



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① N.º de publicación: **ES 2 074 957**

② Número de solicitud: 9302430

⑤ Int. Cl.⁶: C07D 487/04

A61K 31/40

//(C07D 487/04

C07D 209:00

C07D 209:00)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **19.11.93**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **16.09.95**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
16.09.95

⑦ Solicitante/s:
Universidad de Santiago de Compostela
Pazo de San Xerone, s/n
Plaza del Obradoiro, s/n
15701 Santiago de Compostela
La Coruña, ES

⑦ Inventor/es: **Tojo Suarez, Gabriel;**
Delamano García, José;
López Goti, Carmen;
García Gravalos, Dolores y
Faircloth, Glynn Thomas

⑦ Agente: **Ungría Goiburu, Bernardo**

⑤ Título: **Nuevos derivados de pirrolo(3,2-e)indol, procedimiento para su preparación y aplicaciones.**

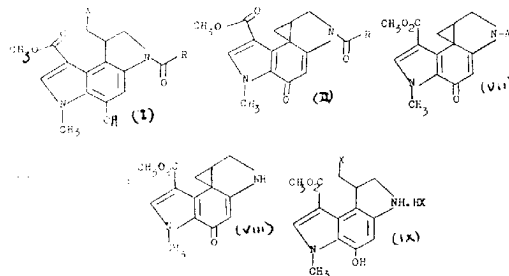
⑤ Resumen:

Nuevos derivados de pirrolo[3,2-e]indol, procedimiento para su preparación y aplicaciones.

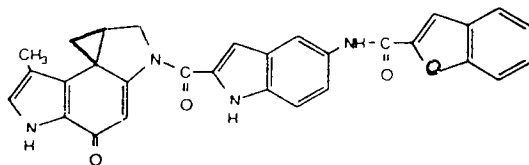
Los nuevos derivados de pirrolo[3,2-e]indol tienen las fórmulas (I) y (II) en las que R - arilo o heteroarilo, sustituidos o no sustituidos y X- cloro, bromo, yodo o alquil- o arilsulfoniloxi.

El procedimiento comprende: (a) someter (VII) a desalación para dar (VIII); (b) someter (VIII) a una reacción de apertura del anillo ciclopropílico para dar (IX); (c) hacer reaccionar (IX) con el ácido R-COOH para dar (I); (d) opcionalmente, hacer reaccionar (I) con una base en presencia de un agente condensante para dar (II).

Los compuestos (I) tienen aplicación, como agentes con actividad antitumoral, para el tratamiento del cáncer.



5



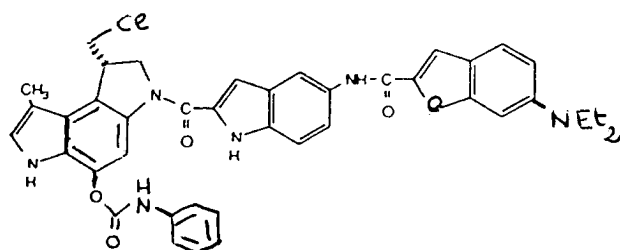
(2)

10 que no sólo mantiene la alta potencia de (1) sino que sobrepasa en gran medida al producto natural en eficacia tumoral, sin provocar letalidad retardada [(10) Warpehoski, M.A. Tetrahedron Lett. 1986, 4103].

15 Actualmente la Adocelesina está en fase III de estudios clínicos [(11) Li, L.H. y col. Investigational New Drugs 9, 137-148, 1991; (12) Smith, K.S. y col., Cancer Chemater. Pharmacol, 30: 348-354, 1992].

Otro compuesto de interés que, si bien no tiene estudios tan avanzados como la Adocelesina, pero es muy prometedor es la Carcelesina, de fórmula:

20



(3)

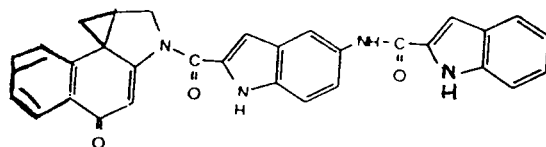
25

30

[(13) Li, L.H. y col., Cancer Research, 52, 4904-4913, 1992].

Otro compuesto a destacar es el CBI-Ind₂, de fórmula:

35



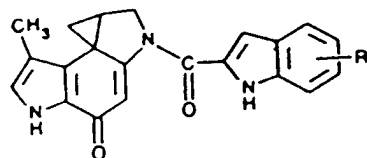
(4)

40

45 preparado por Boger [(14) Boger, D.L. y col, Bioorganic and Medicinal Chemisky Letters, 1: 115-120, 1991] que presenta muy buenos resultados en el Modelo P388 in vivo.

Asimismo se han obtenido los compuestos de fórmula (5):

50



(5)

55

en los que R puede tener los siguientes significados:

60

5- OMe

6-OH, 7-OMe

5-NHCONH²

5-NHCOPh

5 5-NHCO-2-indolilo

5-NHCO-5-(NHCONH₂)-2-indolilo

5-NHCO-5-(NHCOPh)-2-indolilo

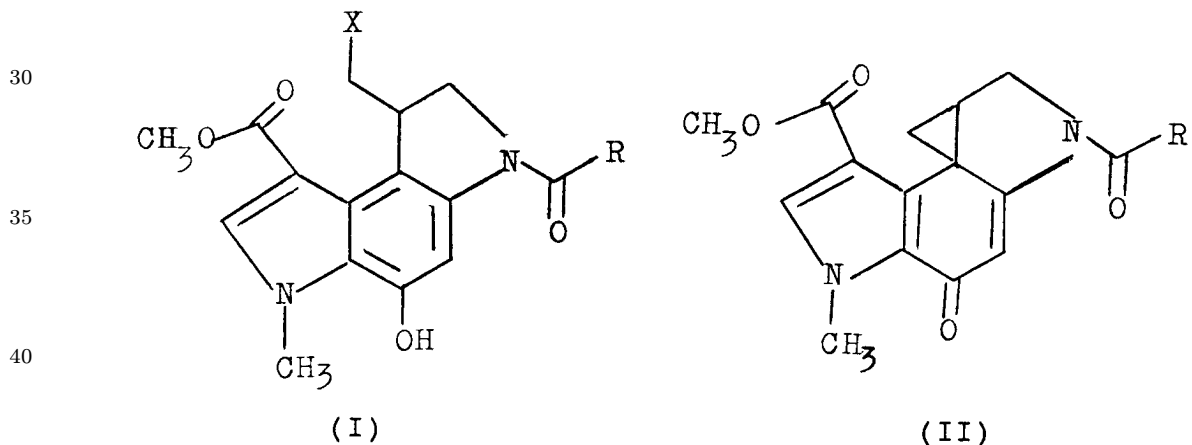
10 con índices aceptables de actividad anticancerígena frente a toxicidad [(15) M.A. Warpehoski, y col. J. Med, Chem, 1988, Vol. 31, No. 3].

15 Sin embargo, continua siendo necesario avanzar en la búsqueda de compuestos relacionados estructuralmente con los mencionados en los párrafos precedentes, con vistas a introducir otras modificaciones que mejoren aún más la relación actividad anticancerígena/toxicidad. En este contexto, la presente invención proporciona unos nuevos derivados de pirrolo[3,2-e]indol que optimizan dicha relación.

Descripción detallada de la invención

20 La presente invención, tal y como se indica en su enunciado, se refiere a nuevos derivados de pirrolo [3,2-e]indol con actividad anticancerígena, a los procedimientos para su preparación y a sus aplicaciones.

25 Los nuevos derivados de pirrolo[3,2-e]indol de la presente invención, se caracterizan porque presentan las fórmulas (I) y (II) siguientes:

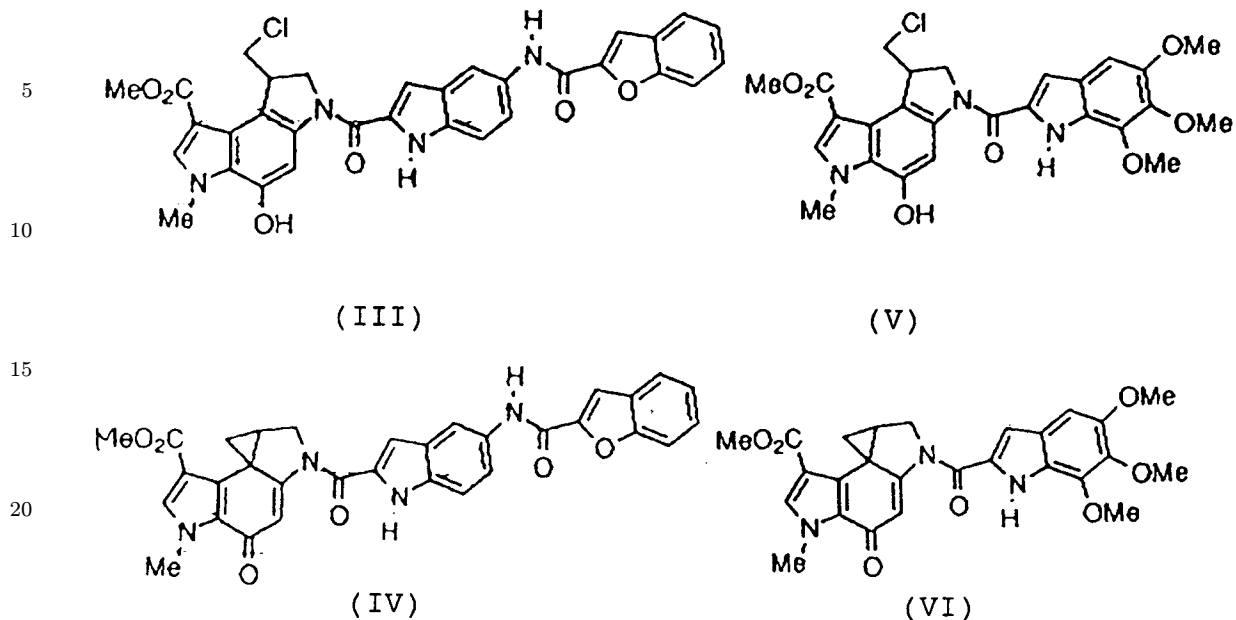


45 en las que R representa un grupo arilo (tal como bencilo, naftilo o fenantrilo) o heteroarilo (tal como indolilo), -todos ellos sustituidos o no sustituidos y X representa cloro, bromo, yodo o alquil- o arilsulfonilo.

