



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 350 674**

② Número de solicitud: 200930359

⑤ Int. Cl.:  
**C07D 319/10** (2006.01)  
**A61K 31/357** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **25.06.2009**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **26.01.2011**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:  
**26.01.2011**

⑦ Solicitante/s: **Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)**  
**c/ Serrano, 117**  
**28006 Madrid, ES**

⑧ Inventor/es: **Boto Castro, Alicia;**  
**Álvarez González, Eleuterio;**  
**Díaz González, Mario;**  
**Hernández González, Rosendo;**  
**Hernández Mesa, Dácil y**  
**Marín Cruzado, Raquel**

⑦ Agente: **Pons Ariño, Ángel**

⑤ Título: **Dioxanos derivados del reagrupamiento del carbohidratos y C-glicósidos, su procedimiento de obtención y sus usos.**

⑥ Resumen:

Dioxanos derivados del reagrupamiento de carbohidratos y C-glicósidos, su procedimiento de obtención y sus usos. La presente invención se refiere a compuestos con núcleo de dioxano derivados de carbohidratos y C-glicósidos, su procedimiento de obtención, el uso de dichos compuestos como citotóxicos y antiproliferativos y el uso para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

ES 2 350 674 A1

## DESCRIPCIÓN

Dioxanos derivados del reagrupamiento de carbohidratos y C-glicósidos, su procedimiento de obtención y sus usos.

La presente invención se refiere a compuestos con núcleo de dioxano derivados de carbohidratos y C-glicósidos, su procedimiento de obtención, el uso de dichos compuestos como citotóxicos y antiproliferativos y el uso para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

## 10 Estado de la técnica anterior

El desarrollo de procesos dominó y secuenciales es un campo de gran interés en Química Sostenible (o Química Verde). Estos procesos disminuyen el tiempo de síntesis, al realizarse varias reacciones de forma consecutiva, sin necesidad de añadir sustratos distintos a los de partida ni de extraer los productos intermedios de la reacción, con lo que se ahorran materiales y se reducen los residuos a tratar. La aplicación de estos procesos a la preparación de productos de alto valor añadido a partir de sustratos relativamente baratos tiene especial interés.

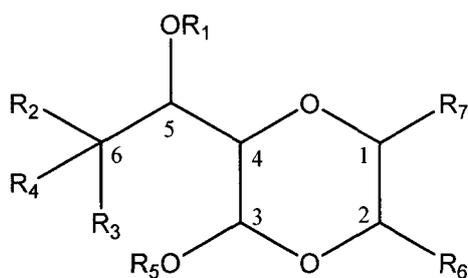
Se conocen procesos dominó y secuenciales que acoplan reacciones radicalarias a reacciones iónicas, y que tienen lugar en condiciones suaves, compatibles con la mayor parte de los grupos funcionales (A. Boto, D. Hernández, R. Hernández, E. Álvarez, *J. Org. Chem.* 2007, 72, 9523-9532 y A. Boto, D. Hernández, R. Hernández, E. Suárez, *J. Org. Chem.* 2003, 68, 5310-5319). Estos procesos son útiles para la escisión de O-radicales anoméricos de carbohidratos o bien O-radicales primarios.

En cuanto a métodos alternativos para formar dioxanos con alta funcionalización, se ha descrito la protección de azúcares con 1,2-diacetales (S. V. Ley, A. Polara, *J. Org. Chem.* 2007, 72, 5943-5959). Sin embargo, este método no supone la transformación directa del anillo del azúcar en su análogo de dioxano, sino la creación de un anillo adicional. Por otra parte, dicho método sólo describe la formación de dioxanos para proteger grupos del azúcar mientras se efectúan distintas transformaciones sintéticas, al final de las cuales, el dioxano es destruido.

## 30 Descripción de la invención

La presente invención proporciona una serie de análogos de carbohidratos y C-glicósidos y su método de obtención mediante un proceso químico dominó, es decir, un proceso en el que se producen varias reacciones consecutivas, sin cambiar las condiciones de reacción y sin necesidad de aislar los productos intermedios.

En un primer aspecto, la presente invención describe un compuesto de fórmula (I):



Fórmula (I)

55 donde

R<sub>1</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, acilo, arilo o heteroarilo.

R<sub>2</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo.

R<sub>3</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo

R<sub>4</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo, alcoxi, aciloxi, amino o amido; o

R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> no existen y se forma un grupo éter entre el carbono en posición 6 y el oxígeno unido al carbono en posición 3.

R<sub>5</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo o acilo.

## ES 2 350 674 A1

R<sub>6</sub> se selecciona entre alquilo, arilo o alcoxi

R<sub>7</sub> se selecciona entre alcoxi, alquilo, arilo, -CH<sub>2</sub>-COR<sub>8</sub> o heterociclo.

5 R<sub>8</sub> se selecciona entre alquilo o arilo

y sus isómeros, sales y solvatos.

10 El término “alquilo” se refiere, en la presente invención, a cadenas alifáticas, lineales o ramificadas, saturadas o insaturadas, que tienen preferiblemente de 1 a 18 átomos de carbono, y más preferiblemente de 1 a 8 átomos de carbono. Por ejemplo, pero sin limitarse a, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *terc*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, *n*-heptilo etc. Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo, amino o ácido carboxílico.

15 El término “acilo” se refiere, en la presente invención, a un derivado de ácido carboxílico por eliminación de un grupo hidroxilo. Los derivados de ácido carboxílico tienen como fórmula general R<sup>4</sup>-CO-, donde R<sup>4</sup> es un grupo alquilo con las acepciones anteriores y preferiblemente se refiere a grupos alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), lineal o ramificado. Como por ejemplo, pero sin limitarse a propionilo, butanoilo, hexanoilo, pivaloilo, octanoilo o miristoilo.

20 El término “arilo” se refiere, en la presente invención, a anillos aromáticos sencillos o múltiples, que tienen de entre 5 a 18 eslabones en los que se ha eliminado un protón del anillo. Los grupos arilo son por ejemplo, pero sin limitarse a, fenilo, naftilo, difenilo, indenilo, fenantrilo, o antracilo, y preferiblemente el grupo arilo tiene de 5 a 10 átomos de carbono. Los radicales arilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), halógeno, hidroxilo o ácido carboxílico.

El término “heteroarilo” se refiere, en la presente invención, a un radical arilo como definido anteriormente pero donde el anillo presenta al menos un heteroátomo (oxígeno, nitrógeno, azufre), como por ejemplo, pero sin limitarse a, furilo, tiazolilo, y radicales derivados de la pirimidina y purina.

30 El término “alcoxi” se refiere, en la presente invención, a un grupo alquilo unido a un átomo de oxígeno, es decir, RO-, en donde R es un grupo alquilo como definido anteriormente.

35 El término “aciloxi” se refiere, en la presente invención, a un grupo acilo [RC(O)] unido a un átomo de oxígeno, es decir, RC(O)O-, en donde R es un grupo alquilo o arilo como definido anteriormente.

El término “amino” se refiere, en la presente invención a un radical de fórmula -NH<sub>2</sub>, -NHR o -NRR', opcionalmente cuaternizado, donde R y R' son radicales alquilo como definido anteriormente.

40 El término “amido” se refiere, en la presente invención a un radical de fórmula R-C(O)-NHR', donde R y R' son radicales alquilo como definido anteriormente.

En una realización preferida, en el compuesto de fórmula (I) R<sub>1</sub> es metilo.

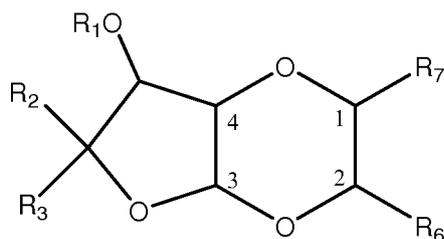
45 En una realización preferida, en el compuesto de fórmula (I) R<sub>2</sub> es hidrógeno.

En una realización preferida, en el compuesto de fórmula (I) R<sub>3</sub> es hidrógeno.

50 En una realización preferida, en el compuesto de fórmula (I) R<sub>4</sub> es acetoxi o alcoxi. Preferiblemente R<sub>4</sub> es acetoxi.

En una realización preferida, en el compuesto de fórmula (I) R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> no existen y se forma un grupo éter entre el carbono en posición 6 y el oxígeno unido al carbono en posición 3, dando lugar a un compuesto con la siguiente fórmula general:

55



donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> tienen un significado como descrito anteriormente.

