



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 258 444**

51 Int. Cl.:
A61K 31/195 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA REVISADA

T4

86 Número de solicitud europea: **00903824 .1**
86 Fecha de presentación : **15.02.2000**
87 Número de publicación de la solicitud: **1154767**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **21.11.2001**

54 Título: **Compuestos de estilbeno sustituidos con actividad dañina vascular.**

30 Prioridad: **16.02.1999 GB 9903403**

45 Fecha de publicación de la mención y de la traducción de patente europea: **01.09.2006**

45 Fecha de la publicación de la mención de la traducción revisada BOPI: **01.04.2007**

45 Fecha de publicación de la traducción revisada de patente europea: **01.04.2007**

73 Titular/es: **Angiogene Pharmaceuticals Ltd.**
14 Plowden Park, Aston Rowant
Watlington, Oxfordshire OX9 5SW, GB

72 Inventor/es: **Davis, Peter, David**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 258 444 T4

DESCRIPCIÓN

Compuestos de estilbeno sustituidos con actividad dañina vascular.

Esta invención se refiere a una serie de compuestos de estilbeno para uso como agentes dañinos vasculares.

La formación de nuevos vasos sanguíneos por angiogénesis es una característica patológica de diversas enfermedades (J. Folkman, *New England Journal of Medicine* 333, 1757-1763, 1995). Por ejemplo, para que un tumor sólido pueda crecer, debe desarrollar su propio suministro de sangre, del cual depende de manera crítica para el aprovisionamiento de oxígeno y nutrientes; si este suministro de sangre se interrumpe de forma mecánica, el tumor experimenta la muerte por necrosis. La neovascularización es también una característica clínica de las lesiones cutáneas en la psoriasis, del paño invasivo en las articulaciones de pacientes con artritis reumatoide, y de las placas ateroscleróticas. La neovascularización retiniana es patológica en la degeneración macular y en la retinopatía diabética. En todas estas enfermedades, se espera que la reversión de la neovascularización mediante el daño del endotelio vascular recién formado tenga un efecto terapéutico beneficioso.

El fosfato de combretastatina A4 es un agente con una actividad perjudicial para los vasos sanguíneos conocida en modelos animales de tumores sólidos (Dark *et al.*, *Cancer Research* 57, 1829-1834, 1997). Sin embargo, algunos tumores son resistentes a este agente y se requieren dosis próximas a la dosis máxima tolerada para producir un daño vascular importante en estos tumores.

Una característica de los tumores resistentes al fosfato de combretastatina A4 es su capacidad para producir grandes cantidades de óxido nítrico. El papel del óxido nítrico en el crecimiento tumoral no está claramente definido y ha habido informes sobre efectos tanto estimulantes como inhibitorios sobre los tumores (Chinje y Stratford, *Essays Biochem.* 32, 61-72, 1997).

La presente invención se refiere a nuevos derivados de combretastatina y a composiciones farmacéuticas que los contienen, para su uso como agentes dañinos vasculares para el tratamiento de enfermedades que cursan con una angiogénesis activa. Estos derivados son más activos que el fosfato de combretastatina A4, en particular sobre tumores resistentes a los agentes dañinos vasculares conocidos. En tumores sólidos, los agentes dañinos vasculares ejercen su efecto antitumoral principalmente induciendo la necrosis del tumor mediante el cese del suministro sanguíneo al tumor. Los compuestos de la invención muestran una actividad mejorada en la inducción de necrosis en tumores sólidos. Aunque no representa una limitación para la invención, se cree que la capacidad de los compuestos de la invención para reducir la producción de óxido nítrico durante el daño vascular, por la inhibición de una o múltiples enzimas que producen óxido nítrico (las óxido nítrico-sintasas) es una forma a través de la que los compuestos logran un incremento de su actividad.

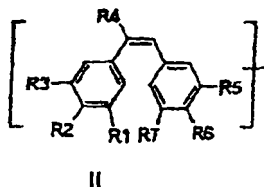
La invención proporciona un compuesto de la fórmula I

A-X-B

I

en la que

A es un resto cis-estilbeno sustituido de la fórmula II



en la que

R1, R2 y R3 son, independientemente, H, alcoxi opcionalmente sustituido, alquilo opcionalmente sustituido, o halógeno

R4 es hidrógeno

R5, R6 y R7 son, independientemente, H, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido, alquilo opcionalmente sustituido, halógeno, amino, alquilamino, dialquilamino, ciano, nitro, carboxilo, alcanoilo, alcoxi-carbonilo, alcoxi-carbonil-oxi, alcoxi-carbonil-amino, amino-carbonil-amino, alquilamino-carbonil-amino, dialquilamino-carbonil-amino, alquil-carbonil-amino, alquil-sulfonilo, amino-sulfonilo, alquilamino-sulfonilo, dialquilamino-sulfonilo, alquil-sulfo-

nil-amino, amino-sulfonil-amino, alquilamino-sulfonil-amino, dialquilamino-sulfonil-amino, alquil-sulfanilo o alquil-sulfínilo,

con la condición de que al menos dos de R1, R2 y R3 deben ser alcoxi opcionalmente sustituidos;

X es una unión, átomo o grupo de enlace;

B es $-C(O)CH(NH_2)-(CH_2)_p-NHC(NH)Z$ o un grupo $-NHCH(CO_2R_{10})-(CH_2)_p-NHC(NH)Z$ en donde p es 1-5 y Z es alquilo, alquilamino, dialquilamino, nitroamino, hidrazino o alquiltio, y R10 es hidrógeno o alquilo;

y los hidratos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para usar como agente dañino vascular.

