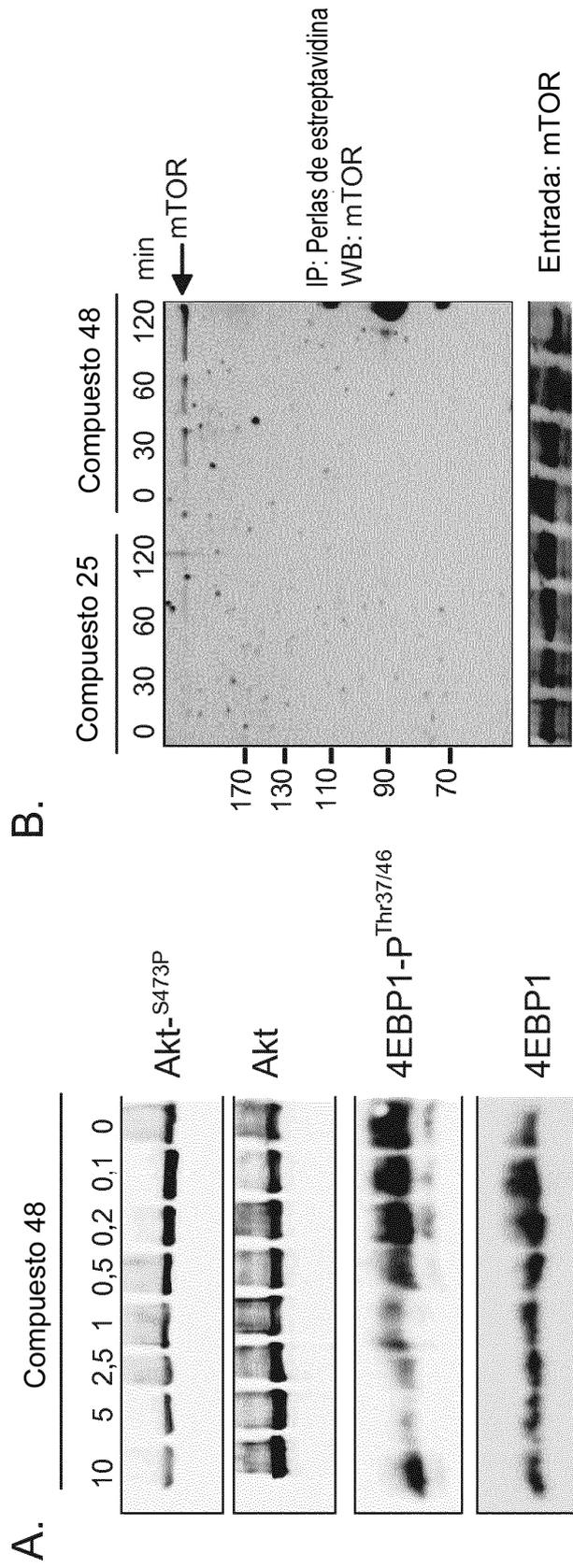
**FIG.9**



**FIG.10**