## ES 2 350 674 A1

En una realización preferida, en el compuesto de fórmula (I)  $R_6$  es O-metilo.

En una realización preferida, en el compuesto de fórmula (I)  $R_7$  es O-metilo.

5 En una realización preferida, en el compuesto de fórmula (I)  $R_7$  es  $-CH_2-COR_8$  y  $R_8$  es fenilo.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula (I) según descrito anteriormente que comprende una reacción de escisión radicalaria regioselectiva del enlace  $C_2-C_3$  con otra de oxidación, seguida por una delación intramolecular que genera un anillo de dioxano, y finalmente la introducción de grupos acilo o alcoxilo, bien de forma ínter ó intramolecular.

Este proceso permite la conversión de azúcares o de glicósidos fáciles de obtener en diacetales mono o bicíclicos con un núcleo de dioxano, mediante un reagrupamiento en que el anillo de furanosa del carbohidrato se escinde y el grupo carbonilo resultante da lugar a una ciclación intramolecular que genera un anillo de dioxano. Dado que el procedimiento de la presente invención es un proceso químico dominó, no hay necesidad de aislar los productos intermedios.

Los procesos dominó presentan una importante ventaja respecto a los convencionales: al realizarse varias reacciones de forma consecutiva y no tener que purificarse los productos intermedios, hay un importante ahorro de materiales para la reacción y la purificación, de tiempo de síntesis y también disminuyen los residuos a tratar. Por eso, estos procesos son de interés para las compañías químicas y farmacéuticas.

El procedimiento descrito en la presente invención tiene otras importantes ventajas:

- 25 1) Se pueden obtener productos de alto valor añadido (posibles fármacos) a partir de derivados de azúcares muy fáciles de obtener.
- 30 2) Se utilizan reactivos poco tóxicos (otros procesos de escisión radicalaria utilizan reactivos metálicos muy tóxicos, como el tetraacetato de plomo).
- 3) Las condiciones de reacción son muy suaves, y compatibles con sustratos relativamente lábiles y con muchos grupos funcionales.
- 35 4) El proceso es simple. Transcurre a temperatura ambiente, no es necesario usar reactores con sistemas de enfriado o calefacción, lo que abarata la síntesis.
- 40 5) Los reactivos se destruyen en la extracción acuosa. El yodo da yoduros, el diacetoxiyodobenceno da yodossilbenceno, un subproducto relativamente poco tóxico, fácil de tratar.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) según descrito anteriormente para su uso como medicamento.

45 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) según descrito anteriormente como citotóxico o antiproliferativo.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) según descrito anteriormente para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento del cáncer.

50 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según descrito anteriormente y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización preferida, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica según descrita anteriormente que además comprende otro principio activo.

55 Como se emplea aquí, el término "principio activo", significa cualquier componente que potencialmente proporcione una actividad farmacológica u otro efecto diferente en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento, o prevención de una enfermedad, o que afecta a la estructura o función del cuerpo del hombre u otros animales. El término incluye aquellos componentes que promueven un cambio químico en la elaboración del fármaco y están presentes en el mismo de una forma modificada prevista que proporciona la actividad específica o el efecto.

60 Los compuestos y composiciones de esta invención pueden ser empleados solos o junto con otros fármacos para proporcionar una terapia combinada. Los otros fármacos pueden formar parte de la misma composición, o ser proporcionados como una composición separada, para su administración al mismo tiempo o en un momento diferente. Los fármacos a ser combinados con los compuestos de la presente invención pueden ser fármacos aprobados para el tratamiento de alguna de las enfermedades, o ser de nuevo desarrollo.

## ES 2 350 674 A1

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

### Descripción de las figuras

Fig. 1. Experimentos NOESY para los productos 6-9 (se observa una interacción débil en 8).

Fig. 2. Representación ORTEP del compuesto 8 con elipsoides de desplazamiento térmico dibujadas al nivel de probabilidad del 50%.

Fig. 3. Imágenes de los cultivos control (no tratados con los compuestos) de la línea HT22 tras 4 horas y de los cultivos control de MCF7 a las 5 h de comenzar los ensayos.

Fig. 4. Imágenes de los cultivos de la línea HT22 tras 4 horas de exposición a los compuestos y dosis indicadas. Se observa una clara inducción de muerte celular a las concentraciones de 1 y 5  $\mu\text{M}$ .

Fig. 5. Imágenes de los cultivos de la línea MCF7 tras 5 horas de exposición a los compuestos y dosis indicadas. Se observa una clara inducción de muerte celular (apoptosis) a las concentraciones de 1 y 5  $\mu\text{M}$ .

Fig. 6. Muestra el porcentaje de muerte celular provocada por los distintos compuestos y cuantificada mediante tinción con azul de tripano en la línea neuronal HT22. Los resultados fueron normalizados frente a la mortalidad provocada por el vehículo (V, DMSO al 0,01%). Se efectuaron 3 ensayos por grupo experimental.

Fig. 7. Muestra el porcentaje de muerte celular provocada por los distintos compuestos y cuantificada mediante tinción con azul de tripano en la línea celular MCF7. Los resultados fueron normalizados frente a la mortalidad provocada por el vehículo (V, DMSO al 0,01%). Se efectuaron 3 ensayos por grupo experimental.

Figura 8. Muestra el porcentaje de inhibición de la proliferación de las neuronas en presencia de los compuestos cíclicos indicados frente a la proliferación observada en presencia del vehículo (V, DMSO al 0,01%). Se efectuaron 3 ensayos por cada grupo experimental.

Figura 9. Porcentaje de inhibición de la proliferación de las células cancerosas en presencia del producto 8 frente a la proliferación observada en presencia del vehículo (V, DMSO al 0,01%). Se efectuaron 3 ensayos por cada grupo experimental.

### Ejemplos

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la especificidad y efectividad de los compuestos de fórmula (I) y de su procedimiento de obtención.

#### 1. Ejemplos de síntesis química

Los carbohidratos usados como sustratos fueron preparados a partir de D-galactopiranososa comercial 1 (Esquema 1). Se realizó una silylación con TBSCl, seguida de una metilación con NaH y MeI, formándose la galactofuranosa 2. Este intermedio sintético fue desililado, dando lugar al diol 3. El grupo hidroxilo primario fue protegido por acetilación, generando el compuesto 4, así como el compuesto diacetilado 5.

# ES 2 350 674 A1

## Esquema 1

### Preparación de sustratos derivados de la galactofuranosa

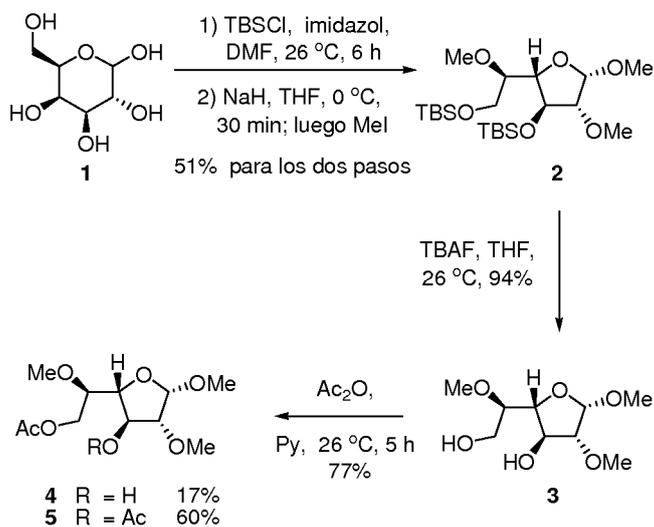
5

10

15

20

25



30

Quando el compuesto 5 (Esquema 2) fue tratado con (diacetoxiyodo)benceno (DIB) y yodo en diclorometano, bajo irradiación con luz visible, se obtuvieron dos productos, resultado de un proceso secuencial de escisión-oxidación-ciclación. A estos productos se les asignaron las estructuras 6 y 7. Por otra parte, cuando el sustrato dihidroxilado 4 fue sometido a las mismas condiciones de reacción, se aislaron dos productos de fragmentación-oxidación-ciclación 8 y 9.