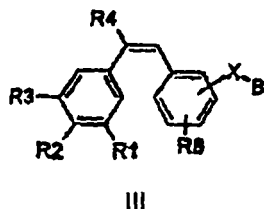
El resto estilbeno A puede estar unido al grupo de enlace X por cualquier valencia disponible.

El grupo de enlace X puede ser, por ejemplo, una unión, una cadena metileno opcionalmente sustituida, o $-(CH_2)_m-Y-(CH_2)_n-$ en donde Y se selecciona de $-O-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-SO_2-$, $-NH-$, $-N$ -alquilo-, $-CO-$, $-OC(O)-$, $-NHC(O)-$, $-N$ -(alquil)- $C(O)-$, $-NHC(O)NH-$, $-N$ -alquil- $C(O)NH-$, $-N$ -alquil- $C(O)-N$ -alquilo-, $-NHSO_2-$, $-N$ -alquil- SO_2- , $-NHSO_2NH-$, $-N$ -alquil- SO_2NH- , $-N$ -alquil- SO_2-N -alquilo-, y $-OC(O)O-$, m es 0-3 y n es 0-3. Cuando el grupo Y no es simétrico, puede estar orientado en cualquier dirección, de forma que cualquier extremo puede estar unido al grupo A.

El resto B, como se ha definido anteriormente, es un grupo derivado de un inhibidor de la óxido nítrico-sintasa. Como se usa en este documento, el término "alquilo", solo o en combinaciones, significa un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que contiene uno a siete, preferentemente un máximo de cuatro átomos de carbono, tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, y pentilo. Ejemplos de grupos alcoxi son metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, y terc-butoxi. El término "halógeno" significa flúor, cloro, bromo o yodo.

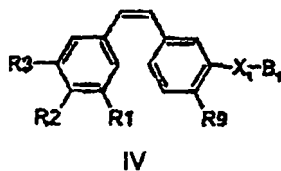
Los grupos alcoxi opcionalmente sustituidos, grupos alquilo opcionalmente sustituidos y las cadenas metileno opcionalmente sustituidas pueden portar uno o múltiples sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, amino, alquilamino, dialquilamino, carboxilo, mercapto, alcoxi-carbonilo, amino-carbonilo, alquilamino-carbonilo, dialquilamino-carbonilo, alquil-carbonilamino, alquil-carbonil-(alquil)-amino, sulfato y fosfato.

Un grupo de compuestos preferidos son los de la fórmula III



en la que R8 es alquilo, amino, hidroxilo, alcoxi o halógeno. Preferentemente, X es $-O-$ o $-NH-$.

Un subconjunto todavía adicionalmente preferido incluye compuestos de la fórmula IV



en la que

R9 es alquilo, alcoxi o halógeno,

X1 es O o NH, y

B1 es un grupo $-C(O)CH(NH_2)-(CH_2)_p-NHC(NH)Z$, en donde p es 1-5.

Compuestos particularmente preferidos incluyen:

(Z)-1-(4-metoxi-3-N^G-nitroarginiloxifenil)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-eteno;

éster metílico de (Z)-N-[2-metoxi-5-[2-(3,4,5-trimetoxifenil)-etenil]-fenoxycarbonil]-N^G-nitroarginina;

(Z)-N-[2-metoxi-5-[2-(3,4,5-trimetoxifenil)-etenil]-fenoxycarbonil]-N^G-nitroarginina;

éster metílico de (Z)-N-[2-metil-5-[2-(3,4,5-trimetoxifenil)-etenil]-fenoxycarbonil]-N^G-nitroarginina.

Para evitar cualquier duda, se debe entender que, en la memoria de especificación, cuando un grupo se describe como “anteriormente definido” o “definido anteriormente”, o “definido más adelante” o “posteriormente definido”, dicho grupo comprende la primera y más extensa definición, así como todas y cada una de las definiciones preferidas de ese grupo.

Cuando uno o múltiples grupos funcionales en los compuestos de la fórmula I son suficientemente básicos o ácidos, es posible la formación de sales. Sales adecuadas incluyen sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, sales por adición de ácido, incluidos hidroclozuros, hidrobromuros, fosfatos, sulfatos, hidrógeno-sulfatos, alquil-sulfonatos, aril-sulfonatos, acetatos, benzoatos, citratos, maleatos, fumaratos, succinatos, lactatos, y tartratos, sales derivadas de bases inorgánicas que incluyen sales de metales alcalinos tales como sales sódicas o potásicas, sales de metales alcalino-térreos tales como sales de magnesio o calcio, y sales derivadas de aminas orgánicas tales como sales de morfolino, piperidina o dimetilamina.