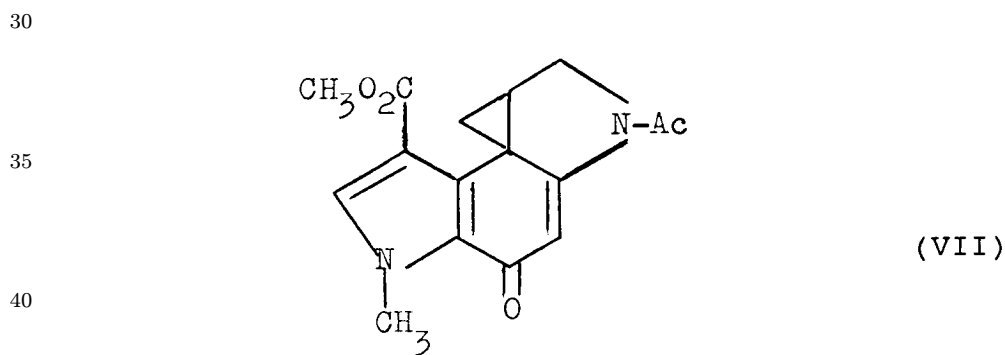
50 Los significados preferidos para R son indolilo o indolilo sustituido, especialmente con un grupo aril o heteroarilcarbonilamino.

55 Los compuestos especialmente preferidos de la presente invención corresponden a las siguientes fórmulas (III) a (VI):

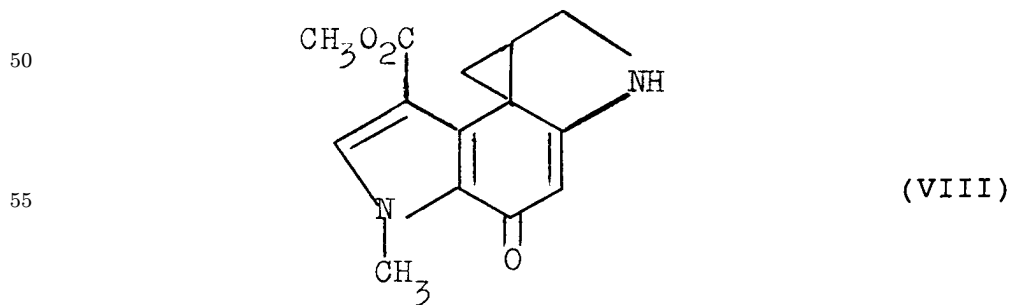
60



Los compuestos de fórmula (I) y (II) de la presente invención, se obtienen a partir del compuesto de fórmula (VII):



45 en la que Ac representa un grupo acilo, generalmente, acetilo. En una primera fase, se desacila el compuesto de fórmula (VII) para producir el compuesto de fórmula (VIII):

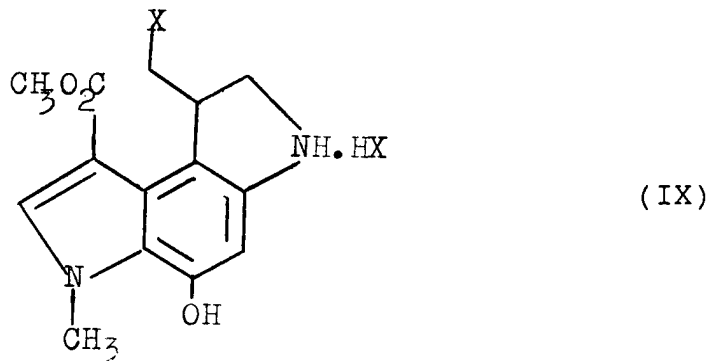


La reacción de desacilación se lleva a cabo en medio básico y en un disolvente orgánico apropiado. Normalmente, la base utilizada es un alcóxido, preferentemente, metóxido sódico y el disolvente orgánico

es metanol.

En una segunda fase, se somete el compuesto (VIII) a una reacción de apertura del anillo ciclopropilo para producir un compuesto de fórmula (IX):

5



10

15

20

en la que X tiene el significado dado anteriormente para la fórmula (i).

La reacción de apertura del anillo ciclopropílico se lleva a cabo haciendo reaccionar el compuesto (VIII) con un ácido en un disolvente orgánico. Entre los ácidos empleados pueden mencionarse el cloruro, bromuro y yoduro de hidrógeno así como su ácido aril o alquilsulfónico. Como disolvente orgánico preferido puede mencionarse el acetato de etilo.

25

30

En una tercera fase, el compuesto de fórmula (IX) así obtenido se condensa con un ácido de fórmula



en la que R tiene el significado dado anteriormente, o un derivado reactivo del mismo para producir el compuesto activo de fórmula (I) antes indicada. La condensación se lleva a cabo en un disolvente orgánico y en presencia de un agente condensante.

35

Esta reacción se puede efectuar con un ácido areno carboxílico (tal como ácido benzoico, naftoico, fenantroico) o con un ácido heteroareno carboxílico (tal como un ácido indolcarboxílico) todos ellos sustituidos o sin sustituir.

40

Como disolvente orgánico para efectuar esta reacción se prefieren las amidas, en particular, la N,N-dimetilformamida o la N,N-dimetilacetamida. Como agente condensante se prefieren las carbodiimidas.

Los compuestos activos de la fórmula (II) anteriormente indicada se pueden obtener a partir de los compuestos activos de fórmula (I) en una cuarta fase de proceso que comprende el tratamiento de dichos compuestos de fórmula (I) con una base en un disolvente adecuado.

45

Las bases preferidas para llevar a cabo esta transformación son las aminas y, especialmente, la trietilamina.

50

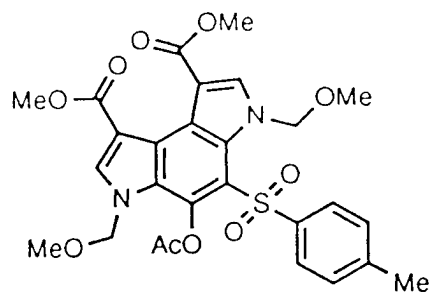
Como disolvente, se emplea preferentemente una mezcla de agua con un disolvente orgánico, preferentemente una mezcla de agua y acetonitrilo.

El compuesto de fórmula (VII), empleado como producto de partida para el procedimiento de la presente invención, se puede obtener a su vez a partir del compuesto de fórmula (XI);

55

60

5



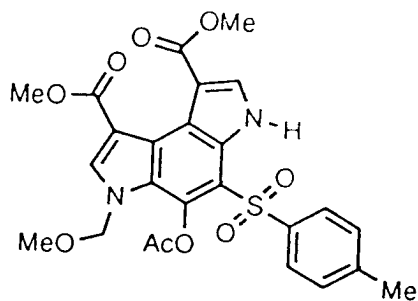
(XI)

10

15 que es uno de los productos de la Patente Española nº 9201894 del propio solicitante, por un método ya descrito también por el propio solicitante, pero que se resume en los párrafos siguiente como referencia.

En una primera etapa, se elimina uno de los grupos metoximetilo del compuesto (XI), tratándolo con ácido fórmico a temperatura ambiente, para producir el compuesto de fórmula (XII):

20



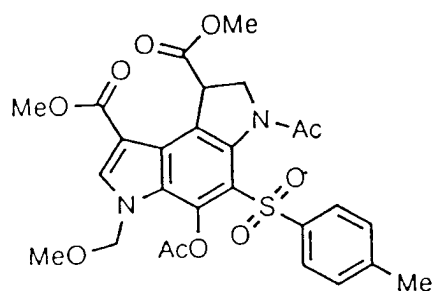
(XII)

25

30

35 En una segunda etapa, se lleva a cabo la reducción selectiva de uno de los anillos pirrólicos por tratamiento de (XII) con Et_3SiH en ácido trifluoroacético, seguido de tratamiento con anhídrido acético en piridina para producir una mezcla de compuestos de fórmulas (XIII) y (XIV):

40



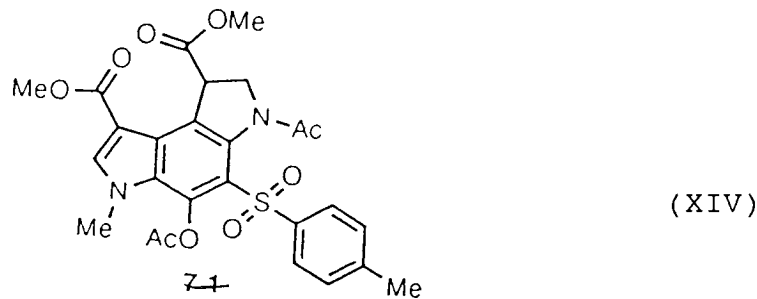
(XIII)

45

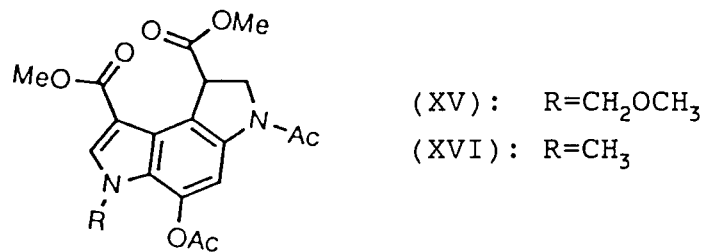
50

55

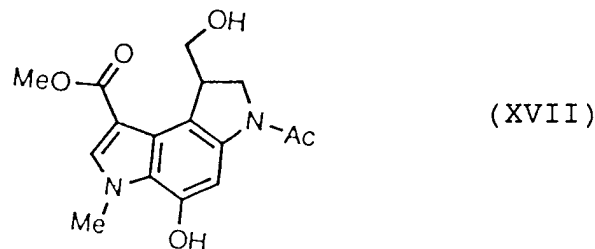
60



15 En una tercera etapa, se somete la mezcla de (XIII) y (XIV) a una reacción de eliminación del grupo sulfona por tratamiento en la misma con sodio y un naftaleno en tetrahidrofurano seguido de tratamiento con anhídrido acético en piridina, para dar una mezcla de compuestos de fórmula (XV) y (XVI):



30 En una cuarta etapa se somete el compuesto de fórmula (XVI), previamente separado de la mezcla, a una reducción selectiva del éster alifático y O-desacetilación, por reacción con LiAlH₄ en tetrahidrofurano, para producir el compuesto de fórmula (XVII):



En una quinta etapa, se somete el compuesto (XVII) a una reacción de Mitsunobu[(12) O. Mitsunobu, Synthesis 1981,1] para producir el compuesto de fórmula (VII) deseado.

50 Los compuestos de fórmulas (I) y (II) de la presente invención y especialmente, los compuestos de fórmulas (III), (IV), (V) y (VI) se caracterizan por poseer una alta actividad anticancérgica in vivo unida a una muy baja toxicidad, como se pone de manifiesto en los estudios de actividad biológica que se muestran más adelante. Ello les hace especialmente idóneos para emplearse como agentes para el tratamiento terapéutico del cáncer en sus diversas manifestaciones y, en especial, en los casos de leucemia.

