

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 388 960**

21 Número de solicitud: 201130429

51 Int. Cl.:

C07D 407/06 (2006.01) **A61P 31/04** (2006.01)
C07D 211/00 (2006.01)
C07D 213/04 (2006.01)
C07D 309/00 (2006.01)
A61K 31/366 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61K 31/351 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:
24.03.2011

43 Fecha de publicación de la solicitud:
22.10.2012

Fecha de la concesión:
04.09.2013

45 Fecha de publicación de la concesión:
16.09.2013

73 Titular/es:
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA (50.0%)
OTRI. Edificio Central Universidad. C/ Delgado
Barreto, s/n
38201 La Laguna (Tenerife) ES y
UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
(50.0%)

72 Inventor/es:
GUTIÉRREZ RAVELO, Ángel Domingo;
ESTÉVEZ BRAUM, Ana María;
MACHÍN CONCEPCIÓN, Félix Manuel;
MÉNDEZ ÁLVAREZ, Sebastián;
DEMO, Mirta Susana y
CASERO, Carina Noelia

74 Agente/Representante:
PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **DERIVADOS DE POLICÉTIDOS PRENILADOS Y SU APLICACIÓN PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS.**

57 Resumen:
Derivados de policétidos prenilados y su aplicación para el tratamiento de enfermedades infecciosas. La presente invención describe una familia de compuestos que son policétidos prenilados de origen natural que poseen una actividad antimicrobiana, particularmente contra bacterias gram positivas, por lo que son útiles para la fabricación de medicamentos para el tratamiento de enfermedades infecciosas de origen bacteriano.

ES 2 388 960 B1

DESCRIPCIÓN

Derivados de policétidos prenilados y su aplicación para el tratamiento de enfermedades infecciosas.

La presente invención describe una familia de compuestos que son policétidos prenilados de origen natural que poseen una actividad antimicrobiana, particularmente contra bacterias gram positivas, por lo que son útiles para la fabricación de medicamentos para el tratamiento de enfermedades infecciosas de origen bacteriano.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

El progresivo incremento de infecciones bacterianas causado por cepas resistentes a múltiples antibióticos y por estirpes altamente virulentas se ha convertido en uno de los problemas sanitarios más graves en los pacientes hospitalizados. La presión selectiva resultante del uso extensivo de antibióticos durante los últimos 25 años ha llevado al surgimiento de multitud de resistencias bacterianas y a la diseminación de genes de resistencia entre microorganismos patogénicos. Todo ello ha provocado que nos encontremos ante el riesgo de sufrir infecciones "intratables". La creciente aparición y diseminación de resistencias en bacterias Gram-positivas como los géneros *Enterococcus*, *Staphylococcus* o *Streptococcus*, constituyen claros ejemplos de ello. La constante y rápida dispersión mundial de estirpes microbianas portadoras de múltiples resistencias y de genes de virulencia ha provocado un gran incremento en la morbilidad y la mortalidad provocadas por infecciones hospitalarias, tal y como señalaba ya la OMS en 1999 en su "Informe sobre las Enfermedades Infecciosas. Eliminar Obstáculos al Desarrollo Saludable" y en 2001 en el documento "*Infection control programmes to control antimicrobial resistance*".

Actualmente, uno de los ejemplos más dramáticos de esta situación lo constituye la creciente aparición y diseminación de resistencias a antibióticos y de factores de virulencia en *Staphylococcus aureus* y otros miembros del género *Staphylococcus*. Los estafilococos son microorganismos ubiquistas, presentes en las vías respiratorias del 30% de los adultos sanos y en la piel de un 20%. Los pacientes y el personal de hospitales presentan porcentajes algo más altos. Sin embargo, múltiples grupos de la población presentan riesgo

elevado de sufrir infecciones por estafilococos patogénicos. Es normal el desarrollo de infecciones estafilocócicas entre recién nacidos y sus madres, en pacientes transplantados y en personas afectadas de enfermedades tales como gripe, leucemia, diabetes mellitus, patologías broncopulmonares, etc.

5 Aunque dentro de este género bacteriano, la especie *S. aureus* es la causal de un mayor número de patogénesis estafilocócicas, diversas especies de *Staphylococcus* coagulasa negativos (CoNS) han sido asociadas con un número creciente de infecciones adquiridas en hospitales. El uso cada vez más frecuente de procedimientos invasivos, implicando diferentes materiales protésicos, y el alto número de pacientes con bajas defensas han contribuido al incremento dramático de infecciones debidas a CoNS. Este tipo de infecciones es especialmente preocupante en el caso de personas portadoras de catéteres u otros materiales protésicos. Por todo lo dicho, el control y tratamiento de las infecciones causadas por *Staphylococcus* constituye un tema de relevancia clínica extrema. Además, ya en el siglo XXI, la creciente diseminación de cepas resistentes a metilicina, antibiótico que constituía el agente básico contra tales infecciones, ha complicado enormemente la erradicación de las mismas. Tanto en EE.UU. como en Japón y Europa, hay una frecuencia ascendente de aparición de aislados de *S. aureus* resistentes a metilicina (MRSA), especialmente en las unidades de cuidado intensivo de los hospitales, aunque también es creciente la aparición de infecciones adquiridas en la comunidad.

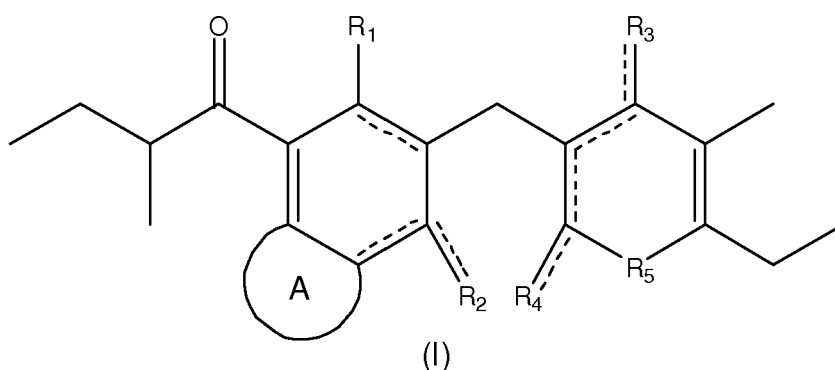
Los MRSA son, frecuentemente, resistentes a los antibióticos β -lactámicos, tales como penicilinas, cefalosporinas y carbapenemos. La resistencia a aminoglicósidos y macrólidos es también habitual. Pocos antibióticos son todavía efectivos contra MRSA. En concreto, la mupirocina y los antibióticos glicopéptidos, principalmente vancomicina, constituyen el tratamiento alternativo normalmente utilizado. Sin embargo, el reciente aislamiento en EEUU de tres cepas de *S. aureus* con alta resistencia a vancomicina (HVRSA) adquirida de *Enterococcus*, de múltiples cepas de *S. aureus* resistentes a niveles intermedios (IVRSA) de vancomicina en distintos países, así como la creciente aparición y diseminación de estafilococos resistentes a mupirocina (MuRSA) hacen que estemos ante una situación de riesgo mundial para la salud pública. Ante tal compromiso, nuevos antibióticos como la linezolidina o la daptomicina se están ensayando en clínica, pero poco tiempo tras su introducción van apareciendo resistencias a los mismos. Además, en estas bacterias es cada vez más habitual la dispersión de genes de virulencia, como p.ej. genes codificando toxinas, y de genes de resistencia debido a que muchos

de estos genes están codificados en elementos genéticos móviles, como plásmidos conjugados, islas de patogenicidad, fagos, etc. Todo ello hace urgente la optimización de los planes de prevención y control, del tratamiento antibiótico frente a infecciones causadas por estafilococos y del desarrollo de nuevas sustancias antibióticas.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención describe un grupo de compuestos que son derivados policíclicos de floroglucinoles prenilados (compuestos de biosíntesis mixta, ruta de los policétidos y de los terpenos), de origen natural y semisintético. Estos compuestos presentan actividad antimicrobiana con alta especificidad frente a bacterias gram positivas, incluida la cepa multirresistente *Staphylococcus aureus*.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I):



Donde:

R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan independientemente entre hidrógeno, O, OH, halógeno, alquilo C₁-C₁₂, arilo, O-alquilo C₁-C₁₂, OC(O)R, N(R')(R''); donde R se selecciona entre alquilo C₁-C₁₂, O-alquilo C₁-C₁₂, arilo o heteroarilo y R' y R'' se seleccionan independientemente entre H o alquilo C₁-C₁₂, R₅ se selecciona entre O ó NH.

A es un ciclo o heterociclo de 5 ó 6 miembros opcionalmente sustituidos por 1 a 4 sustituyentes que se seleccionan independientemente entre alquilo C₁-C₆, alqueno C₁-C₆, halógeno, OH, NH₂, o derivados acilados de ellos.

----- representa un enlace que puede ser sencillo o doble, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o estereoisómero del mismo.

El término "alquilo" se refiere, en la presente invención, a radicales de cadenas hidrocarbonadas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 12 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 6, y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *terc*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo etc. Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como alquilo, arilo, halógeno (denominándose haloalquilo), hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, carbonilo, ciano, acilo, alcoxicarbonilo, amino, nitro, mercapto y tioalquilo.