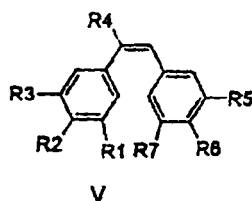
Los compuestos de la fórmula I o una sal de los mismos puede mostrar tautomerismo y los dibujos de las fórmulas dentro de esa especificación representan sólo una de las formas tautómeras posibles. Se debe entender que la invención comprende cualquier forma tautómera que posea actividad vascular lesiva, y no debe estar limitada solamente a cualquier forma tautómera utilizada en los dibujos de las fórmulas.

Los expertos en la técnica reconocerán que los compuestos de la fórmula I pueden existir como estereoisómeros y, en consecuencia, la presente invención incluye todos esos isómeros y sus mezclas que poseen actividad vascular lesiva. Cuando el grupo derivado de un inhibidor de la óxido nítrico-sintasa deriva de un inhibidor aminoácido de óxido nítrico-sintasa, se prefiere la configuración L del aminoácido.

Los compuestos de la invención se pueden preparar por cualquier procedimiento conocido por los expertos en la técnica. Los compuestos de las fórmulas I, III y IV se pueden preparar por una serie de procedimientos, como se describe más adelante y, más específicamente, en los Ejemplos siguientes. En las preparaciones generales descritas más adelante puede ser necesario utilizar grupos protectores que se eliminan, entonces, durante las etapas finales de la síntesis. El uso apropiado de estos grupos protectores, y procedimientos para su separación, resultarán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica. En la siguiente descripción de procedimientos, se debe entender que los símbolos R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X y B, cuando se utilicen en las fórmulas mostradas, representan los grupos descritos anteriormente en relación con la fórmula I, a menos que se indique lo contrario.

Los compuestos de la invención se pueden preparar por unión de un inhibidor de una óxido nítrico-sintasa a un estilbeno de la fórmula V, usando reacciones de alquilación, acilación, sulfonilación o de acoplamiento. De manera alternativa, se pueden acoplar estilbenos de la fórmula V (definidos más adelante) con un compuesto difuncional (que proporciona el grupo de enlace -X-) y acoplarse, adicionalmente, al inhibidor de óxido nítrico a través de la funcionalidad remanente en el grupo de enlace, según sea apropiado. Los estilbenos de fórmula V son conocidos, o se pueden preparar usando métodos análogos a los utilizados en la preparación de estilbenos conocidos, que resultarán evidentes para los expertos en la técnica.

En un ejemplo general, los compuestos de la fórmula I se pueden preparar a partir de un estilbeno de la fórmula V, que contiene un OH o NH libre, por acilación con un inhibidor de óxido nítrico-sintasa que contiene un ácido carboxílico, utilizando, por ejemplo, un agente de acoplamiento tal como una carbodiimida, por ejemplo, dicitclohexil-carbodiimida, o 1-(3-dimetil-aminopropil)-3-etil-carbodiimida y, opcionalmente, una base tal como una base orgánica, por ejemplo, trietilamina y, opcionalmente, un catalizador tal como 4-dimetilaminopiridina, en un disolvente tal como un disolvente aprótico, por ejemplo, dimetilformamida, o en un disolvente clorado, por ejemplo, cloroformo o diclorometano, a una temperatura en el intervalo de aproximadamente -30°C a aproximadamente 60°C, de manera conveniente a o próxima a la temperatura ambiental.



En otro ejemplo general, se puede tratar un compuesto de la fórmula V, que contiene un grupo OH o NH libre, con cloroformiato de 4-nitrofenilo en un disolvente tal como piridina, a una temperatura de aproximadamente -10°C a temperatura ambiente, seguido de un tratamiento con un inhibidor de óxido nítrico-sintasa que contiene un grupo OH o NH libre, para dar un compuesto de la fórmula I que contiene un grupo carbonato, carbamato o urea.

En un ejemplo general adicional, se puede tratar un compuesto de la fórmula V, que contiene un grupo NH libre, con un monoéster de ácido dicarboxílico tal como succinato monometílico en presencia de un agente de acoplamiento tal como una carbodiimida, por ejemplo, dicitclohexil-carbodiimida, o 1-(3-dimetilamino-propil)-3-etil-carbodiimida y, opcionalmente, una base tal como una base orgánica, por ejemplo, trietilamina, en un disolvente tal como un disolvente aprótico, por ejemplo, dimetilformamida, o en un disolvente clorado, por ejemplo, cloroformo o diclorometano, a una temperatura en el intervalo de aproximadamente -30°C a aproximadamente 60°C, de manera conveniente a o próxima a temperatura ambiente. El éster resultante se puede hidrolizar por tratamiento con un ácido acuoso o una base acuosa, bajo condiciones estándares, y el ácido carboxílico obtenida de esta forma se trata con un inhibidor de óxido nítrico-sintasa que contiene un grupo OH o NH libre, utilizando un agente de acoplamiento como se ha descrito anteriormente, para dar compuestos según la invención.

En otro ejemplo general, se puede convertir un compuesto de la fórmula V, que contiene un grupo ácido carboxílico, en un compuesto de la fórmula I que contiene una amida o éster, mediante tratamiento con un inhibidor de óxido nítrico-sintasa que contiene un grupo amino o un grupo hidroxilo, respectivamente, utilizando un agente de acoplamiento como se ha descrito anteriormente.

