

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 070**

21 Número de solicitud: 201130432

51 Int. Cl.:

C07D 307/91 (2006.01)

A61K 31/343 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 33/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

24.03.2011

43 Fecha de publicación de la solicitud:

23.10.2012

Fecha de la concesión:

05.09.2013

45 Fecha de publicación de la concesión:

17.09.2013

73 Titular/es:

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA (50.0%)
Molinos de Agua, s/n
38200 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, Felix Manuel;
MÉNDEZ ÁLVAREZ, Sebastián;
DEMO, Mirta Susana y
CASERO, Carina Noelia

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

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

57 Resumen:

Actividad antimicrobiana, antitumoral y antiparasitaria de derivados de policétidos dibenzofuránicos prenilados.

La presente invención describe una familia de compuestos que son policétidos dibenzofuránicos prenilados de origen natural que poseen una actividad antimicrobiana, particularmente contra bacterias gram positivas. Asimismo estos compuestos presentan actividad citotóxica frente a diversas líneas celulares tumorales, así como actividad antiparasitaria, por lo que son útiles para la fabricación de medicamentos antitumorales y para el tratamiento de enfermedades infecciosas de origen bacteriano y parasitario.

ES 2 389 070 B1

Derivados de policétidos dibenzofuránicos prenilados y su aplicación para el tratamiento de enfermedades infecciosas, parasitarias y tumores.

La presente invención describe una familia de compuestos que son policétidos dibenzofuránicos prenilados de origen natural que poseen actividad antimicrobiana, particularmente contra bacterias gram positivas, por lo que son útiles la fabricación de medicamentos para el tratamiento de enfermedades infecciosas de origen bacteriano. Asimismo estos compuestos presentan actividad citotóxica frente a diversas líneas celulares tumorales, así como actividad antiparasitaria.

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* y *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 causado 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. Aunque dentro de este género bacteriano, la especie *S. aureus* es la causal del mayor número de patógenesis 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 inmunodeprimidos han contribuido al incremento dramático de infecciones debidas a CoNS. 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 meticilina, antibiótico que constituía el agente básico contra tales infecciones, ha dificultado 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 meticilina (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 linezolid o la daptomicina se están ensayando en clínica, pero poco tiempo tras su introducción van apareciendo resistencias a los mismos. Asimismo, 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.

5 El éxito de los productos naturales frente a los sintéticos radica en que han sido seleccionados durante la evolución para interaccionar con moléculas biológicas, considerándose como fuentes de estructuras privilegiadas. Por tanto el estudio de especies vegetales de interés por su uso etnobotánico constituye un valioso punto de partida en la búsqueda de productos susceptibles de
10 convertirse en fármacos. En este sentido, la medicina tradicional argentina emplea muchas especies medicinales para contrarrestar diversas enfermedades. *Achyrocline satureioides* (Lam.) D. C, conocida vulgarmente como “marcela” y miembro de la familia Asteraceae, es un ejemplo representativo dentro de las especies ampliamente utilizadas.

15 En las dos últimas décadas, *A.satureioides* ha sido objeto de una intensa investigación científica utilizando tanto modelos *in vitro* como modelos animales *in vivo*, proporcionando evidencia experimental que los extractos de esta especie presentan un amplio espectro de propiedades farmacológicas y
20 terapéuticas. Entre las propiedades registradas hasta el momento se pueden mencionar: hepatoprotectora, actividad asociada a las propiedades antioxidantes de esta especie, como así también actividad colerética, miorrelajante, analgésica y sedativa, antihiperglicémica, fotoprotectora, antiinflamatoria e inmunomoduladora. Existen datos de actividad insecticida
25 sobre *Triatoma infestans* y actividad antiparasitaria frente a la forma infectante de *Trypanosoma cruzi*. Diversos trabajos demuestran actividad antiherpética y frente a HIV-1, actividad citotóxica frente a células de carcinoma hepático humano, como así también actividad antibacteriana frente a cepas Gram-positivo y Gram-negativo.

30

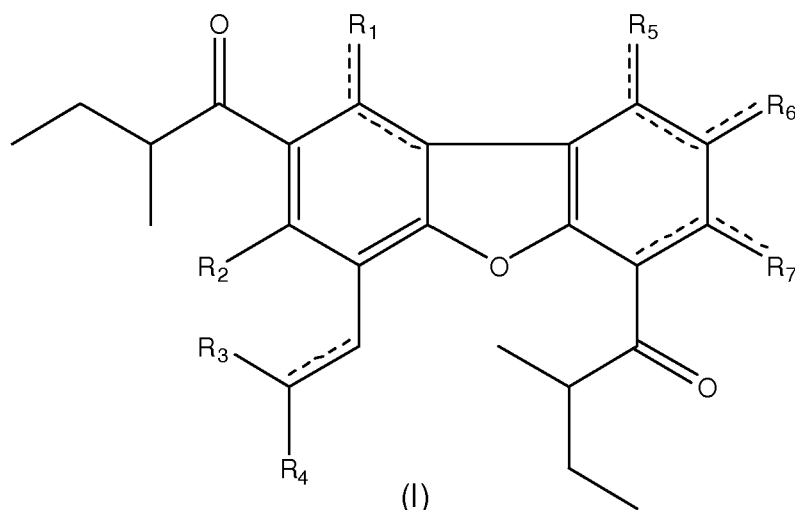
DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención describe un grupo de compuestos que son policétidos
35 dibenzofuránicos prenilados de origen natural. Estos compuestos presentan actividad antimicrobiana con alta especificidad frente a bacterias gram positivas, incluida la cepa multirresistente *Staphylococcus aureus*. Asimismo

estos compuestos presentan actividad citotóxica frente a diversas líneas celulares provenientes de leucemia y cáncer de mama (HL-60; MCF7, SKBR3 y HEL, entre otras), así como actividad antiparasitaria frente a *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas.

5

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



donde

10 R_1 , R_5 , R_6 y R_7 se seleccionan independientemente entre hidrógeno, O, OH, halógeno, alquilo C_1 - C_6 , alquenilo C_1 - C_6 , arilo, O-alquilo C_1 - C_{12} , $OC(O)R$, $N(R')(R'')$; donde R se selecciona entre alquilo C_1 - C_6 , O-alquilo C_1 - C_{12} , arilo o heteroarilo y R' y R'' se seleccionan independientemente entre H o alquilo C_1 - C_6 ,

15 R_2 y R_3 pueden ser grupos independientes o estar unidos formando un ciclo; cuando R_2 y R_3 son independientes se seleccionan entre hidrógeno, OH o alquilo C_1 - C_6 ;

cuando R_2 y R_3 están unidos formando un ciclo se seleccionan entre O ó $C(R_8)(R_9)$, siendo R_8 y R_9 independientemente H ó alquilo C_1 - C_6 ;

R_4 se seleccionan entre H, alquilo C_1 - C_6 o alquenilo C_1 - C_6 ;

20 ----- 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.