35

## Esquema 2

### Dioxanos procedentes del reagrupamiento de carbohidratos, mediante procesos de escisión-oxidación-ciclación

40

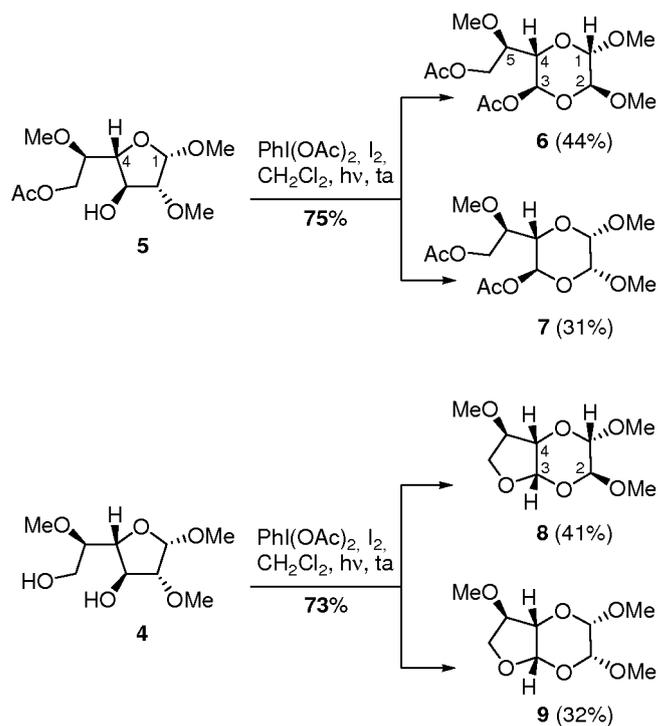
45

50

55

60

65



## ES 2 350 674 A1

La estereoquímica de los compuestos 6-9 fue determinada de acuerdo a las constantes experimentales de  $^1\text{H}$  NMR (Tabla 1) y de experimentos NOESY (Figura 1). Además, el análisis de Rayos X del producto 8 (Figura 2) confirmó la estructura y la configuración propuestas.

TABLA 1

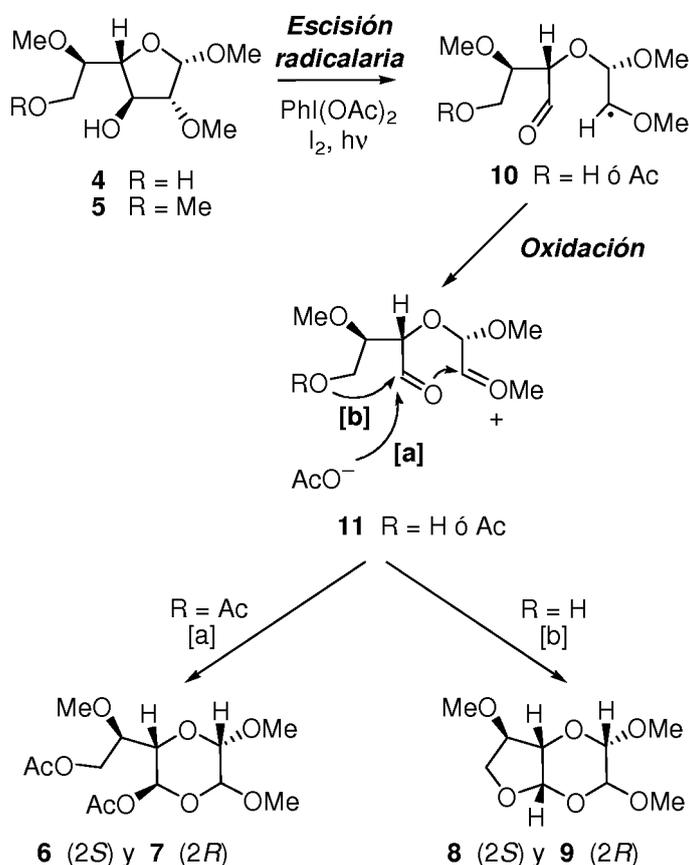
*Constantes de acoplamiento experimentales de la RMN  $^1\text{H}$*

<b><math>J</math> (Hz)</b>	Producto <b>6</b>	Producto <b>7</b>	Producto <b>8</b>	Producto <b>9</b>
<b><math>J_{1,2}</math></b>	4.3	1.6	3.7	1.4
<b><math>J_{3,4}</math></b>	7.0	8.3	3.7	3.5
<b><math>J_{4,5}</math></b>	3.0	3.0	2.1	1.5

Estos resultados pueden explicarse de acuerdo al mecanismo mostrado en el Esquema 3. Así, la escisión radicalaria de los sustratos 4 o 5 generó un C-radical 10, que evolucionó por oxidación a un ión oxocarbenio 11. El oxígeno del grupo carbonilo sobre C-3 actuó como nucleófilo, y el ión resultante fue atrapado bien por iones acetato procedentes del DIB (ruta [a]) o por el grupo hidroxilo sobre C-6 (ruta [b]). La ruta [a] generó los compuestos 6 y 7, mientras que la ruta [b] dio lugar a los productos bicíclicos 8 y 9. Debe destacarse que en la escisión del sustrato dihidroxilado 4, la fragmentación del O-radical secundario (que generó los compuestos 8 y 9) es mucho más rápida que la escisión del radical primario (no se detectaron productos de ruptura del enlace C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>).

Esquema 3

*Mecanismos posibles para el reagrupamiento de carbohidratos, mediante procesos de escisión-oxidación-ciclación*



## ES 2 350 674 A1

Además, la formación de los derivados (2*S*) y (2*R*) en proporción 1:1 implica que la rotación alrededor del enlace C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> de los intermedios 10 ó 11 es también rápida.

Finalmente, la adición de iones acetato al C-3 (ruta [a]) tuvo lugar por la cara opuesta a la cadena alquílica en C-4, dando lugar a los productos 3,4-*trans* 6 y 7. Por el contrario, cuando el grupo hidroxilo sobre C-6 actuaba como nucleófilo (ruta [b]), se formaban los productos 3,4-*cis* 8 y 9.

Los productos 6-9 son análogos de azúcares de tipo piranosa. Con el fin de determinar si este proceso era útil para preparar análogos de C-glicósidos, la 2-alkil galactofuranosa 14 (Esquema 4) se obtuvo a partir del diacetato 5 por alquilación de la posición anomérica (dando lugar a la fenona 12), seguida por hidrólisis de los grupos acetato (generando el alcohol 13). El sustrato 13 se trató con DIB y yodo y se irradió con luz visible. El proceso de escisión-reagrupamiento generó con buen rendimiento el análogo de C-glicósido 14, cuya configuración fue asignada como (1*R*,2*S*) (Tabla 2).

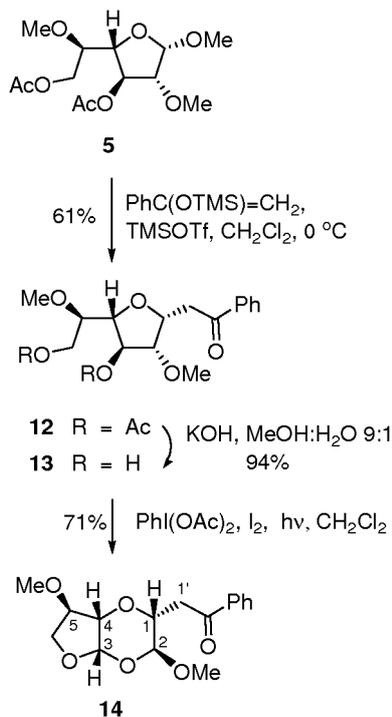
TABLA 2

*Constantes experimentales y teóricas de RMN <sup>1</sup>H para los posibles isómeros*

<b><i>J</i></b> (Hz)	Producto <b>14</b>	(1 <i>R</i> , 2 <i>R</i> )	(1 <i>R</i> , 2 <i>S</i> )	(1 <i>S</i> , 2 <i>R</i> )	(1 <i>S</i> , 2 <i>S</i> )
<b><i>J</i></b> <sub>1,2</sub>	7.5	1.5	7.3	1.0	3.1
<b><i>J</i></b> <sub>3,4</sub>	2.8	3.0	2.6	3.4	2.8
<b><i>J</i></b> <sub>4,5</sub>	0.0	1.1	1.2	1.1	1.2

Esquema 4

*Formación de análogos de C-glicósidos*



Hay que destacar la formación del producto 14, puesto que no se produjeron reacciones secundarias indeseadas (como la abstracción del 1-H). Por tanto, esta metodología puede resultar útil para preparar análogos de C-glicósidos.