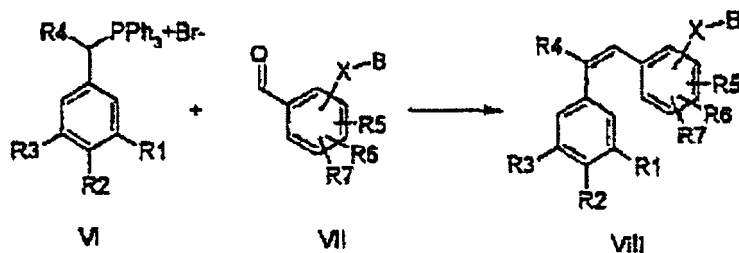
En un ejemplo general adicional, se puede hacer reaccionar un compuesto de la fórmula V que contiene un grupo monohalo-alquilo, con un inhibidor de óxido nítrico-sintasa que contiene un grupo OH, NH o SH libre, en presencia de una base tal como carbonato sódico o un hidruro metálico tal como hidruro sódico, en un disolvente tal como dimetilformamida, a una temperatura de aproximadamente 0°C hasta una temperatura de aproximadamente 100°C para dar compuestos según la invención.

En otro ejemplo general, se puede tratar un compuesto de la fórmula V, que contiene un grupo ácido carboxílico, con un compuesto diamino, dihidroxi o aminohidroxi monoprotegido, tal como un diamino-alcano monoprotegido, un dihidroxi-alcano monoprotegido o un aminohidroxi-alcano monoprotegido, utilizando un agente de acoplamiento como se ha descrito anteriormente, y desproteger la amida o el éster resultante y hacerlo reaccionar con un inhibidor de óxido nítrico-sintasa que contiene un ácido carboxílico, usando un agente de acoplamiento como se ha descrito anteriormente.

En otro ejemplo general, se puede sulfonilar un compuesto de la fórmula V que contiene un grupo OH o NH con un cloruro de amino-sulfonilo protegido tal como un cloruro de amino-alquilsulfonilo protegido, o un cloruro de hidroxisulfonilo protegido tal como un cloruro de hidroxialquilsulfonilo protegido, en presencia de una base, por ejemplo, una base de amina terciaria tal como trietilamina, en, por ejemplo, un disolvente tal como un disolvente hidrocarburo, por ejemplo, diclorometano, a una temperatura en el intervalo de, por ejemplo, -30°C a 120°C, de manera conveniente a o próxima a la temperatura ambiente, la sulfonamida o sulfonato resultante se desprotege y se hace reaccionar con un inhibidor de óxido nítrico-sintasa que contiene un ácido carboxílico, utilizando un agente de acoplamiento como se ha descrito anteriormente.

En otro ejemplo un compuesto de fórmula V que contiene un grupo OH, SH ó NH libre se puede alquilar con un agente alquilante difuncional tal como un dihaloalcano en presencia de una base como carbonato sódico o un hidruro metálico tal como hidruro sódico en un disolvente como dimetilformamida a una temperatura de aproximadamente 0°C hasta una temperatura de aproximadamente 100°C, y hacer reaccionar después el haloalcano resultante en condiciones similares con un inhibidor de la óxido nítrico sintasa que contiene un grupo OH, SH ó NH libre.

Los compuestos de fórmula VII también se pueden preparar mediante la síntesis de olefinas de Wittig que implica la reacción de una sal de fosonio de fórmula VI con una base fuerte, por ejemplo un alquililitio tal como n-butillitio o t-butillitio o un hidruro metálico tal como un hidruro sódico en un disolvente tal como un disolvente de tipo éter por ejemplo dietil éter o tetrahidrofurano o en un disolvente como un disolvente hidrocarbonado por ejemplo tolueno a una temperatura de entre aproximadamente -100°C a aproximadamente 30°C seguido por un tratamiento con un aldehído de fórmula VII.



Los compuestos de fórmula I también se pueden preparar a partir de otros compuestos de fórmula I por modificación química. Ejemplos de tales modificaciones químicas que se pueden aplicar son las reacciones estándar de alquilación, acilación, tioacilación, sulfonilación, halogenación aromática y acoplamiento. Estas reacciones se pueden usar para añadir nuevos sustituyentes o para modificar sustituyentes existentes. Alternativamente, los sustituyentes existentes en los compuestos de fórmula I se pueden modificar mediante, por ejemplo, oxidación, reducción, eliminación, hidrólisis u otras reacciones de escisión para dar lugar a otros compuestos de fórmula I.

De esta forma, por ejemplo, un compuesto de la fórmula I que contiene un grupo amino, se puede acilar en el grupo amino mediante tratamiento con, por ejemplo, un haluro o anhídrido acílico en presencia de una base, por ejemplo, una base de amina terciaria tal como trietilamina en, por ejemplo, un disolvente tal como un disolvente hidrocarburo, por ejemplo, diclorometano, a una temperatura en el intervalo de, por ejemplo, -30°C a 120°C, de manera conveniente a o próxima a la temperatura ambiente.