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.

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.

Por "halógeno" se entiende en la presente invención a un átomo de bromo, cloro, yodo o flúor.

Preferiblemente, R_1 , R_5 y R_7 son OH.

Preferiblemente, R_2 y R_3 están unidos formando un ciclo. Más preferiblemente, R_2 es un grupo O y R_3 es un grupo $C(R_8)(R_9)$, siendo R_8 y R_9 independientemente H o metilo, y más preferiblemente R_4 es hidrógeno.

Preferiblemente, R_6 es un alquenilo C_1 - C_4 . Más preferiblemente, R_6 es $-CH_2-CH(OH)-C(CH_3)=CH_2$

Preferiblemente, R_2 y R_3 son OH.

Preferiblemente, R_4 es un alquenilo C_1-C_4 . Más preferiblemente, R_4 es $-C(CH_3)=CH_2$

5

Preferiblemente, R_6 es un alquenilo C_1-C_4 . Más preferiblemente, R_6 es $-CH_2-CH=C(CH_3)_2$

Preferiblemente, el compuesto de fórmula (I) se selecciona entre:

- 10
 - 2-metil-1-[6,7,9-trihidroxi-8-(2-hidroxi-3-metil-but-3-enil)-3,3-dimetil-10-(2-metil-butiril)-3H-4,11-dioxa-benzo[a]fluoren-5-il]-butan-1-ona.
 - 2-metil-1-[1,3,7,9-tetrahidroxi-4-(2-hidroxi-3-metil-but-3-enil)-8-(3-metil-but-2-enil)-6-(2-metil-butiril)-dibenzofuran-2-il]-butan-1-ona.

- 15 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
- 20 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.

- 25 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
- 30 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
- 35 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 etilendiamina, etanolamina, N, N-dialquilenetanolamina, trietanolamina, glucamina y sales de aminoácidos básicos.

5

Los compuestos de la invención pueden presentarse en forma cristalina como compuestos libres o solvatos y se entiende que ambas formas están 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.

10

Los compuestos de la presente invención, representados por la fórmula (I), 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.

15

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 administración a un paciente. Preferiblemente, dicha composición también comprende otro principio activo con un efecto sinérgico o complementario.

20

25

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

30

Las formas farmacéuticas adecuadas para la administración oral incluyen cualquier composición sólida (tabletas, pastillas, cápsulas, formas granuladas, 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

35

maíz, fosfato cálcico, sorbitol o glicina, lubricantes para la preparación de 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.

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
 5 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.

10 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
 15 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
 20 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
 25 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
 30 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
 35 *Staphylococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*. Aún más preferiblemente, la bacteria se selecciona entre *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. También caen dentro del alcance de la invención las bacterias de estos

géneros que han desarrollado resistencia a ciertos antibióticos tales como, pero sin limitarse a, vancomicina y meticilina.

Otro aspecto de la invención es el uso de un compuesto de fórmula (I) para la
5 fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer. Preferiblemente, el cáncer es leucemia o cáncer de mama.

Un último objeto de la invención está formado por compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables, derivados, solvatos o estereoisómeros de
10 los mismos para su uso como medicamento en pacientes con enfermedades parasitarias y enfermedades micóticas, preferiblemente enfermedades causadas por el parásito *Trypanosoma cruzi*.

A lo largo de la presente descripción, el término "tratamiento" se refiere a
15 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
20 enfermedad, aliviar o mejorar el estado de la enfermedad y remitir (ya sea total o parcial).

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos,
25 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 figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

30

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig. 1. Muestra los patrones de sensibilidad del compuesto C2 de esta invención frente a diferentes cepas clínicas de gram-positivas y múltiples cepas
35 de *S. aureus* que se diferencian en sus perfiles de resistencia antibiótica (tabla bajo la gráfica).

Fig. 2. Muestra los niveles de crecimiento de las cepas estándar de *S. aureus* y *E. faecalis* y de *S. aureus* resistente a la meticilina, y parcialmente resistente a la vancomicina (IVRSA, de sus siglas en inglés); frente a una representación logarítmica de las diferentes concentraciones del compuesto C2.

5

Fig. 3. Muestra los niveles de crecimiento frente a una representación logarítmica de las diferentes concentraciones de ampicilina (control).

Fig. 4. Muestra los niveles de crecimiento frente a una representación logarítmica de las diferentes concentraciones de kanamicina (control).

10

EJEMPLOS

Obtención de los compuestos de fórmula (I)

15

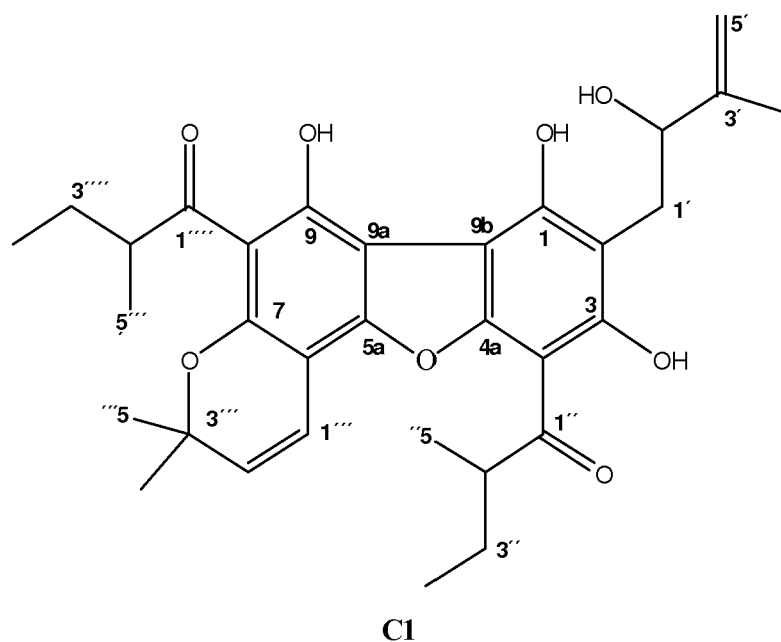
A partir de hojas y tallos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC se aislaron metabolitos con la estructura general (I). La estructura de los metabolitos ha sido numerada según metodología comúnmente utilizada en la caracterización de productos naturales, usando nombres comunes propuestos en bibliografía (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. "Achyrofurane, a New Antihyperglycemic Dibenzofuran from the South American Medicinal Plant *Achyrocline satureioides*", *J. Nat. Prod.* 2002, 65, 203-205).

