

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 895**

51 Int. Cl.:

C07D 519/00 (2006.01)

A61K 31/429 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.09.2001 E 01972077 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2012 EP 1319011**

54 Título: **Triazolo-epotilonas**

30 Prioridad:

22.09.2000 DE 10047529

27.02.2001 DE 10109426

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

15.02.2013

73 Titular/es:

**HELMHOLTZ-ZENTRUM FÜR
INFEKTIONSFORSCHUNG GMBH (100.0%)
Inhoffenstrasse 7
38124 BRAUNSCHWEIG, DE**

72 Inventor/es:

**HÖFLE, GERHARD y
GLASER, NICOLE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 395 895 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

Triazolo-epotilonas

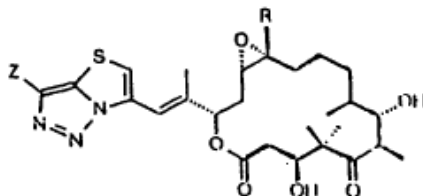
5 El invento se refiere a compuestos análogos a triazolo-tiazol de epotilona A y epotilona B.

Las epotilonas son unas lactonas macrocíclicas con un efecto fungicida y citotóxico. Subsiste una continua necesidad de compuestos análogos o de derivados con una actividad comparable o mejor, que se puedan utilizar como fungicidas o agentes citostáticos.

10 Una recopilación acerca de la química de las epotilonas es dada por ejemplo por Nicolaou y colaboradores en Angew. Chem. Int. Ed. [Química aplicada edición internacional] 1998, tomo 37, 2014-2045.

15 Es una misión del invento la puesta a disposición de tales compuestos análogos a epotilonas o respectivamente de sus derivados.

El invento se refiere por consiguiente a unos compuestos análogos a triazolo-tiazol de epotilona A y epotilona B con la fórmula 4a o 4b:



20 **4a** R = H, Z = H, alquilo, arilo, heteroarilo
4b R = CH₃, Z = H, alquilo, arilo, heteroarilo

en las que significan:

25 **R:** H, CH₃

Z: H, alquilo, arilo, heteroarilo,

significando:

30 el alquilo: metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, iso-butilo, terc.-butilo, pentilo o hexilo, eventualmente sustituido con alcoxi de C₁-C₆, acilo de C₁-C₆, hidroxilo o halógeno, en particular Br, Cl, F ó I, y/o

35 el arilo: fenilo, o-, m-, p-tolilo, o-, m-, p-xililo, bencilo, fenetilo o naftilo, eventualmente sustituido con alquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, acilo de C₁-C₆, hidroxilo o halógeno, en particular Br, Cl, F ó I, y/o

el heteroarilo: furanilo, piranilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, piridinilo o indolilo, eventualmente sustituido con alquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, acilo de C₁-C₆, hidroxilo o halógeno, en particular Br, Cl, F ó I.

40 Las triazolo-tiazol-epotilonas conformes al invento son unos fungicidas muy eficaces y unos agentes citostáticos muy potentes con favorables propiedades farmacológicas.

El alquilo significa un alquilo de C₁-C₆ lineal o ramificado, que puede estar sustituido (una vez o múltiples veces) de un modo arbitrario, por ejemplo metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, iso-butilo, terc.-butilo, pentilo o hexilo. Ejemplos de sustituyentes son alcoxi de C₁-C₆, acilo de C₁-C₆, hidroxilo o halógeno, tal como bromo, cloro, flúor y yodo.

El arilo significa unos sistemas aromáticos mononucleares o plurinucleares, que pueden estar sustituidos (una vez o múltiples veces) de un modo arbitrario, por ejemplo, fenilo, o-, m-, p-tolilo, o-, m-, p-xililo, bencilo, fenetilo o naftilo. Ejemplos de sustituyentes son alquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, acilo de C₁-C₆, hidroxilo o halógeno tal como bromo, cloro, flúor y yodo.

El heteroarilo significa unos sistemas heteroaromáticos mononucleares o plurinucleares, que pueden estar sustituidos (una vez o múltiples veces) de un modo arbitrario, pudiendo tener el núcleo aromático uno o varios heteroátomos escogidos entre N, O y S. Ejemplos del heteroarilo son furanilo, piranilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, piridinilo o indolilo. Ejemplos de sustituyentes son alquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, acilo de C₁-C₆, hidroxilo o halógeno tal como bromo, cloro, flúor y yodo.