En otro ejemplo general de un proceso de interconversión, se puede sulfonilar un grupo amino en un compuesto de la fórmula I por tratamiento con, por ejemplo, un cloruro de alquil- o aril-sulfonilo o un anhídrido alquil- o aril-sulfónico en presencia de una base, por ejemplo, una base de amina terciaria tal como trietilamina en, por ejemplo, un disolvente tal como un disolvente hidrocarburo, por ejemplo, diclorometano, a una temperatura en el intervalo de, por ejemplo, -30°C a 120°C, de manera conveniente a o próxima a la temperatura ambiente.

En un ejemplo general adicional, se puede hidrolizar un compuesto de la fórmula I que contiene un éster por tratamiento con un ácido, por ejemplo, ácido sulfúrico, en un disolvente tal como tetrahidrofurano, en presencia de agua, a una temperatura de aproximadamente temperatura ambiente a la temperatura de reflujo del disolvente, preferentemente a o alrededor de 60°C.

En un ejemplo general adicional, se puede hidrolizar un compuesto de la fórmula I que contiene una amida por tratamiento con, por ejemplo, un ácido tal como ácido clorhídrico, en un disolvente tal como un alcohol, por ejemplo, metanol, a una temperatura elevada, de manera conveniente a temperatura de reflujo.

En otro ejemplo general, se puede escindir un grupo O-alquilo al correspondiente alcohol (OH) por reacción con tribromuro bórico en un disolvente tal como un disolvente clorado, por ejemplo, diclorometano, a una temperatura baja, por ejemplo, aproximadamente a -78°C.

En un ejemplo general adicional, se pueden alquilar compuestos de la fórmula I mediante reacción con un agente alquilante apropiado tal como un haluro de alquilo, un toluenosulfonato de alquilo, un metanosulfonato de alquilo, o un triflato de alquilo. La reacción de alquilación se puede llevar a cabo en presencia de una base, por ejemplo, una base inorgánica tal como un carbonato, por ejemplo, carbonato de cesio o potasio, un hidruro tal como un hidruro sódico, o un alcóxido tal como terc-butóxido de potasio, en un disolvente apropiado tal como un disolvente aprótico, por ejemplo, dimetilformamida, o un disolvente etérico tal como tetrahidrofurano, a una temperatura de aproximadamente -10 a 80°C.

La preparación de un compuesto de la fórmula I en forma de enantiómero simple o, cuando sea adecuado, de diastereoisómero, se puede llevar a cabo por síntesis a partir de un material de partida o un intermedio enantioméricamente puro, o mediante resolución del producto final de manera convencional.

Las sales por adición de ácido de los compuestos de la fórmula I se preparan de forma convencional, tratando una solución o suspensión de la base libre I con aproximadamente un equivalente de un ácido farmacéuticamente aceptable. Sales de compuestos de la fórmula I derivadas de bases inorgánicas u orgánicas se preparan de manera convencional, tratando una solución o suspensión del ácido libre I con aproximadamente un equivalente de una base orgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable. De forma alternativa, tanto las sales de adición de ácido como las sales derivadas de bases se pueden preparar mediante tratamiento del compuesto parental con la resina de intercambio iónico apropiada de manera estándar. Para el aislamiento de las sales se utilizan técnicas convencionales de concentración y recristalización.

Los compuestos según la invención tienen la capacidad de destruir la red vascular tumoral y los vasos sanguíneos de nueva formación, sin afectar a los vasos sanguíneos maduros y normales. La capacidad de los compuestos para actuar de este modo se puede determinar mediante los ensayos descritos en los Ejemplos que se muestran más adelante.

Los compuestos según la invención son, por consiguiente, particularmente útiles en la profilaxis y el tratamiento de cánceres que comprenden tumores sólidos, y en la profilaxis y el tratamiento de enfermedades en las que se produce una angiogénesis inadecuada tales como retinopatía diabética, psoriasis, artritis reumatoide, aterosclerosis, y degeneración macular.

Los compuestos según la invención se pueden administrar como terapia única o en combinación con otros tratamientos. Para el tratamiento de tumores sólidos, los compuestos de la invención se pueden administrar en combinación con radioterapia, o en combinación con otras sustancias antitumorales, por ejemplo, las seleccionadas de inhibidores de la mitosis, por ejemplo, vinblastina, paclitaxel y docetaxel; agentes alquilantes, por ejemplo, cisplatino, carboplatino y ciclofosfamida; antimetabolitos, por ejemplo, 5-fluorouracilo, citosina arabinosa e hidroxiurea; agentes intercalantes, por ejemplo, adriamicina y bleomicina; enzimas, por ejemplo, aspariginasa; inhibidores de la topoisomerasa, por ejemplo, etopósido, topotecán e irinotecán; inhibidores de la timidinato-sintasa, por ejemplo, raltitrexed; modificadores de la respuesta biológica, por ejemplo, interferón; anticuerpos, por ejemplo, edrecolomab; y anti-hormonas, por ejemplo, tamoxifeno. Dicho tratamiento de combinación puede significar la aplicación simultánea o secuencial de los componentes individuales del tratamiento.