20

25

Ejemplo 1

Compuesto C1



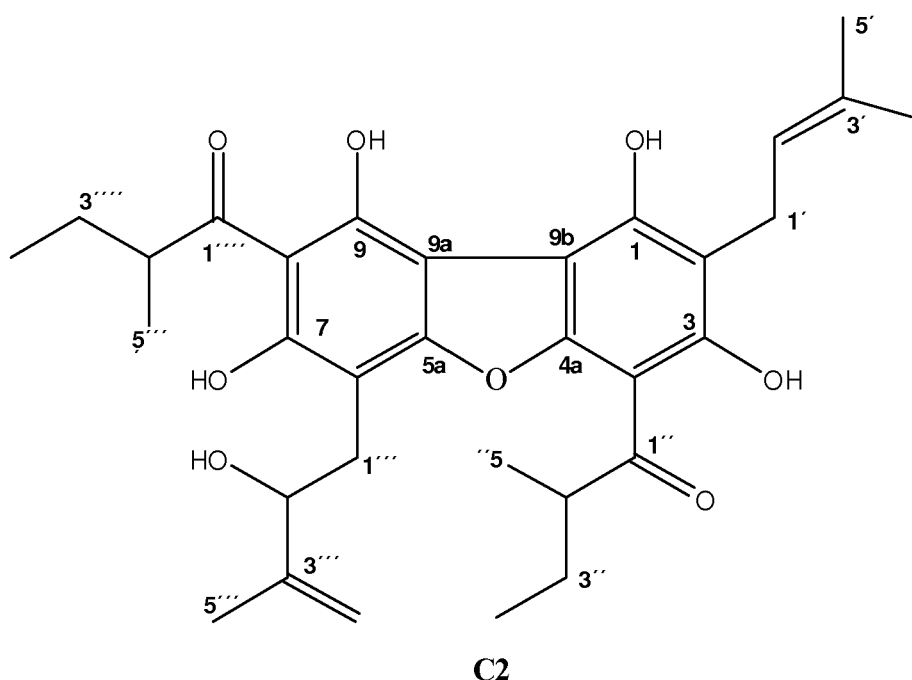
Aceite viscoso de color amarillento.

¹H-NMR (δ, CDCl₃): 15,9 (1H; s; OH-9); 14,45 (1H; s; OH-3); 10,07 (1H; s; OH-1); 6,70 (1H; d; *J* = 9,8 Hz; H-1'''); 5,65 (1H; d; *J* = 9,8 Hz; H-2'''); 4,98 (1H; s; H-4a'); 4,80 (1H; s; H-4b'); 4,44 (1H; sa; H-2'); 3,95 (1H; sext; *J* = 6,5 Hz; H-2'''); 3,85 (1H; sext; *J* = 6,7 Hz; H-2''); 3,15 (2H; dd; *J* = 14,2 Hz; H-1'); 1,92 (2H; m; H-3b'', H-3b'''); 1,89 (3H; s; H-5'); 1,59 (3H; s; H-4'''); 1,58 (3H; s; H-5'''); 1,47 (2H; m; H-3a'', H-3a'''); 1,25 (3H; m; H-5''); 1,23 (3H; m; H-5'''); 0,97 (3H; m; H-4'''); 0,96 (3H; m; H-4''). **¹³C-NMR (δ, CDCl₃):** 212,1 (s, C-1''); 212,6 (s, C-1'''); 163,3 (s, C-3); 159,4 (s, C-1); 155,8 (s, C-5a); 156,1 (s, C-9); 154,2 (s, C-7); 152,3 (s, C-4a); 147,2 (s, C-3'); 127,1 (d, C-2''); 115,5 (d, C-1'''); 110,6 (t, C-4'); 106,7 (s, C-9a); 106,5 (s, C-2, C-8); 103,3 (s, C-9b); 102,3 (s, C-4); 100,4 (s, C-6); 79,2 (s, C-3'''); 75,4 (d, C-2'); 46,4 (d, C-2'''); 46,2 (d, C-2''); 29,9 (t, C-1'); 27,8 (c, C-4''', C-5'''); 26,9 (t, C-3'''); 26,7 (t, C-3''); 18,1 (c, C-5'); 16,6 (c, C-5''); 16,6 (c, C-5'''); 11,9 (c, C-4''); 11,9 (c, C-4'''). **HREIMS:** 550,2607 (calcd para C₃₂H₃₈O₈ [M]⁺, 550,2567). **IR** ν_{max}: 2964, 2932, 2879, 1772, 1724, 1620, 1459, 1409, 1373, 1176, 1105, 1038, 950 cm⁻¹. **UV (EtOH) λ_{max} (log ε):** 341 (2,53); 239 (2,55); 203 (2,65) nm. **[α]_D²⁰** = -2,3 (c 0,008; CHCl₃).

20

Ejemplo 2

Compuesto C2



Aceite viscoso de color amarillento.