El invento se refiere además a un procedimiento para la preparación de los compuestos análogos a triazolo-tiazol de epotilona A y epotilona B conformes al invento, así como a unas composiciones fungicidas y farmacéuticas, que contienen uno o varios de tales compuestos análogos, y a la utilización de los compuestos análogos y de las composiciones fungicidas o farmacéuticas que contienen a éstos para la represión de hongos o para el tratamiento de unas enfermedades, que se pueden tratar con agentes citostáticos, por ejemplo, enfermedades tumorales tales como un cáncer o trastornos del crecimiento celular.

Las composiciones fungicidas y farmacéuticas pueden contener, junto a la sustancia activa propiamente dicha, unos usuales vehículos, agentes diluyentes o sustancias coadyuvantes, por ejemplo agentes estabilizadores tales como agentes absorbedores de los rayos UV, agentes antioxidantes y agentes conservantes.

La Figura 1 muestra una ruta de síntesis para la preparación de los compuestos análogos a triazolo-tiazol de epotilona A y epotilona B conformes al invento.

En lo sucesivo, sin ninguna restricción, mediando toma de referencia a la Figura 1, se describe la preparación de los compuestos análogos a triazolo-tiazol de epotilona A y epotilona B conformes al invento. La abreviatura Met significa "un metal".

La preparación de epotilonas modificadas en el C21, es decir de los aldehídos, las cetonas y las hidrazonas de las fórmulas 1, 2 o respectivamente 3, se describe en la solicitud de patente alemana divulgada DE 199 07 588 y en la solicitud de patente internacional divulgada WO 2000/050423 de la solicitante. En el caso del procedimiento conforme al invento, en los derivados de hidrazonas de las fórmulas 3a y 3b se lleva a cabo el cierre del anillo por oxidación con ayuda de ciertos óxidos de metales, de manera preferida con NiO₂, K₃[Fe(CN)₆], tetraacetato de plomo o hipocloruro de sodio (compárese Houben-Weyl, tomo E 14b, 4ª edición, 1999).

Síntesis de un compuesto análogo a triazolo-tiazol de epotilona A (fórmula 4a, Z = H):

24,6 mg (47,2 µmol) de la hidrazona del epotilona-A-21-aldehído (fórmula 3a) se disuelven en 1,5 ml de diclorometano absoluto. A intervalos de 15 min se añaden a esto tres veces 42,8 mg (472,2 µmol) cada vez de peróxido de níquel, agitándose a la temperatura ambiente. A continuación, se filtra a través de Celite y se lava posteriormente con diclorometano. Las fases orgánicas reunidas se concentran por evaporación y se secan en un alto vacío. La purificación del producto en bruto se efectúa mediante una HPLC (cromatografía de fase líquido de alto rendimiento) preparativa (agente eluyente: una mezcla de acetonitrilo y agua 38:62; columna: Nucleosil 100 C18 7 µm, 21x250 mm). Se obtuvieron 12,0 mg (49 %) del producto.

Los datos espectroscópicos son idénticos a los de la epotilona A (compárese el documento DE 4138042 C2) con la excepción de:

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): d = 2,25 (dt, 2a-H), 2,57 (dd, 2b-H), 4,63 (m, 3-H), 5,02 (dd, 3-OH), 1,68 (m, 14a-H), 2,31 (dt, 14b-H), 5,53 (d, 15-H), 6,92 (bs, 17-H), 7,06 (s, 19-H), 7,84 (s, 21-H), 1,08 (s, 22-H), 1,55 (s, 23-H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): d = 73,0 (3-C), 54,7 (4-C), 41,4 (6-C), 71,4 (7-C), 32,0 (14-C), 74,9 (15-C), 145,1 (16-C), 109,2 (17-C), 129,2 (18-C), 115,5 (19-C), 136,4 (20-C), 124,8 (21-C), 15,9 (C-22), 23,3 (23-C), 12,7 (24-C), 18,1 (27-C); HRMS (DCI): C₂₆H₃₇N₃O₆S: [M+NH₄⁺] calc. 537,2747, enc. 537,2721.