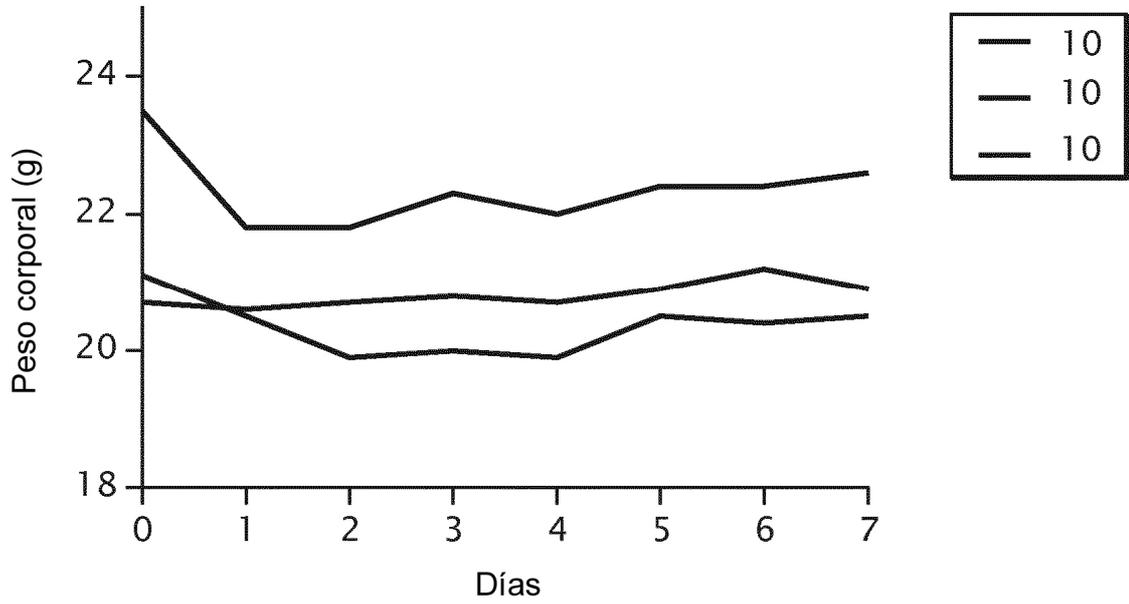


**FIG.11**

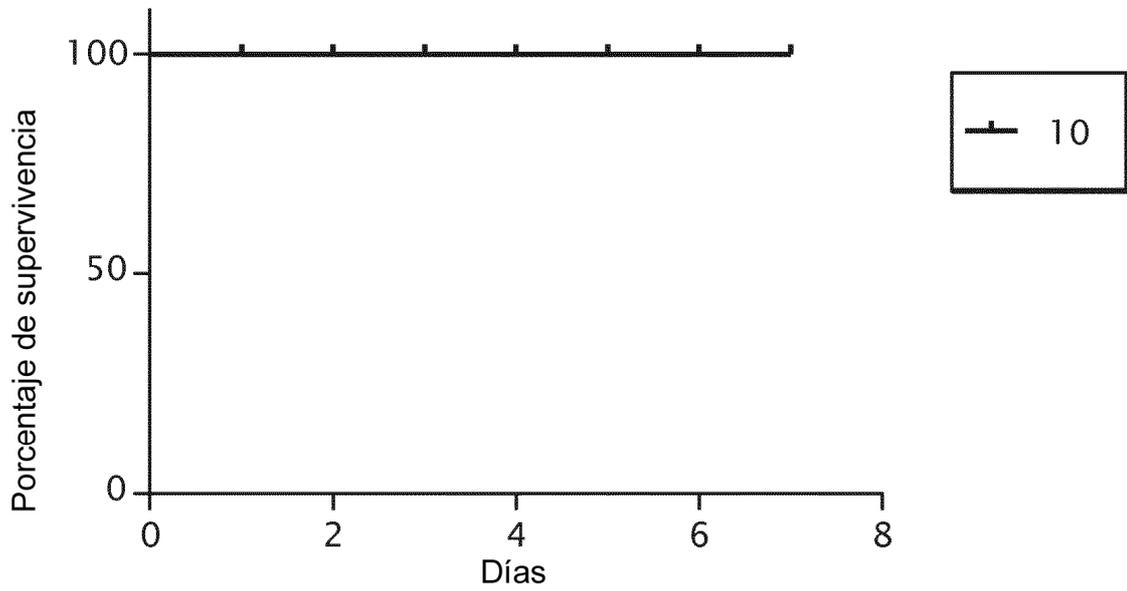