¹H-NMR (δ, CDCl₃): 15,63 (1H; sa; OH-7); 13,98 (1H; s; OH-3); 9,82 (2H; bs; OH-1, OH-9); 5,30 (1H; m; H-2'); 5,09 (1H; s; H-4a'''); 4,96 (1H; s; H-4b'''); 4,53 (1H; m; H-2''); 4,02 (1H; sext; *J* = 6,5; H-2'''); 3,82 (1H; sext; *J* = 6,5; H-2''); 3,44 (2H; d; *J* = 6,3; H-1'); 3,25 (1H; dd; *J* = 15,2; H-1a'''); 3,04 (1H; dd; *J* = 15,2; H-1b'''); 1,90-1,87 (2H; m; H-3b'', H-3b'''); 1,88 (3H; s; 5'''); 1,83 (3H; s; H-5'); 1,70 (3H; s; H-4'); 1,54 (1H; m; H-3a''); 1,48 (1H; m; H-3a'''); 1,26 (3H; d; *J* = 6,2; H-5''); 1,23 (3H; d; *J* = 6,8; H-5'''); 0,95 (3H; m; H-4'''); 0,93 (3H; m; H-4''). **¹³C-NMR (δ, CDCl₃):** 213,4 (s, C-1'''); 207,1 (s, C-1''); 163,9 (s, C-3); 157,6 (s, C-7); 155,5 (s, C-9); 158,2 (s, C-5a); 154,6 (s, C-1); 154,2 (s, C-4a); 145,8 (s, C-3'''); 132,1 (s, C-3'); 122,2 (d, C-2'); 111,7 (s, C-2); 111,7 (t, C-4'''); 107,4 (s, C-8); 105,2 (s, C-9b); 104,7 (s, C-9a); 102,3 (s, C-6); 101,3 (s, C-4); 78,1 (d, C-2''); 46,3 (d, C-2'''); 45,4 (d, C-2''); 30,3 (t, C-1'''); 27,1 (t, C-3'''); 26,4 (t, C-3''); 25,8 (c, C-4'); 21,8 (t, C-1'); 18,2 (c, C-5'''); 17,9 (c, C-5'); 17,0 (c, C-5''); 16,3 (c, C-5'''); 11,8 (c, C-4'', C-4'''). **EIMS *m/z* (%):** 552 (M⁺, 17); 534 (11); 479 (31); 425 (100); 389 (11). **HREIMS:** 552,2740 (calcd para C₃₂H₄₀O₈ [M]⁺, 552,2723). **IR *v*_{max}:** 3296, 2968, 2929, 2877, 1727, 1617, 1451, 1373, 1236, 1192, 1086, 1041, 905, 849 cm⁻¹. **UV (EtOH) λ_{max} (log ε):** 341 (2,69); 243 (2,67) nm. **[α]_D²⁰** = +31,4 (c 0,116; CHCl₃).

Ensayos biológicos

Ensayo de actividad antimicrobiana

Para la determinación del MIC₅₀, 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 10^5 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 1 muestra los valores MIC₅₀ de los compuestos mencionados en esta invención.

Tabla 1: MIC de compuestos de la invención ensayados (μM)

	Compuesto	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Compuesto	C1	>>100	>>100	9 ± 1	48 ± 18	>100
	C2	>>100	>>100	<<1	<<1	>100
Controles	Ampicilina	>>100	89 ± 55	<<1	<<1	ND
	Kanamicina	<<1	114 ± 20	<<1	23 ± 4	ND

Se estudió la sensibilidad de diferentes cepas clínicas de bacterias gram-positivas frente a los compuestos de esta invención. Los ensayos se realizaron como los mencionados para el MIC₅₀, pero sólo tres concentraciones fueron incluidas. En este caso, el crecimiento relativo fue calculado para cada concentración en comparación con cultivos controles, sin compuestos

añadidos. La figura 1 muestra los patrones de sensibilidad de diferentes cepas clínicas Gram-positivas; y múltiples cepas de *S. aureus*, que se diferencian en sus perfiles de resistencia antibiótica, frente al compuesto C2 descrito en esta invención. En la tabla 2 se detalla el perfil de resistencia antibiótica de cada cepa ensayada.

Para los ensayos de inhibición del crecimiento (MIC_{50}) del compuesto C2 de esta invención frente a una cepa de *S. aureus* resistente a la metilicina, y parcialmente resistente a la vancomicina (IVRSA, de sus siglas en inglés); el inhibidor fue añadido en un rango de 24 diferentes concentraciones que van desde 10 nanomolar hasta 100 micromolar. Los antibióticos comerciales ampicilina y kanamicina fueron usados como control en el mismo rango de concentraciones. En el ensayo se incluyeron cepas estándar de *S. aureus* y *E. faecalis*. La figura 2 muestra los niveles de crecimiento frente a una representación logarítmica de las diferentes concentraciones del compuesto 2. La figura 3 muestra los niveles de crecimiento frente a una representación logarítmica de las diferentes concentraciones de ampicilina (control). La figura 4 muestra los niveles de crecimiento frente a una representación logarítmica de las diferentes concentraciones de kanamicina (control).

BACTERIA	Teicoplanina	Vancomicina	Mupirocina	Gentamicina	Eritromicina	Clindamicina	Penicilina	Oxacilina	CEPA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S	S	nd	R	S	S	S	S	ATCC27853
<i>Escherichia coli</i>	S	S	nd	S	S	S	S	S	ATCC35218
<i>Enterococcus faecalis</i>	R	R	S	R	R	R		R	ATCC51299
	S	S	nd	R	R	R	R	R	ATCC29212
<i>Streptococcus pyogenes</i>	S	S	S		S	S	S		ATCC19615
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	S	nd	R	S	R	R	ATCC25923
	S	S	S	S	S	S	R	R	526 (ST88)
	S	S	S	S	S	S	R	R	265 (ST80)
	S	S	S	R	R	R	R	R	283 (ST239)
	S	S	R	R	R	R	R	R	182 (ST247)
	S	S	S	S	R	R	R	R	262 (ST8)
	S	S	S	S	R	R	R	R	381 (ST22)
	S	S	S	S	R	R	R	R	188 (ST36)
	S	S	S	S	R	R	R	R	195 (ST30)
	S	S	S	S	R	R	R	R	281 (ST125)
	S	S	S	S	R	R	R	R	261 (ST146)
	S	S	S	S	S	S	R	R	266 (ST471)
	S	S	S	S	R	R	R	R	382 (USA100)
	S	S	S	S	R	R	R	R	383 (USA200)
	S	S	S	S	R	R	R	R	384 (USA300)
	S	S	S	S	R	R	R	R	385 (USA500)
	S	S	S	S	R	R	R	R	386 (USA700)
	S	S	S	S	R	R	R	R	387 (USA800)
	S	S	S	S	S	S	R	S	2721-59 (Clon FamC)
	S	S	S	S	S	S	R	S	9462-59 (Clon FamB)
	S	S	S	S	S	S	R	S	4152-65 (Clon FamA, ST152)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	S	S	S	S	R	S	R	S	539
	S	S	S	S	S	S	S	S	541
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	S	S	S	S	S	S	R	S	8824-65
	S	S	S	S	S	S	S	S	9286-91

Tabla 2: Perfiles de resistencia antibiótica de las cepas clínicas ensayadas frente al compuesto 2

Ensayo de viabilidad celular por MTT.