Para la profilaxis y el tratamiento de enfermedades, los compuestos según la invención se pueden administrar como composiciones farmacéuticas seleccionadas con respecto a la vía de administración prevista y al práctica farmacéutica estándar. Estas composiciones farmacéuticas pueden adoptar una forma adecuada para administración oral, bucal, nasal, tópica, rectal o parenteral, y se pueden preparar de manera convencional usando excipientes convencionales. Por ejemplo, para la administración oral, las composiciones pueden adoptar la forma de comprimidos o cápsulas. Para la administración nasal o administración por inhalación, los compuestos se pueden suministrar, de manera conveniente, en forma de polvo o en solución. La administración tópica puede realizarse en forma de ungüento o crema, y la administración rectal puede hacerse en forma de supositorio. Para la inyección parenteral (incluidas intravenosa, subcutánea, intramuscular, intravascular o infusión), la composición puede adoptar la forma de, por ejemplo, una solución, suspensión o emulsión estéril.

La dosis de un compuesto de la invención requerida para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad particular variará en función del compuesto elegido, la vía de administración, la forma y gravedad del trastorno, y de si el compuesto se administrará solo o en combinación con otro medicamento. Por lo tanto, el médico responsable del tratamiento determinará la dosis precisa, pero, en general, las dosificaciones diarias pueden estar en el intervalo de 0,001 a 100 mg/kg, preferentemente 0,01 a 50 mg/kg.

Actividad biológica

Se utilizó el siguiente ensayo para demostrar la actividad de los compuestos según la invención:

Actividad contra la red vascular tumoral medida por tinción fluorescente

El siguiente experimento demuestra, adicionalmente, la capacidad de los compuestos para dañar la red vascular tumoral.

Se midió el volumen de la red vascular funcional de un tumor en ratones portadores de tumores CaNT, usando la tinción fluorescente Hoechst 33343, de acuerdo con el método de Smith *et al.* (*Brit J Cancer* 57, 247-253, 1988). La tinción fluorescente se disolvió en solución salina a 6,25 mg/ml y se inyectó por vía intravenosa a una dosis de 10 mg/kg 24 horas después del tratamiento farmacológico. Un minuto más tarde, los animales fueron sacrificados y se escindieron y congelaron los tumores; se cortaron secciones de 10 μ m a 3 niveles diferentes, observándolas bajo iluminación UV usando un microscopio Olympus equipado con epifluorescencia. Los vasos sanguíneos se identificaron por su contorno fluorescente, y se cuantificó el volumen vascular usando un sistema de puntuación basado en el descrito por Chalkey (*J Natl Cancer Inst.* 4, 47-53, 1943). Todas las estimaciones se basaron sobre un recuento mínimo de 100 campos a partir de secciones cortados e los 3 niveles diferentes.

Inducción de necrosis

Los ratones portadores de tumores CaNT o SaS se trataron con el compuesto de ensayo y los tumores se escindieron después de 24 h, se fijaron en formalina, se incluyeron en parafina, se seccionaron y tiñeron con hematoxilina y eosina. Las secciones se puntuaron sobre la base de la zona de necrosis de la forma siguiente:

% necrosis	puntuación	% necrosis	puntuación
0-10	1	51-60	6
11-20	2	61-70	7
21-30	3	71-80	8
31-40	4	81-90	9
41-50	5	91-100	10

Los tumores de control tuvieron puntuaciones medias de 2,0 (CaNT) y 1,0 (SaS). Se obtuvieron valores medios de al menos tres tumores diferentes para cada compuesto de ensayo.

TABLA

Reducción del Volumen Vascular e Inducción de Necrosis en el Tumor NT de Carcinoma, 24 h después de la Dosis: Comparación con Fosfato de Combretastatina A4 (CA4P)

5	Compuesto	Dosis	% de Reducción del Volumen Vascular	Puntuación de Necrosis
10				
	CA4P	50 mg/kg i.v.	88	5,7
	CA4P	50 mg/kg i.v.	91	6,0
15	Comp. Ejemplo 1	50 mg/kg i.v.	98	10,0
	Comp. Ejemplo 2	50 mg/kg i.p.	95	8,0
20				

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención:

25 Ejemplo 1

(Z)-1-(4-metoxi-3-N^G-nitroarginiloxifenil)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-eteno

Se agregó ácido trifluoroacético (0,2 ml) a una solución de (Z)-1-(3-(N- α -terc-butoxicarbonil-N- ω -nitroarginiloxi)-4-metoxifenil)-2,3,4-trimetoxifenil)-eteno (82 mg) en diclorometano (3 ml) a 0°C, se dejó que la mezcla alcanzara temperatura ambiente, y se agitó durante 16 h. La mezcla se concentró bajo presión reducida, se agregó etanol (5 ml), la mezcla se reconcentró bajo presión reducida, y el procedimiento se repitió tres veces. La trituration con éter dietílico proporcionó el compuesto del título (69 mg) en forma de polvo de color blancuzco, p.f. 157-159°C. El (Z)-1-(3-(N- α -terc-butoxicarbonil-N- ω -nitroarginiloxi)-4-metoxifenil)-2-(2,3,4-trimetoxifenil)-eteno utilizado en el procedimiento anterior se preparó de la forma siguiente: A temperatura ambiente, se agitó durante 72 h una solución de (Z)-1-(3-hidroxil-4-metoxifenil)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-eteno (65 mg, 0,21 mmol), N- α -t-BOC- ω -nitro-L-arginina (134 mg, 0,42 mmol), hidrócloruro de 1-(3-dimetil-aminopropil)-3-etil-carbodiimida (110 mg, 0,54 mmol), y 4-dimetil-aminopiridina (5 mg) en diclorometano (2,1 ml). La mezcla de reacción se distribuyó entre diclorometano y agua, y la fase acuosa se extrajo con dos porciones de diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavaron sucesivamente con dos porciones de agua y una de salmuera, se secaron (MgSO₄) y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con acetato etílico al 33%/hexano, seguido de acetato etílico al 100% para dar (Z)-1-(3-(N- α -terc-butoxicarbonil-N- ω -nitroarginiloxi)-4-metoxifenil)-2-(2,3,4-tri-metoxifenil)-eteno (82 mg) en forma de aceite blanco.