**FIG.12**

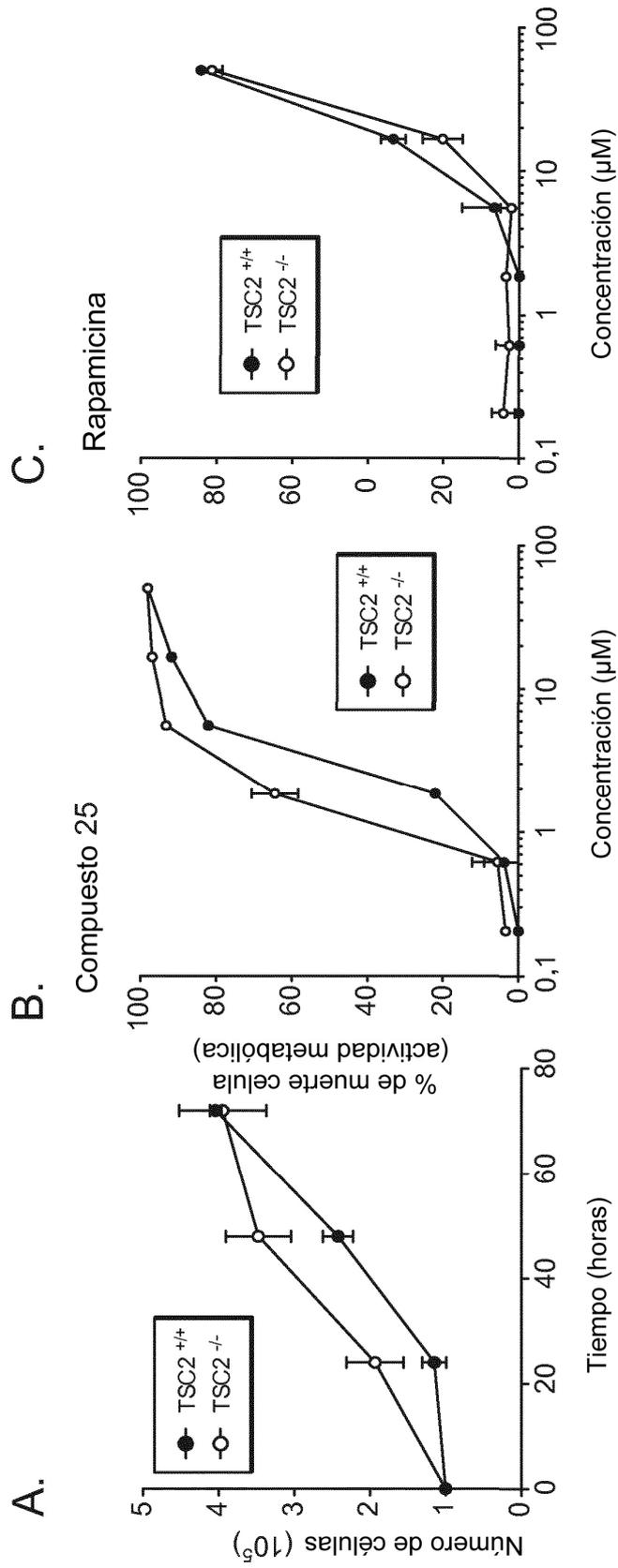
A.