Distintas líneas celulares cancerígenas (HL60, MCF7, SK-Br3, HEL y otras) fueron cultivadas en medio RPMI y DMEM conteniendo 10% de suero fetal bovino. Para el análisis de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), las células fueron sembradas en placas de 96 pocillos a una concentración de 10000 células/pocillo. Luego de 24 h de incubación a 37 °C y 5 % de CO₂, se añadió el disolvente (DMSO, a concentración final no tóxica 0,1%) o el rango predeterminado de concentraciones del compuesto a ensayar. Luego de 48 h de incubación, se añadió una solución de MTT a cada pocillo (concentración final 0,5 mg/ml), y las placas fueron adicionalmente incubadas 3 h a 37 °C. Posteriormente, se procedió a la extracción del medio y a la solubilización de los cristales de formazán por adición de SDS-HCl (20% SDS; HCl 0.02M) a cada pocillo.

La absorbancia de cada pocillo fue registrada por medio un lector de microplacas a 570 nm. Para el cálculo de IC₅₀ (Concentración Inhibitoria 50) se realizó un análisis de regresión no-lineal utilizando el programa GraphPad v5.

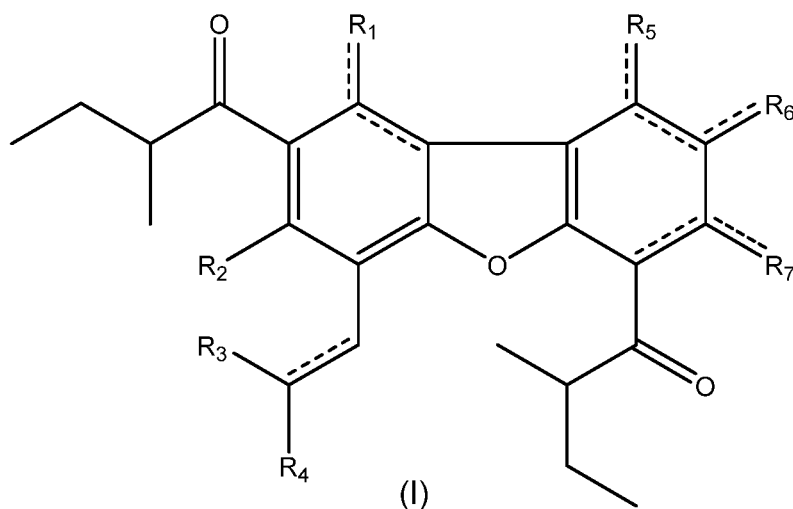
Así a modo de ejemplo, la tabla 3 muestra datos de citotoxicidad ejercida por el compuesto C2.

Tabla 3: IC₅₀ del compuesto C2 descripto en la presente invención (μM)

Compuesto	Líneas Celulares			
	HL60	MCF7	SKBr3	HEL
C2	1,4	>30	2,5	1,1

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I):



donde

R₁, R₅, R₆ y R₇ se seleccionan independientemente entre hidrógeno, O, OH, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₁-C₆, arilo, O-alquilo C₁-C₁₂, OC(O)R, N(R')(R''); donde R se selecciona entre alquilo C₁-C₆, O-alquilo C₁-C₁₂, arilo o heteroarilo y R' y R'' se seleccionan independientemente entre H o alquilo C₁-C₆,

R₂ y R₃ pueden ser grupos independientes o estar unidos formando un ciclo;

cuando R₂ y R₃ son independientes se seleccionan entre hidrógeno, OH o alquilo C₁-C₆;

cuando R₂ y R₃ están unidos formando un ciclo se seleccionan entre O ó C(R₈)(R₉), siendo R₈ y R₉ independientemente H ó alquilo C₁-C₆;

R₄ se seleccionan entre H, alquilo C₁-C₆ o alquenilo C₁-C₆;

----- 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 R₁, R₅ y R₇ son OH.

3. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 donde R₂ y R₃ están unidos formando un ciclo.

4. Compuesto según la reivindicación 3 donde R_2 es un grupo O y R_3 es un grupo $C(R_8)(R_9)$, siendo R_8 y R_9 independientemente H o metilo.
5. Compuesto según la reivindicación 4, donde R_4 es hidrógeno.
6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde R_6 es un alqueno C_1-C_4 .
7. Compuesto según la reivindicación 6 donde R_6 es $-CH_2-CH(OH)-C(CH_3)=CH_2$.
8. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 donde R_2 y R_3 son OH.
9. Compuesto según la reivindicación 8 donde R_4 es un alqueno C_1-C_4 .
10. Compuesto según la reivindicación 9 donde R_4 es $-C(CH_3)=CH_2$.
11. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10 donde R_6 es un alqueno C_1-C_4 .
12. Compuesto según la reivindicación 11 donde R_6 es $-CH_2-CH=C(CH_3)_2$.
13. Compuesto según la reivindicación 1 que se selecciona entre:
 - 2-metil-1-[6,7,9-trihidroxi-8-(2-hidroxi-3-metil-but-3-enil)-3,3-dimetil-10-(2-metil-butiril)-3H-4,11-dioxa-benzo[a]fluoren-5-il]-butan-1-ona.
 - 2-metil-1-[1,3,7,9-tetrahidroxi-4-(2-hidroxi-3-metil-but-3-enil)-8-(3-metil-but-2-enil)-6-(2-metil-butiril)-dibenzofuran-2-il]-butan-1-ona.
14. Composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 junto con un transportador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptables.
15. Composición según la reivindicación 14 que además comprende otro principio activo.

16. Uso de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para la fabricación de un medicamento.
- 5 17. Uso de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección de origen bacteriano.
18. Uso según la reivindicación 17 donde la bacteria causante de la infección es gram positiva.
- 10 19. Uso según la reivindicación 17 donde la bacteria se selecciona entre los géneros *Staphylococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*.
- 15 20. Uso según la reivindicación 19 donde la bacteria se selecciona entre *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.
21. Uso según la reivindicación 20 donde la bacteria es *S. aureus* resistente a vancomicina.
- 20 22. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para su uso como medicamento.
23. Uso de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para la fabricación de un medicamento para el
- 25 tratamiento de cáncer.
24. Uso según la reivindicación 23 donde el cáncer se selecciona entre cáncer de mama o leucemia.
- 30 25. Uso de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad parasitaria.