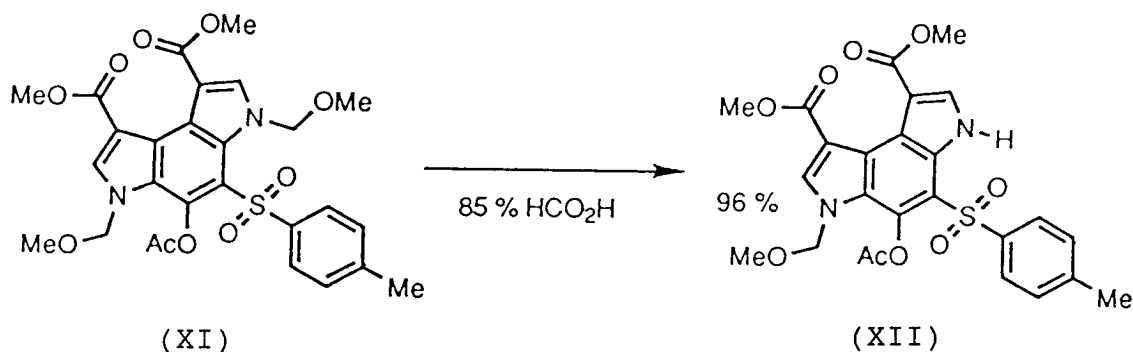
55 **Modos de realización de la invención**

La presente invención se ilustra, adicionalmente, mediante los siguientes Ejemplos no limitativos de su alcance, el cual viene definido única y exclusivamente por la Nota Reivindicatoria adjunta.

Ejemplo de preparación

Síntesis de 6-acetil-8-hidroximetil-4-ol-3-metil-3,6,7,8-tetrahidropirrollo[3,2-e]indol-1-carboxilato de metilo.

1. Síntesis de 4-acetoxi-3-metoximetil-5-tosil-3,6-dihidropirrollo[3,2-e]indol-1,8-dicarboxilato de dimetilo (XII):



Se disolvieron 1831 mg del pirroloindol (XI) (3,20 mmol) en 30 mL de ácido fórmico del 85%, manteniendo la agitación a temperatura ambiente durante 24 horas.

Para elaborar se añadió agua (250 mL), se extrajo con CH₂Cl₂(3x75 mL) y se secó la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro. Finalmente el residuo obtenido al evaporar el disolvente se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice flash (16x2 cm, gradiente hexano:EtOAc del 50 al 60% en EtOAc), permitiendo obtener después de secado a vacío, 1623 mg (96%) del compuesto monodesprotegido (XII).

p.f.: 135-137°C(EtOAc:hexano). Rf.:0,52(CH₂Cl₂:EtOAc 17:3).

IR(NaCl, máx): 1725, 1790, 2950, 3410 cm⁻¹.

UV(Etanol, máx): 206, 242, 268, 328 nm.

¹H-RMN(CDCl₃): 2.33(s, 3H, ArOCOCH₃), 2.42(s, 3H, ArCH₃), 3.18(s, 3H, ArCH₂OCH₃), 3.81(s, 3H, ArCO₂CH₃), 3.82(s, 3H, ArCO₂CH₃), 5.02(d, 1H, J=10.8 Hz, ArCH₂OCH₃), 5.87(d, 1H, J=10.8 Hz, ArCH₂OCH₃), 7.21(d, 2H, J=8.3 Hz, ArH), 7.78 (d, 2H, J=8.2 Hz, ArH), 7.79(s, 1H, ArH), 7.92(d, 1H, J=2,9 Hz, ArH), 10.68(s ancho, 1H, ArNH).

¹³C-RMN(CDCl₃): 21.4, 21.45, 51.3, 51.4, 55.3, 80.3, 111.2, 111.5, 113.0, 116.8, 125.3, 125.8, 126.5, 129.1, 129.8, 130.6, 134.6, 137.4, 139.7, 144.7, 165.4, 165.8, 169.2.

EM(m/e, %): 528(M⁺, 4), 497(M⁺ - CH₃O, 5), 486 (M⁺-CH₂CO, 100), 454(M⁺-CH₂CO - CH₃OH, 58), 331 (M⁺ - CH₂CO - CH₃(C₆H₄)SO₂, 7), 299 (M⁺ - CH₂CO - CH₃(C₆H₄)SO₂ - CH₃OH, 3), 139 (CH₃(C₆H₄)SO⁺, 13) 91(CH₃(C₆H₄)⁺, 12).

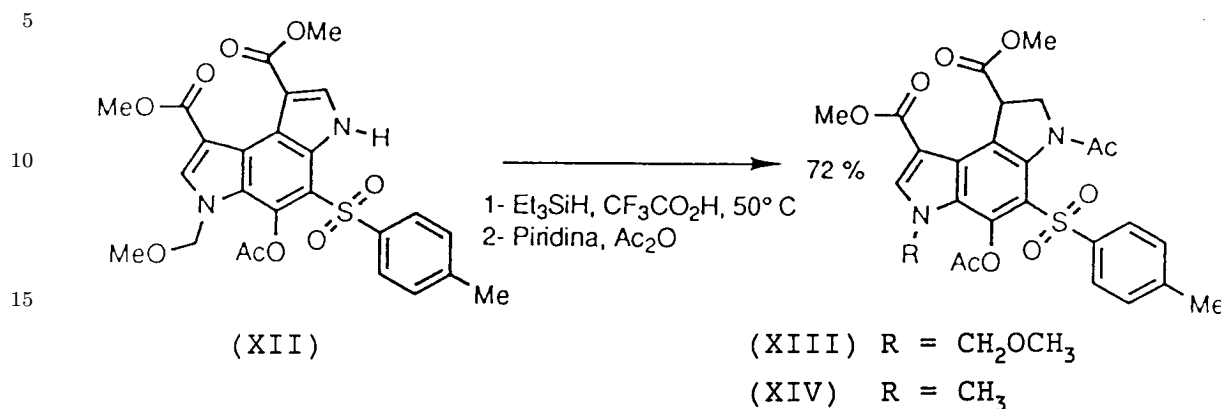
EM(alta resolución) para C₂₅H₂₄N₂O₉S: Calculado: 528.1202: Encontrado: 528.1215.

Análisis elemental para C₂₅H₂₄N₂O₉S:

Calculado: % C=56.81; % H=4.58; % N=5.30; % S=6.07.

Encontrado: % C=56.77; % H=4,64; % N=5,23; % S=6.09.

2. Reducción del 4 - acetoxi - 3 - metoximetil - 5 - tosil - 3,6 - dihidropirrolo[3,2 - e]indol - 1,8 - dicarboxilato de demetilo (XII) con Et_3SiH en medio ácido.



Sobre una mezcla del pirroloindol (XII) (500 mg. 0.946 mmol) y Et_3SiH (0,9 mL, 5.65 mmol) bajo argón, se añadieron 4,5 mL. de ácido trifluoroacético (58.41 mmol), calentando la mezcla resultante en un baño de parafina a 60°C durante 8 horas. A continuación se enfrió la mezcla en un baño a -50°C y se añadieron 9mL de piridina (115 mmol), 3 ml de anhídrido acético (31.73 mmol) y 3mL de CH_2Cl_2 , calentando nuevamente a 60°C durante 4.5 horas.

La adición de HCl al 10% (75 mL) sobre la mezcla de reacción, seguida de extracción con CH_2Cl_2 (3x20 mL), lavado de la fase orgánica con disolución saturada de $\text{Cu}-\text{SO}_4$, secado con Na_2SO_4 anhidro y concentrado a presión reducida, condujo a un residuo sólido, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice flash (20x2 cm, gradiente de CH_2Cl_2 a $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{EtOAc}$ 17:3), rindiendo después de secado a vacío 389 mg de una mezcla no separada de los productos (XIII) y (XIV).

Datos espectroscópicos de la mezcla:

Rf.: 0.36($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{EtOAc}$ 7:3).

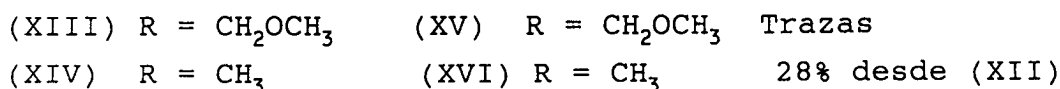
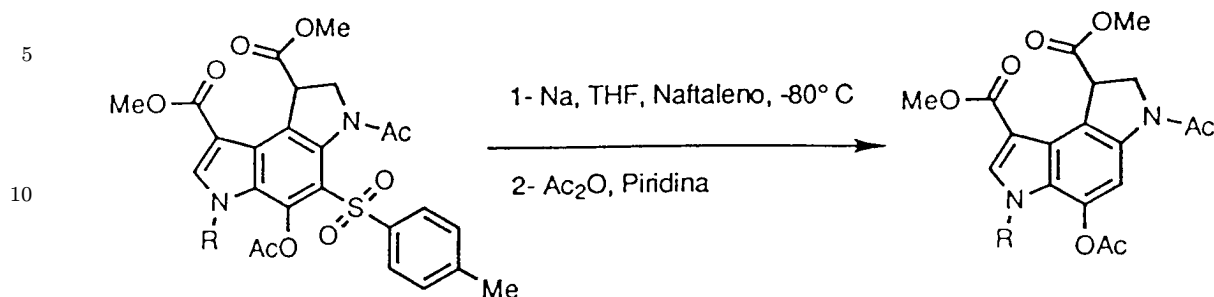
IR(NaCl , *máx*): 1680, 1720, 1740, 1790, 2960 cm^{-1} .

UV(Etanol, *máx*): 204, 224, 266, 338 nm.

EM(m/e, %): 572(M^+ , 0.2), 530($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO}$, 3), 514 ($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{OCO}$, 2), 472($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_2\text{OCO}$, 32), 430 ($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_2\text{OCO} - \text{CHCO} - \text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_2\text{OCO}$, 100), 317 ($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_2\text{OCO} - \text{CH}_3(\text{C}_6\text{H}_4)\text{SO}_2$, 60), 284($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_3\text{OCO} - \text{CH}_3(\text{C}_6\text{H}_4)\text{SO}_2 - \text{CH}_3\text{OH}$, 63), 242($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{COCH}_3\text{OCO} - \text{CH}_3(\text{C}_6\text{H}_4)\text{SO}_2 - \text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_3\text{OH}$, 58), 139($\text{CH}_3(\text{C}_6\text{H}_4)\text{SO}_2^+$, 38), 91($\text{CH}_3(\text{C}_6\text{H}_4)^+$, 50).