## ES 2 350 674 A1

### Procedimiento general para el proceso de escisión-oxidación-ciclación

A una solución del carbohidrato de partida (0.1 mmol) en diclorometano seco (2 mL) se le añadió yodo (25 mg, 0.1 mmol) y DIB (39 mg, 0.12 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a 2 h a 26°C, bajo irradiación con luz visible (usando lámparas de filamento de tungsteno de 80 W compradas en ferreterías). Luego se vertió la mezcla sobre una solución acuosa al 10% de tiosulfato sódico, y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y el disolvente se eliminó a vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de sílica gel (eluyentes: mezclas de hexano/acetato de etilo).

El compuesto 6 es un producto de consistencia gomosa (44%). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.09 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 3.45 (s, 3H), 3.46 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 3.52 (ddd, *J* = 2.9, 5.8, 5.9 Hz, 1H, 5-H), 3.73 (dd, *J* = 3.0, 7.0 Hz, 1H, 4-H), 4.28 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H, 6-H<sub>2</sub>), 4.40 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H, 1-H), 4.51 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H, 2-H), 6.11 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, 3-H) ppm. RMN <sup>13</sup>C (125.7 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 20.8 (CH<sub>3</sub>, Ac), 20.9 (CH<sub>3</sub>, Ac), 56.3 (CH<sub>3</sub>, OMe), 56.6 (CH<sub>3</sub>, OMe), 59.4 (CH<sub>3</sub>, OMe), 62.4 (CH<sub>2</sub>, 6-C), 72.9 (CH, 4-C), 76.5 (CH, 5-C), 88.0 (CH, 3-C), 99.6 (CH, 2-C), 100.6 (CH, 1-C), 169.1 (C, CO), 170.7 (C, CO) ppm. EMAR (IE): calcd para C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>O<sub>8</sub> [M<sup>+</sup>-OMe] 291.1080; observado 291.1102.

El compuesto 7 es un producto de consistencia gomosa (31%). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.09 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 3.43 (s, 3H), 3.54 (s, 3H), 3.56 (m, 1H, 5-H), 3.57 (s, 3H), 3.74 (dd, *J* = 3.0, 8.4 Hz, 1H, 4-H), 4.27 (dd, *J* = 6.0, 11.5 Hz, 1H, 6-H<sub>a</sub>), 4.31 (dd, *J* = 6.0, 11.5 Hz, 1H, 6-H<sub>b</sub>), 4.57 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, 1-H), 4.62 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, 2-H), 6.16 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, 3-H) ppm. RMN <sup>13</sup>C (125.7 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 20.9 (2 x CH<sub>3</sub>, Ac), 55.7 (CH<sub>3</sub>, OMe), 57.1 (CH<sub>3</sub>, OMe), 59.1 (CH<sub>3</sub>, OMe), 62.2 (CH<sub>2</sub>, 6-C), 75.5 (CH, 4-C), 76.3 (CH, 5-C), 84.7 (CH, 3-C), 97.3 (CH, 2-C), 99.0 (CH, 1-C), 168.7 (C, CO), 170.7 (C, CO) ppm. EMAR (IE): calcd para C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>O<sub>8</sub> [M<sup>+</sup>-OMe] 291.1080; observado 291.1081.

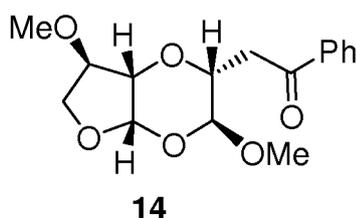
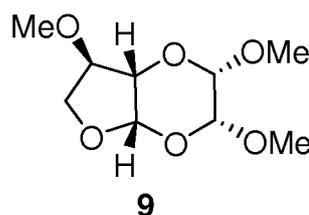
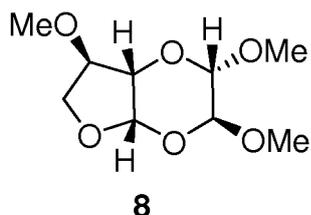
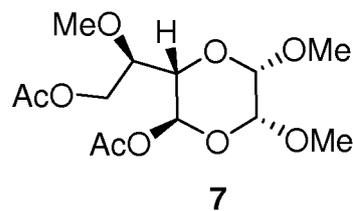
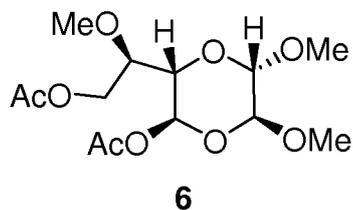
El producto 8 se aisló como un sólido cristalino (41%). P.f. 72-73°C (cristalizado a partir de acetato de etilo/*n*-hexano). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 3.40 (s, 3H), 3.50 (s, 3H), 3.53 (s, 3H), 3.93 (dd, *J* = 1.7, 9.9 Hz, 1H, 6-H<sub>a</sub>), 4.04 (ddd, *J* = 1.9, 1.9, 4.9 Hz, 1H, 5-H), 4.10 (dd, *J* = 2.1, 3.6 Hz, 1H, 4-H), 4.24 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, 1-H), 4.29 (dd, *J* = 4.9, 9.9 Hz, 1H, 6-H<sub>b</sub>), 4.58 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, 2-H), 5.39 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, 3-H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (125.7 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 56.0 (CH<sub>3</sub>, OMe), 56.5 (CH<sub>3</sub>, OMe), 57.1 (CH<sub>3</sub>, OMe), 70.9 (CH<sub>2</sub>, 6-C), 77.7 (CH, 4-C), 83.9 (CH, 5-C), 95.3 (CH, 3-C), 97.9 (CH, 2-C), 98.2 (CH, 1-C) ppm. EMAR (IE): calcd para C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>O<sub>5</sub> [M<sup>+</sup>-OMe] 189.0763; observado 189.0753.

*Análisis de Rayos X del producto 8*: C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>, *Mr* = 220.22, Cristal acicular incoloro (0.50 x 0.21 x 0.06 mm<sup>3</sup>) cristalizado a partir de acetato de etilo/*n*-hexano; monoclinico, grupo espacial C2 (no. 5), *a* = 14.892(8) Å, *b* = 4.395(2) Å, *c* = 16.651(9) Å, *V* = 1063.6(9) Å<sup>3</sup>, *Z* = 4, ρ<sub>calcd</sub> = 1.375 gcm<sup>-3</sup>, F(000) = 472, μ = 0.116 mm<sup>-1</sup>. 3841 reflexiones medidas, de las cuales 1251 fueron únicas (R<sub>int</sub> = 0.0866). La unidad asimétrica de la estructura está formada por una molécula de 8. Debido a un elevado su en el parámetro Flack, los pares Friedel fueron promediados al refinar (comando MERG 4). La configuración absoluta de los nuevos centros quirales ha sido asignada considerando otros centros quirales de la molécula, que no se vieron afectados por el proceso, y cuya configuración absoluta se conocía. Se obtuvieron 139 parámetros refinados, con R<sub>1</sub> = 0.0588, para reflexiones con *I* > 2σ(*I*), wR<sub>2</sub> = 0.1351 (datos completos), GOF = 1.019. Densidad electrónica residual máx/min: +0.263/-0.262 e.Å<sup>-3</sup>.

El compuesto 9 es un producto de consistencia gomosa (32%). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 3.39 (s, 3H), 3.54 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 3.83 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, 6-H<sub>a</sub>), 4.00 (dd, *J* = 1.0, 3.9 Hz, 1H, 5-H), 4.21 (dd, *J* = 1.4, 3.1 Hz, 1H, 4-H), 4.35 (dd, *J* = 4.0, 9.6 Hz, 1H, 6-H<sub>b</sub>), 4.48 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, 1-H), 4.52 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, 2-H), 5.27 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, 3-H) ppm. RMN <sup>13</sup>C (125.7 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 55.9 (CH<sub>3</sub>, OMe), 56.8 (CH<sub>3</sub>, OMe), 57.1 (CH<sub>3</sub>, OMe), 70.1 (CH<sub>2</sub>, 6-C), 77.0 (CH, 4-C), 84.4 (CH, 5-C), 94.6 (CH, 2-C), 96.6 (2 x CH, 1-C + 3-C) ppm. EMAR (IE): calcd para C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>O<sub>5</sub> [M<sup>+</sup>-OMe] 189.0763; observado 189.0770.