45 Ejemplo 2

Éster metílico de (Z)-N-[2-metoxi-5-[2-(3,4,5-trimetoxifenil)-etenil]-fenoxycarbonil]-N^G-nitroarginina

Se agregó, gota a gota, una solución de (Z)-1-(3-hidroxil-4-metoxifenil)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-eteno (400 mg, 1,27 mmol) en piridina anhidra (2 ml) a una mezcla refrigerada (0°C) de cloroformiato de 4-nitrofenilo (282 mg, 1,40 mmol) y piridina anhidra (1 ml). Después de 20 min, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 6 h adicionales. A esto se agregó hidrócloruro del éster metílico de L-N^G-nitroarginina (343 mg, 1,27 mmol, azeotropado con tolueno), y la mezcla se calentó (70°C) durante 72 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, se distribuyó la mezcla de reacción (acetato etílico, agua), la capa orgánica se lavó (agua x 3), se extrajo la capa acuosa (acetato etílico x 3), las fracciones orgánicas combinadas se lavaron adicionalmente (agua x 2, NaCl_(ac) saturado x 1), se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. La cromatografía instantánea sobre sílice, eluyendo con acetato etílico al 50%/hexano y, a continuación, acetato etílico al 100%, proporcionó el compuesto del título en forma de espuma blanca (292 mg). Análisis elemental: calculado C 54,26%, H 5,78%, N 12,7%, hallado C 53,97%, H 6,07%, N 11,55%.

60 Ejemplo 3

(Z)-N-[2-metoxi-5-[2-(3,4,5-trimetoxifenil)-etenil]-fenoxycarbonil]-N^G-nitroarginina

Se calentó una mezcla de éster metílico de (Z)-N-[2-metoxi-5-[2-(3,4,5-trimetoxifenil)-etenil]-fenoxycarbonil]-N^G-nitroarginina (95 mg, 0,165 mmol), tetrahidro-furano (10 ml), agua (10 ml) y ácido sulfúrico concentrado (1 ml) a 60°C durante 72 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se distribuyó (acetato etílico,

agua), se extrajo la capa acuosa (acetato etílico x 3), las fracciones orgánicas combinadas se lavaron adicionalmente (agua x 2, NaCl_(ac) saturado x 1), se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío. El compuesto del título se obtuvo en forma de aceite opaco (90 mg, 98%). La LC-MS indicó una pureza >95%.

5 De manera similar el Ejemplo 2, se preparó:

Ejemplo 4

10 *Éster metílico de (Z)-N-[2-metil-5-[2-(3,4,5-trimetoxifenil)-etenil]-fenoxycarbonil]-N^G-nitroarginina*

A partir de (Z)-1-(3-hidroxi-4-metil)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-eteno (125 mg, 0,42 mmol), cloroformiato de nitrofenilo (93 mg, 0,46 mmol), e hidrocloreuro del éster metílico de L-N^G-nitroarginina (113 mg, 0,42 mmol), se obtuvo el compuesto del título (15 mg) en forma de aceite incoloro. La LC-MS indicó una pureza >95%. MS (*m/z*) 300 (M⁺), 285. El (Z)-1-(3-hidroxi-4-metil)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-eteno utilizado como material de partida se preparó de la forma siguiente:

Una suspensión de bromuro de 3,4,5-trimetoxibencil-trifenil-fosfonio (8 g, 15,3 mmol) en tetrahidrofurano (450 ml) a -23°C se trató con *n*-butil-litio (10 ml de una solución en hexanos, 15,3 mmol), gota a gota, y la mezcla se agitó durante 1 h. Se agregó 4-metoxi-3-terc-butil-dimetil-silil-oxi-benzaldehído (4,07 g, 15,3 mmol) y la mezcla se agitó durante 4 h adicionales a -23°C, antes de calentarla a temperatura ambiente y agitar durante 16 h adicionales. La mezcla se vertió sobre agua helada (150 ml) y se extrajo con éter dietílico (tres porciones de 150 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (tres porciones de 150 ml) y salmuera (150 ml), se secaron (MgSO₄), y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con acetato etílico al 5% en hexano, seguido de acetato etílico al 15% en hexano, para dar un sólido de color blanco (4,61 g) consistente en (Z)-1-(4-metil-3-terc-butil-dimetil-silil-oxi-fenil)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-eteno. Una porción de este material (3,46 g, 8 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (60 ml), y se trató con fluoruro de tetrabutilamonio (8,3 ml de una solución 1,0 M en tetrahidrofurano, 8,3 mmol), y se agitó durante 20 min. Se agregó hielo (20 g) y la mezcla se extrajo con éter dietílico (200 ml). El extracto se lavó con agua (tres porciones de 80 ml), se secó (MgSO₄) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con acetato etílico al 40% en hexano. Se obtuvo 1-(3-hidroxi-4-metil)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-eteno (2,01 g) en forma de sólido blanco.