10

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, fluorenilo o antracilo. Preferiblemente el grupo arilo tiene de 5 a 7 átomos de carbono y más preferiblemente el grupo arilo es un fenilo. Los radicales arilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como alquilo, halógeno, hidroxilo o ácido carboxílico.

20

El término "heteroarilo" se refiere a un arilo que contiene al menos un átomo distinto de carbono, tales como S, N ó O, formando parte del anillo aromático.

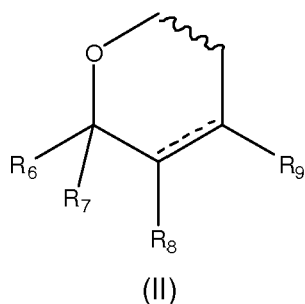
El término "alquenilo" se refiere a radicales de cadenas hidrocarbonadas de 1 a 12 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 6, que contienen uno o más enlaces carbono-carbono dobles, por ejemplo, vinilo, 1-propenilo, alilo, isoprenilo, 2-butenilo, 1,3-butadienilo etc. Los radicales alquenilos pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halo, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, ciano, carbonilo, acilo, alcoxicarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio.

30

Preferiblemente, en el compuesto de fórmula (I) A es un ciclo o heterociclo de 6 miembros opcionalmente sustituido por 1 a 4 sustituyentes que se seleccionan entre alquilo C₁-C₆, alquenilo C₁-C₆ ó OH.

35

Más preferiblemente, en el compuesto de fórmula (I) A es un grupo con la siguiente fórmula (II)



donde R_6 a R_9 se seleccionan entre hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , alquenilo C_1-C_6 ó OH

----- representa un enlace que puede ser doble o sencillo.

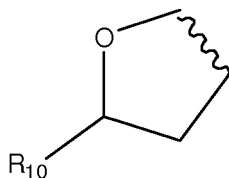
5

Aún más preferiblemente, R_6 y R_7 son metilo y R_8 y R_9 son hidrógeno.

Preferiblemente, en el compuesto de fórmula (I) A es un ciclo o heterociclo de 5 miembros opcionalmente sustituido por 1 a 4 sustituyentes que se seleccionan entre alquilo C_1-C_6 , alquenilo C_1-C_6 ó OH.

10

Más preferiblemente, A es un grupo con la siguiente fórmula (III):



donde R_{10} se selecciona entre alquilo C_1-C_6 , alquenilo C_1-C_6 ó OH.

15

Aún más preferiblemente, R_{10} es un grupo $CH(CH_3)=CH_2$.

Preferiblemente, R_1 se selecciona entre H o alquilo C_1-C_6 y más preferiblemente R_1 es H ó metilo.

20

Preferiblemente, R_2 se selecciona entre OH, O-alquilo C_1-C_6 , OC(O)-alquilo C_1-C_6 .

Más preferiblemente, R_2 es OH.

25

Más preferiblemente, R_2 es OCH_3

Más preferiblemente, R_2 es $OC(O)CH_3$

Preferiblemente, R_3 se selecciona entre OH, =O, O-alquilo C_1-C_6 , $OC(O)$ -alquilo C_1-C_6 .

5

Más preferiblemente, R_3 es OH.

Más preferiblemente, R_3 es OCH_3

10 Más preferiblemente, R_3 es =O.

Más preferiblemente, R_3 es $OC(O)CH_3$

Preferiblemente, R_4 se selecciona entre =O ó O-alquilo C_1-C_6 .

15

Más preferiblemente, R_4 es =O.

Más preferiblemente, R_4 es OCH_3

20 Preferiblemente, el compuesto de fórmula (I) se selecciona de la lista que comprende:

- 3-[5,7-Dihidroxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-2H-cromen-6-ilmetil]-6-etil-4-hidroxi-5-metil-piran-2-ona.
- 3-[4,6-Dihidroxi-2-isopropenil-7-(2-metil-butiril)-2,3-dihidro-benzofuran-5-ilmetil]-6-etil-4-hidroxi-5-metil-piran-2-ona
- 6-Etil-4-hidroxi-5-metil-3-[4,5,7-trihidroxi-2,2-dimetil-8-metil-butiril]-cromen-6-ilmetil]-piran-2-ona
- 2-Etil-5-[7-hidroxi-5-metoxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-2H-cromen-6-ilmetil]-6-metoxi-3-metil-piran-4-ona.
- 6-Etil-3-[7-hidroxi-5-metoxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-2H-cromen-6-ilmetil]-4-metoxi-5-metil-piran-2-ona
- 3-[5,7-Dihidroxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-2H-cromen-6-ilmetil]-6-etil-2-metoxi-5-metil-piran-4-ona.
- 3-[5,7-Dihidroxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-cromen-6-ilmetil]-6-etil-4-hidroxi-5-metil-piran-2-ona.
- 6-((4-acetoxi-6-etil-5-metil-2-oxo-2H-piran-3-il)metil)-2,2-dimetil-8-(2-metilbutanoil)-2H-cromen-5,7-diil diacetato.

- 3-[5,7-Dihidroxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-2H-cromen-6-ilmetil]-6-etil)-4-hidroxi-5-metil-1H-piridin-2-ona,

o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o estereoisómero del mismo.

- 5 Los términos “sal farmacéuticamente aceptable”, “solvato” o “estereoisómero” se refiere a cualquier sal farmacéutica, solvato, estereoisómero o cualquier otro compuesto que, siendo administrado a un receptor, es capaz de proporcionar (directa o indirectamente) un compuesto descrito en el presente documento. Sin embargo se observará que las sales farmacéuticamente inaceptables están
- 10 también en el ámbito de la invención ya que estas últimas pueden ser útiles en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables. La preparación de sales, estereoisómeros y derivados pueden ser llevadas a cabo por medio de métodos conocidos en la materia.
- 15 Por ejemplo, las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos provistos en el presente documento se sintetizan por medio de métodos químicos convencionales a partir de un compuesto de origen que contenga un residuo básico o ácido. Estas sales se preparan generalmente, haciendo reaccionar el ácido libre o la forma base de los compuestos con una cantidad
- 20 estequiométrica de base o ácido adecuado en agua o un disolvente orgánico o mezcla de ambos. Los medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo en general son de preferencia. Ejemplos de sales de adición de ácido incluyen sales de adición de ácidos minerales tales como, por ejemplo, clorhidrato, bromohidrato, iodohidrato, sulfato, nitrato, fosfato y sales
- 25 de ácidos orgánicos como por ejemplo acetato, maleato, fumarato, citrato, oxalato, succinato, tartrato, malato, mandelato, metanosulfonato y *p*-toluenosulfonato. Ejemplos de sales de adición de base incluyen sales inorgánicas, como por ejemplo de sodio, potasio, calcio, amonio, magnesio, aluminio y sales de litio, y sales orgánicas de base, como por ejemplo
- 30 etilendiamina, etanolamina, N, N-dialquilenetanolamina, trietanolamina, glucamina y sales de aminoácidos básicos.

- Los compuestos de la invención pueden presentarse en forma cristalina como compuestos libres o solvatos y se entiende que ambas formas están
- 35 comprendidas dentro del ámbito de aplicación de la presente invención. Los métodos de solvatación son de conocimiento general en la materia. Los

solvatos adecuados son aquellos farmacéuticamente aceptables. En una representación particular, un solvato es un hidrato.

Los compuestos de la presente invención, representados por la fórmula (I),
 5 descrita anteriormente pueden incluir enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales en cada C, o isómeros, dependiendo de la presencia de enlaces múltiples (por ejemplo, Z, E). Los isómeros individuales, enantiómeros o diastereómeros y mezclas de los mismos se incluyen dentro del ámbito de aplicación de la presente invención.

10 La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables, derivados, profármacos, solvatos o estereoisómero de los mismos junto con un transportador farmacéuticamente aceptable, adyuvante o vehículo para la
 15 administración a un paciente. Preferiblemente, dicha composición también comprende otro principio activo con un efecto sinérgico o complementario.

Las composiciones farmacéuticas pueden ser administradas por cualquier vía de administración apropiada, por ejemplo, vía oral, tópica, rectal o parenteral
 20 (incluyendo vía subcutánea, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular e intravenosa).

Las formas farmacéuticas adecuadas para la administración oral incluyen cualquier composición sólida (tabletas, pastillas, cápsulas, formas granuladas,
 25 etc.) o líquida (soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, etc.) y pueden contener excipientes convencionales conocidos en la materia, tales como agentes de unión, por ejemplo jarabe, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto, o polivinilpirrolidona; agentes de relleno, por ejemplo, lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato cálcico, sorbitol o glicina, lubricantes para la preparación de
 30 comprimidos, por ejemplo estearato de magnesio, desgregantes como almidón, polivinilpirrolidona, glicolato sódico de almidón o celulosa microcristalina, o agentes humectantes farmacéuticamente aceptables, tal como laurilsulfato de sodio.

35 Las composiciones sólidas orales se pueden preparar por métodos convencionales de mezclado, llenado o preparación de comprimidos. Las operaciones repetidas de mezclando se pueden utilizar para distribuir de forma

uniforme el principio activo utilizando grandes cantidades de agentes de relleno. Estas operaciones son convencionales en el arte de esta invención. Los comprimidos se pueden preparar, por ejemplo a través de granulación húmeda o seca y pueden ser opcionalmente recubiertos por métodos bien conocidos en la práctica farmacéutica normal, particularmente con un recubrimiento entérico.