EM(FAB)(m/e, %): 573(M+1,3), 531(M+1- CH_2CO , 23), 515(M+1 - CH_2OCO , 24), 501(M*+1- CH_2CO , 7), 488(M+1- $\text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_3\text{CO}$, 23), 472(M+1- $\text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_3\text{OCO}$, 24), 430(M+1 - $\text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_3\text{OCO} - \text{CH}_2\text{CO}$, 100), 400(M*+1- $\text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_3\text{OCO} - \text{CH}_2\text{CO}$, 26), 418(M+1- $\text{CH}_3(\text{C}_6\text{H}_4)\text{SO}_2$, 10), 399(M+1- $\text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_3\text{OCO} - \text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_3\text{O}$, 44), 367(M+1 - $\text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_3\text{OCO} - \text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_3\text{O} - \text{CH}_3\text{OH}$, 25), 360(M+1 - $\text{CH}_2\text{OCO} - \text{CH}_3(\text{C}_6\text{H}_4)\text{SO}_2$, 35), 318(M+1- $\text{CH}_2\text{OCO} - \text{CCH}_3(\text{C}_6\text{H}_4)\text{SO}_2 - \text{CH}_2\text{CO}$, 24).

3. Tratamiento de la mezcla de los pirroloindoles (XIII) y (XIV) con sodio y naftaleno.



25 Una mezcla de naftaleno (320 mg. 2.49 mmol) y sodio (55 mg, 2,39 mmol) en THF seco (10 mL), se mantuvo con agitación a -15°C bajo argón durante 2,5 horas. Seguidamente se enfrió la mezcla de reacción a -80°C y sobre ella se añadió la mezcla de los pirroloindoles (XIII) y (XIV) (105 mg. 0.194 mmol), manteniendo la agitación hasta la desaparición de las sustancias de partida por ccf (10 minutos), momento en el que se procedió a la adición de anhídrido acético (1 mL, 10.57 mmol) y piridina (1 mL, 12.39 mmol), pasando a su vez la mezcla de reacción a temperatura ambiente y dejándola con agitación y bajo argón durante 24 horas.

30 La acidificación con HCl al 10% (20 mL) de la mezcla de reacción, seguida de extracción con EtOAc (3x10 mL), lavado de la fase orgánica con disolución saturada de CuSO₄, secado con Na₂SO₄ anhidro y purificación por cromatografía en columna de gel de sílice flash (14x2 cm, gradiente CH₂Cl₂:EtOAc del 30 al 40% en EtOAc), rindió 35 mg de una mezcla de productos homogénea por ccf. Esta mezcla se purificó por HPLC (gradiente isopropanol:hexano del 40 al 20% en hexano, flujo 3,5 mL/min y detección a 275 nm), separándose después de secado a vacío, 28 mg del pirroloindol (XVI) (28% en dos etapas, desde el compuesto (XII), junto con trazas del pirroloindol (XV).

Datos espectroscópicos del pirroloindol (XVI):

40 p.f.: 223-224°C (Metanol), Rf.: 0,36 (CH₂Cl₂: EtOAc 7:3).

IR(NaCl, máx) 1655, 1705, 1735, 1765, 2960, 3120 cm⁻¹.

45 UV(Etanol, máx): 214_{hb}, 254, 298 nm.

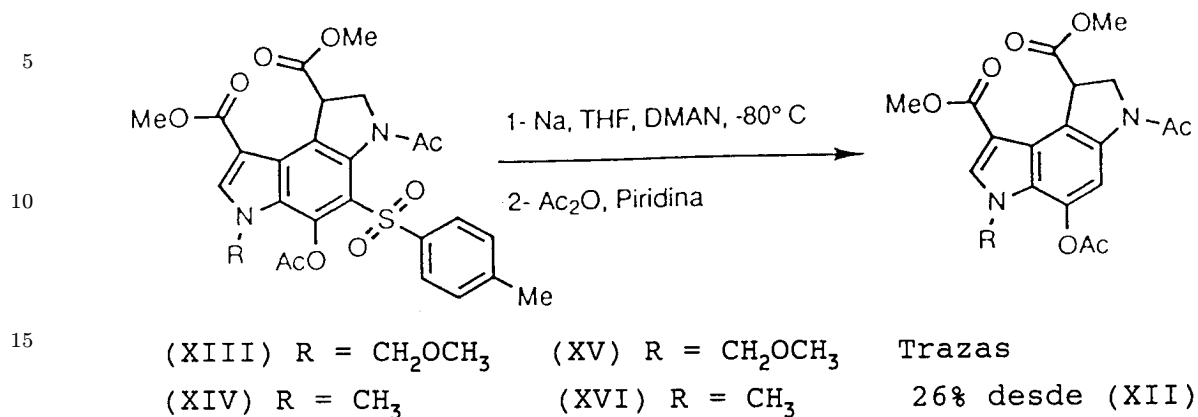
¹H-RMN(CDCl₃): 2.20(s, 3H, RCOCH₃), 2.35(s, 3H, RCOCH₃), 3.63(s, 3H, ArCH₃), 3.76(s, 3H, ArCO₂CH₃), 3.84 (s, 3H, ArCO₂CH₃), 4.31(m, 2H, RCH₂CH(R)₂), 5.02(dd. 1H, J=5.1 y 9,5 Hz, RCH₂CH_R2), 7,62(s. 1H, ArH), 8.08(s. 1H, ArH).

50 ¹³C-RMN(CDCl₃): 20.8, 24.0, 36.1, 46.0, 50.9, 52.1, 52.8, 106.7, 107.6, 117.0, 125.7, 126.6, 136.7, 138.4, 139.1, 164.5, 167.9, 169.4, 173.0.

EM(m/e, %): 338(M⁺, 10), 346(M⁺-CH₂CO, 9), 330 (M⁺-CO₂CH₂, 25), 213(M⁺-CO₂CH₂-CH₂CO -CH₃OH, 51), 197(M⁺-CO₂CH₂-CH₂CO-CH₃CO -CH₃OH-CH₃-H, 100).

EM(alta resolución) para C₁₉H₂₀N₂O₇: Calculado: 388.1270; Encontrado: 388.1274.

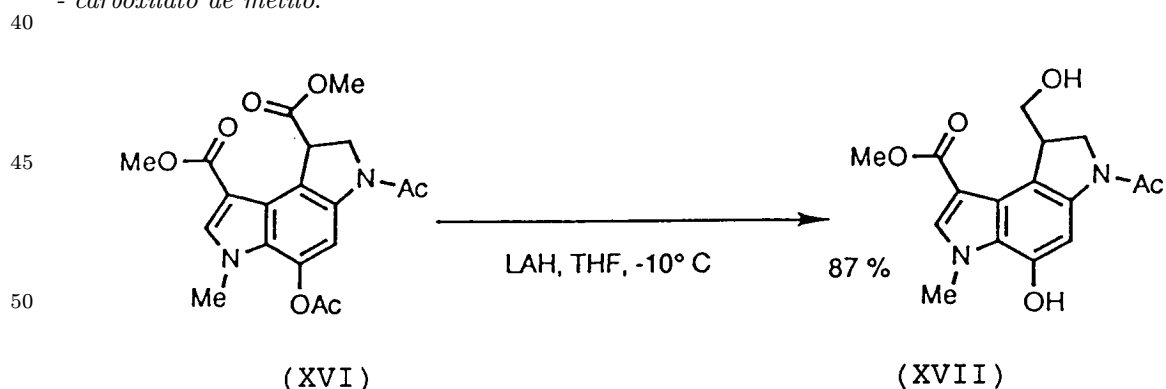
60

4. Tratamiento de la mezcla de los pirroloindoles (XIII) y (XIV) con sodio y *N,N*-dimetil-1-naftilamina.

Una mezcla de *N,N*-dimetil-1-naftilamina (0,3 mL, 1.827 mmol) y sodio (25 mg, 1.087 mmol) en THF seco (5mL.), se mantuvo con agitación bajo argón en un baño a -15°C durante 1,5. A continuación se enfrió la mezcla de reacción a -80°C y sobre ella se añadió la mezcla de los compuestos (XIII) y (XIV) (105 mg 0.194 mmol), manteniendo la agitación en el baño durante 20 minutos. Sobre la mezcla de reacción a esta temperatura se añadieron seguidamente 0,8 ml de anhídrido acético (8,46 mmol) y 0,5 mL de piridina (6,19 mmol), pasando la mezcla a temperatura ambiente y manteniendo la reacción durante 40 horas.

La adición de HCl al 10% (10mL) sobre la mezcla de reacción, seguida de extracción con EtOAc (3x4 mL), lavado de la fase orgánica con disolución saturada de CuSO₄, secado con Na₂SO₄ anhidro y purificación por cromatografía en columna de gel de sílice flash (15x1,5 cm, gradiente EtOAc:hexano del 10 al 0% en hexano), proporcionó 33 mg de una mezcla que tras purificación por HPLC (gradiente isopropanol:hexano del 40 al 20% en hexano, flujo 3,5 mL/min y detección a 275 nm) condujo después de secado a vacío, a 26 mg del pirroloindol (XVI) (26% en dos etapas, desde el compuesto (XII), junto con trazas del pirroloindol (XV).

5. Síntesis de 6 - acetil - 8 - hidroximetil - 4 - ol - 3 - metil - 3,6,7,8 - tetrahidropirrolo[3,2 - e]indol - 1 - carboxilato de metilo.



Sobre una disolución agitada bajo argón y enfriada a -10°C del pirroloindol (XVII) (42 mg, 0,108 mmol) en THF seco (5mL) se añadieron 0,32 mL de disolución de LiAlH₄ en THF (1 M, 0,32 mmol), manteniendo la agitación a baja temperatura durante 30 minutos.

La adición de EtOAc (2ml) sobre la mezcla de reacción, seguida de la acidificación con HCl al 10%, adición de disolución saturada de NaCl (5ml), extracción con EtOAc (5x4 mL), secado con Na₂SO₄ anhidro y eliminación del disolvente, condujo a un residuo sólido que se pasó a través de una columna de

ES 2 074 957 A1

gel de sílice flash (18x1 cm) eluyendo con EtOAc:metanol (9:1), rindiendo 30 mg (87%) del diol (XVII).

p.f.: 201-205°C (desc) (EtOAc). Rf.: 0,20(EtOAc).

5 IR(KBr, *máx*): 1610, 1636, 1674, 1702, 3121, 3434 cm^{-1} .

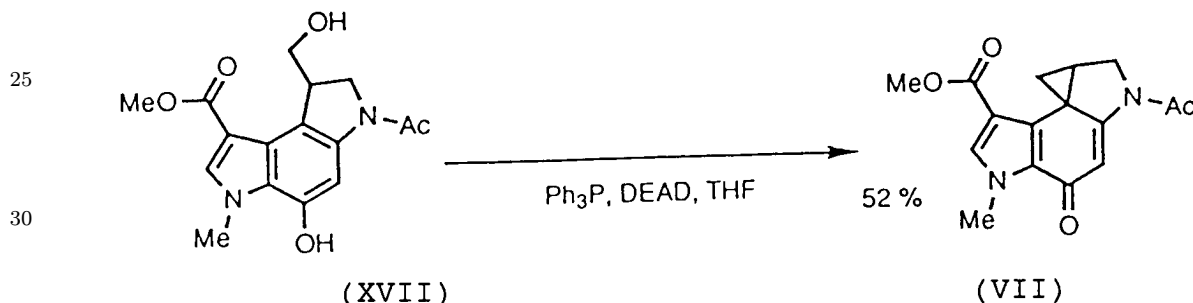
UV(Etanol, *máx*): 254,312 nm.