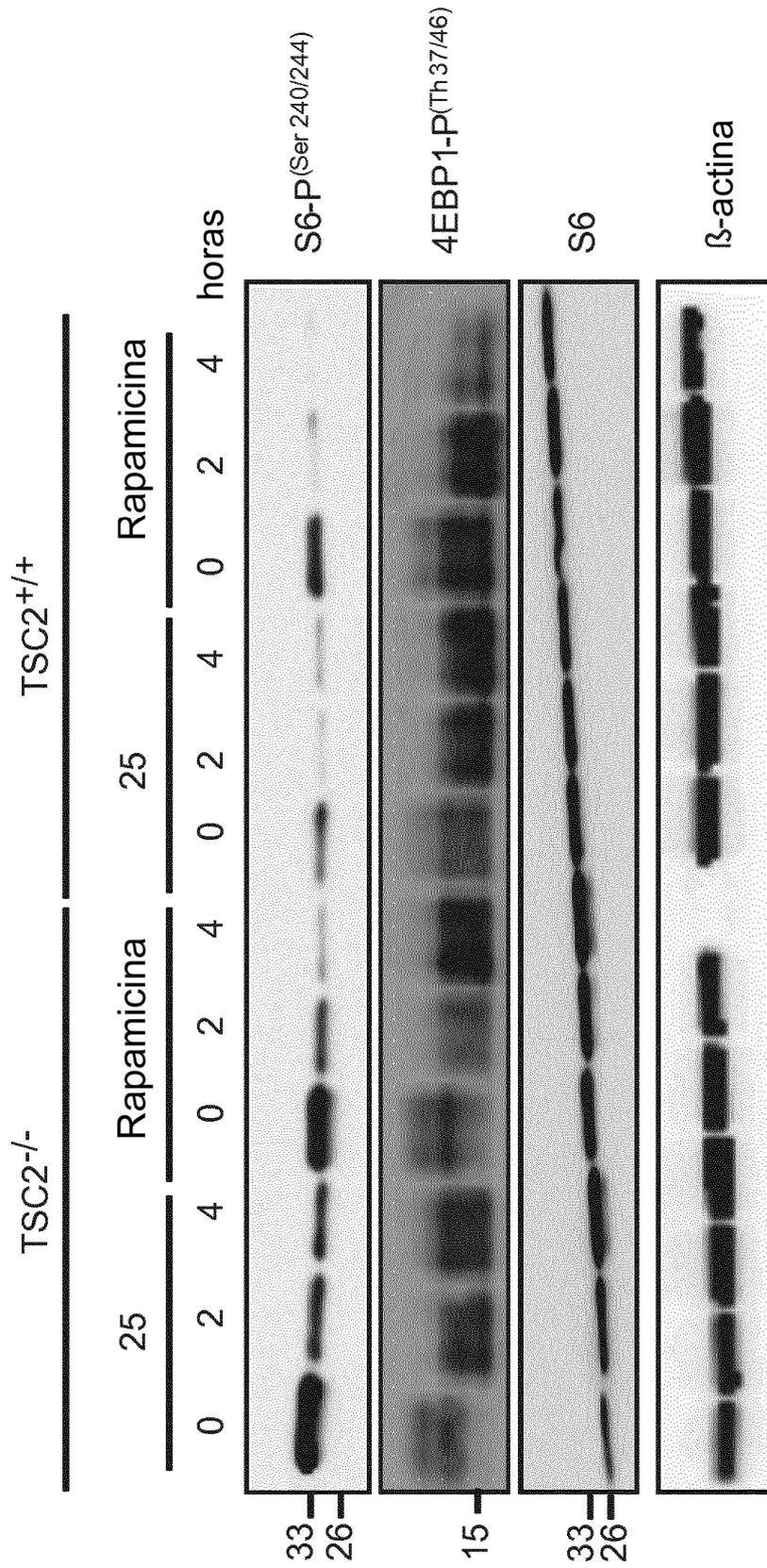
B.