Las composiciones farmacéuticas también pueden ser adaptadas para la administración parenteral, tal como soluciones estériles, suspensiones o productos liofilizados en forma farmacéutica adecuada. Excipientes adecuados, tales como los agentes a granel, neutralizantes o surfactantes pueden ser mencionados.

Los compuestos o composiciones descritas en la presente invención pueden ser administrados por cualquier método adecuado, como infusión intravenosa, preparaciones orales y administración intraperitoneal o intravenosa. Sin embargo, la vía de administración preferida dependerá de la condición del paciente. En particular, la administración oral es preferida debido a la comodidad para el paciente y el carácter crónico de las enfermedades que deben ser tratadas.

Para su aplicación terapéutica, los compuestos de fórmula (I) deberán preferentemente encontrarse en forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura, por ejemplo los compuestos de fórmula (I) tienen un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable excluyendo los excipientes admitidos y no incluyendo material considerado tóxico a los niveles de dosis normales. Los niveles de pureza de un compuesto de fórmula (I) o sus derivados, preferiblemente excede al 50%, más aún al 70%, e incluso al 90%. En una representación preferente, que supere el 95%.

La cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) para ser administrado en general, dependerá, entre otros factores, de la persona que se va a tratar, de la severidad de la enfermedad, de la forma de administración elegida, etc. Por este motivo, las dosis mencionadas en esta invención deben ser consideradas como guías para el especialista en la materia y este último debe ajustar la dosis de acuerdo a las variables mencionadas anteriormente. Sin embargo, un compuesto de fórmula (I) se puede administrar una o más

veces al día, por ejemplo, 1, 2, 3 ó 4 veces al día en una cantidad típica total diaria comprendida entre 1 y 200 mg/kg de peso corporal/día, preferiblemente 1-10 mg/kg de masa corporal/día. De la misma forma un compuesto de fórmula (II) se puede administrar una o más veces al día, por ejemplo, 1, 2, 3 ó 4 veces al día en una cantidad típica total diaria comprendida entre 1 y 200 mg/kg de peso corporal/día, preferiblemente 1-10 mg/kg de masa corporal/día.

Los compuestos descritos en esta invención, sus sales farmacéuticamente aceptables, estereoisómeros y/o solvatos, así como las composiciones farmacéuticas que los contienen se pueden utilizar junto con otros fármacos adicionales para proporcionar una terapia de combinación. Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, ser provistos en forma de una composición separada para su administración simultánea o no, con la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o un estereoisomero farmacéuticamente aceptable, solvato o sal del mismo.

Otro aspecto de la invención es el uso de un compuesto de fórmula (I) para la fabricación de un medicamento.

Otro aspecto de la invención es el uso de un compuesto de fórmula (I) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección de origen bacteriano. Preferiblemente, si la bacteria causante de la infección es gram positiva. Preferiblemente, si la bacteria se selecciona entre los géneros *Staphylococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*. Aún más preferiblemente, la bacteria se selecciona entre *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.

Un último objeto de la invención está formado por compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables, derivados, solvatos o estereoisómeros de los mismos para su uso en el tratamiento del cáncer, enfermedades parasitarias o enfermedades bacterianas o micóticas.

A lo largo de la presente descripción, el término "tratamiento" se refiere a eliminar, reducir o disminuir la causa o efectos de una enfermedad. Para los propósitos de esta invención, tratamiento incluye, aunque sin quedar limitados a los mismos, aliviar, disminuir o eliminar uno o más síntomas de la enfermedad; reducir del grado de enfermedad, estabilizar (es decir, no

empeorar) el estado de la enfermedad, retrasar o ralentizar la progresión de la enfermedad, aliviar o mejorar el estado de la enfermedad y remitir (ya sea total o parcial).

- 5 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 se
10 proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

EJEMPLOS

15

Obtención de los compuestos de fórmula (I)

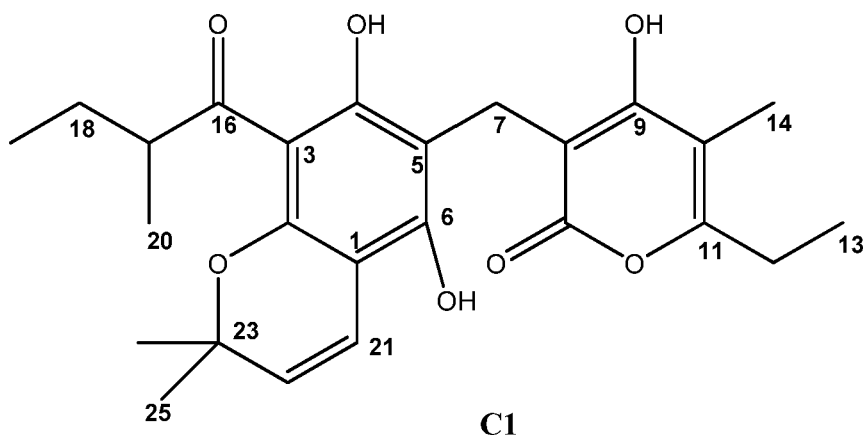
- A partir de hojas, flores y tallos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC se aislaron metabolitos con la estructura general (I). La estructura de los
20 metabolitos ha sido numerada según metodología comúnmente utilizada en la caracterización de productos naturales, usando nombres comunes propuestos en bibliografía (Giovanni Appendino et al. "Arzanol, an Anti-inflammatory and Anti-HIV-1 Phloroglucinol α -Pyrone from *Helichrysum italicum* ssp. *Microphyllum*", *J. Nat. Prod.* 2007, 70, 608-612 - John R. Carney et al.
25 "Achyrofurane, a New Antihyperglycemic Dibenzofuran from the South American Medicinal Plant *Achyrocline satureioides*", *J. Nat. Prod.* 2002, 65, 203-205).

Ejemplos 1 y 2

- 200 g. de flores de *A. satureioides* fueron extraídas con hexano (2L), a
30 temperatura ambiente durante 72 h. Después de la eliminación del solvente, se obtuvieron 75 g. de extracto. El mismo fue sucesivamente cromatografiado en Sephadex LH-20, sílica gel y TLC preparativa para obtener 206 mg (0,1%) del compuesto C1; R₁, R₂, R₃ =OH y 84 mg (0,042%) del compuesto C2. Sus estructuras fueron determinadas por análisis espectroscópico.

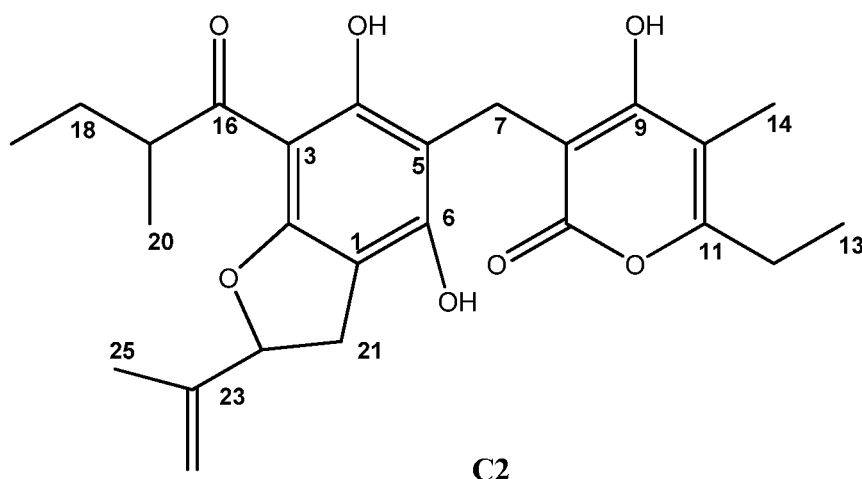
35

Compuesto C1



Aceite viscoso de color amarillento.

¹H-NMR (δ, CDCl₃): 10,60 (1H; s; OH-4); 16,25 (1H; s; OH-6); 9,95 (1H; s; OH-9); 6,69 (1H; d; *J* = 10,0 Hz; H-21); 5,43 (1H; d; *J* = 10,0 Hz; H-22); 3,77 (1H; sext; *J* = 6,8 Hz; H-17); 3,67 (1H; s; H-7a); 3,61 (1H; s; H-7b); 2,55 (2H; c; *J* = 7,5 Hz; H-12); 1,95 (3H; s; H-14); 1,86 (1H; m; H-18a); 1,47 (6H; s; H-24, H-25); 1,42 (1H; m; H-18b); 1,18 (3H; t; *J* = 7,5 Hz; H-13); 1,16 (3H; d; *J* = 6,6 Hz; H-20); 0,92 (3H; t; *J* = 7,0 Hz; H-19). **¹³C-NMR (δ, CDCl₃):** 210,9 (s, C-16); 169,3 (s, C-15); 167,6 (s, C-9); 161,9 (s, C-4); 161,2 (s, C-11); 159,0 (s, C-6); 155,5 (s, C-2); 124,8 (d, C-22); 117,3 (d, C-21); 108,2 (s, C-10); 106,0 (s, C-5); 104,4 (s, C-3); 104,0 (s, C-1); 102,0 (s, C-8); 78,2 (s, C-23); 45,7 (d, C-17); 27,8 (c, C-24, C-25); 26,7 (t, C-18); 24,3 (t, C-12); 17,4 (t, C-7); 16,7 (c, C-20); 11,9 (c, C-19); 11,6 (c, C-13); 9,4 (c, C-14). **EIMS *m/z* (%):** 442 (M⁺, 41); 276 (31); 261 (100); 231 (17); 219 (78); 155 (25). **HREIMS:** 442,2006 (calcd para C₂₅H₃₀O₇ [M]⁺, 442,1992). **IR ν_{max}:** 3216, 2972, 2935, 2876, 1776, 1726, 1664, 1593, 1463, 1424, 1360, 1137, 1035, 912, 783 cm⁻¹. **UV (EtOH) λ_{max} (log ε):** 343 (2,05); 244 (2,47) nm. **[α]_D²⁰** = +14,8 (c 0,013; CHCl₃).