^1H -RMN(DMSO- D_6): 2.15(s, 3H, ArCOCH₃), 3.00(m, 1H, R₂CHR), 3,67(m, 1H, RCH₂NR₂), 3.73(s, 3H, ArCH₃), 4.00 (s+m, 5H, ArCO₂CH₃ y RCH₂OH), 4.12(m, 1H, RCH₂NR₂), 4.70(s ancho, 1H, RCH₂OH), 7.75(s, 1H, ArH), 7,91(s, 1H, ArH), 10,00(s ancho, 1H, ArOH).

EM(m/e, %): 318(M⁺, 31), 300(M⁺-H₂O, 5), 287 (M⁺-HOCH₂, 74), 255(M⁺-HOCH₂-CH₃OH, 21), 228 (M⁺-HOCH₂-CO₂CH₃, 8), 213(M⁺-HOCH₂-CH₂CO-CH₃OH, 100), 186(M⁺-HOCH₂CO₂CH₃-CH₂CO, 19).

EM(alta resolución) para C₁₆H₁₈N₂O₅: Calculado: 318.1216; Encontrado: 318.1223.

6. *Síntesis de 2 - acetil - 5 - metil - 4 - oxo - 1,2,4,5, 8,8a - hexahidrociclopropa[c]pirrolo[3,2 - e]indol - 7 - carboxilato de metilo (VII)*



35

Sobre una disolución agitada magnéticamente bajo argón del diol (XVII) (27 mg. 0,085 mmol) y trifenilfosfina (74 mg. 0,282 mmol) en THF seco (6mL) se añadieron 0,03 mL de azodicarboxilato de dietilo (0,189 mmol), manteniendo la agitación durante 19 horas.

40

Tras purificación por cromatografía en columna de gel de sílice flash (18x1 cm) eluyendo con EtOAc:hexano (17:3, del residuo obtenido por eliminación del disolvente a presión reducida, se aislaron 105 mg de una mezcla de óxido de trifenilfosfina y del producto de reacción. Finalmente, mediante la purificación de esta mezcla por HPLC (gradiente isopropanol:hexano del 35 al 20% en hexano, flujo 3,5 mL/min y detección a 254 nm) se pudieron aislar 13 mg (52%) del análogo (VII) del fragmento (CPI).

45

p.f.: 193-195°C (CH₂Cl₂:hexano). Rf.: 0,41 (EtOAc).

50 IR(KBr): 1595, 1616, 1688, 2948 cm^{-1} .

UV(Etanol, *máx*): 220, 244, 280, 294, 330 nm.

^1H -RMN(CD₂Cl₂): 1.19(m, 1H, RCH₂R), 2.17 (s+m, 4H, ArCOCH₃ y RCH₂R), 3.49(m, 1H, R₂CHR), 3.72(s, 3H, ArCH₃), 4.00(s+m, 5H, ArCO₂CH₃ y RCH₂NR₂), 6.83 (s ancho, 1H, RCOCHR), 7.36(s, 1H, ArH).

55

^{13}C -RMN(CDCl₃), 23.9, 24.3, 24.5, 32.2, 37.1, 51.1, 53.2, 108.9, 111.5, 129.6, 132.0, 134.2, 159.5, 163.8, 170.0, 178.5.

60 EM(m/e, %): 300(M⁺, 26), 269(M⁺-CH₃O, 3), 257 (M⁺-CH₃CO, 40), 243(M⁺-CH₃CO-CH₂, 22), 225 (M⁺-CH₃CO-CH₃OH, 19), 198(M⁺-CH₃CO-CH₃OCO, 19), 43(CH₃CO⁺, 100).

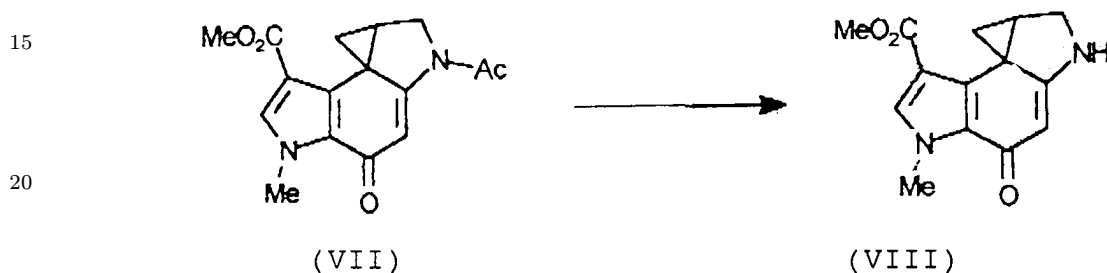
EM(alta resolución) para $C_{16}H_{16}N_2O_4$: Calculado: 300.1110: Encontrado: 300.1097.

Ejemplos de síntesis

5 Ejemplo 1

Síntesis del hidrocloreuro del 8 - clorometil - 4 - hidroxil - 3 - metil - 3,6,7,8 - tetrahidropirrol[3,2 - e]indol - 1 - carboxilato de metilo (IX)

- 10 (a) *Síntesis de 5 - metil - 4 - oxo - 1,2,4,5,8,8a - hexahidrociclopropa [c]pirrolo[3,2 - e]indol - 7 - carboxilato de metilo (VII).*



25

Sobre una disolución agitada magnéticamente bajo argón del compuesto (VII) (13 mg, 0,043 mmol) en metanol seco (4 mL), se añadieron 0,2 mL de una disolución 1,25 M de metóxido sódico en metanol, manteniendo la agitación a temperatura ambiente durante 10 minutos.

30

Tras purificación por cromatografía en columna de gel de sílice flash (10x1 cm), del residuo obtenido por eliminación del disolvente a presión reducida, eluyendo con EtOAc, se aislaron 11 mg(99%) del compuesto (VIII).

35

Rf.: 0,26 (EtOAc).

1H -RMN(CD_2Cl_2): 1.11(dd, 1H, J=2.9 y 4.8 Hz, RCH_2R), 2.04(dd, 1H, J=2.8 y 7.8 Hz, RCH_2R), 3.48 (m, 1H, R_2CHR), 3.54(d 1H, J=10.2 Hz, RCH_2R), 3.71(m+s, 4H, RCH_2R y $ArCH_3$), 3.98(s, 3H, $ArCO_2CH_3$), 5.18(s ancho, 1H, NH), 5.37(s, 1H, $RCOCHR$), 7.25(s, 1H, ArH).

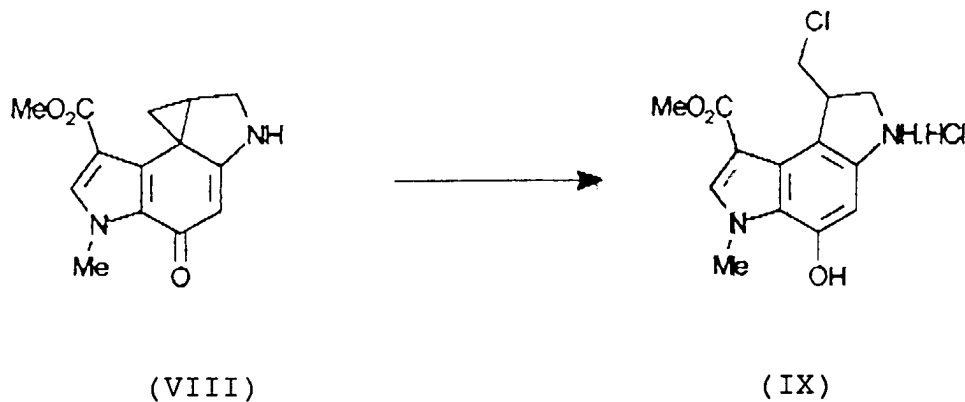
40

EM(m/e, %): 258(M^+ , 100), 243($M^+ - CH_3$, 17), 225 ($M^+ - CH_3OH - H$, 32), 199($M^+ - CO_2CH_3$, 40).

- 45 (b) *Síntesis del hidrocloreuro del 8 - clorometil - 4 - hidroxil - 3 - metil - 3,6,7,8 - tetrahidropirrol[3,2 - e]indol - 1 - carboxilato de metilo (IX).*

50

55



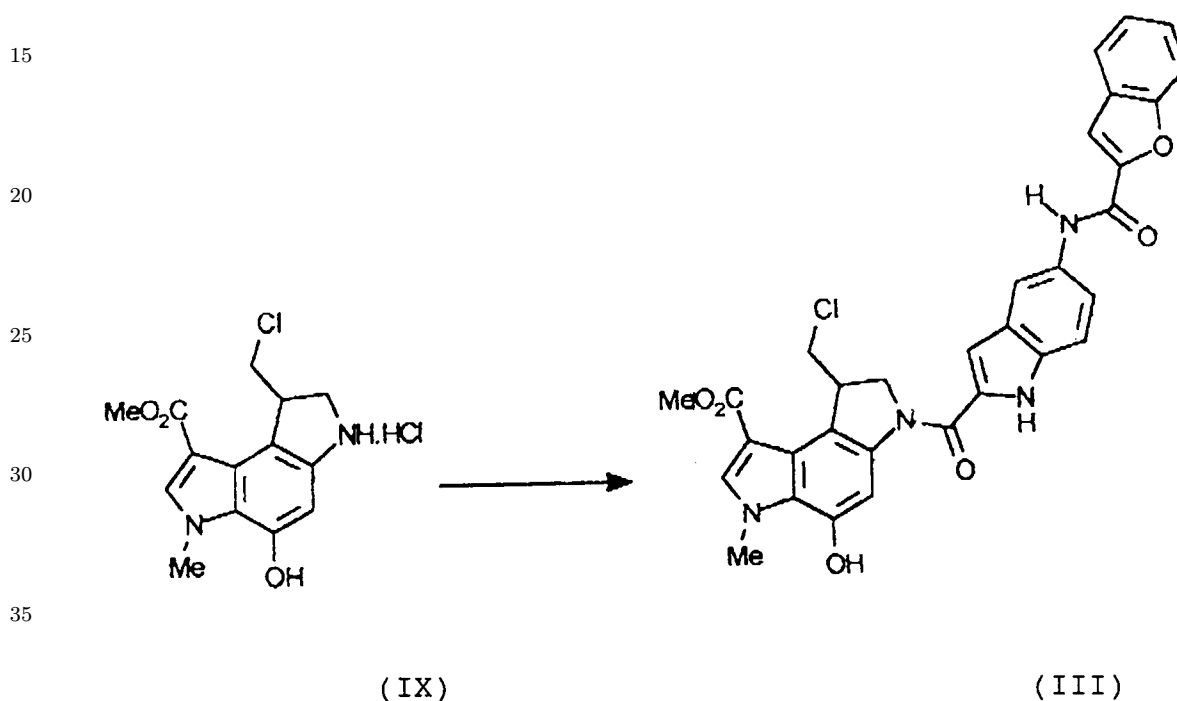
60

Durante 30 minutos, se burbujeó cloruro de hidrógeno anhidro a través de una disolución del compuesto (VIII) (11 mg, 0.042 mmol) en acetato de etilo seco (3mL), manteniendo la reacción a temperatura ambiente.