REIVINDICACIONES

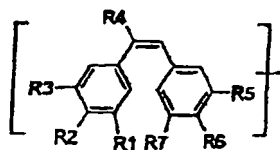
1. Un compuesto de la fórmula I

A-X-B

I

en la que

A es un resto cis-estilbeno sustituido de la fórmula II



II

en la que R1, R2 y R3 son, independientemente, H, alcoxi opcionalmente sustituido, alquilo opcionalmente sustituido, o halógeno,

R4 es hidrógeno,

R5, R6 y R7 son, independientemente, H, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido, alquilo opcionalmente sustituido, halógeno, amino, alquilamino, dialquilamino, ciano, nitro, carboxilo, alcanoflo, alcoxicarbonilo, alcoxi-carbonilo, alcoxi-carbonilamino, amino-carbonilamino, alquilamino-carbonilamino, dialquilamino-carbonilamino, alquil-carbonilamino, alquil-sulfonilo, amino-sulfonilo, alquilamino-sulfonilo, dialquilamino-sulfonilo, alquil-sulfonilamino, amino-sulfonilamino, alquilamino-sulfonilamino, dialquilamino-sulfonilamino, mercapto, alquil-sulfanilo o alquil-sulfino,

con la condición de que al menos dos de R1, R2 y R5 deben ser alcoxi opcionalmente sustituidos;

X es una unión, átomo o grupo de enlace;

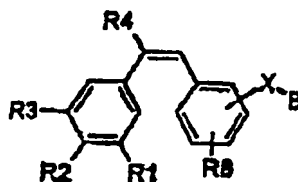
B es $-C(O)CH(NH_2)-(CH_2)_p-NHC(NH)Z$ o un grupo $-NHCH(CO_2R_{10})-(CH_2)_p-NHC(NH)Z$, en donde p es 1-5 y Z es alquilo, alquilamino, dialquilamino, nitroamino, hidrazino o alquiltio, y R10 es hidrógeno o alquilo;

y los hidratos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para usar como agente dañino vascular.

2. Un agente según la reivindicación 1, en el que X es una unión de enlace.

3. Un agente según la reivindicación 1, en el que el enlace X se selecciona de una cadena metileno opcionalmente sustituida, o $-(CH_2)_m-Y-(CH_2)_n-$ en donde Y se selecciona de $-O-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-SO_2-$, $-NH-$, $-N$ -alquilo-, $-CO-$, $-OC(O)-$, $-NHC(O)-$, $-N$ -(alquil)- $C(O)-$, $-NHC(O)NH-$, $-N$ -alquil- $C(O)NH-$, $-N$ -alquil- $C(O)-N$ -alquilo-, $-NHSO_2-$, $-N$ -alquil- SO_2- , $-NHSO_2NH-$, $-N$ -alquil- SO_2NH- , $-N$ -alquil- SO_2-N -alquilo-, y $-OC(O)O-$, m es 0-3 y n es 0-3.

4. Un agente según la reivindicación 1, en el que el compuesto es

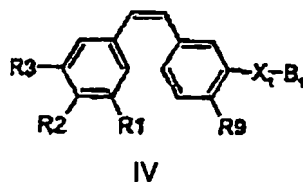


III

en el que R8 es alquilo, amino, hidroxilo, alcoxi o halógeno.

5. Un agente según la reivindicación 4, en el que los compuestos son de la fórmula III, y X es $-O-$ o $-NH-$.

6. Un agente según la reivindicación 1, de la fórmula



en la que

R9 es alquilo, alcoxi o halógeno,

X₁ es O o NH, y

B₁ es un grupo -C(O)CH(NH₂)-(CH₂)_p-NHC(NH)Z, en donde p es 1-5.

7. Un agente según la reivindicación 1, que se selecciona de

(Z)-1-(4-metoxi-3-N^G-nitroarginiloxifenil)-2-(3,4,5-trimetoxi-fenil)-eteno;

éster metílico de (Z)-N-[2-metoxi-5-[2-(3,4,5-trimetoxifenil)-etenil]-fenoxycarbonil]-N^G-nitroarginina;

(Z)-N-[2-metoxi-5-[2-(3,4,5-trimetoxifenil)-etenil]-fenoxycarbonil]-N^G-nitroarginina; y

éster metílico de (Z)-N-[2-metil-5-[2-(3,4,5-trimetoxifenil)-etenil]-fenoxycarbonil]-N^G-nitroarginina.

8. Uso de un compuesto de estilbeno sustituido, hidrato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la retinopatía diabética, psoriasis, artritis reumatoide, aterosclerosis o degeneración macular.