Compuesto C2

- 5 Aceite viscoso de color amarillento.
- ¹H-NMR (δ, CDCl₃):** 14,0 (1H; s; OH-6); 10,37 (1H; s; OH-4); 8,5 (1H; sa; OH-9); 5,40 (1H; t; *J* = 8,6 Hz; H-22); 5,14 (1H; s; H-24a); 5,02 (1H; s; H-24b); 3,93 (1H; sext; 6,6 Hz; H-17); 3,59 (2H; sa; H-7); 3,32 (1H; dd; *J* = 15 Hz; H-21b); 3,0 (1H; dd; *J* = 15 Hz; H-21a); 2,56 (2H; c; *J* = 7,5 Hz; H-12); 1,95 (3H; s; H-14);
- 10 1,82 (1H; m; H-18a); 1,77 (3H; s; H-25); 1,40 (1H; m; H-18b); 1,20 (3H; t; *J* = 7,5 Hz; H-13); 1,16 (3H; d; *J* = 6,8 Hz; H-20); 0,91 (3H; t; *J* = 7,3 Hz; H-19). **¹³C-NMR (δ, CDCl₃):** 211,8 (s, C-16); 169,0 (s, C-15); 166,4 (s, C-9); 161,9 (s, C-6); 161,4 (s, C-11); 160,5 (s, C-2); 159,8 (s, C-4); 142,3 (s, C-23); 114,1 (t, C-24); 107,9 (s, C-10); 107,0 (s, C-5); 103,3 (s, C-1); 102,2 (s, C-8); 99,8 (s, C-3); 89,6
- 15 (d, C-22); 45,9 (d, C-17); 31,4 (t, C-21); 26,9 (t, C-18); 24,3 (t, C-12); 18,1 (t, C-7); 16,7 (c, C-25); 16,6 (c, C-20); 11,9 (c, C-19); 11,5 (c, C-13); 9,4 (c, C-14).
- EIMS *m/z* (%):** 442 (M⁺, 12); 385 (41); 273 (25); 219 (99); 155 (36). **HREIMS:** 442,1994 (calculado para C₂₅H₃₀O₇ [M]⁺, 442,1992). **IR *v*_{max}:** 3343, 2969, 2635, 2878, 1774, 1725, 1666, 1570, 1432, 1379, 1228, 1138, 898, 799 cm⁻¹.
- 20 **UV (EtOH) *λ*_{max} (log *ε*):** 346 (2,3); 243 (2,29) nm. **[α]_D²⁰** = +13,5 (c 0,014; CHCl₃).

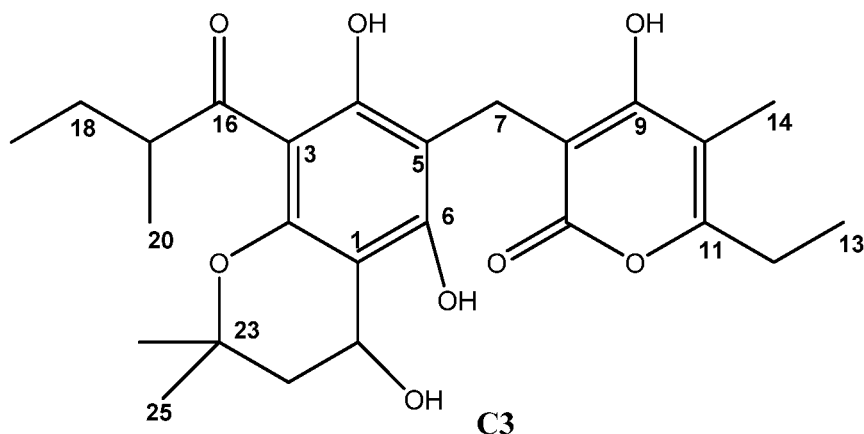
Ejemplo 3

- 25 4700 g. de hojas y tallos de *A. saturoioides* fueron extraídos con CH₂Cl₂ (30 L) a temperatura ambiente durante 72 h. Después de la eliminación del solvente, se obtuvieron 95 g. de extracto. El mismo fue sucesivamente cromatografiado

en Sephadex LH-20, sílica gel y TLC preparative para obtener 206 mg. (0.04%) del compuesto C1, 15,1 mg. del compuesto C3 (0,003%).

Compuesto C3

5



Aceite viscoso de color amarillento.

¹H-NMR (δ, CDCl₃): 14,23 (1H; s; OH-6); 10,58 (1H; s; OH-4); 9,08(1H; s; OH-9); 3,96 (1H; sext; *J* = 6,6 Hz; H-17); 3,89 (1H; t; *J* = 5,0 Hz; H-21); 3,64 (2H; s; H-7); 2,92 (1H; dd; *J* = 17,4 Hz; H-22a); 2,68 (1H; dd; *J* = 17,4 Hz; H-22b); 2,57 (2H; c; *J* = 7,5 Hz; H-12); 1,96(3H; s; H-14); 1,82 (1H; m; H-18a); 1,47 (6H; s; H-24, H-25); 1,39 (1H; m; H-18b); 1,21 (3H; t; *J* = 7,6 Hz; H-13); 1,16 (3H; d; *J* = 6,3 Hz; H-20); 0,91 (3H; t; *J* = 6,9 Hz; H-19). **¹³C-NMR (δ, CDCl₃):** 212,0 (s, C-16); 169,3 (s, C-15); 167,2 (s, C-9); 163,3 (s, C-6); 161,5 (s, C-11); 158,0 (s, C-4); 154,1 (s, C-2); 107,8 (s, C-10); 106,5 (s, C-5); 104,0 (s, C-3); 102,0 (s, C-8); 98,9 (s, C-1); 81,0(s, C-23); 68,9(d, C-21); 46,0 (d, C-17); 25,7 (t, C-22); 24,5 (c, C-24, C-25); 24,3 (t, C-12); 17,7 (t, C-7); 26,7 (t, C-18); 16,7 (c, C-20); 11,9 (c, C-19); 11,5 (c, C-13); 9,4 (c, C-14). **EIMS *m/z* (%):** 460 (M⁺, 17); 373 (27); 293 (26); 237 (99); 219 (25); 155 (27). **HREIMS:** 460,2077 (calcd para C₂₅H₃₂O₈ [M]⁺, 460,2097). **IR *v*_{max}:** 3441, 2968, 2934, 2877, 1721, 1662, 1624, 1570, 1461, 1425, 1374, 1175, 1126 cm⁻¹. **UV (EtOH) λ_{max} (log ε):** 341 (2,52); 244 (2,51) nm. **[α]_D²⁰** = +5,9 (c 0,015; CHCl₃).

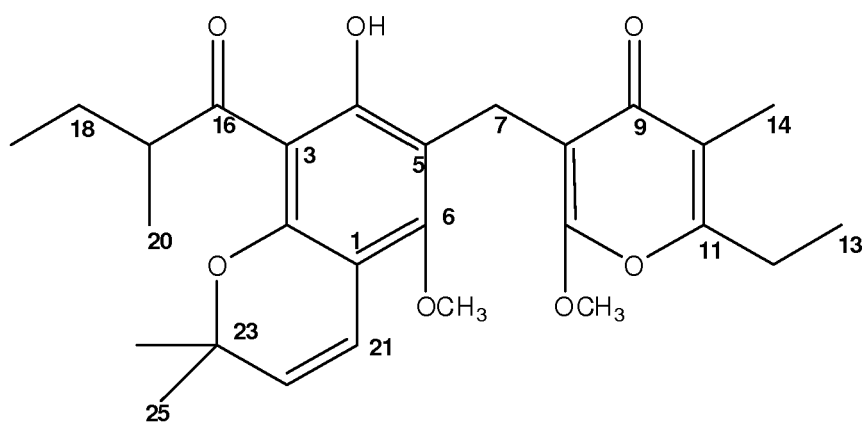
25 Ejemplos de preparación de derivados

Ejemplo 4

Compuestos C4, C5 y C6

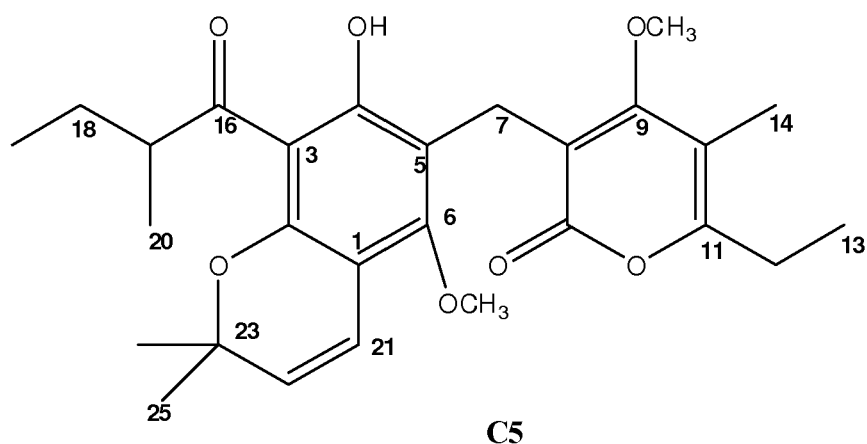
Preparación de derivados metoxilados por reacción con diazometano.