El compuesto 14 es un producto de consistencia gomosa (71%). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 3.22 (d, *J* = 7.5 Hz, 1'-H<sub>a</sub>), 3.23 (d, *J* = 4.5 Hz, 1'-H<sub>a</sub>), 3.33 (s, 3H), 3.49 (s, 3H), 3.73 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H, 5-H), 3.84 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H, 6-H<sub>a</sub>), 3.96 (ddd, *J* = 4.5, 7.4, 7.5 Hz, 1H, 1-H), 4.08 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, 4-H), 4.26 (dd, *J* = 4.2, 9.7 Hz, 6-H<sub>a</sub>), 4.70 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, 2-H), 5.47 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, 3-H), 7.47 (dd, *J* = 7.6, 7.9 Hz, 2H, Ph), 7.58 (dd, *J* = 7.4, 7.4 Hz, 1H, Ph), 7.95 (d, *J* = 7.39 Hz, 2H, Ph) ppm. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): δ = 2.76 (s, 3H), 2.95 (d, *J* = 4.5 Hz, 1'-H<sub>a</sub>), 2.96 (d, *J* = 7.5 Hz, 1'-H<sub>b</sub>), 3.26 (s, 3H), 3.44 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H, 5-H), 3.75 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, 6-H<sub>a</sub>), 3.80 (d, *J* = 2.7 Hz, 4-H), 4.14 (dd, *J* = 4.3, 9.6 Hz, 6-H<sub>a</sub>), 4.20 (ddd, *J* = 4.4, 7.4, 7.6 Hz, 1H, 1-H), 4.78 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, 2-H), 5.58 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H, 3-H), 7.01 (dd, *J* = 7.3, 7.8 Hz, 2H, Ph), 7.09 (dd, *J* = 7.4, 7.4 Hz, 1H, Ph), 7.79 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H, Ph) ppm. RMN <sup>13</sup>C (125.7 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 40.3 (CH<sub>2</sub>, 1'-C), 56.3 (CH<sub>3</sub>, OMe), 57.1 (CH<sub>3</sub>, OMe), 71.0 (CH<sub>2</sub>, 6-C), 72.0 (CH, 1-C), 76.2 (CH, 4-C), 83.9 (CH, 5-C), 98.0 (CH, 2-C), 98.8 (CH, 3-C), 128.2 (2 x CH, Ph), 128.6 (2 x CH, Ph), 133.3 (CH, Ph), 137.0 (C, Ph), 196.5 (C, CO) ppm. EMAR (IE): calcd para C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>O<sub>5</sub> [M<sup>+</sup>-OMe] 277.1076; observado 277.1053.

## 2. Ensayos biológicos de los dioxanos 6-9 y 14

35 *Metodología**Condiciones de cultivo celular y tratamientos*

40 Para estos ensayos se utilizaron dos líneas celulares estables de distintos orígenes: la línea neuronal HT22 procedente de hipocampo de ratón y la línea MCF7 procedente de cáncer de mama humano.

45 Ambas líneas celulares se cultivaron en medio de cultivo DMEM suplementado con suero bovino fetal al 10% y antibióticos, a 37°C con una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5%. Se utilizaron como soportes de crecimiento placas Petris de 35 mm. Cuando se encontraban aproximadamente a un 80% de confluencia, los cultivos se expusieron a los distintos compuestos del estudio durante 24 horas a 37°C, a concentraciones de 0.1, 1 y 5 μM. Los compuestos fueron previamente diluidos en DMSO.

*Ensayos de citotoxicidad y de proliferación celular*

50 Para los ensayos de citotoxicidad, transcurridas 24 horas de tratamiento con los compuestos se trataron con tripsina las células, resuspendiéndolas en DMEM y precediéndose a su recuento. Por una parte, se preservó una alícuota de 100 μl para el recuento total de las células presentes en cámaras de Neubauer. Por otra parte, el resto del volumen celular (aproximadamente 1 ml) se procesó para su tinción con azul de tripano, para visualizar las células susceptibles de tinción (células no viables) frente a células intactas (células viables). Para ello se utilizó el cuantificador ViCell (Beckman Coulter).

60 *Resultados**Visualización de los cultivos tras la exposición a los compuestos*

65 Transcurridas 4-5 horas de tratamiento con los compuestos correspondientes, se procedió a la visualización de los cultivos observándose con la dosis de 5 μM de los compuestos de cadena abierta (6) y (7) un importante efecto citotóxico. (Se comparan los cultivos control de la Figura 3 con los cultivos de HT22 y MCF7 expuestos a los compuestos -Figuras 4 y 5 respectivamente-).

## ES 2 350 674 A1

### *Cuantificación de la toxicidad y proliferación celular*

5 En el caso de la línea HT22, se observó que los productos 6 y 7 provocaban una toxicidad de entre 55-75% a la dosis de 1  $\mu\text{M}$ , en comparación con la toxicidad provocada por el vehículo (DMSO al 0,01%, V en Figura 6). Este efecto citotóxico se incrementó a más del 90% en el caso de la concentración de 5  $\mu\text{M}$ .

En el caso de las células MCF7, se observaron resultados similares de alta toxicidad con los compuestos 6 y 7. En estas células también se observó una alta toxicidad (>65%) con el compuesto cíclico 9 (Figura 7).

10 Por otra parte, es de destacar que ambos compuestos bicíclicos (productos 8 y 9) provocaron una disminución de la proliferación normal de la línea neuronal HT22 de aproximadamente el 50% (Figura 8). Estos resultados de inhibición parcial de proliferación se corroboraron en las células de cáncer de mama MCF7 con el compuesto 8 (Figura 9).

### 15 *Conclusión*

De los datos obtenidos, se puede deducir que los compuestos de cadena abierta 6 y 7 son altamente citotóxicos a concentraciones de 1 y 5  $\mu\text{M}$  tanto en la línea neuronal HT22 como en la de cáncer de mama MCF7. En el caso de los compuestos cíclicos, el producto 8 presenta efectos anti-proliferativos en ambos tipos celulares, mientras que el compuesto cíclico 9 presenta efectos anti-proliferativos en HT22 y alta toxicidad en MCF7.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

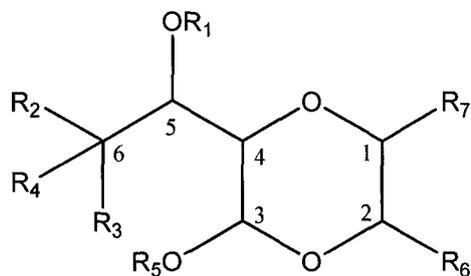
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):

5

10

15



Fórmula (I)

20

donde

25

R<sub>1</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, acilo, arilo o heteroarilo

R<sub>2</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo.

R<sub>3</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo.

30

R<sub>4</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo, alcoxi, aciloxi, amino o amido; o R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> no existen y se forma un grupo éter entre el carbono en posición 6 y el oxígeno unido al carbono en posición 3.

R<sub>5</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo o acilo.

35

R<sub>6</sub> se selecciona entre alquilo, arilo o alcoxi

R<sub>7</sub> se selecciona entre alcoxi, alquilo, arilo, -CH<sub>2</sub>-COR<sub>8</sub> o heterociclo.

40

R<sub>8</sub> se selecciona entre alquilo o arilo

y sus isómeros, sales y solvatos.

45

2. Compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 donde es R<sub>1</sub> es metilo.

3. Compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 donde R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son hidrógeno.

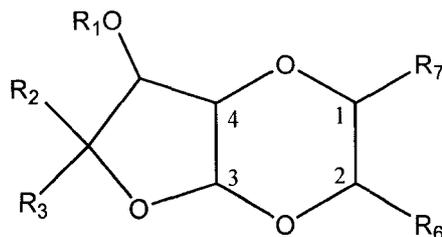
4. Compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde R<sub>4</sub> es acetoxi o alcoxi.

50

5. Compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 donde R<sub>5</sub> es acetilo.

6. Compuesto de fórmula (I) donde R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> no existen y se forma un grupo éter entre el carbono en posición 6 y el oxígeno unido al carbono en posición 3, dando lugar a un compuesto con la siguiente fórmula general:

55



60

65

donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> tienen un significado como se describe en la reivindicación 1.