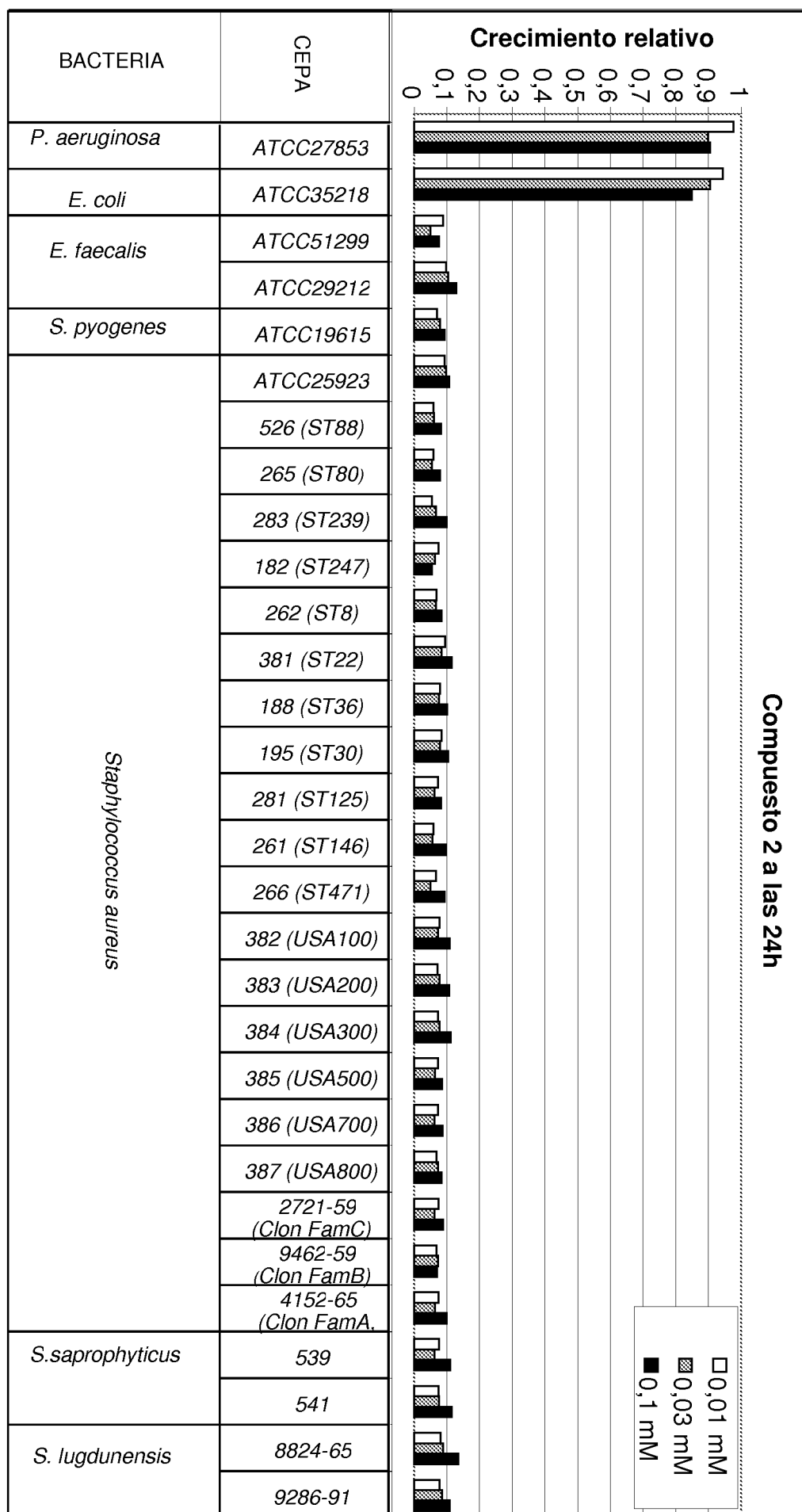


FIG.1

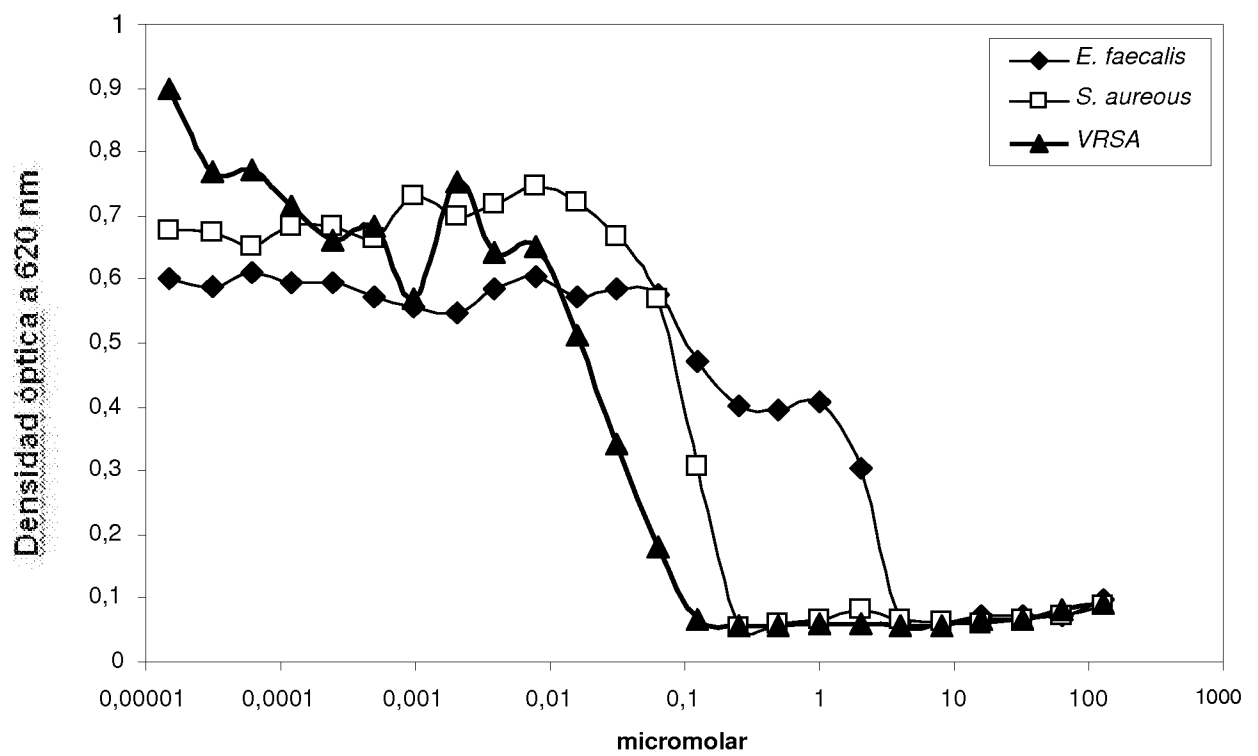


FIG. 2

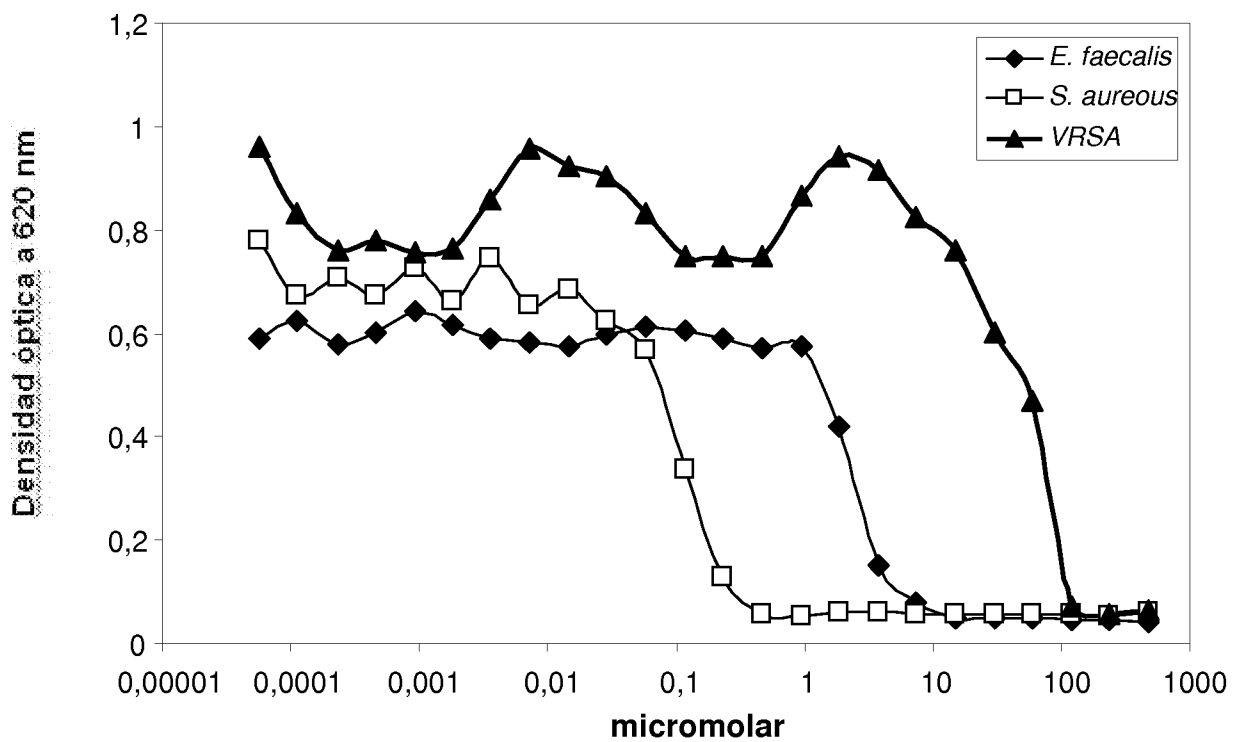


FIG. 3

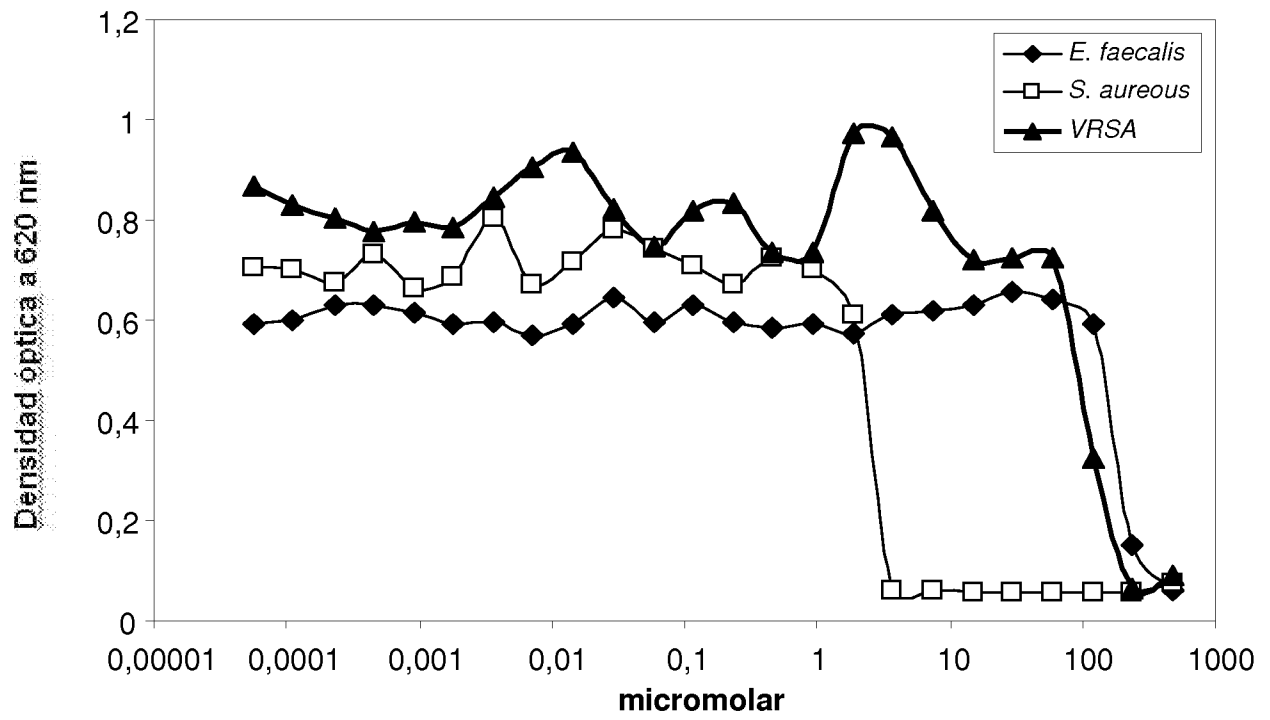


FIG. 4



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201130432

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
X	HENG, S. et al. "Designing inhibitors against fructose 1,6-biphosphatase: Exporting natural products for novel inhibitor scaffolds". European Journal of Medicinal Chemistry, 2010. Vol. 45, páginas 1478-1484. Ver Resumen; Figura 1, compuesto 2; página 1480, columna 2, párrafo 5.	1, 2, 6, 8-16 y 22
X	WOMMACK, A. J. et al. "Diverse Alkanones by Catalytic Carbon Insertion into the Formyl C-H Bond. Concise Access to the Natural Precursor of Achyrofuran". Organic Letters, 2009, Vol. 11, No. 15, páginas 3202-3205. Ver página 3204, columna 2, párrafos 1 y 2, Esquema 3, compuesto 28.	1, 2, 6, 8-16 y 22
X	CARNEY, J. et al. "Achyrofuran, a New Antyhyperglycemic Dibenzofuran from the South American Medicinal Plant <i>Achyrocline Satureioides</i> ". Journal of Natural Products, 2002, Vol. 65, páginas 203-205. Ver Resumen, Compuesto 2.	1, 2, 6, 8-16 y 22
X	WO 2008/100977 A2 (N.V.ORGANON) 21/08/2008. Ver Resumen; página 48, Figura 2.	1, 2, 6, 8-16 y 22

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
05.07.2012

Examinador
N. Martín Laso

Página
1/5



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201130432

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	MACELA/MARCELA (<i>Achyrocline satureioides</i>). Información Científica (Ingles)-Sinergia Natural, 29/08/2009. En línea [recuperado de internet] [recuperado el 27/06/2012] < http://sinergianatural.com/index.php?dispatch=pages.view&page_id=17 >. Ver páginas 1-3.	1-25
A	BETTEGA, J. M. R. et al. "Evaluation of the Antiherpetic Activity of Standardized Extracts of <i>Achyrocline satureioides</i> ". Phytotherapy Research, 2004, Vol. 18, N. 10, páginas 819-823. Ver Introducción.	1-25

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
05.07.2012

Examinador
N. Martín Laso

Página