A 55 mg (0,125 mmoles) del compuesto C1 disueltos en 4 ml de metanol, se le añadieron 2 ml de disolución 2 M de trimetilsilildiazometano ($\text{Me}_3\text{SiCHN}_2$) en éter etílico. La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta la desaparición del producto de partida (8 horas). Al cabo de ese tiempo, se evaporó el disolvente y el residuo se purificó por cromatografía en capa fina (CCF), utilizando AcOEt:Hex 15:85 como eluyente. Como productos de la reacción se obtuvieron 18,4 mg (31%) del derivado C4, 6,6 mg del derivado C5 (11%) y 4,5 mg del derivado C6 (8%).

**C4**

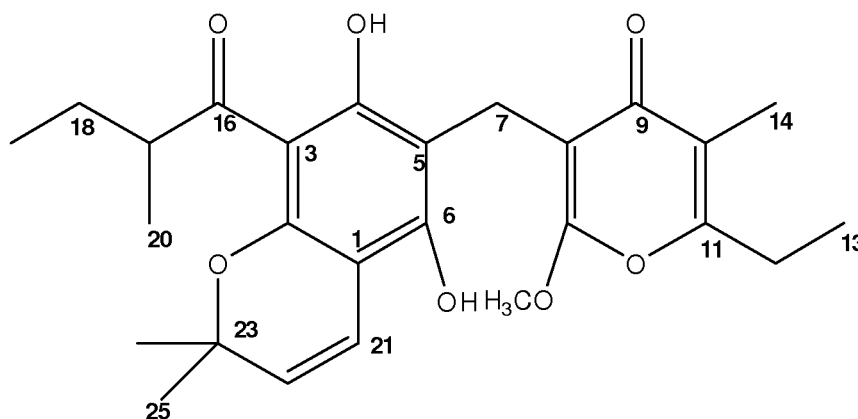
Aceite viscoso de color amarillento.

$^1\text{H-RMN}$ (δ , CDCl_3): 6,5 (1H; d; $J = 10,0$ Hz; H-21); 5,5 (1H; d; $J = 10,0$ Hz; H-22); 3,92 (3H, s, OMe); 3,8 (3H, s, OMe); 3,67 (2H; sa; H-7); 2,57 (2H; c; $J = 7,5$ Hz; H-12); 1,93 (3H; s; H-14); 1,46 (6H; s; H-24, H-25); 1,23 (3H; t; $J = 7,5$ Hz; H-13); 3,55 (1H; sext; $J = 6,8$ Hz; H-17); 1,83 (1H; m; H-18a); 1,42 (1H; m; H-18b); 1,17 (3H; d; $J = 6,6$ Hz; H-20); 0,93 (3H; t; $J = 7,0$ Hz; H-19). **$^{13}\text{C-RMN}$ (δ , CDCl_3):** 210,4 (s, C-16); 181,1 (s, C-9); 162,7 (s, C-15); 161,5 (s, C-4); 159,4 (s, C-11); 159,3 (s, C-6); 153,1 (s, C-2); 125,8 (d, C-22); 117,8 (d, C-21); 117,7 (s, C-10); 113,3 (s, C-5); 110,6 (s, C-1); 106,5 (s, C-3); 103,2 (s, C-8); 78,4 (s, C-23); 61,9 (c, OMe); 55,6 (c, OMe); 46,9 (d, C-17); 27,7 (c, C-24, C-25); 26,3 (t, C-18); 24,2 (t, C-12); 16,5 (t, C-7); 16,2 (c, C-20); 11,9 (c, C-19); 11,2 (c, C-13); 9,7 (c, C-14). **EM-IE m/z (%):** 470 (M^+ , 65); 455 (49); 438 (31); 289 (37); 181 (100); 113 (51). **EMAR:** 470,2305 (calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_7$ [M] $^+$, 470,2285). **IR (cm^{-1}):** 2971, 2935, 2875, 2624, 1775, 1724, 1670, 1662, 1589, 1465, 1429, 1380, 1344, 1266, 1156, 1129, 970. **UV (EtOH) λ_{max} ($\log \epsilon$):** 342 (2,37); 243 (2,36) nm. **$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -8,0$** (c 0,003; CHCl_3).



Aceite viscoso de color amarillento.

- 5 **¹H-RMN (δ, CDCl₃):** 6,5 (1H; d; $J = 10,0$ Hz; H-21); 5,5 (1H; d; $J = 10,0$ Hz; H-22); 3,91 (3H, s, OMe); 3,87 (3H, s, OMe); 3,73 (1H; sext; $J = 6,8$ Hz; H-17); 3,6 (2H; sa; H-7); 2,53 (2H; c; $J = 7,5$ Hz; H-12); 1,92 (3H; s; H-14); 1,84 (1H; m; H-18a); 1,5 (6H; s; H-24, H-25); 1,41 (1H; m; H-18b); 1,21 (3H; t; $J = 7,5$ Hz; H-13); 1,18 (3H; d; $J = 6,6$ Hz; H-20); 0,93 (3H; t; $J = 7,0$ Hz; H-19). **¹³C-RMN (δ, CDCl₃):** 211,2 (s, C-16); 168,2 (s, C-15); 165,5 (s, C-9); 163,7 (s, C-4); 160,8 (s, C-6); 160,5 (s, C-11); 154,6 (s, C-2); 125,4 (d, C-22); 117,8 (d, C-21); 113,9 (s, C-10); 113,1 (s, C-5); 108,4 (s, C-8); 107,8 (s, C-3); 106,3 (s, C-1); 77,5 (s, C-23); 62,3 (c, OMe); 55,9 (c, OMe); 46,3 (d, C-17); 27,6 (c, C-24, C-25); 26,7 (t, C-18); 24,4 (t, C-12); 18,5 (t, C-7); 16,7 (c, C-20); 11,9 (c, C-19); 11,6 (c, C-13); 9,9 (c, C-14). **EM-IE m/z (%):** 470 (M^+ , 86); 455 (64); 289 (100); 245 (89); 181 (93). **EMAR:** 470,2282 (calculado para C₂₇H₃₄O₇ [M]⁺, 470,2305). **IR (cm⁻¹):** 2971, 2936, 2876, 1714, 1642, 1592, 1566, 1460, 1413, 1367, 1285, 1237, 1135. **UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ):** 243 (2,42) nm. **$[\alpha]_D^{20} = +9,2$** (c 0,0026; CHCl₃).
- 10
- 15



C6

Aceite viscoso de color amarillento.

¹H-RMN (δ, CDCl₃): 6,7 (1H; d; *J* = 10,0 Hz; H-21); 5,4 (1H; d; *J* = 10,0 Hz; H-22); 4,08 (3H, s, OMe); 3,88 (1H; sext; *J* = 6,8 Hz; H-17); 3,67 (2H; sa; H-7); 2,65 (2H; c; *J* = 7,5 Hz; H-12); 1,97 (3H; s; H-14); 1,82 (1H; m; H-18a); 1,47 (6H; s; H-24, H-25); 1,41 (1H; m; H-18b); 1,25 (3H; t; *J* = 7,5 Hz; H-13); 1,17 (3H; d; *J* = 6,6 Hz; H-20); 0,92 (3H; t; *J* = 7,0 Hz; H-19). **¹³C-RMN (δ, CDCl₃):** 210 (s, C-16); 182,9 (s, C-9); 164,7 (s, C-15); 163,8 (s, C-4); 160,7 (s, C-11); 159,7 (s, C-6); 155,1 (s, C-2); 123,7 (d, C-22); 118,1 (s, C-10); 117,5 (d, C-21); 106,3 (s, C-5); 103,2 (s, C-3); 104,7 (s, C-1); 103,5 (s, C-8); 77,6 (s, C-23); 56 (c, OMe); 45,8 (d, C-17); 27,7 (c, C-24, C-25); 26,8 (t, C-18); 24,2 (t, C-12); 16,9 (t, C-7); 16,2 (c, C-20); 12 (c, C-19); 11,2 (c, C-13); 9,6 (c, C-14). **EM-IE *m/z* (%):** 442 (*M*⁺, 41); 276 (31); 261 (100); 231 (17); 219 (78); 155 (25). **EMAR:** 456,2148 (calculado para C₂₆H₃₂O₇ [*M*]⁺, 456,2133). **IR (cm⁻¹):** 2969, 2931, 2875, 1776, 1729, 1660, 1599, 1543, 1466, 1431, 1379, 1283, 1188, 1161, 1130. **UV (EtOH) λ_{max} (log ε):** 357 (2,43); 317 (2,41); 245 (2,42) nm. **[α]_D²⁰ =** +10,0 (c 0,003; CHCl₃).