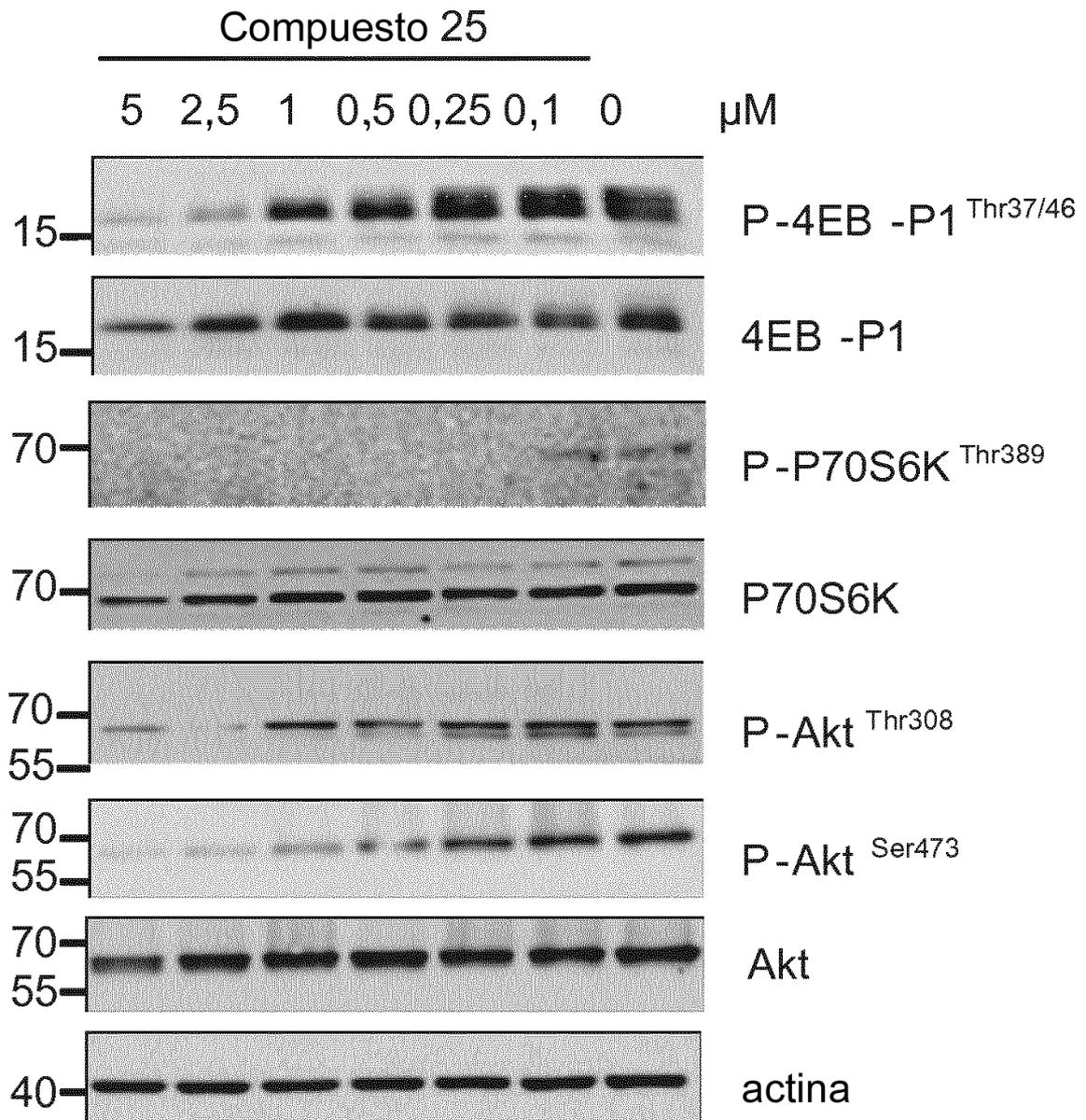
**FIG.13**



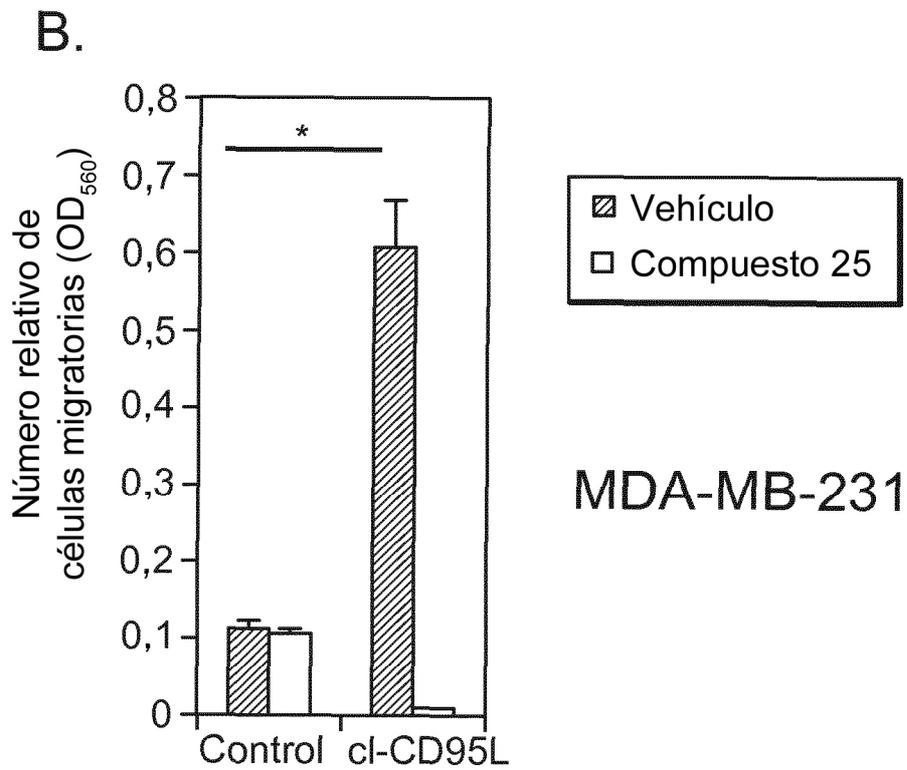