2/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07D307/91 (2006.01)

A61K31/343 (2006.01)

A61P31/04 (2006.01)

A61P33/00 (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, WPI, XPESP, NPL, BIOSIS, CAS.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 05.07.2012

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 3-5,7,17-21, 23-25	SI
	Reivindicaciones 1, 2, 6, 8-16, 22	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 3-5,7,17-21, 23-25	SI
	Reivindicaciones 1, 2, 6, 8-16, 22	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	HENG, S. et al. "Designing inhibitors against fructose 1,6-biphosphatase: Exporting natural products for novel inhibitor scaffolds". European Journal of Medicinal Chemistry, 2010. Vol. 45, páginas 1478-1484.	13.01.2010
D02	WOMMACK, A. J. et al. "Diverse Alkanones by Catalytic Carbon Insertion into the Formyl C-H Bond. Concise Access to the Natural Precursor of Achyrofuran". Organic Letters, 2009, Vol. 11, No. 15, páginas 3202-3205.	07.09.2009
D03	CARNEY, J. et al. "Achyrofurán, a New Antihyperglycemic Dibenzofuran from the South American Medicinal Plant <i>Achyrocline Satureioides</i> ". Journal of Natural Products, 2002, Vol. 65, páginas 203-205.	18.01.2002
D04	WO 2008/100977 A2 (N.V.ORGANON)	21.08.2008
D05	Macela/Marcela (<i>Achyrocline satureioides</i>). Información Científica (Ingles)-Sinergia Natural, 29/08/2009. En línea [recuperado de internet] [recuperado el 27/06/2012] < http://sinergianatural.com/index.php?dispatch=pages.view&page_id=17 >.	29.08.2009
D06	BETTEGA, J. M. R. et al. "Evaluation of the Antiherpetic Activity of Standardized Extracts of <i>Achyrocline Satureioides</i> ". Phytotherapy Research, 2004, Vol. 18, No 10, páginas 819-823.	2004

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 solicitud se refiere compuestos furánicos de fórmula general I, a composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos y a su uso como agentes antibacterianos, anticancerígenos o antiparasitarios.