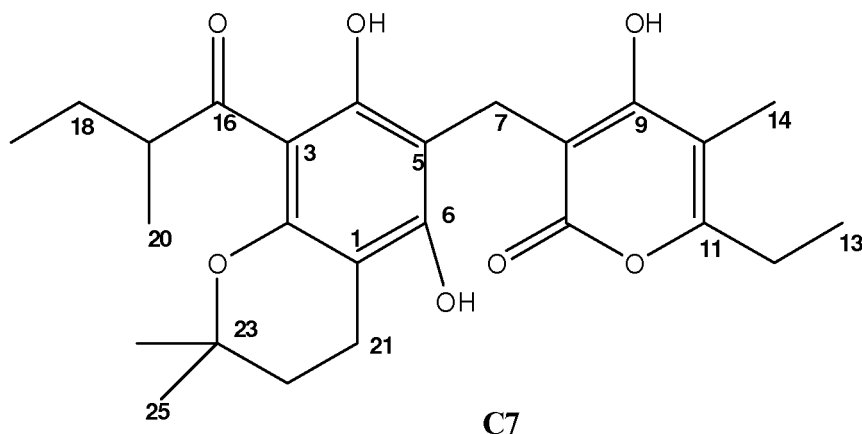
Ejemplo 5

Compuesto C7

Preparación del derivado C7 por reacción de hidrogenación.

21,1 mg (0,048 mmoles) del compuesto C1 se disolvieron en 4 ml de tetrahidrofurano seco (THF) y se adicionó una punta de espátula de Pd/C al 10%. Se conectó al balón de reacción un globo lleno de H₂ y el sistema se cerró bajo esta atmósfera. Se dejó reaccionar durante 21 horas, hasta observar por CCF la desaparición del producto de partida. Al cabo de ese tiempo se filtró

la disolución y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. El residuo se purificó por CCF utilizando AcOEt:Hex 15:85 como eluyente, obteniéndose el derivado C7 en forma cuantitativa. Aceite viscoso de color rojizo.



5

¹H-RMN (δ, CDCl₃): 16,27 (1H; s; OH-4); 10,64 (1H; s; OH-6); 9,91 (1H; s; OH-9); 3,79 (1H; sext; *J* = 6,8 Hz; H-17); 3,71 (2H; sa; H-7); 2,67 (2H; m; H-21); 2,57 (2H; c; *J* = 7,5 Hz; H-12); 1,96 (3H; s; H-14); 1,78 (1H; m; H-18a); 1,4 (1H; m; H-18b); 1,38 (6H; s; H-24, H-25); 1,38 (2H; m; H-22); 1,20 (3H; t; *J* = 7,5 Hz; H-13); 1,18 (3H; d; *J* = 6,6 Hz; H-20); 0,93 (3H; t; *J* = 7,0 Hz; H-19). **¹³C-RMN (δ, CDCl₃):** 210 (s, C-16); 169,3 (s, C-15); 167,6 (s, C-9); 161,4 (s, C-4); 161,2 (s, C-11); 161,1 (s, C-6); 155,8 (s, C-2); 108,2 (s, C-10); 105,3 (s, C-5); 104,4 (s, C-3); 102,2 (s, C-1); 102,2 (s, C-8); 76,2 (s, C-23); 45,7 (d, C-17); 31,7 (t, C-22); 26,7 (c, C-24, C-25); 26,7 (t, C-18); 24,3 (t, C-12); 17,4 (t, C-7); 16,9 (t, C-21); 16,7 (c, C-20); 11,9 (c, C-19); 11,6 (c, C-13); 9,4 (c, C-14). **EM-IE *m/z* (%):** 444 (M⁺, 46); 387 (100); 233 (36); 221 (63); 155 (35). **EMAR:** 444,2148 (calculado para C₂₅H₃₂O₇ [M]⁺, 442,2169). **IR (cm⁻¹):** 3171, 2972, 2936, 2876, 1777, 1727, 1665, 1621, 1597, 1570, 1461, 1424, 1370, 1277, 1256, 1159, 1140, 1117, 1037, 784, 741. **[α]_D²⁰** = +11,6 (c 0,008; CHCl₃).

20

Ejemplo 6

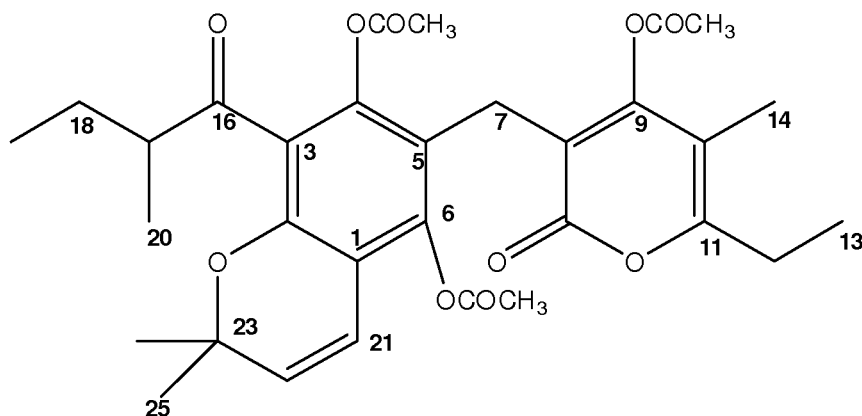
Compuesto C8

Preparación del derivado acilado por reacción de acetilación.

25 46,5 mg (0,105 mmoles) del compuesto C1 se disolvieron en la mínima cantidad posible de piridina; se adicionaron un par de cristales de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) y 29,80 μl de anhídrido acético (0,32 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta la desaparición del

producto de partida (15 minutos). Al cabo de ese tiempo, se eliminó el exceso de reactivos a presión reducida y el residuo sólido se purificó por CCF usando AcOEt:Tol 15:85 como eluyente. Se obtuvieron 38,2 mg (64%) del derivado C8. Aceite viscoso de color amarillento.

5



C8

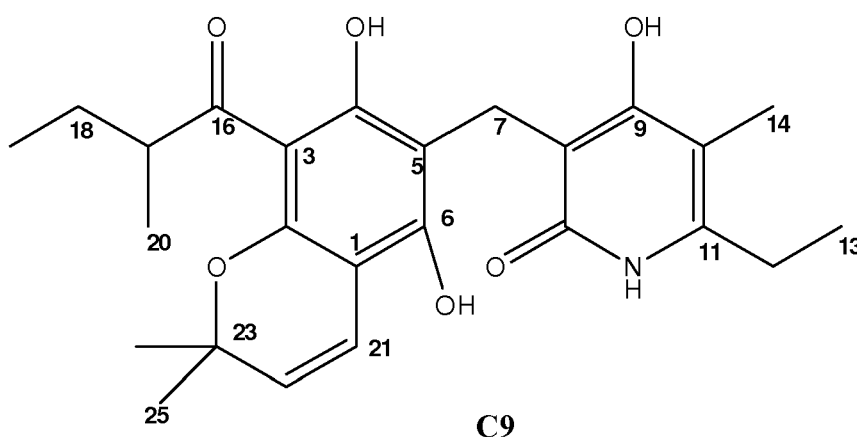
¹H-RMN (δ, CDCl₃): 6,13 (1H; d; *J* = 10,0 Hz; H-21); 5,63 (1H; d; *J* = 10,0 Hz; H-22); 3,45 (2H; sa; H-7); 3,06 (1H; sext; *J* = 6,8 Hz; H-17); 2,54 (2H; c; *J* = 7,5 Hz; H-12); 2,20 (9H; s, OCOCH₃); 1,81 (1H; m; H-18a); 1,71 (3H; s; H-14); 1,43 (6H; s; H-24, H-25); 1,35 (1H; m; H-18b); 1,21 (3H; t; *J* = 7,5 Hz; H-13); 1,13 (3H; d; *J* = 6,6 Hz; H-20); 0,93 (3H; t; *J* = 7,0 Hz; H-19). **¹³C-RMN (δ, CDCl₃):** 205,7 (s, C-16); 169,2 (s, C-15); 167,6 (s, OCOCH₃); 161,4 (s, C-11); 159,5 (s, C-4); 159,4 (s, C-9); 152,9 (s, C-2); 149,7 (s, C-6); 130,9 (d, C-22); 115,8 (d, C-21); 111,9 (s, C-1); 107,8 (s, C-10); 106,3 (s, C-5); 104,3 (s, C-3); 103,2 (s, C-8); 76,9 (s, C-23); 47,9 (d, C-17); 27,9 (c, C-24, C-25); 25,4 (t, C-18); 24,5 (t, C-12); 20,5 (c, OCOCH₃); 20,0 (t, C-7); 18,5 (c, C-20); 11,2 (c, C-19); 11,1 (c, C-13); 9,4 (c, C-14). **EM-IE *m/z* (%):** 468 (M⁺, 17); 525 (100); 469 (48); 426 (56); 275 (59); 219 (45); 155 (52). **IR (cm⁻¹):** 2975, 2938, 2877, 1775, 1713, 1647, 1578, 1460, 1430, 1369, 1287, 1190, 1124, 1105, 1067, 1046, 887. **UV (EtOH) λ_{max} (log ε):** 341 (1,55); 241 (1,57); 204 (1,66) nm. **[α]_D²⁰** = +0.009 (c 0,017; CHCl₃)

Ejemplo 7

Compuesto C9

Modificación de la lactona: preparación de la lactama por reacción con acetato amónico.