## ES 2 350 674 A1

7. Compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 donde R<sub>6</sub> es O-metilo.

8. Compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 donde R<sub>7</sub> es O-metilo.

5 9. Compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 donde R<sub>7</sub> es -CH<sub>2</sub>-COR<sub>8</sub> y R<sub>8</sub> es fenilo.

10. Procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 que comprende una reacción de escisión radicalaria regioselectiva del enlace C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> con otra de oxidación, seguida por una ciclación intramolecular que genera un anillo de dioxano, y finalmente la introducción de grupos acilo o alcoxilo, bien de forma inter o intramolecular.

11. Compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para su uso como medicamento.

12. Uso de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 como citotóxicos o antiproliferativos.

13. Uso de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento del cáncer.

20 14. Composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15. Composición farmacéutica según la reivindicación 14 que además comprende otro principio activo.

25

30

35

40

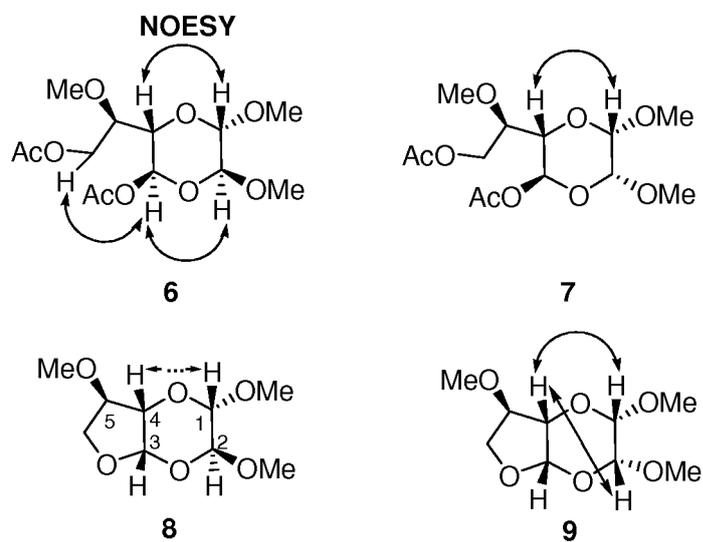
45

50

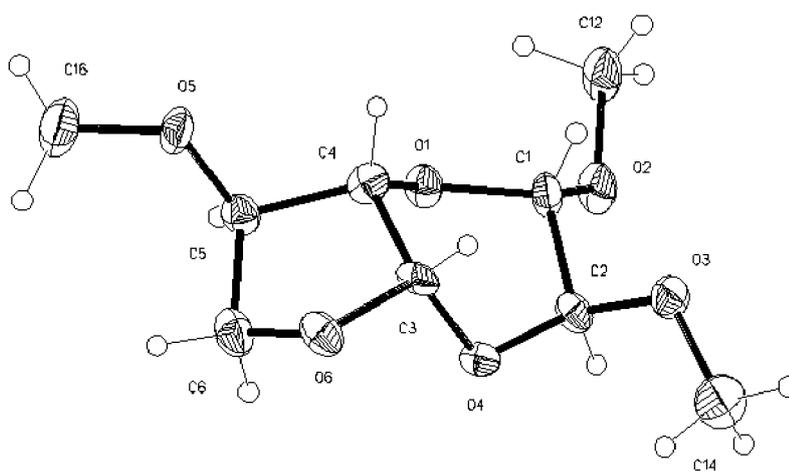
55

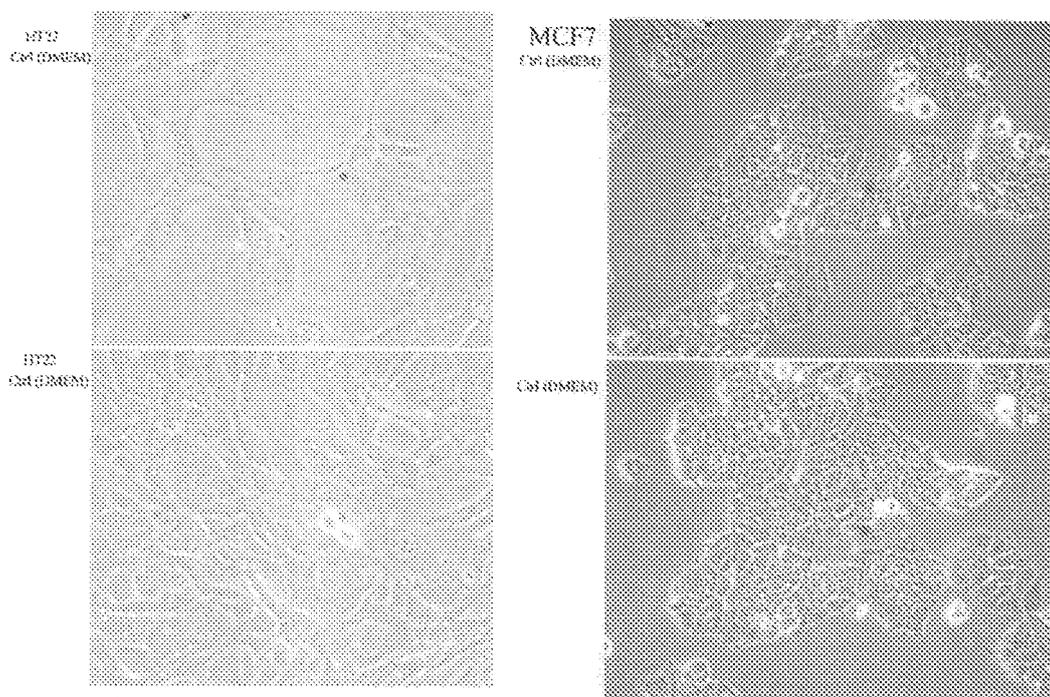
60

65

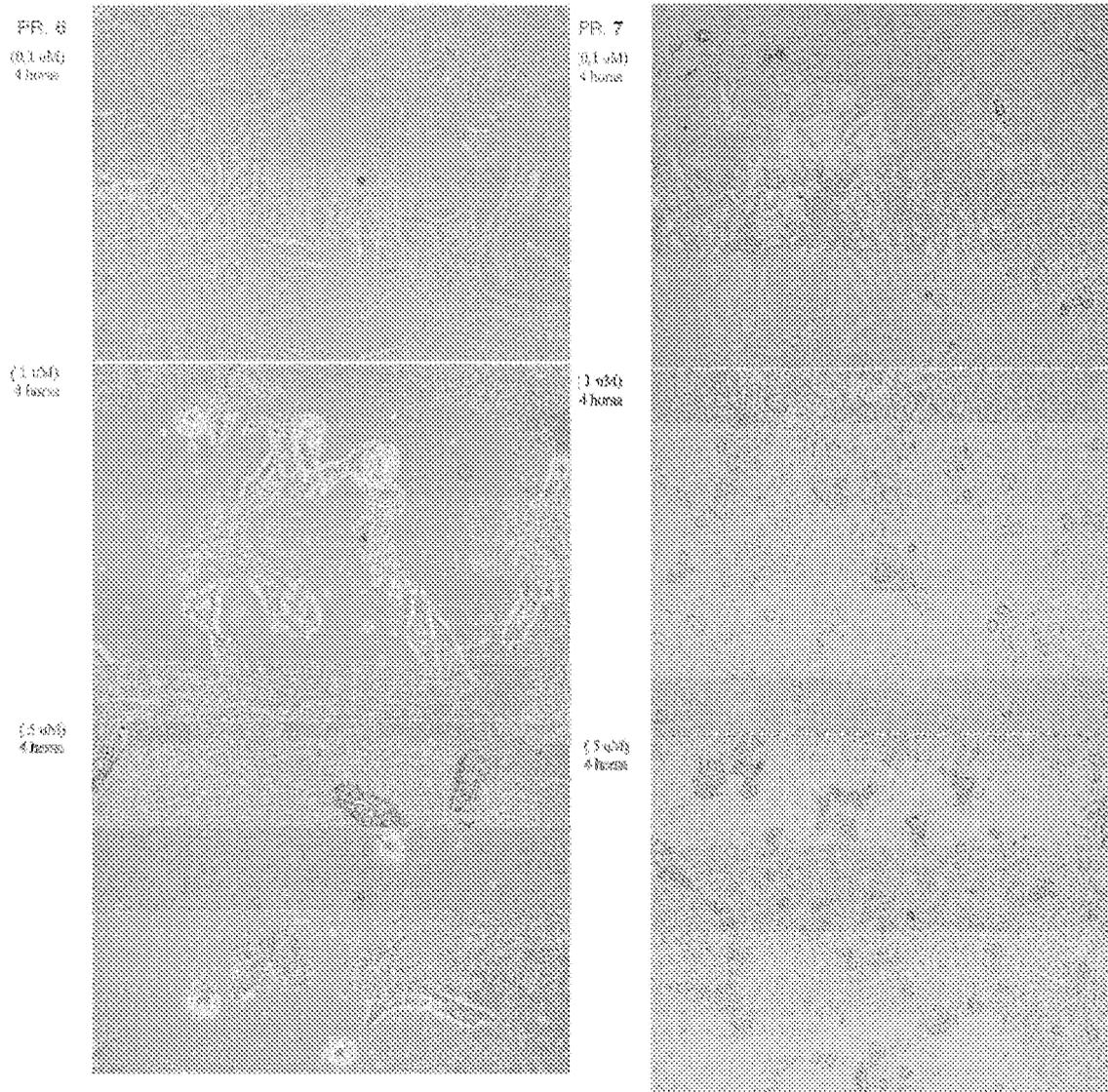


**FIG. 1**

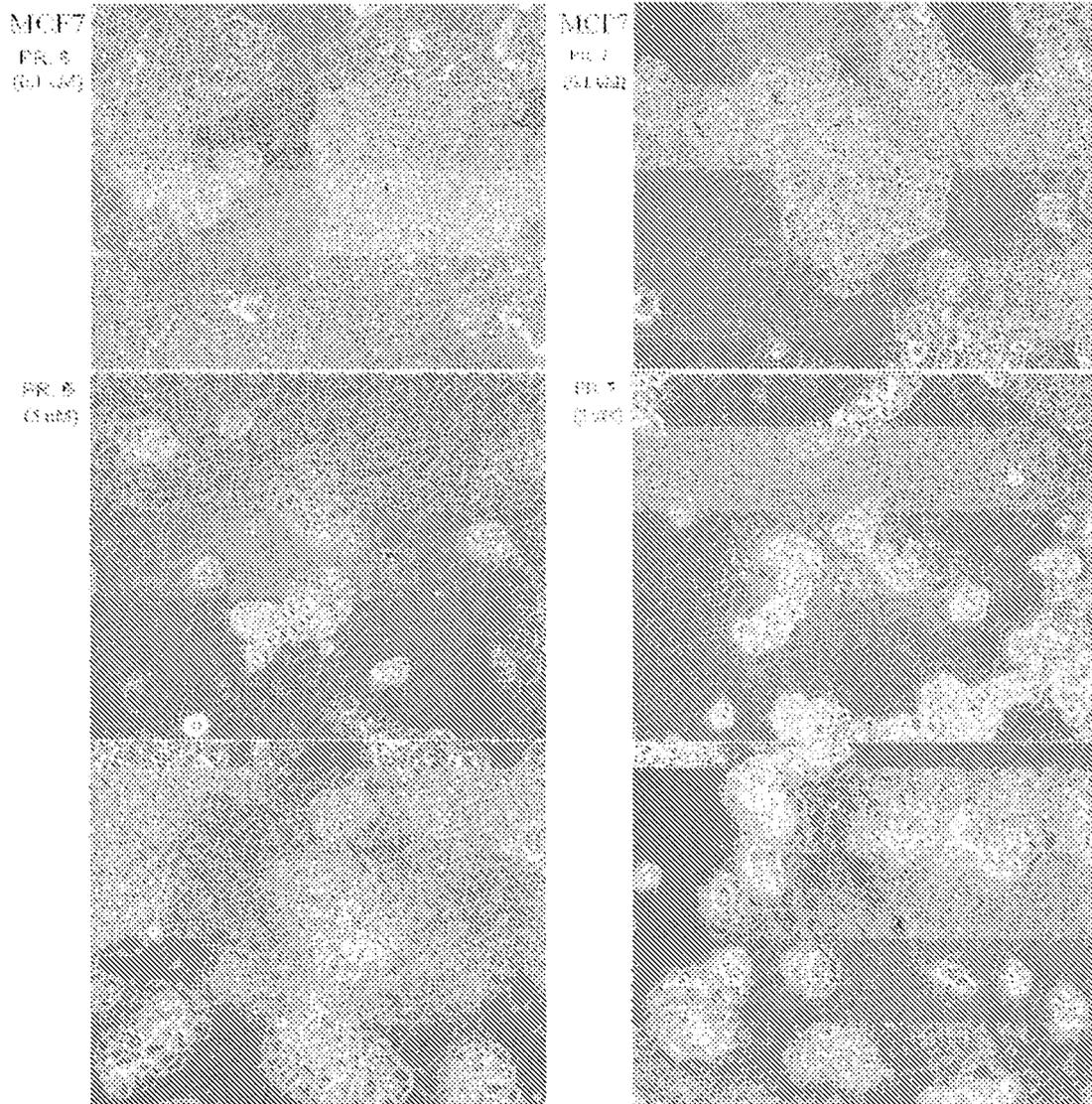




**FIG. 3**



**FIG. 4**



**FIG. 5**

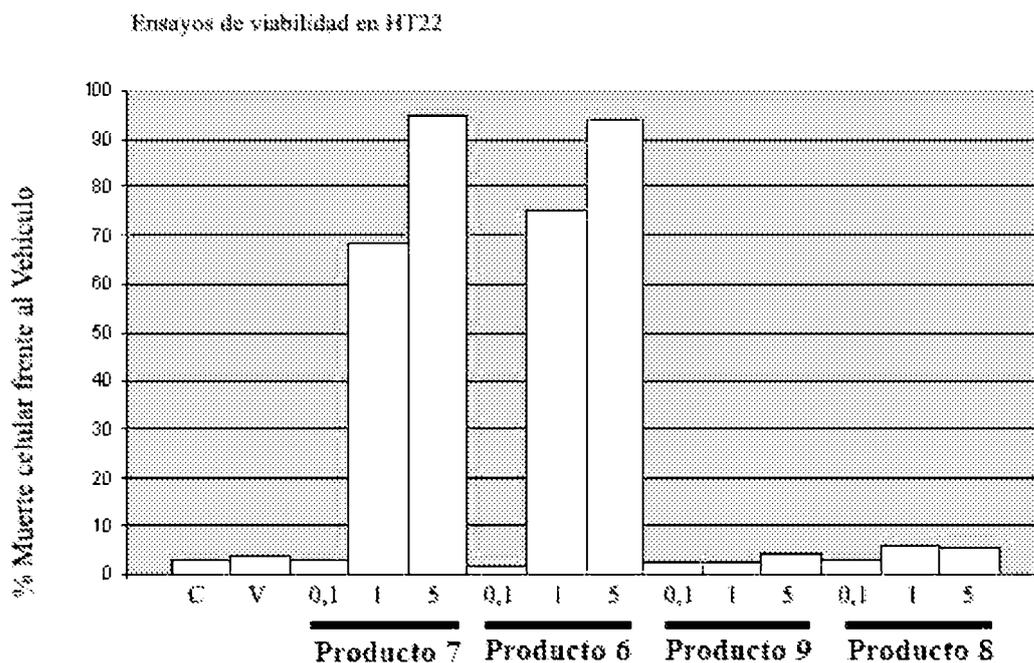


FIG. 6

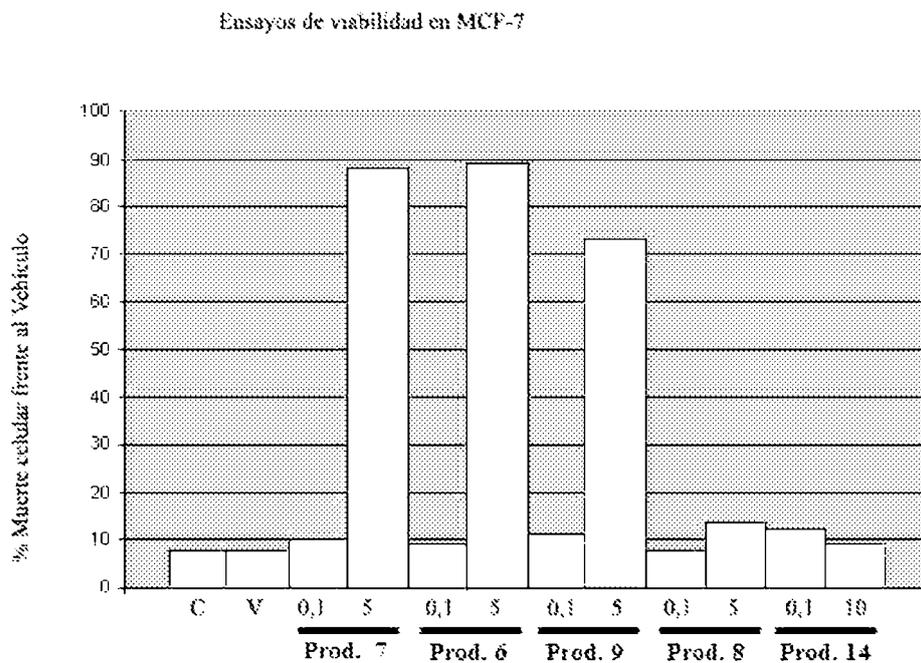


FIG. 7

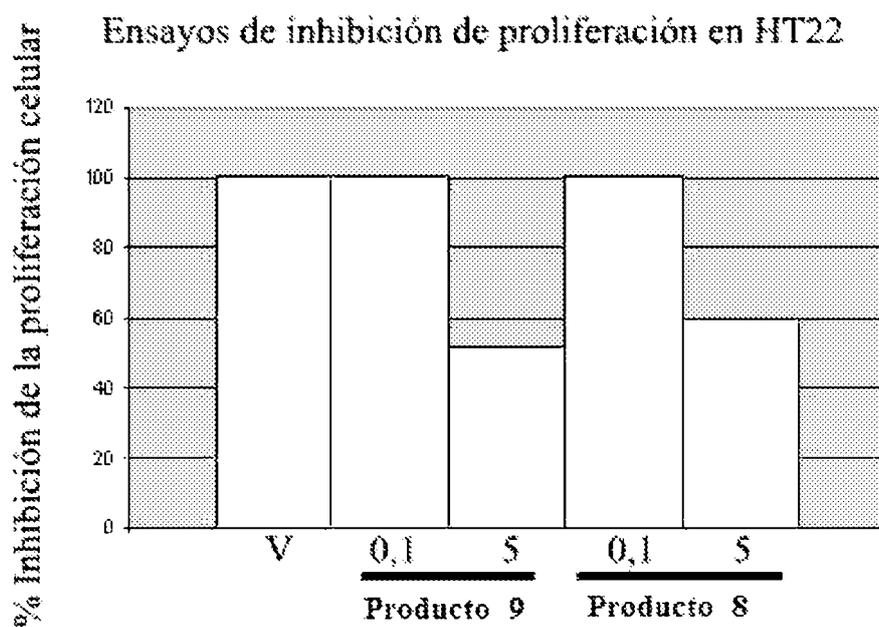


FIG. 8

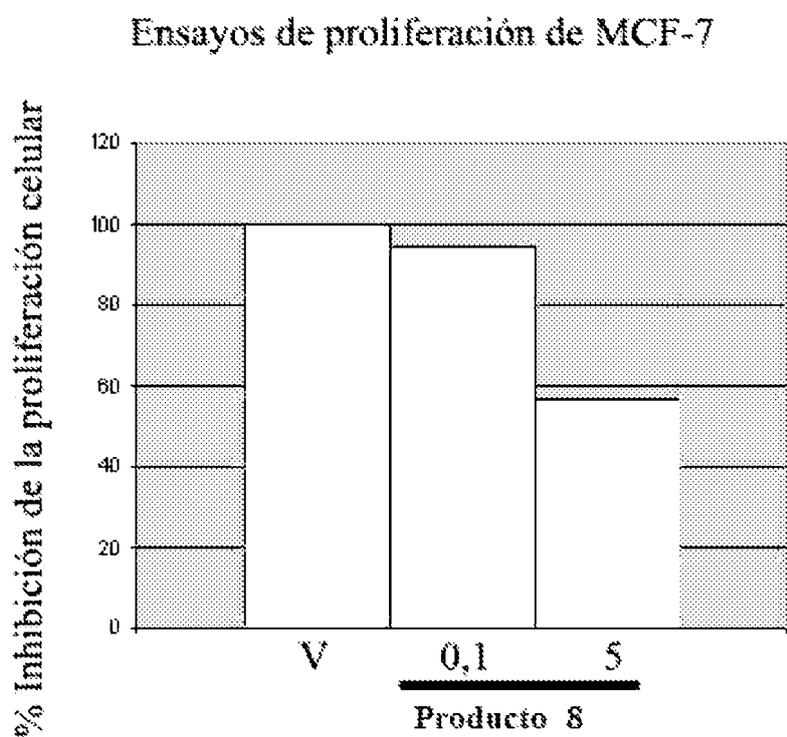


FIG. 9



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud:200930359