[RMN = resonancia magnética nuclear; HRMS (DCI) = espectrometría de masas de alta resolución (con ionización por desorción química)]

Síntesis de un compuesto análogo a triazolo-tiazol de epotilona B (fórmula 4b, Z = H):

8,1 mg (15,1 µmol) de la hidrazona del epotilona-B-21-aldehído (fórmula 3b) se disuelven en 1 ml de diclorometano absoluto. A la solución se le añaden 13,7 mg (151,4 µmol) de peróxido de níquel, después de lo cual se agita durante 15 min a la temperatura ambiente. El peróxido de níquel se separa por filtración a través de Celite y se lava con diclorometano. Las fases orgánicas reunidas se concentran por evaporación y se secan en un alto vacío. La purificación del producto en bruto se efectúa mediante una HPLC preparativa (agente eluyente: acetonitrilo / agua 40:60; columna: Nucleosil 100 C18 7 µm, 21x250 mm) y proporcionó 4,7 mg (58 %) del producto.

Los datos espectroscópicos son idénticos a los de la epotilona B (compárese el documento DE 4138042 C2) con la excepción de:

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): d = 2,25 (dt, 2a-H), 2,59 (dd, 2b-H), 4,69 (m, 3-H), 5,02 (dd, 3-OH), 1,76 (m, 14a-H), 2,31 (dt, 14b-H), 5,53 (d, 15-H), 6,91 (bs, 17-H), 7,06 (s, 19-H), 7,85 (s, 21-H), 1,08 (s, 22-H), 1,56 (s, 23-H); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): d = 71,3 (3-C), 54,9 (4-C), 41,0 (6-C), 72,4 (7-C), 33,1 (14-C), 75,2 (15-C), 145,3 (16-C), 108,9 (17-C), 129,2 (18-C), 115,5 (19-C), 136,5 (20-C), 124,9 (21-C), 15,7 (22-C), 23,2 (23-C), 12,0 (24-C), 18,1 (27-C); MS (ESI): [M+H⁺] = 534.

[MS (ESI) = espectrometría de masas (con ionización por nebulización eléctrica)]

La actividad farmacológica se representa en la siguiente Tabla:

Ensayos de crecimiento con cultivos de células de mamíferos

Linaje de células	Procedencia	Derivado de triazolo de	
		epotilona A CI-50 [ng/ml]	epotilona B
L929	ratón (tejido graso subcutáneo)	10	1,0
K-562	ser humano (leucemia)	6	0,7
U-937	ser humano (linfoma)	4	0,5

[CI-50 = concentración inhibitoria del 50 %]

5 **Preparación de 21-O-acetil-epotilona E (5a, R' = CH₃):**

A una solución de 3,2 mg (6,2 mmol) de triazolo-epotilona A en 250 ml de diclorometano se le añaden 2 ml (35,0 mmol) de ácido acético glacial y se agita durante una noche a la temperatura ambiente. La tanda de reacción se reúne con agua y se extrae tres veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas reunidas se concentran por evaporación y se secan en un alto vacío. Se obtuvieron 2,8 mg (82 %) de la 21-O-acetil-epotilona E.

10 Los datos espectroscópicos son idénticos a los de la epotilona A (compárese el documento DE 4138042 C2) con la excepción de:

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 6,60 (bs, 17-H), 7,14 (s, 19-H), 5,34 (s, 21-H₂), 2,14 (s, 2'-H₃); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): 137,8 (C-16), 119,6 (C-17), 152,5 (C-18), 118,0 (C-19), 163,7 (C-20), 62,5 (C-21), 170,2 (C-1'), 20,9 (C-2');
 15 R_f (CH₂Cl₂/MeOH 95/5): 0,45; HRMS (EI): C₂₈H₄₁NO₈S: [M]⁺ calc. 551,2553, enc. 551,2519
 [EI = impacto de electrones]

Preparación de epotilona E-21-O-éster de ácido (3'-metoxicarbonil)-propínico (5a, R' = CH₃OOC-C₂):

20 A una solución de 5,1 mg (9,8 mmol) de triazolo-epotilona A en 400 ml de diclorometano se le añaden 7,0 mg (55,0 mmol) del éster monometílico de ácido acetilenoicarboxílico. La tanda de reacción se agita durante una noche a la temperatura ambiente, a continuación se reúne con agua y se extrae tres veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas reunidas se concentran por evaporación y se secan en un alto vacío. Después de una purificación mediante una PSC (columna de separación farmacéutica) (con una mezcla de CH₂Cl₂ y metanol 95/5) se obtuvieron
 25 3,6 mg (59 %) del epotilona E-21-O-éster de ácido (3'-metoxicarbonil)-propínico.