Los documentos D01-D04 divulgan el compuesto furánico 2-metil-1-[1,3,7,9-tetrahidroxi-4-(2-hidroxi-3-metil-but-3-enil)-8-(3-metil-but-2-enil)-6-(2-metil-butiril)-dibenzofuran-2-il]-butan-1-ona (achyrofuran), cuya estructura es concordante con la de los compuestos de fórmula general I definidos en la solicitud. Dicho compuesto es un producto natural extraído de la planta *Achyrocline satureioides*, presentando actividad como inhibidor de la enzima fructosa-1,6-bifosfatasa. Disoluciones de dicho compuesto han mostrado poseer actividad antidiabética (D01: Resumen; Figura 1, compuesto 2; página 1480, columna 2, párrafo 5. D02: página 3204, columna 2, párrafos 1 y 2, Esquema 3, compuesto 28. D03: Resumen, compuesto 2. D04: Resumen).

El objeto de la invención definido en las reivindicaciones 1, 2, 6, 8-16 y 22 es conocido de cualquiera de los documentos D01-D04 considerados por separado, careciendo por tanto de novedad (Art. 6.1 LP 11/1986).

Sin embargo, ninguno de dichos documentos divulga ni dirige al experto en la materia hacia compuestos como los de fórmula general I definidos en la solicitud en los que los sustituyentes R2 y R3 estén unidos formando un ciclo o donde el sustituyente R6 sea un grupo CH₂-CH(OH)-C(CH₃)=CH₂.

Por lo tanto, la invención definida en las reivindicaciones 3-5 y 7 es nueva y posee actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).

En relación a las reivindicaciones 17-21 y 23-25, relativas al uso de los compuestos furánicos de fórmula general I como agentes antibacterianos, anticancerígenos o antiparasitarios, aunque es conocido en el estado de la técnica que extractos de la planta *Achyrocline satureioides* poseen dichas actividades farmacológicas y que dichos extractos contienen compuestos furánicos como los definidos en la solicitud (ver por ejemplo D05, página 1-3; D06, Introducción), se considera que no resultaría evidente para un experto en la materia asignar de forma inequívoca dichas actividades a los compuestos furánicos, dado la presencia adicional en el extracto de otros compuestos con potencial actividad farmacológica.

En consecuencia, la invención definida en las reivindicaciones 17-21 y 23-25 es nueva y posee actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).