5 La suspensión amarilla resultante se concentró a presión reducida y se secó a vacío, permitiendo aislar 13 mg (93%) del compuesto (IX).

Ejemplo 2

10 *Síntesis de 6 - {5 - [(benzofurano - 2 - ilcarbonil) - amino]1H - indol - 2 - carbonil} - 8 - clorometil - 4 - hidroxi - 3 - metil - 3,6,7,8 - tetrahidropirroló [3,2 - e]indol - 1 - carboxilato de metilo (III)*



40

Una mezcla del compuesto (IX) (21 mg, 0.063 mmol), del ácido 5-[(benzofurano-2-ilcarbonil)amino]-1H -indol-2-carboxílico (84 mg, 0.262 mmol) y del hidrocloreto del N-(3,3-dimetilaminopropil)-N-etilcarbodiimida (79 mg, 0.412 mmol) en DMF seca (2 mL), se mantuvo con agitación a temperatura ambiente y bajo argón durante 24 horas.

45

La adición de agua (5 mL) y salmuera (2 mL) sobre la mezcla de reacción, seguida de extracción con EtOAc (4x5 mL), secado de la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro y purificación por cromatografía en columna de gel de sílice flash (14x1,5 cm φ) eluyendo con EtOAc:Hexano (17:3), permitió obtener después de secado a vacío, 26 mg (69%) del compuesto (III).

50

Rf:0.60 (Hexano:acetona 1:1).

1H-RMN (Acetona-D₆:DMSO-D₆ 9:1): 3.49(dd, 1H, J=8.9 y 10.3 Hz, R₂CHCH₂NR₂), 3.81(s, 3H, ArCH₃), 3.99(dd, 1H, J=3.1 y 10.3 Hz, R₂CHCH₂NR₂), 4.12(s, 3H, ArCO₂ CH₃), 4.48(m, 1H, R₂CHCH₂Cl), 4.67 (m, 2H, R₂CHCH₂Cl), 7.19(d, 1H, J=1.6 Hz, ArH), 7.35(dt, 1H, J=1.0 y 7.45 Hz, ArH), 7.51(m, 2H, ArH), 7.68(m, 3H, ArH), 7.81(dd, 1H, J=1.0 y 7.5 Hz, ArH), 7.92(s, 1H, ArH), 7.95(s, 1H, ArH), 8.34(d, 1H, J=1.7 Hz, ArH), 10.06(s, 1H, ArOH), 10.21(s, 1H, ArNHCOAr), 10.24(s ancho, 1H, ArNH).

60

Ejemplo 3

Síntesis de 2 - [5 - [(benzofurano - 2 - ilcarbonil)amino] - 1H - indol - 2 - carbonil] - 5 - metil - 4 - oxo - 1,2,4,5,8,8,a - hexahidrociclopropa [c]pirrolo[3,2 - e]indol - 7 - carboxilato de metilo (IV)

5

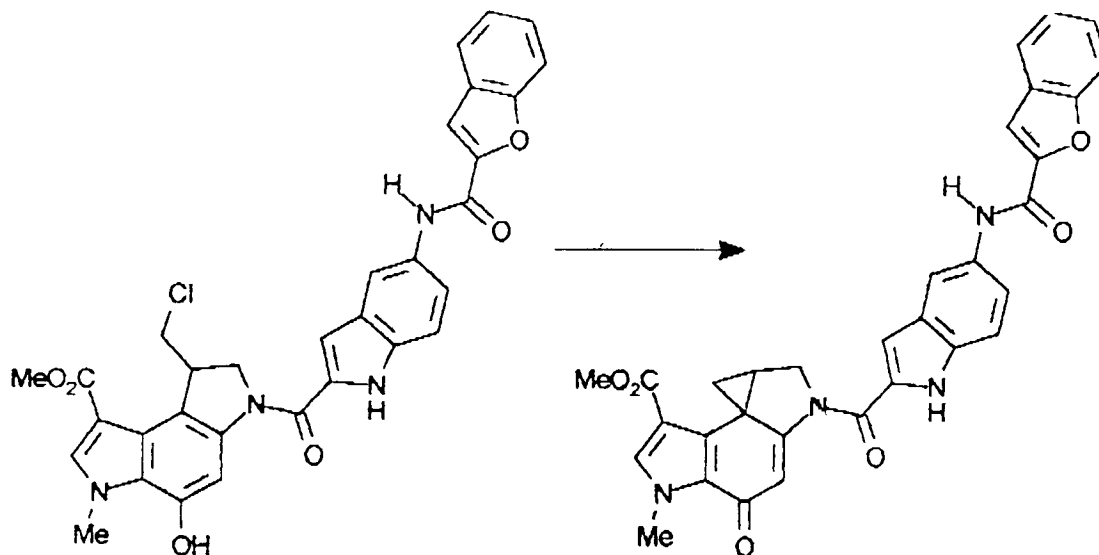
10

15

20

25

30



(III)

(IV)

35 El compuesto (III) se disolvió en 3,5 mL de una mezcla de acetonitrilo:agua:triethylamina (5:1:1), manteniendo la agitación a temperatura ambiente durante 1 hora.

La disolución resultante se diluyó con EtOAc (50 mL), se lavó con agua (3x15 mL), se secó con Na₂SO₄ anhidro, y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice flash (9x1.5 cm o), eluyendo con acetona:hexano (1:1). Después de secado a vacío se obtuvieron 8 mg (95%) del compuesto (IV).

40

Rf:0,55(Acetona:hexano 3:2).

1H-RMN(CD₂Cl₂:DMSO-D₆ 9:1): 1.26(m, 1H, RCH₂CHR₂), 2.14(dd, 1H, J=3.2 y 7.5 Hz, RCH₂CHR₂), 3.57(m, 1H, RCH₂CHR₂) 3.65(s, 3H, ArCH₃), 3.93(s, 3H, ArCO₂CH₃), 4.35(m, 2H, RCH₂NR₂), 6.77(s, 1H, ArH), 6.93(s, 1H, ArH), 7.22(t, 1H, J=7.6 Hz, ArH), 7.37(m, 2H, ArH), 7.49(m, 2H, ArH), 7.63 (d, 1H, J=7.8 Hz, ArH), 8.11(s, 1H, ArH), 9.66(s, 1H, ArNHCOAr), 11.35(s, 1H, ArNH).

45

50

55

60

Ejemplo 4

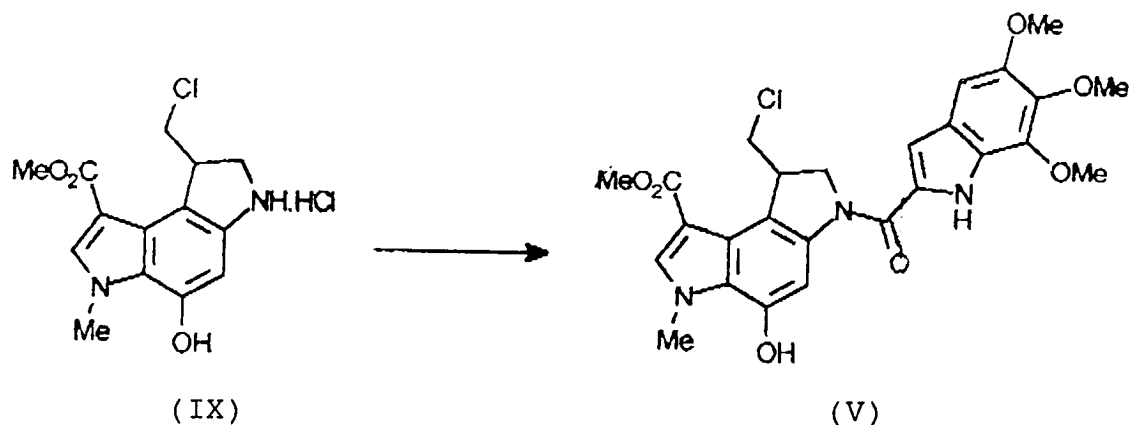
Síntesis de 6 - (5,6,7 - trimetoxi - 1H - indol - 2 - carbonil) - 8 - clorometil - 4 - hidroxí - 3 - metil - 3,6,7,8 - tetrahidropirroló[3,2 - e] indol - 1 - carboxilato de metilo (V).

5

10

15

20



25

Una mezcla del compuesto (IX) (13mg, 0.039 mmol), del ácido 5,6,7-trimetoxi-1H-indol-2 carboxílico (35 mg, 0.144 mmol) y del hidrocloreuro del N-(3,3-dimetilaminopropil) -N-etilcarbodiimida (46 mg, 0.24 mmol) en DMF seca (1.5 mL), se mantuvo con agitación a temperatura ambiente y bajo argón durante 24 horas.

30

La adición de agua (5 mL) y salmuera (2 mL) sobre la mezcla de reacción, seguida de extracción con EtOAc (4x5 mL), secado de la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro y purificación por cromatografía en columna de gel de sílice flash (13x1 cm ϕ) eluyendo con EtOAc:Hexano (17:3), permitió obtener después de secado a vacío, 18 mg (87%) del compuesto (V).

35

Rf:0.65 (Hexano:acetona 1:1)

40

¹H-RMN(Acetona-D₆): 3.46(m, 1H, R₂CHCH₂ NR₂), 3.80(s, 3H, RCH₃), 3.85(s, 3H, RCH₃), 3.86(s, 3H, RCH₃), 3.98-4.00(m, 1H, R₂CHCH₂NR₂), 4.01(s, 3H, RCH₃), 4.13(s, 3H, RCH₃), 4.58(m, 3H, R₂CHCH₂Cl y R₂ CHCH₂Cl), 6.96(s, 1H, ArH), 7.08(d, 1H, J=2.2 Hz, ArH), 7.86(s, 1H, ArH), 7.94(s, 1H, ArH), 9.22(s ancho, 1H, ArNH), 10.28(s ancho, 1H, ArOH).

45

50

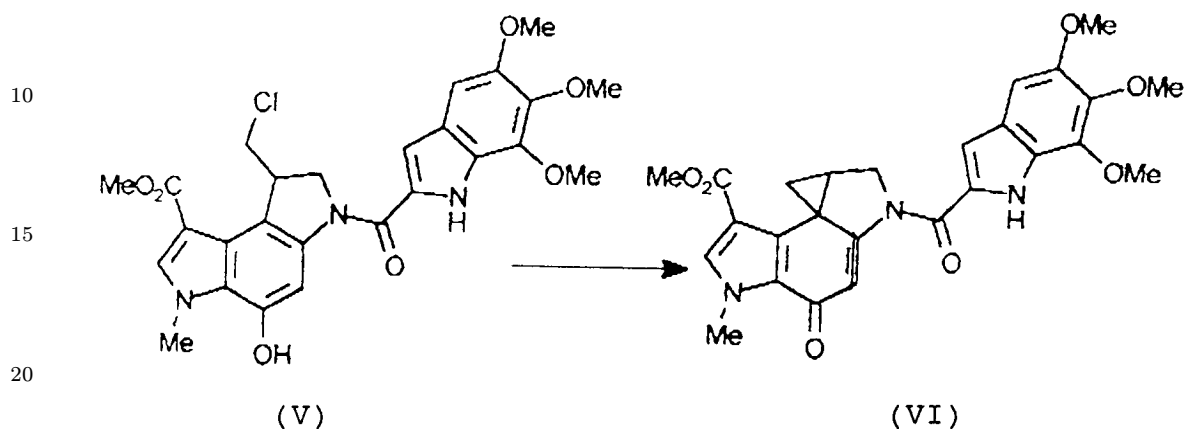
55

60

Ejemplo 5

Síntesis de 2 - (5,6,7 - trimetoxi - 1H - indol - 2 - carbonil) - 5 - metil - 4 - oxo - 1,2,4,5,8a - hexahidro-ciclopropa[c]pirrolo[3,2 - e] indol - 7 - carboxilato de metilo (VI)

5



10

15

20

25

El compuesto (V) se disolvió en 2.5 mL de una mezcla de acetonitrilo:agua:triethylamina (3:1:1), manteniendo la agitación a temperatura ambiente durante 1 hora.

30

La disolución resultante se diluyó con EtOAc (50 mL), se lavó con agua (3x15 mL), se secó con Na₂SO₄ anhidro, y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice flash (12x1 cm o), eluyendo con EtOAc:hexano (4:1). Después de secado a vacío se obtuvieron 13 mg (83%) del compuesto (VI).

Ref.: 0.45 (Acetona:hexano 1:1).

35

¹H-RMN(CD₂Cl₂): 1.32(1H, RCH₂CHR₂), 2.24 (dd, 1H, J=3.5 y 7.6 Hz, RCH₂CHR₂), 3.61(m, 1H, RCH₂CHR₂), 3.75(s, 3H, RCH₃), 4.02(s, 3H, RCH₃), 4.03(s, 3H, RCH₃), 4.034(s, 3H, RCH₃), 4.40(d, 2H, J=2.6 Hz, RCH₂NR₂), 6.82(s, 1H, ArH), 6.91(s, 1H, ArH), 6.93(d, 1H, J=2,3 Hz, ArH), 7.39(s, 1H, ArH), 9.34(s ancho, 1H, ArNH).

40

Ejemplo de pruebas biológicas

Actividad biológica de los compuestos de la invención

Descripción del modelo antitumoral P388

45

La línea tumoral original fue químicamente inducida en 1955 en un ratón DBA/2 pintado su piel con 3-metilcolantreno. Normalmente, 1x10⁶ células en fluido ascítico se implantan vía i.p. en ratones CD₂F₁. El tratamiento con el agente ensayado vía i.p. empieza un día después que el tumor haya sido implantado y es continuado diariamente hasta un total de cinco inyecciones para productos sintéticos, y de nueve inyecciones para crudos de productos naturales. Los resultados se expresan como porcentaje del tiempo de supervivencia del control.

50

Procedimiento.

55

A ratones CDF1 de peso 18-22 gr (+/-3 gr) se les implanta en el día 0 del período de test 0.1 ml de una dilución de células tumorales 1.0x10⁷ procedente de ratones DBA/2N usados para la propagación del tumor.

60

En el día 1 del período de test se randomizan los animales en grupos de seis animales. Cada grupo es pesado y la media de peso anotada. Cada compuesto a ensayar es diluido en 4 niveles de dosis para un ensayo de multidosis a partir de la determinación de la dosis no tóxica más elevada (p.e. 400 mg/kg; 100 mg/kg; 10 mg/kg).

ES 2 074 957 A1

La administración de los compuestos test se empieza el día 1 usando volúmenes de 1/2 fármaco inyectado vía i.p. Se inyecta los días 1 hasta 9 del período de test, a menos que se indique lo contrario. Se toman los pesos en el día 5, que es el que en este sistema se considera día de toxicidad. La toxicidad en este sistema del test se define como:

5

A. 34% de muertes hasta el día 5 -*toxicidad aguda*.

B. Un T/C < 85% -*toxicidad crónica*

10

C. Una media negativa del cambio del peso del animal > 4 g hasta el día 5- *toxicidad crónica*.

Los datos obtenidos al ensayar los compuestos in vivo frente al modelo de tumor leucémico P388 en ratón quedan reflejados en la siguiente tabla:

15

Compuesto	Dosis inyec. (mg/kg)	Vía	%T/C
(IV)	0.300	i.p.	251.1**
(III)	0.500	i.p.	>391.3
(VI)	0.500	i.p.	210.9**
(V)	0.050	i.p.	133.9**

20

25

Donde %T/C significa supervivencia media del grupo testado/supervivencia media de los controles y no tratados.

30

* Actividad significativa(moderada):T/C>=125%

** Actividad significativa(fuerte):T/C>=175%

35

40

45

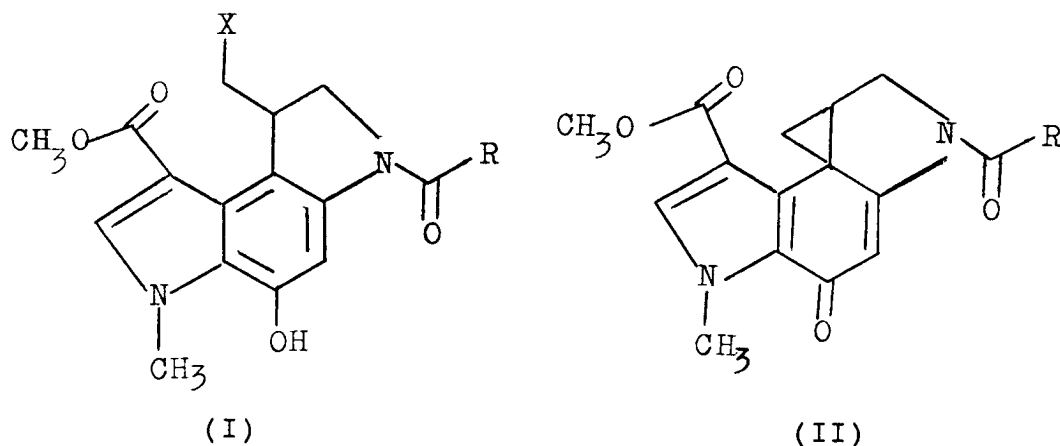
50

55

60

REIVINDICACIONES

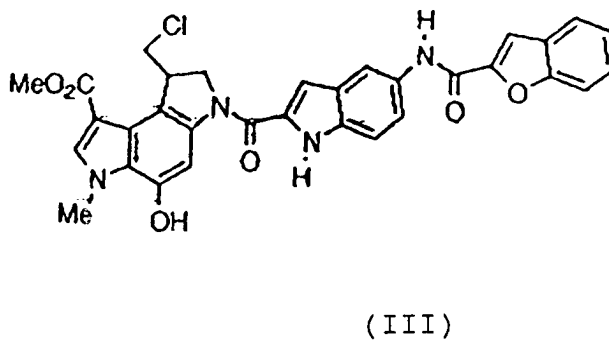
1. Nuevos derivados de pirrolo [3,2-e] indol, **caracterizados** porque presentan las siguientes fórmulas (I) y (II):



25 en las que R representa un grupo arilo (tal como bencilo, naftilo o fenantrilo) o heteroarilo (tal como indolilo), todos ellos sustituidos o no sustituidos y X representa cloro, bromo, yodo o alquil- o arilsulfonilo.

30 2. Nuevos derivados de pirrolo[3,2-e], según la reivindicación 1, **caracterizado** porque R representa un grupo indolilo o un grupo indolilo sustituido con un sustituyente aril o heteroarilcarbonilamino.

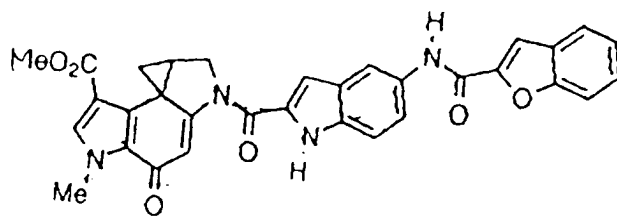
35 3. Nuevo derivado de pirrolo [3,2-e] indol según la reivindicación 1, **caracterizado** porque presenta la siguiente fórmula (III):



50 4. Nuevo derivado de pirrolo [3,2-e] indol, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque presenta la siguiente fórmula (IV):

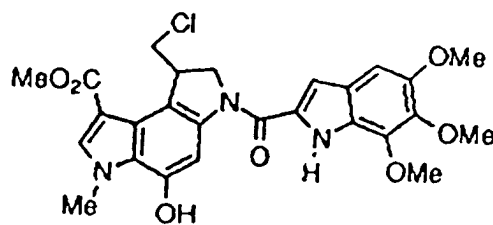
55

60



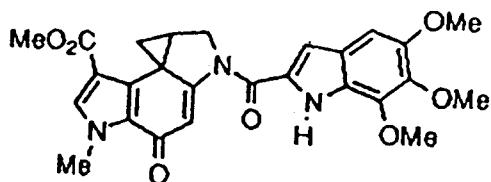
(IV)

15 5. Nuevo derivado de pirrolo [3,2-e] indol, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque presenta la siguiente fórmula (V):



(V)

30 6. Nuevo derivado de pirrolo [3,2-e] indol, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque presenta la siguiente fórmula (VI):