Los datos espectroscópicos son idénticos a los de la epotilona A (compárese el documento DE 4138042 C2) con la excepción de:

30 ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 5,45 (dd, 15-H), 6,60 (bs, 17-H), 7,20 (s, 19-H), 5,49 (bs, 21-H₂), 3,85 (s, 5'-H₃);
¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): 76,5 (C-15), 138,2 (C-16), 119,5 (C-17), 153,0 (C-18), 118,8 (C-19), 161,2 (C-20), 64,2 (C-21), 151,1 (C-1'), 152,0 (C-4'), 53,6 (C-5'); R_f (CH₂Cl₂/MeOH 95/5): 0,32; MS (DCI): (M+NH₄)⁺ = 637.

Fotólisis de triazolo-epotilona A para dar 21-O-metil-epotilona A (5a, Nu-H= CH₃OH):

35 9,7 mg (18,7 mmol) de triazolo-epotilona A se disuelven en 1 ml de metanol y se iluminan durante cuatro horas mediando refrigeración (en un baño de hielo a 0°C) con ayuda de una lámpara de vapor de mercurio (de la entidad DEMA, HPK-125). A continuación, se reduce el disolvente y se separa la tanda de reacción mediante una HPLC preparativa (con una mezcla de CH₃CN y H₂O 40/60). Se aislaron 2,1 mg (24 %) de la 21-metoxi-epotilona A.

40 Los datos espectroscópicos son idénticos a los de la epotilona A (compárese el documento DE 4138042 C2) con la excepción de:

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 6,61 (bs, 17-H), 7,13 (s, 19-H), 4,71 (s, 21-H₂), 3,49 (s, 1'-H₃); ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): 137,5 (C-16), 120,0 (C-17), 152,2 (C-18), 117,3 (C-19), 167,8 (C-20), 71,5 (C-21), 59,1 (C-1');
 R_f (CH₂Cl₂/MeOH 95/5): 0,33; HRMS (EI): C₂₇H₄₁NO₇S: [M]⁺ calc. 523,2604, enc. 523,2609.

45 **Cicloaddición 1,3-dipolar del éster dimetílico del ácido acetilenoicarboxílico y de la triazolo-epotilona A para dar el derivado de pirazol 6a:**

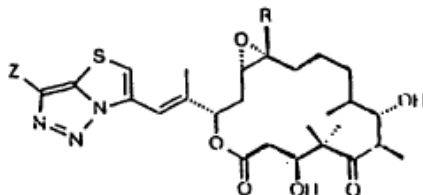
1,8 mg (3,5 mmol) de triazolo-epotilona A se disuelven en 200 ml de diclorometano. En el transcurso de cuatro horas se añaden tres veces 4,3 ml (34,7 mmol) cada vez del éster dimetílico del ácido acetilenoicarboxílico y se agita a la temperatura ambiente. La tanda de reacción se concentra algo por evaporación y se separa mediante una PSC (con una mezcla de CH₂Cl₂ y metanol 95/5). Se obtuvieron 2,0 mg (87 %) del producto de cicloaddición.

Los datos espectroscópicos son idénticos a los de la epotilona A (compárese el documento DE 4138042 C2) con la excepción de:

55 ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 5,49 (dd, 15-H), 6,63 (bs, 17-H), 7,29 (s, 19-H), 3,97 (s, 4'-H₃), 3,95 (s, 6'-H₃); R_f (CH₂Cl₂/MeOH 95/5): 0,17; HRMS (DCI): C₃₂H₄₃N₃O₁₀S: [M+H]⁺ calc. 662,2742, enc. 662,2778.