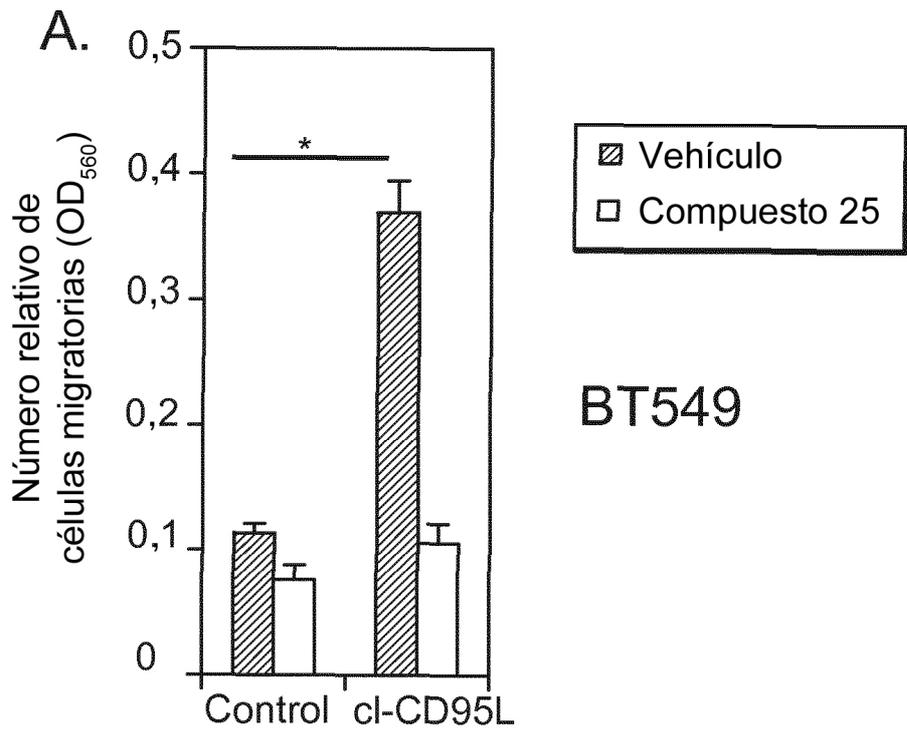
**FIG.14**



**FIG.15**



**FIG.16**



**FIG.17**