29,6 mg (0,061 mmoles) del compuesto C1 y 100 mg (20 equiv) de acetato amónico ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{NH}_4$) se colocaron en un balón. A continuación se añadieron 5 ml de ácido acético y la mezcla se calentó a reflujo. Después de 27 horas no se vio que la reacción evolucionara; posteriormente se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se purificó por Cromatografía en Capa Fina (CCF) utilizando AcOEt:Hex 15:85 como eluyente, obteniéndose 8 mg (27%) del derivado C9. Aceite viscoso de color amarillo.



^1H -RMN (δ , CDCl_3): 16,21 (1H; s; OH-4); 10,62 (1H; s; OH-6); 9,97 (1H; s; OH-9); 6,72 (1H; d; $J = 10,0$ Hz; H-21); 5,46 (1H; d; $J = 10,0$ Hz; H-22); 3,81 (1H; sext; $J = 6,8$ Hz; H-17); 3,66,61 (2H; sa; H-7); 2,57 (2H; c; $J = 7,5$ Hz; H-12); 1,97 (3H; s; H-14); 1,87 (1H; m; H-18a); 1,49 (6H; s; H-24, H-25); 1,40 (1H; m; H-18b); 1,21 (3H; t; $J = 7,5$ Hz; H-13); 1,16 (3H; d; $J = 6,6$ Hz; H-20); 0,95 (3H; t; $J = 7,0$ Hz; H-19). **^{13}C -RMN (δ , CDCl_3):** 210,4 (s, C-16); 169,5 (s, C-15); 167,5 (s, C-9); 161,9 (s, C-4); 160,8 (s, C-11); 158,8 (s, C-6); 154,9 (s, C-2); 124,6 (d, C-22); 116,9 (d, C-21); 107,1 (s, C-10); 106,0 (s, C-5); 104,4 (s, C-3); 103,8 (s, C-1); 102,0 (s, C-8); 77,8 (s, C-23); 45,5 (d, C-17); 27,8 (c, C-24, C-25); 26,3 (t, C-18); 24,0 (t, C-12); 17,2 (t, C-7); 15,1 (c, C-20); 11,9 (c, C-19); 10,9 (c, C-13); 9,5 (c, C-14).

EM-IE m/z (%): 442 (M^+ , 68); 288 (14); 275 (100); 261 (80); 219 (65). **EMAR:** 442,2230 (calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{NO}_6$ [M] $^+$, 442,2208). **IR (cm^{-1}):** 3181, 2972, 2932, 1740, 1665, 1595, 1463, 1424, 1380, 1361; 1281; 1171, 1138; 1084. **UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ):** 359 (2,85); 241 (2,88); 206 (2,97) nm. **$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$** = -18,0 (c 0,001; CHCl_3).

Ensayos antimicrobianos

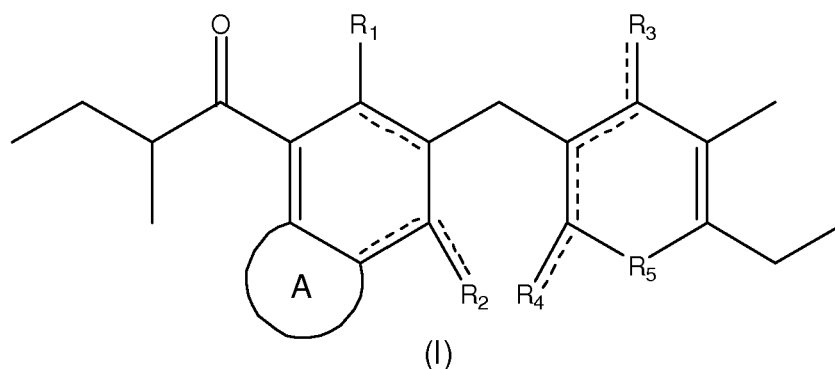
Para la determinación de la MIC₅₀ (la menor concentración que reduce a la mitad el desarrollo bacteriano), el crecimiento microbiano en microplacas de 96 pocillos fue monitorizado en presencia de entre 6 y 10 concentraciones diferentes (rango entre 1 y 128 micromolar) de los compuestos ensayados; junto con los antibióticos comerciales ampicilina y kanamicina como controles. Para ello, cultivos frescos de bacterias (o levaduras) fueron diluidos a densidades ópticas a 620 nanómetros de 10⁻⁵ por mililitro (equivalentes a 10⁵ unidades formadoras de colonias por mililitro); momento en el que son cultivados de nuevo en presencia de los compuestos ensayados, o los antibióticos control. Las lecturas de crecimiento fueron tomadas después de 24 horas. Entonces, los valores de crecimiento (expresados en densidad óptica a 620 nanómetros) son representados gráficamente frente al logaritmo en base 10 de las concentraciones de los compuestos ensayados. Los puntos de la gráfica así obtenidos, son ajustados a la curva sigmoidea inversa para obtener el valor MIC₅₀ definitivo. Estos ensayos se llevaron a cabo con dos bacterias gram-negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*), dos gram-positivas (*S. aureus* and *Enterococcus faecalis*), y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como modelo eucariota (no bacteriano). La cepa de *E. coli* empleada porta un plásmido que le confiere resistencia a la ampicilina. La tabla I muestra los valores MIC₅₀ de algunos compuestos ejemplo mencionados en esta invención.

	Compuesto	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Productos Naturales	C1	>>100	>>100	43 ± 18	>100	>>100
	C2	>>100	>>100	13 ± 4	40 ± 28	>>100
	C3	>>100	>>100	>>100	>>100	>100
Derivados semisintéticos	C4	>>100	>>100	>>100	>>100	>100
	C5	>>100	>>100	>>100	>>100	>>100
	C6	>>100	>>100	>>100	>>100	>>100
	C7	>>100	>>100	>>100	>>100	>>100
	C8	>>100	>>100	>>100	>>100	>>100
	C9	>>100	>>100	25 ± 21	>>100	>>100
Controles	Ampicilina	>>100	89 ± 55	<<1	<<1	ND
	Kanamicina	<<1	114 ± 20	<<1	23 ± 4	ND

Tabla I: MIC de productos naturales y derivados semisintéticos (µM)

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I):



donde

R_1 , R_2 , R_3 y R_4 se seleccionan independientemente entre hidrógeno, O, OH, halógeno, alquilo C_1 - C_{12} , arilo, O-alquilo C_1 - C_{12} , $OC(O)R$, $N(R')(R'')$; donde R se selecciona entre alquilo C_1 - C_{12} , O-alquilo C_1 - C_{12} , arilo o heteroarilo y R' y R'' se seleccionan independientemente entre H o alquilo C_1 - C_{12} ,

R_5 se selecciona entre O ó NH,

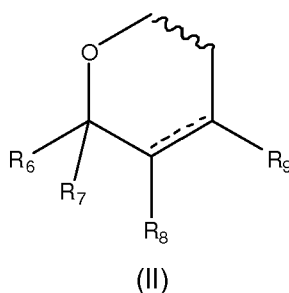
A es un ciclo o heterociclo de 5 ó 6 miembros opcionalmente sustituidos por 1 a 4 sustituyentes que se seleccionan independientemente entre alquilo C_1 - C_6 , alqueno C_1 - C_6 , OH, NH_2 o halógeno,

----- representa un enlace que puede ser sencillo o doble,

o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o estereoisómero del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1 donde A es un ciclo o heterociclo de 6 miembros opcionalmente sustituido por 1 a 4 sustituyentes que se seleccionan entre alquilo C_1 - C_6 , alqueno C_1 - C_6 ó OH.

3. Compuesto según la reivindicación 2 donde A es un grupo con la siguiente fórmula (II):



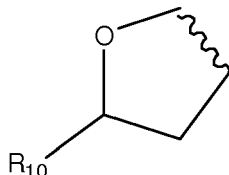
donde R_6 a R_9 se seleccionan entre hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , alqueno C_1-C_6 ó OH,

----- representa un enlace que puede ser doble o sencillo.

5 4. Compuesto según la reivindicación 3 donde R_6 y R_7 son metilo y R_8 y R_9 son hidrógeno.

10 5. Compuesto según la reivindicación 1 donde A es un ciclo o heterociclo de 5 miembros opcionalmente sustituido por 1 a 4 sustituyentes que se seleccionan entre alquilo C_1-C_6 , alqueno C_1-C_6 ó OH.

6. Compuesto según la reivindicación 5 donde A es un grupo con la siguiente fórmula (III):



donde R_{10} se selecciona entre alquilo C_1-C_6 , alqueno C_1-C_6 ó OH.

15 7. Compuesto según la reivindicación 6 donde R_{10} es un grupo $CH(CH_3)=CH_2$.

20 8. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde R_1 se selecciona entre H o alquilo C_1-C_6 .

9. Compuesto según la reivindicación 8 donde R_1 es H.

25 10. Compuesto según la reivindicación 8 donde R_1 es metilo.

11. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde R_2 se selecciona entre OH, O-alquilo C_1-C_6 , OC(O)-alquilo C_1-C_6 .