②② Fecha de presentación de la solicitud: 25.06.2009

③② Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 20030187027 A1 (SCHREIBER STUART, L. y col.) 02.10.2003, resumen.	1-15
A	BOTO, A. y col. One-pot synthesis of acyclic nucleosides from carbohydrate derivatives, by combination of tandem and sequential reactions. The Journal of Organic Chemistry. 2007, Vol. 72, Nº 25, páginas 9523-9532. Todo el documento.	1-15
A	BOTO, A. y col. Beta-Fragmentation of Primary Alkoxy Radicals versus Hydrogen Abstraction: Synthesis of Polyols and alfa,omega-Differently Substituted Cyclic Ethers from Carbohydrates. The Journal of Organic Chemistry. 2003, Vol. 68, Nº 13, páginas 5310-5319. Todo el documento.	1-15

#### 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 nº:

Fecha de realización del informe  
26.11.2010

Examinador  
E. Albarrán Gómez

Página  
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**C07D319/10** (2006.01)

**A61K31/357** (2006.01)

**A61P35/00** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07D, A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, REGISTRY, HCAPLUS, BEILSTEIN, WPI, MEDLINE, MESH

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 26.11.2010

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-15	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-15	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 20030187027 A1 (SCHREIBER STUART, L. y col.)	02.10.2003
D02	BOTO, A. y col. One-pot synthesis of acyclic nucleosides from carbohydrate derivatives, by combination of tandem and sequential reactions. The Journal of Organic Chemistry. 2007, Vol. 72, Nº 25, páginas 9523-9532.	