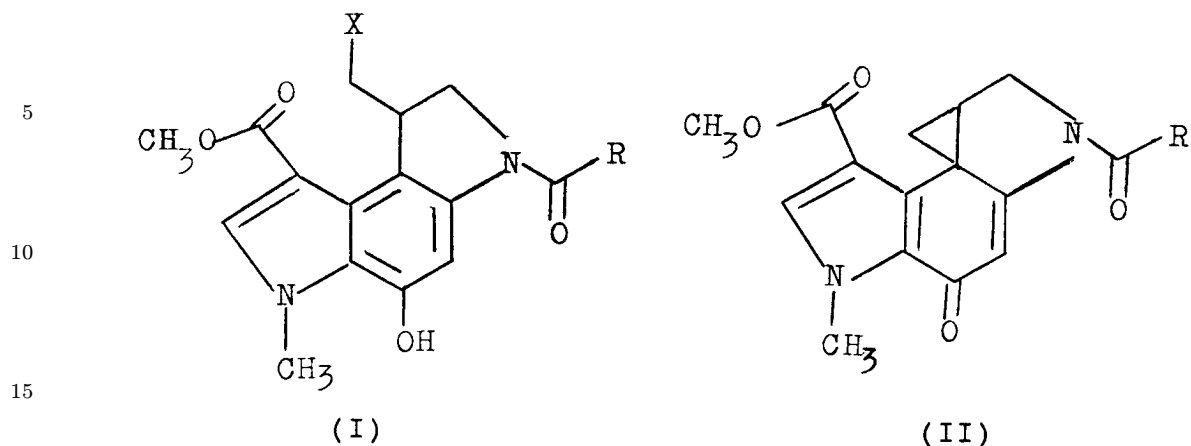


(VI)

50 7. Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de pirrolo [3,2-e] indol, de fórmulas generales (I) y (II):

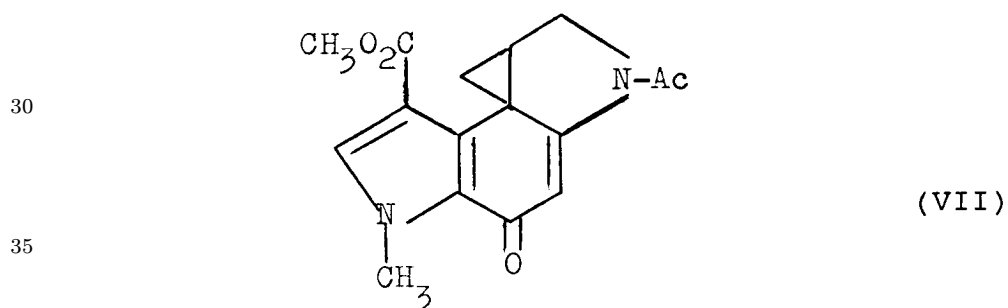
55

60

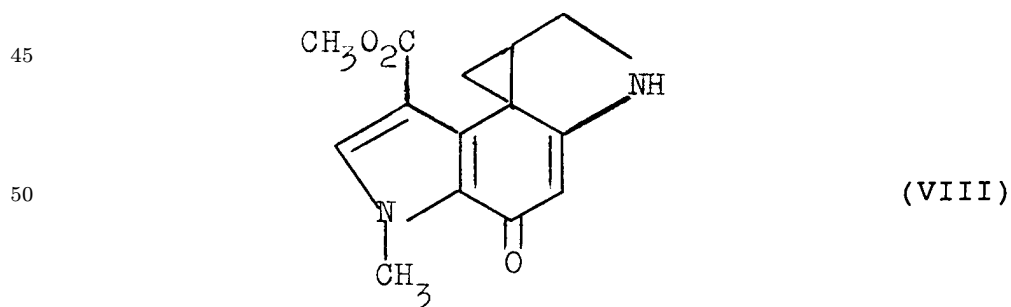


20 en las que R representa un grupo arilo (tal como bencilo, naftilo o fenantrilo) o heteroarilo (tal como indolilo), todos ellos sustituidos o no sustituidos y X representa cloro, bromo, yodo o alquil- o arilsulfonilo; cuyo procedimiento está **caracterizado** porque comprende las siguientes etapas:

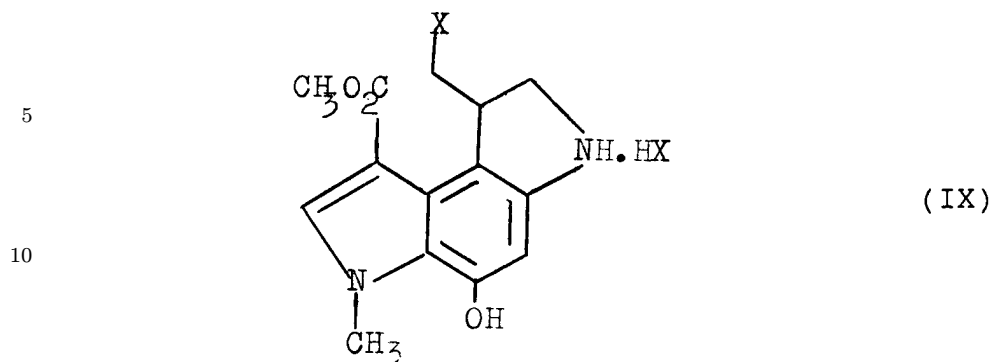
25 a) someter a reacción de desacilación un compuesto de fórmula (VII):



40 en la que Ac representa un grupo acilo, mediante tratamiento del mismo con una base en un disolvente orgánico, para producir el compuesto de fórmula (VIII):



60 b) someter el compuesto (VIII) así obtenido a una reacción de apertura del anillo ciclopropilo, mediante tratamiento del mismo con un ácido en un disolvente orgánico, para producir el compuesto de fórmula (IX):



en la que X tiene el significado dado anteriormente para la fórmula (I);

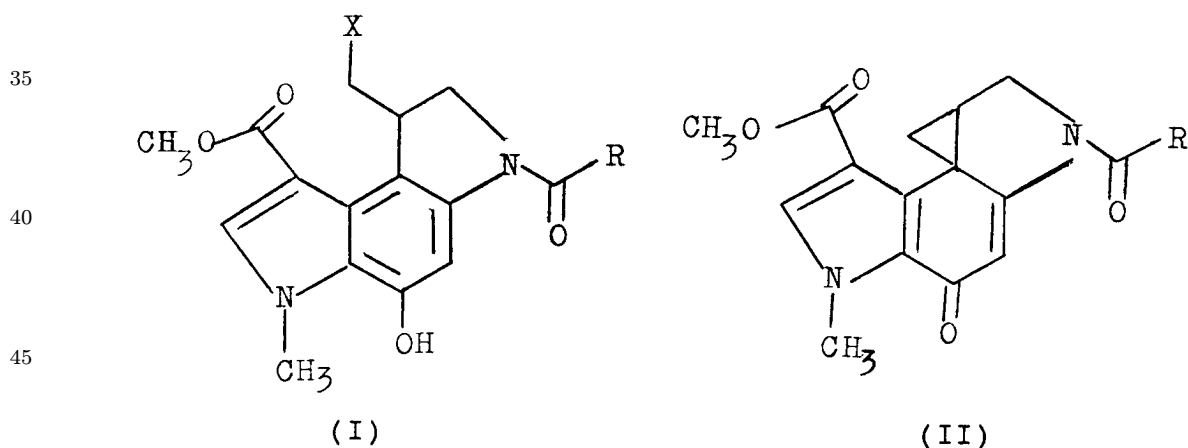
20 c) someter el compuesto (IX) así obtenido a una reacción de condensación con un ácido de fórmula



25 en la que R tiene el significado dado anteriormente, o un derivado reactivo del mismo, para producir el compuesto activo de la fórmula (I) antes indicada, llevándose a cabo dicha condensación en un disolvente orgánico y en presencia de un agente condensante;

d) cuando sea necesario, tratar los compuestos de fórmula (I) así obtenidos con una base en un disolvente adecuado para producir los compuestos de fórmula (II).

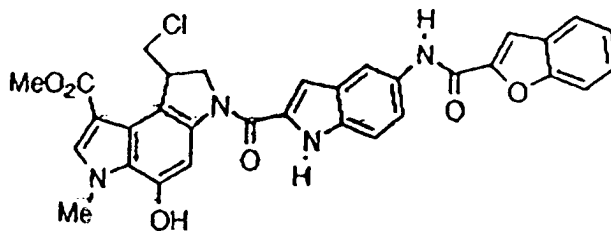
30 8. Aplicación de los compuestos de fórmulas (I) y (II):



en las que R representa un grupo arilo (tal como bencilo, naftilo o fenantrilo) o heteroarilo (tal como indolilo), todos ellos sustituidos o no sustituidos y X representa cloro, bromo, yodo o alquil- o arilsulfonilo, en la fabricación de medicamentos con actividad antitumoral, para el tratamiento del cáncer.

55 9. Aplicación, según reivindicación 7, del compuesto de fórmula (III):

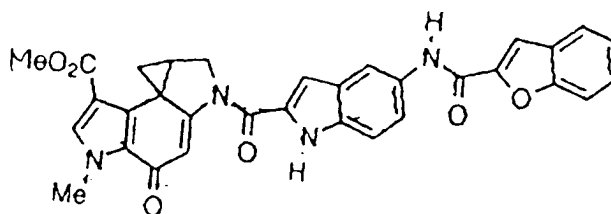
60



(III)

15 en la fabricación de medicamentos con actividad antitumoral, para el tratamiento del cáncer.

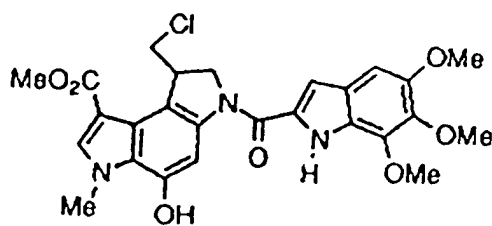
10. Aplicación, según la reivindicación 7, del compuesto de fórmula (IV):



(IV)

35 en la fabricación de medicamentos con actividad antitumoral, para el tratamiento del cáncer.

11. Aplicación, según la reivindicación 7, del compuesto de fórmula (V):

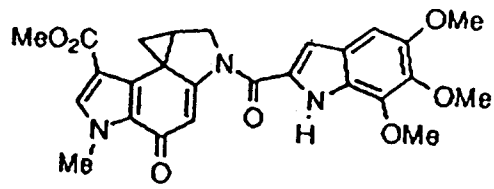


(V)

55 en la fabricación de medicamentos con actividad antitumoral, para el tratamiento del cáncer.

12. Aplicación, según la reivindicación 7, del compuesto de fórmula (IV):

60



(VI)

en la fabricación de medicamentos con actividad antitumoral, para el tratamiento del cáncer.



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA

- ① ES 2 074 957
② N.º solicitud: 9302430
③ Fecha de presentación de la solicitud: 19.11.93
④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.⁶: C07D 487/04, A61K 31/40 // (C07D 487/04, 209:00, 209:00)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WO-9116324-A (THE UPJOHN COMPANY) 31.10.91 * Todo el documento *	1-12
A	EP-0359454-A (THE UPJOHN COMPANY) 21.03.90 * Todo el documento *	1-12

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe
12.05.95

Examinador
E. Albarrán Gómez

Página
1/1