12. Compuesto según la reivindicación 11 donde R_2 es OH.

30 13. Compuesto según la reivindicación 11 donde R_2 es OCH_3

14. Compuesto según la reivindicación 11 donde R_2 es $OC(O)CH_3$

15. Compuesto según las reivindicaciones anteriores donde R_3 se selecciona entre OH, =O, O-alquilo C_1-C_6 , OC(O)-alquilo C_1-C_6 .
16. Compuesto según la reivindicación 15 donde R_3 es OH.
17. Compuesto según la reivindicación 15 donde R_3 es OCH_3 .
18. Compuesto según la reivindicación 15 donde R_3 es =O.
19. Compuesto según la reivindicación 15 donde R_3 es OC(O) CH_3 .
20. Compuesto según las reivindicaciones anteriores donde R_4 se selecciona entre =O ó O-alquilo C_1-C_6 .
21. Compuesto según la reivindicación 20 donde R_4 es =O.
22. Compuesto según la reivindicación 20 donde R_4 es OCH_3 .
23. Compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 que se selecciona de la lista que comprende:
 - 3-[5,7-Dihidroxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-2H-cromen-6-ilmetil]-6-etil-4-hidroxi-5-metil-piran-2-ona.
 - 3-[4,6-Dihidroxi-2-isopropenil-7-(2-metil-butiril)-2,3-dihidro-benzofuran-5-ilmetil]-6-etil-4-hidroxi-5-metil-piran-2-ona
 - 6-Etil-4-hidroxi-5-metil-3-[4,5,7-trihidroxi-2,2-dimetil-8-metil-butiril)-cromen-6-ilmetil]-piran-2-ona
 - 2-Etil-5-[7-hidroxi-5-metoxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-2H-cromen-6-ilmetil]-6-metoxi-3-metil-piran-4-ona.
 - 6-Etil-3-[7-hidroxi-5-metoxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-2H-cromen-6-ilmetil]-4-metoxi-5-metil-piran-2-ona
 - 3-[5,7-Dihidroxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-2H-cromen-6-ilmetil]-6-etil-2-metoxi-5-metil-piran-4-ona.
 - 3-[5,7-Dihidroxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-cromen-6-ilmetil]-6-etil-4-hidroxi-5-metil-piran-2-ona.
 - 6-((4-acetoxi-6-etil-5-metil-2-oxo-2H-piran-3-il)metil)-2,2-dimetil-8-(2-metilbutanoil)-2H-cromen-5,7-diil diacetato.

- 3-[5,7-Dihidroxi-2,2-dimetil-8-(2-metil-butiril)-2H-cromen-6-ilmetil]-6-etil)-4-hidroxi-5-metil-1H-piridin-2-ona,
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o estereoisómero del mismo.

5

24. Composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 junto con un transportador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptables.

10

25. Composición según la reivindicación 24 que además comprende otro principio activo.

26. Uso de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 para la fabricación de un medicamento.

15

27. Uso de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección de origen bacteriano.

20

28. Uso según la reivindicación 27 donde la bacteria causante de la infección es gram positiva.

29. Uso según la reivindicación 27 donde la bacteria se selecciona entre los géneros *Staphylococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*.

25

30. Uso según la reivindicación 29 donde la bacteria se selecciona entre *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.

30

31. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 para su uso como medicamento.



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201130429

②② Fecha de presentación de la solicitud: 24.03.2011

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	HÄNSEL, R. et al. "Neue Pyron-Derivate aus <i>Helichrysum</i> -Arten". Phytochemistry 1980, Volumen 19, páginas 639-644. Ver página 639, resumen; página 640, compuestos 8 y 13 .	1-31
A	JAKUPOVIC, J. et al. "Phloroglucinol Derivatives and Other Constituents from South African <i>Helichrysum</i> Species". Phytochemistry 1986, Volumen 25, Número 5, páginas 1133-1142. Ver página 1133, resumen; página 1134.	1-31
A	RÍOS, J.L. et al. "Isolation and identification of the antibacterial compounds from <i>Helichrysum stoechas</i> ". Journal of Ethnopharmacology 1991, Volumen 33, páginas 51-55. Ver página 51, resumen; página 52, figura 1.	1-31
A	APPENDINO, G. et al. "Arzanol, an Anti-inflammatory and Anti-HIV-1 Phloroglucinol α -Pyrone from <i>Helichrysum italicum</i> ssp. <i>Microphyllum</i> ". Journal of Natural Products 2007, Volumen 70, páginas 608-612. [Disponible en línea el 22.02.2007]. Ver página 608, resumen; página 609, compuestos 5 y 6 .	1-31
A	CARNEY, J.R. et al. "Achyrofurane, a New Antihyperglycemic Dibenzofuran from the South American Medicinal Plant <i>Achyrocline satureioides</i> ". Journal of Natural Products 2002, Volumen 65, páginas 203-205. [Disponible en línea el 18.01.2002]. Ver página 203, resumen y compuesto 1 .	1-31

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
29.06.2012

Examinador
G. Esteban García

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07D407/06 (2006.01)

C07D211/00 (2006.01)

C07D213/04 (2006.01)

C07D309/00 (2006.01)

A61K31/366 (2006.01)

A61K31/44 (2006.01)

A61K31/351 (2006.01)

A61P31/04 (2006.01)

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

C07C, 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, WPI, REGISTRY, CAPLUS, MEDLINE, BIOSIS, XPESP, EMBASE, NPL, PUBCHEM

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 09.07.2012

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-31	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-31	SI
	Reivindicaciones	NO

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	HÄNSEL, R. et al. Phytochemistry 1980, Vol. 19, pp. 639-644.	1980
D02	JAKUPOVIC, J. et al. Phytochemistry 1986, Vol. 25, Nº 5, pp. 1133-1142.	1986
D03	RÍOS, J.L. et al. Journal of Ethnopharmacology 1991, Vol. 33, pp. 51-55.	1991
D04	APPENDINO, G. et al. Journal of Natural Products 2007, Vol. 70, pp. 608-612.	22.02.2007
D05	CARNEY, J.R. et al. Journal of Natural Products 2002, Vol. 65, pp. 203-205.	18.01.2002

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

El objeto de la invención es un compuesto de fórmula (I) con estructura de policétido prenilado, una composición farmacéutica que lo comprende y el uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento.

El documento D01 divulga una serie de compuestos derivados de α -piranona aislados de *Helichrysum* sp. (ver página 639, resumen), entre los que se encuentra el compuesto **8**, que se diferencia de los compuestos de la invención en la posición relativa de los distintos sustituyentes del anillo de dihidrobenzofurano, y el compuesto **13**, que posee un grupo benzopirano, en el que los sustituyentes se encuentran igualmente en distintas posiciones relativas respecto al compuesto de la invención, y no presenta el resto prenilo de estos últimos (ver página 640).

El documento D02 divulga una serie de compuestos aislados de las especies sudafricanas de *Helichrysum* sp., entre las que se hallan diversos derivados de α -piranona con estructura similar a los compuestos de la invención pero que carecen del segundo ciclo fusionado al anillo bencénico presente en la molécula (ver página 1133, resumen; página 1134). El documento divulga también compuestos con estructura dímera derivados de benzopirano, que se diferencian de los compuestos de la invención en que presentan un segundo grupo benzopirano en lugar de una benzopiranona.

El documento D03 divulga una serie de compuestos con actividad antimicrobiana aislados de un extracto de *Helichrysum stoechas* (ver página 51, resumen), entre los que se encuentran los compuestos **4** (italipirona) y **5** (plicatipirona), que presentan una estructura similar a los compuestos de la invención, con un grupo α -piranona, aunque se diferencian de éstos en que poseen un grupo acetilo en lugar del prenilo, y en las posiciones de los radicales presentes en el sistema condensado de dihidrobenzofurano y dihidrobenzopirano, respectivamente (ver página 52, figura 1).

El documento D04 divulga los benzopiranos isoméricos **5** y **6**, obtenidos a partir de arzanol, que a su vez se aísla del extracto de *Helichrysum italicum* ssp. *Microphyllum* (ver página 608, resumen). Estos compuestos, al igual que ocurre con los divulgados en el documento D03, se diferencian del compuesto (I) de la invención en la presencia de un grupo acetilo en lugar del prenilo, y en las posiciones de los radicales que sustituyen el sistema de dihidrobenzofurano y dihidrobenzopirano, respectivamente (ver página 609, compuestos **5** y **6**).

El documento D05 divulga compuestos aislados a partir de extractos de *Achyrocline satureioides* (ver página 203, resumen), entre los que se encuentra el compuesto **1** (23-metil-6-O-desmetilauricepirona), que se diferencia del compuesto (I) de la invención en que el anillo bencénico se encuentra aislado y no condensado con otro, como resultado de la diferente naturaleza de los sustituyentes de dicho anillo bencénico, que además se encuentran en posiciones distintas (ver página 203, compuesto 1).

Los documentos citados muestran sólo el estado de la técnica del campo al que pertenece la invención. Ninguno de ellos, tomado solo o en combinación con los otros, divulga ni contiene sugerencia alguna que pudiera dirigir al experto en la materia hacia un compuesto de fórmula (I) (reivindicaciones independientes **1** y **31**) y, por tanto, tampoco hacia una composición farmacéutica que lo comprende (reivindicación independiente **24**) ni hacia el uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento (reivindicación independiente **26**).

Por tanto, se considera que el objeto de las reivindicaciones **1-31** reúne los requisitos de novedad y actividad inventiva recogidos en los Artículos 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes.