

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 377 498**

51 Int. Cl.:
C07D 285/12 (2006.01) **A61P 37/02** (2006.01)
C07D 417/04 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01)
A61K 31/433 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 9/04 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04728012 .8**
- 96 Fecha de presentación: **16.04.2004**
- 97 Número de publicación de la solicitud: **1616866**
- 97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.01.2006**

54 Título: **Inhibidor de quinesina en etapa M**

30 Prioridad:
18.04.2003 JP 2003114071
10.06.2003 JP 2003164727

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.03.2012

73 Titular/es:
KYOWA HAKKO KIRIN CO., LTD.
1-6-1, OHTEMACHI, CHIYODA-KU
TOKYO, JP y
FUJIFILM CORPORATION

72 Inventor/es:
MURAKATA, Chikara;
YAMASHITA, Yoshinori;
NAKAI, Ryuichiro;
AKASAKA, Kazuhito;
INO, Yoji;
KATO, Kazuhiko y
KITAMURA, Yushi

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 377 498 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Inhibidor de quinesina en etapa M.

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un inhibidor de la quinesina mitótica Eg5 que comprende un derivado de tiadiazolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como un ingrediente activo, que es eficaz en el tratamiento de una enfermedad asociada a la proliferación celular, por ejemplo, restenosis, hipertrofia cardiaca, enfermedades inmunológicas y similares.

Técnica anterior

10 Las quinesinas mitóticas son proteínas que están involucradas en la regulación de husos mitóticos y desempeñan un papel esencial en el avance de la fase mitótica en ciclos celulares. Estas proteínas tienen la función de mover las proteínas a lo largo de los microtúbulos usando la energía producida por hidrólisis ATP, y pertenecen a una clase de proteínas funcionales generalmente denominadas "motores moleculares". En la fase mitótica, las proteínas están profundamente involucradas en la extensión y el mantenimiento de los husos mitóticos, así como en la formación de la estructura denominada cuerpo polar de huso, y además, regulan el avance de la división celular normal a través del movimiento de cromosomas a lo largo de los microtúbulos de los husos.

15 La quinesina mitótica Eg5 es una de las quinesinas mitóticas que constituyen una subfamilia evolucionariamente conservada. Se sabe que Eg5 tiene una función como molécula homotetramérica bipolar, y está involucrada en la formación de la estructura bipolar de los husos mediante la reticulación de dos de los microtúbulos de la misma dirección y el movimiento de los mismos en la dirección hacia el extremo + (más) para causar el deslizamiento de dos de los microtúbulos antiparalelos, de ese modo, mantiene los extremos - (menos) de los microtúbulos a una distancia y separa los cuerpos polares de los husos. Las funciones anteriores de Eg5 se clarificaron en base al análisis de las células humanas tratadas con anticuerpo anti-Eg5 y un inhibidor específico [Cell, Volumen 83, página 1159. (1995); J. Cell Biol., Volumen 150, página 97,5 (2000); Jikken Igaku (Experimental Medicine), Volumen 17, página 439 (1999)].

20 El gen de Eg5 humana se clonó en 1995, y se ha informado sobre la expresión de una proteína recombinante de Eg5 humana de longitud completa usando una célula de insecto y el análisis funcional usando la proteína resultante [Cell. Volumen 83, página 1159 (1995)]. El gen se registró en una base de datos pública como números de acceso a GenBank: X85137, NM004523 y U37426. Se ha informado también de un análisis bioquímico y un análisis de estructura por cristalización de Eg5 mediante el uso de una porción del extremo terminal N de Eg5 humana, expresado usando células *Escherichia coli* [J. Biological Chemistry, Volumen 276, página 25496 (2001); Chemistry & Biology, Volumen 9, página 989 (2002)], que aplicó una técnica similar al análisis usando Eg5 obtenida de *Xenopus laevis* que tiene una alta homología con la Eg5 humana [Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU, Volumen 96, página 9106 (1999); Biochemistry, Volumen 35, página 2365 (1996)].

25 Según lo que se ha descrito anteriormente, la quinesina mitótica Eg5 es importante como una molécula diana de un novedoso agente de acción en fase mitótica y se considera que un inhibidor contra dicha molécula es prometedor como agente para el tratamiento terapéutico de enfermedades en las que está involucrada la proliferación celular (por ejemplo, restenosis, hipertrofia cardiaca, artritis, enfermedades inmunológicas, y similares) [Documentos WO01/98278; WO02/56880; WO02/57244; Trends in Cell Biology, Volumen 12, página 585 (2002)].

30 Como compuestos que tienen actividad inhibidora contra la enzima Eg5 humana, se describieron monastrol [Science, Volumen 286, página 971 (1999)], derivados de quinazolina (WO01/98278), derivados de fenatiazina (WO02/57244), derivados de trifenilmetano (WO02/56880), derivados de dihidropirimidina (WO02/79149; WO02179169), derivados de dihidropirazol (WO03/79973), y similares.

35 Se conocen derivados de tiadiazolina que tienen actividad inhibidora contra la activación del factor de transcripción STAT6 o aquellos que tienen una acción antagonista de la integrina (Publicación no Examinada de Patente Japonesa (KOKAI) Núm. 2000-229959; WO01/56994), y además, también son conocidos aquellos que tienen una actividad antibacteriana, actividad inhibidora de ACE o similar (WO93/22311; Publicación no Examinada de Patente Japonesa (KOKAI) Núm. 62-53976; J. Bangladesh Chem. Soc., Volumen 5, página 127 (1992)).

40 El documento WO 02/079149 A2 describe novedosos compuestos de hidropirimidina sustituidos con ciano que inducen la detención mitótica haciéndolos de ese modo útiles como agentes anticáncer. Los compuestos también son útiles para el tratamiento de otras enfermedades que pueden tratarse mediante la inducción de la detención mitótica.

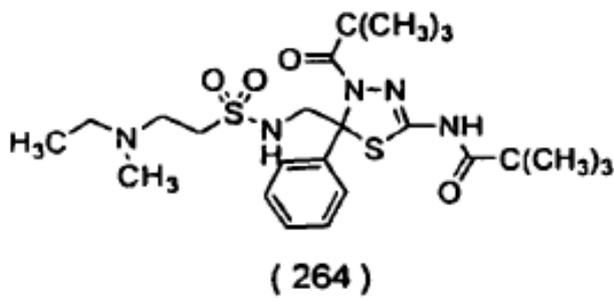
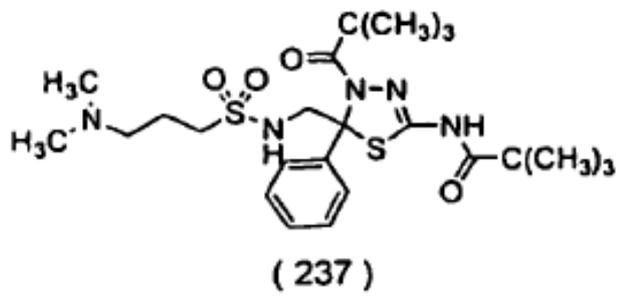
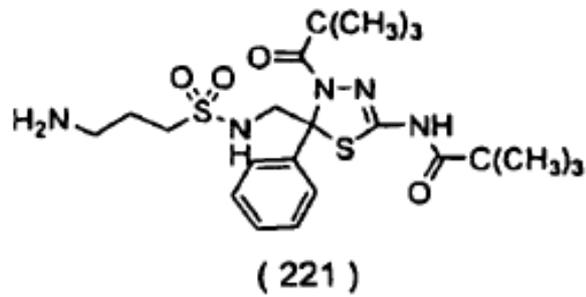
50 Divulgación de la invención

Un objeto de la presente invención es proporcionar un inhibidor de quinesina mitótica Eg5 y similares, que comprende un derivado de tiadiazolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo.

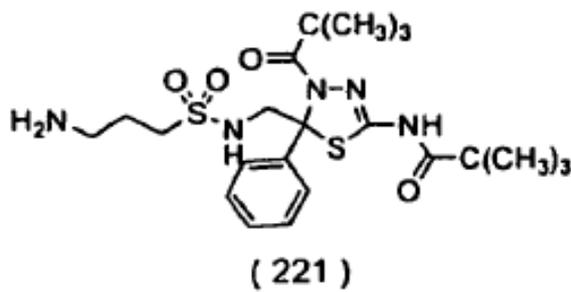
La presente invención se refiere a lo siguiente.

1. Un derivado de tiadiazolina representado por la fórmula (221), (237) o (264), o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo.

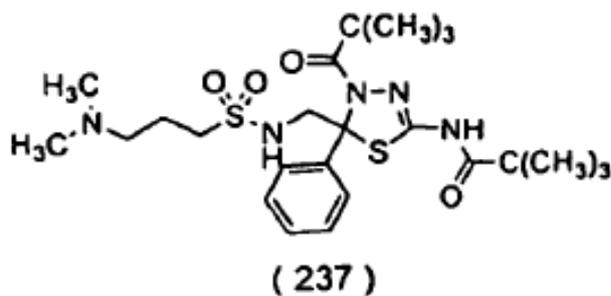


2. Un derivado de tiadiazolina representado por la fórmula (221), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

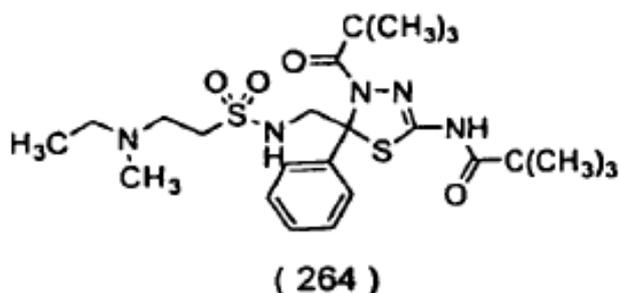


5

3. Un derivado de tiadiazolina representado por la fórmula (237), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



4. Un derivado de tiadiazolina representado por la fórmula (264), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

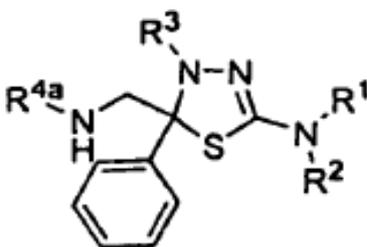


5. Un medicamento, que comprende el derivado de tiadiazolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como un ingrediente activo.
6. El derivado de tiadiazolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para el uso en la inhibición de una quinesina mitótica Eg5.+
7. Uso del derivado de tiadiazolina en conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un inhibidor de quinesina mitótica Eg5.

Ejemplos de la sal farmacéuticamente aceptable de los Compuestos 221, 237 y 264 incluyen sales de adición ácidas, sales de metal, sales de amonio, sales de adición de amina orgánica, sales de adición de aminoácidos farmacéuticamente aceptables y similares. Ejemplos de la sal de adición ácida farmacéuticamente aceptable de los Compuestos 221, 237 y 264 Compuesto (IA) incluyen sal de adición ácida inorgánica tal como hidrocloreuro, sulfato y fosfato, una sal de adición ácida orgánica tal como acetato, maleato, fumarato y citrato, y similares. Ejemplos de la sal de metal farmacéuticamente aceptable incluyen una sal de metal alcali tal como una sal de sodio y una sal de potasio, una sal de metal alcalino térreo tal como una sal de magnesio y una sal de calcio, una sal de aluminio; una sal de zinc y similares. Ejemplos de la sal de amonio farmacéuticamente aceptable incluyen una sal de amonio, tetrametilamonio o similares. Los ejemplos de la sal de adición de amina orgánica farmacéuticamente aceptable incluyen una sal de adición de morfolina, piperidina o similares. Ejemplos de la sal de adición de aminoácido farmacéuticamente aceptable incluyen una sal de adición de lisina, glicina, fenilalanina, ácido aspártico, ácido glutámico o similares.

Ejemplos específicos obtenidos por la presente invención se muestran en la Tabla.

Tabla 1



Ejemplo Núm.	Compuesto Núm.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
25	220*	H	COC(CH ₃) ₃	COC(CH ₃) ₃	SO ₂ (CH ₂) ₃ NH ₂
26	221	H	COC(CH ₃) ₃	COC(CH ₃) ₃	SO ₂ (CH ₂) ₃ NH ₂

*) El Compuesto 221 es hidrocloreuro del Compuesto 220

42	237	H	COC(CH ₃) ₃	COC(CH ₃) ₃	SO ₂ (CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂
43	238*	H	COC(CH ₃) ₃	COC(CH ₃) ₃	SO ₂ (CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂

*) El Compuesto 238 es hidrocloreuro del Compuesto 237

69	264	H	COC(CH ₃) ₃	COC(CH ₃) ₃	SO ₂ (CH ₂) ₂ N(CH ₃)CH ₂ CH ₃
----	-----	---	------------------------------------	------------------------------------	--

5 Las actividades biológicas de un Compuesto típico de la invención serán explicadas específicamente mediante el siguiente ensayo.

Ejemplo de ensayo 4: ensayo de inhibición de la enzima Eg5 (2)

Se preparó una proteína de dominio motor Eg5 humana recombinante haciendo referencia a la literatura [Biochemistry, Volumen 35, página 2365 (1996)]. Se construyó un plásmido que expresaba el dominio motor de Eg5 humana, y se transformó en *Escherichia coli* BL21 (DE3). El transformante se cultivó a 25 °C, y cuando la DO₆₀₀ alcanzó 0,74, se añadió isopropil-B-D-tiogalactosida en una concentración final de 0,5 mmol/l. El transformante demás se cultivó durante 4 horas, y después el medio de cultivo se centrifugó para recolectar las células. Las células se suspendieron en un tampón y se sometieron a ultrasonido, y después la solución sonicada se centrifugó para recuperar el sobrenadante. El sobrenadante se purificó mediante cromatografía en columna de intercambio catiónico para obtener una muestra parcialmente purificada. Además, la muestra parcialmente purificada se purificó mediante cromatografía en columna de filtración de gel para obtener una muestra finalmente purificada.

La medición de la actividad ATPase de Eg5 se llevó a cabo haciendo referencia a las literaturas [EMBO Journal, Volumen 13, página 751 (1994); Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU, Volumen 89, página 4884 (1992)]. Se prepararon las siguientes dos clases de soluciones: Solución A que consistía en 25 mmol/l de piperazina N,N'-bis(etanosulfonato) (PIPES)/KOH (pH 6,8), 1 mmol/l de ácido etilenglicol-bis(éter 2-aminoetilico)tetraacético (EGTA), 2 mmol/l de MgCl₂, 1 mmol/l de ditiotreitól (DTT), 5 µmol/l de paclitaxel, 167 µg/ml de albúmina de suero bovino (BSA), 41,7 µg/ml de tubulina (Cytoskeleton, Catálogo Núm. TL238), 333 µmol/l de sustrato de MESG (2-amino-6-mercapto-7-metilpurina ribosida) (Sondas moleculares, Número de Catalogo E-6646), 1,67 U/ml de purina nucleosida fosforilasa (Sonda molecular, Catálogo Núm. E-6646) y 1,33 µg/ml de la muestra purificada de dominio motor de Eg5 humana, y Solución B que consistía en 25 mmol/l de piperazina N,N'-bis(etanosulfonato) (PIPES)/KOH (pH 6,8), 1 mmol/l de ácido etilenglicol-bis(éter2-aminoetilico)tetraacético (EGTA), 2 mmol/l de MgCl₂, 1 mmol/l de ditiotreitól (DTT), 5 µmol/l de paclitaxel y 2,5 mmol/l de ATP. La Solución A se dispensó en cada pocillo de una placa de 96 pocillos como porciones de 45 µl. La Solución B se usó para diluir en forma serial un compuesto de ensayo. Las soluciones del compuesto de ensayo diluido en un volumen de 30 µl se mezclaron con la Solución A añadida anteriormente en cada pocillo de la placa de 96 pocillos para iniciar la reacción enzimática. La reacción enzimática se midió usando un lector de placa (Molecular Device, SpectraMax 340PC³⁸⁴). La absorbancia observada en presencia de Eg5 y ausencia del compuesto de ensayo se definió 100 %, y la absorbancia observada en ausencia de ambos Eg5 y el compuesto de ensayo se definió 0 %. La actividad relativa se calculó para calcular el valor IC₅₀.

Los Compuestos, 221, 238 y 264 inhibieron la actividad ATPase de Eg5 en una forma dependiente de la concentración, y se descubrió que los valores IC₅₀ de los compuestos eran 2 µmol/l o inferior.

35 Los compuestos o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos pueden administrarse solos. Sin embargo, habitualmente, preferentemente se proporciona el compuesto (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en diversas preparaciones farmacéuticas. Además, estas preparaciones farmacéuticas se usan para animales y seres humanos.

40 Las preparaciones farmacéuticas en conformidad con la presente invención pueden comprender el compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo sólo como ingrediente activo. Alternativamente, las preparaciones farmacéuticas pueden comprender una mezcla del compuesto para una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

con cualquier ingrediente efectivo usado para otro tratamiento. Además, estas preparaciones farmacéuticas se preparan mediante el mezclado de el/los ingrediente/s activo/s con uno o más vehículo/s farmacéuticamente aceptable/s y empelando después cualquier método bien conocido en el campo técnico de productos farmacéuticos.

5 En cuanto a las vías de administración, es preferible seleccionar la vía de administración más efectiva. Ejemplos de las vías de administración incluyen la administración oral y la administración parenteral tal como la administración intravenosa y similar.

En cuanto a la forma de dosificación, por ejemplo, se incluyen comprimidos, inyecciones y similares.

10 Por ejemplo, el comprimido apropiado para la administración oral puede prepararse con, por ejemplo, excipientes tales como lactosa y manitol; disgregantes tales como almidón, lubricantes tales como estearato de magnesio; ligantes tales como hidroxipropilcelulosa; tensioactivos tales como un éster de ácido graso; plastificantes tales como glicerol; y similares.

15 Preparaciones apropiadas para la administración parenteral preferiblemente comprenden una preparación acuosa esterilizada que contiene el compuesto activo y es isotónica para la sangre de un receptor. Por ejemplo, cuando se prepara una inyección, se prepara una solución para inyección mediante el uso de un vehículo que consiste en una solución de sal, solución de glucosa, a una mezcla de solución de sal y solución de glucosa, o similares.

También en estas preparaciones parenterales pueden añadirse, una o más clases de componentes auxiliares seleccionados de excipientes, disgregantes, lubricantes, ligantes, tensioactivos, plastificantes, diluyentes que están ejemplificados para la administración oral, conservantes, saborizantes y similares.

20 El Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en general se administra sistémicamente o localmente en forma de una preparación oral o parenteral cuando se usa para el fin antes mencionado. La dosis y la frecuencia de administración puede variar dependiendo de la forma de administración, la edad y el peso corporal de un paciente, la naturaleza y la gravedad de la afección que debe ser tratada, y similares. Cuando se lleva a cabo la administración oral, en general puede administrarse 0,01 a 1,000 mg/kg, preferiblemente 0,05 a 500 mg/kg por administración simple para un adulto una vez por día o una pocas veces al día. Cuando se lleva a cabo la administración parenteral tal como administración intravenosa, puede administrarse 0,001 a 1.000 mg/kg, preferiblemente 0,01 a 300 mg/kg, por administración simple para un adulto una vez por día o unas pocas veces al día, o puede administrarse continuamente por vía intravenosa durante 1 a 24 horas por día. Sin embargo, la dosis y la frecuencia de administración pueden variar dependiendo de las diversas afecciones antes mencionadas y similares.

La presente invención se explicará en detalle con referencia a los siguientes ejemplos y ejemplos de referencia.

30 Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (^1H RMN) usada en los Ejemplos y Ejemplos de Referencia se midieron a 270 o 300 MHz, y el hidrógeno intercambiable no siempre puede observarse claramente dependiendo del compuesto y las condiciones de medición. Para las descripciones de la multiplicidad de señales, aquellos

Ejemplo de Referencia 13 (Compuesto 208)

35 Etapa 1: Se disolvió hidrocloreto de 2-aminoacetofenona (2,93 g, 17,1 mmol) en acetonitrilo (100 ml). A la solución se añadió sucesivamente dicarbonato de di-terc-butilo (5,09 g, 22,9 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (2,21 g, 18,1 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 horas. A la mezcla de la reacción se añadió cloruro de amonio acuoso saturado, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo= 9/1 → 4/1) para dar 2-(N-ter-t-butoxicarbonilamino)acetofenona (865 mg, 21 %).

40 Etapa 2: la 2-(N-terc-butoxicarbonilamino)acetofenona (851 mg, 3,62 mmol) obtenida anteriormente se disolvió en metanol (20 ml). A la solución se añadió hidrocloreto de tiosemicarbazida (1,03 g, 8,04 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. A la mezcla de la reacción se añadió agua, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo resultante se disolvió en diclorometano (50 ml), a la solución se añadió piridina (1,75 ml, 21,7 mmol) y cloruro de trimetilacetilo (2,23 ml, 18,1 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. A la mezcla de la reacción se añadió bicarbonato de sodio saturado, y la mezcla además se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y después se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 9/1 → 4/1) para dar el Compuesto 208 (910 mg, 53 %).

APCI-MS m/z 477 (M+H)⁺.

Ejemplo de Referencia 21 (Compuesto 216)

El Compuesto 208 (3.13 g, 6.57 mmol) preparado en el Ejemplo 13 se añadió a 4 mol/l de cloruro de hidrógeno-

acetato de etilo (30 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de la reacción se concentró bajo presión reducida, y después el residuo se trituró con acetato de etilo para dar el Compuesto 216 (2,80 g, cuantitativo) como hidrocloreuro.

5 ^1H RMN (270 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1,17 (s, 9H), 1,32 (s, 9H), 4,06 (d, $J = 13,7$ Hz, 1H), 4,21 (d, $J = 13,7$ Hz, 1H), 7,20-7,44 (m, 5H), 8,30 (brs, 3H), 11,17 (s, 1H).

Ejemplo de Referencia 23 (Compuesto 218)

10 El hidrocloreuro del Compuesto 216 (2,80 g, 6,78 mmol) obtenido en el Ejemplo 21 se suspendió en diclorometano (50 ml), a la suspensión se añadió trietilamina (3,80 ml, 27,3 mmol) y cloruro de 3-cloropropanosulfonilo (1,24 ml, 10,2 mmol) bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 20 minutos. A la mezcla de la reacción se añadió agua y 1 mol/l de ácido clorhídrico, y la mezcla se extrajo con cloroformo. La capa orgánica se lavó sucesivamente con bicarbonato de sodio saturado y cloruro de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró bajo presión reducida. El residuo se trituró con un disolvente mixto de éter diisopropílico y acetato de etilo para dar el Compuesto 218 (3,01 g, 86 %).

ESI-MS m/z : 515, 517 (M-H).

15 Ejemplo 24 (Compuesto 219)

20 El Compuesto 218 (3,01 g, 5,82 mmol) obtenido en el Ejemplo 23, yoduro de sodio (17,50 g, 116,8 mmol) y azida sódica (3,80 g, 58,5 mmol) se suspendieron en DMF (50 ml), y la mezcla se agitó durante 4 horas a 90 °C. A la mezcla de la reacción se añadió agua, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró bajo presión reducida. El residuo se trituró con éter dietílico para dar el Compuesto 219 (2,29 g, 75 %).

APCI-MS m/z : 524 (M+H) $^+$.

Ejemplo 25 (Compuesto 220)

25 El Compuesto 219 (2,29 g, 4,37 mmol) obtenido en el Ejemplo 24 se disolvió en THF (75 ml), a la solución se añadió agua (15 ml) y trifetilfosfina (1,73 g, 6,60 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla de la reacción se concentró bajo presión reducida, y el residuo se trituró con éter dietílico y después con acetato de etilo para dar el Compuesto 220 (1,74 g, 80 %).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,29 (s, 9H), 1,33 (s, 9H), 1,96 (m, 2H), 2,85 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 3,19 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 3,99 (d, $J = 13,7$ Hz, 1H), 4,61 (d, $J = 13,7$ Hz, 1H), 7,24-7,39 (m, 5H).

APCI-MS m/z : 498 (M+H) $^+$.

30 Ejemplo 26 (Compuesto 221)

35 El Compuesto 220 (452 mg, 0,909 mmol) obtenido en el Ejemplo 25 se suspendió en acetato de etilo (10 ml), a la suspensión se añadieron 4 mol/l de cloruro de hidrógeno-acetato de etilo (0,5 ml) bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 minutos. La mezcla de la reacción se concentró bajo presión reducida, y el residuo se trituró con éter dietílico y después se cristalizó a partir de acetato de etilo y n-hexano para dar el Compuesto 221 (431 mg, 89 %) como hidrocloreuro.

^1H RMN (270 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,26 (s, 9H), 1,30 (s, 9H), 2,24 (m, 2H), 3,11 (m, 2H), 3,30 (m, 1H), 3,45 (m, 1H), 4,01 (d, $J = 13,7$ Hz, 1H), 4,63 (d, $J = 13,7$ Hz, 1H), 6,00 (br, 1H), 7,18-7,41 (m, 5H), 8,46 (br, 1H).

Ejemplo de Referencia 41 (Compuesto 236)

40 El Compuesto 234 (68 mg, 0,17 mmol) obtenido en el Ejemplo 39 se disolvió en acetonitrilo (1,5 ml), a la solución se añadió dimetilamina acuosa al 50 % (0,170 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas. La mezcla de la reacción se concentró bajo presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía preparativa de capa delgada (cloroformo que contenía amoníaco/metanol = 19/1) y después se trituró con éter diisopropílico para dar el Compuesto 236 (44 mg, 58 %).

APCI-MS m/z : 454 (M+H) $^+$.

45 Ejemplo 42 (Compuesto 237)

50 El Compuesto 220 (47 mg, 0,094 mmol) obtenido en el Ejemplo 25 se disolvió en 1,2-dicloroetano (2 ml), a la solución se añadió formalina acuosa al 37 % (0,026 ml, 0,94 mmol), ácido acético (0,055 ml, 0,96 mmol) y borohidruro de triacetoxi sodio (201 mg, 0,948 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 50 minutos. A la mezcla de la reacción se añadió agua e bicarbonato de sodio saturado, y la mezcla se extrajo con cloroformo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró

bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía preparativa de capa delgada (cloroformo/metanol = 4/1) y después se trituró con éter diisopropílico para dar el Compuesto 237 (28 mg, 56 %).

APCI-MS m/z : 526 (M+H)⁺.

Ejemplo 43 (Compuesto 238)

- 5 De forma similar a como en el Ejemplo 26, el Compuesto 237 (330 mg, 0,628 mmol) preparado en el Ejemplo 42 se trató con 4 mol/l de cloruro de hidrógeno-acetato de etilo (0,32 ml) para dar el Compuesto 238 (hidrocloruro del Compuesto 237, 320 mg, 91 %).

¹H RMN (270 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,31 (s, 9H), 1,36 (s, 9H), 2,37 (m, 2H), 2,77 (s, 6H), 3,10-3,34 (m, 4H), 4,05 (dd, $J = 4,6, 13,8$ Hz, 1H), 4,62 (dd, $J = 7,9, 13,8$ Hz, 1H), 5,44 (m, 1H), 7,23-7,40 (m, 5H), 8,57 (brs, 1H).

- 10 Ejemplo 69 (Compuesto 264)

De forma similar a como en el Ejemplo 41, se permitió que el Compuesto 171 (100 mg, 0,214 mmol) preparado en el Ejemplo de Referencia 161 reaccionara con etilmetilamina (0,092 ml, 1,07 mmol) para dar el Compuesto 264 (101 mg, 90 %).

APCI-MS m/z : 526 (M+H)⁺.

- 15 Ejemplo de Referencia 161 (Compuesto 170 y Compuesto 171)

Etapa 1: se disolvió hidrocloruro de 2-aminoacetofenona (1,00 g, 5,85 mmol) en diclorometano (50 ml). A la solución se añadió trietilamina (2,50 ml, 17,9 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Después la mezcla de la reacción se enfrió hasta 0 °C, se añadió cloruro de cloroetanosulfonilo (0,92 ml, 8,80 mmol), y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 15 minutos. A la mezcla de la reacción se añadió 2 mol/l de ácido clorhídrico y la mezcla se extrajo con cloroformo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente se evaporó bajo presión reducida. Al residuo se añadió un disolvente mixto de acetato de etilo y n-hexano para la cristalización para obtener 2-(vinilsulfonilamino)acetofenona (0,42 g, 32 %).

20 ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 4,54 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H), 5,42 (br s, 1H), 5,94 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H), 6,28 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H), 6,53 (br dd, $J = 16,2, 9,9$ Hz, 1H), 7,52 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H), 7,65 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,93 (t, $J = 5,1$ Hz, 1H).

25 AP-MS (m/z): 225 (M⁺).

Etapa 2: se disolvieron 2-(vinilsulfonilamino)acetofenona (0,32 g, 1,42 mmol) preparada más arriba e hidrocloruro de tiosemicarbazida (0,27 g, 2,13 mmol) en metanol (20 ml). A la solución se añadió ácido clorhídrico concentrado (2 gotas), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de la reacción se concentró. Al residuo se añadió bicarbonato de sodio saturado, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo/n-hexano = 1/1) para dar 2-(vinilsulfonilamino)acetofenona=tiosemicarbazona (0,25 g, 58 %).

30 ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4,10 (s, 2H), 5,97 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H), 6,25 (d, $J = 16,8$ Hz, 1H), 6,54 (dd, $J = 16,8, 9,9$ Hz, 1H), 7,24-7,27 (m, 2H), 7,42 (br s, 1H), 7,52-7,53 (m, 3H), 7,81 (br s, 1H), 8,70 (m, 1H).

35 AP-MS (m/z): 297 (M⁺).

Etapa 3: 2-(vinilsulfonilamino)acetofenona=tiosemicarbazona (0,25 g, 0,83 mmol) preparada más arriba se disolvió en acetona (10 ml). A la solución se añadió piridina (0,34 ml, 4,17 mmol) y cloruro de pivaloilo (0,31 ml, 2,50 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. A la mezcla de la reacción se añadió anhídrido acético (0,16 ml, 1,66 mmol), y la mezcla además se agitó durante 3 días a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se concentró, al residuo se añadieron 2 mol/l de ácido clorhídrico, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo/n-hexano = 1/1) para dar el Compuesto 170 (0,18 g, 52 %) y el Compuesto 171 (0,10 g, 26 %).

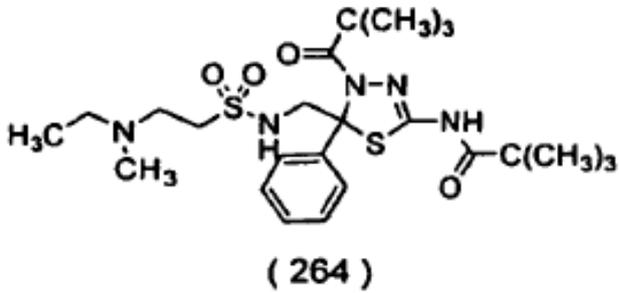
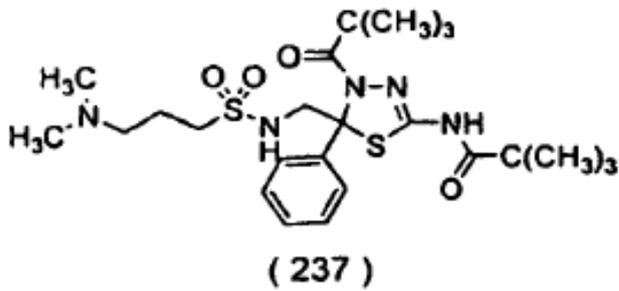
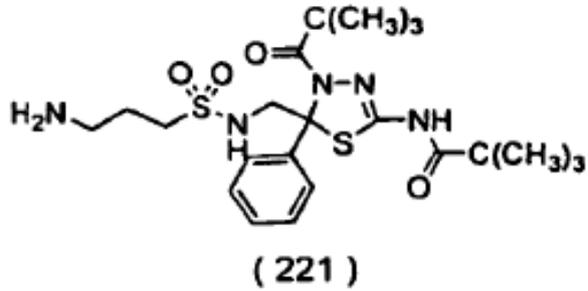
- 40 Aplicabilidad industrial

En conformidad con la presente invención, se proporcionan un inhibidor Eg5 de quinesina mitótica que comprende un derivado de tiadiazolina o a sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo y un derivado de tiadiazolina o a sal farmacéuticamente aceptable del mismo que tiene una actividad inhibidora contra la quinesina mitótica Eg5.

50

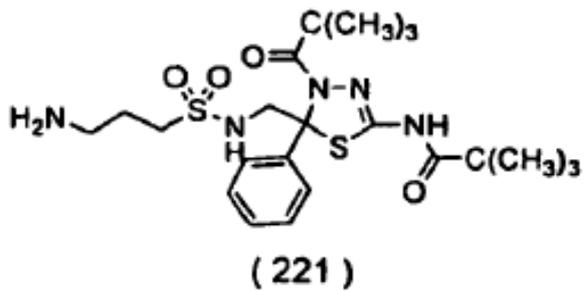
REIVINDICACIONES

1. Un derivado de tiadiazolina representado por la fórmula (221), (237) o (264), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



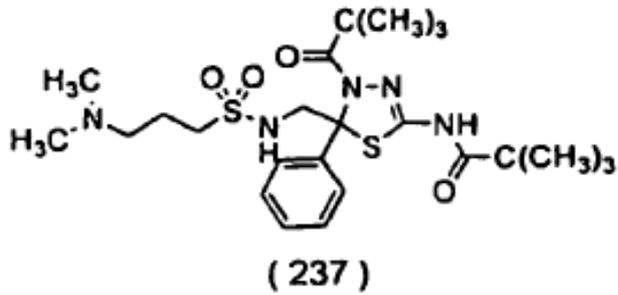
5

2. Un derivado de tiadiazolina representado por la fórmula (221), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

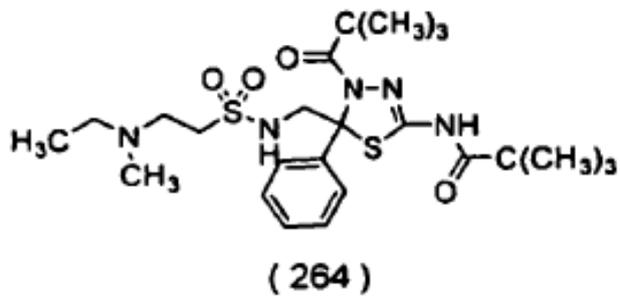


10

3. Un derivado de tiadiazolina representado por la fórmula (237), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



4. Un derivado de tiadiazolina representado por la fórmula (264), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



5. Un medicamento, que comprende el derivado de tiadiazolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como un ingrediente activo.
6. El derivado de tiadiazolina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para el uso en la inhibición de una quinesina mitótica Eg5.
7. Uso del derivado de tiadiazolina en conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un inhibidor de quinesina mitótica Eg5.

10