D03	BOTO, A. y col. Beta-Fragmentation of Primary Alkoxy Radicals versus Hydrogen Abstraction: Synthesis of Polyols and $\alpha,\omega$ -Differently Substituted Cyclic Ethers from Carbohydrates. The Journal of Organic Chemistry. 2003, Vol. 68, Nº 13, páginas 5310-5319.	

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La presente invención se refiere a compuestos de fórmula general (I) con un núcleo de 1,4 dioxano, a su procedimiento de obtención a partir de azúcares o glicósidos y a su uso como citotóxicos y antiproliferativos o para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

El procedimiento descrito comprende una reacción de escisión radicalaria regioselectiva del enlace C2-C3 con otra oxidación, seguida por una ciclación intramolecular que genera un anillo de dioxano, y finalmente la introducción de grupos acilo o alcoxilo. Este procedimiento es un proceso químico dominó, en el que se realizan varias reacciones de forma consecutiva, no hay necesidad de purificar productos intermedios, ahorrando materiales para la reacción y la purificación, tiempo de síntesis y también disminuyen los residuos a tratar.

El documento D01 tiene por objeto compuestos con un núcleo de 1,3-dioxano y su uso en el tratamiento de enfermedades como cáncer e infecciones protozoarias.

Los documentos D02 y D03 se refieren a procesos dominó y secuenciales que acoplan reacciones radicalarias a reacciones iónicas para la obtención de nucleósidos acíclicos (D02) y polioles o éteres cíclicos (D03) a partir de carbohidratos.

No se ha encontrado divulgado en el estado de la técnica los compuestos de fórmula general (I) definidos en la presente solicitud. En consecuencia se considera que las reivindicaciones 1 a 15 tienen novedad e implican actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).