REIVINDICACIONES

1. Compuestos análogos a triazolo-tiazol de epotilona A y epotilona B con la fórmula 4a o 4b:



- 5 **4a** **R = H, Z = H, alquilo, arilo, heteroarilo**
 4b **R = CH₃, Z = H, alquilo, arilo, heteroarilo**

en las que significan:

10 **R:** H ó CH₃

Z: H, alquilo, arilo o heteroarilo,

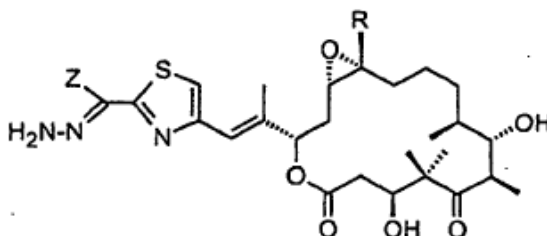
significando:

15 el alquilo: metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, iso-butilo, terc.-butilo, pentilo o hexilo, eventualmente sustituido con alcoxi de C₁-C₆, acilo de C₁-C₆, hidroxilo o halógeno, en particular Br, Cl, F ó I, y/o

20 el arilo: fenilo, o-, m-, p-tolilo, o-, m-, p-xililo, bencilo, fenetilo o naftilo, eventualmente sustituido con alquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, acilo de C₁-C₆, hidroxilo o halógeno, en particular Br, Cl, F ó I, y/o

el heteroarilo: furanilo, piranilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, piridinilo o indolilo, eventualmente sustituido con alquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, acilo de C₁-C₆, hidroxilo o halógeno, en particular Br, Cl, F ó I.

25 2. Procedimiento para la preparación de los compuestos análogos a triazolo-tiazol de epotilona A y epotilona B de acuerdo con la reivindicación 1, en el que en un derivado de hidrazona de epotilona A o de epotilona B con la fórmula 3a o 3b:



- 30 **3a** **R = H, Z = H, alquilo, arilo, heteroarilo**
 3b **R = CH₃, Z = H, alquilo, arilo, heteroarilo**

teniendo **R** y **Z** los significados arriba definidos, con ayuda de óxidos de metales, K₃[Fe(CN)₆], tetraacetato de plomo o hipocloruro de sodio, se lleva a cabo un cierre del anillo por oxidación.

35 3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, siendo el óxido de metal NiO₂.

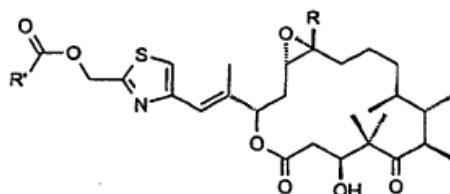
4. Composición farmacéutica, que contiene o se compone de uno o varios compuestos análogos a triazolo-tiazol de epotilona A o epotilona B de acuerdo con la reivindicación 1 junto a un vehículo, un agente diluyente o una sustancia coadyuvante farmacéuticamente aceptable.

45 5. Compuesto análogo a triazolo-tiazol de epotilona A o epotilona B de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4 para su utilización en el tratamiento de enfermedades tumorales y trastornos del crecimiento celular.

6. Compuesto análogo a triazolo-tiazol de epotilona A o epotilona B de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4 para su utilización tal como en la reivindicación 5, tratándose en el caso de la enfermedad tumoral de un cáncer.

7. Composición fungicida, que contiene o se compone de uno o varios compuestos análogos a triazolo-tiazol de epotilona A o epotilona B de acuerdo con la reivindicación 1 junto a un vehículo, un agente diluyente o una sustancia coadyuvante aceptable para fungicidas.

5 8. Procedimiento para la preparación de ésteres C-21 de epotilona A con la fórmula 5a y/o de epotilona B con la fórmula 5b, en el que la triazolo-epotilona A de acuerdo con la fórmula 4a de la reivindicación 1 con **R** y **Z** = H y/o la triazolo-epotilona B de acuerdo con la fórmula 4b de la reivindicación 1 con **R** = CH₃ y **Z** = H se hace reaccionar con un ácido carboxílico de la fórmula R'COOH mediando separación de nitrógeno para dar un éster en C-21 de epotilona A y/o de epotilona B, y se obtiene(n) el (los) producto(s) de la reacción



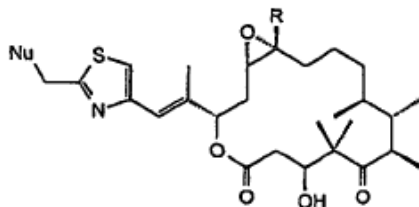
5a R = H

5b R = CH₃,

10 en la que **R'** significa: H, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo o heteroarilo, poseyendo alquilo, arilo o heteroarilo un significado de acuerdo con la reivindicación 1.

15 9. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, significando en la fórmula R'COOH el radical **R'** alquenilo de C₂₋₈ o alquinilo de C₂₋₈ con una posición en cada caso arbitraria del enlace múltiple.

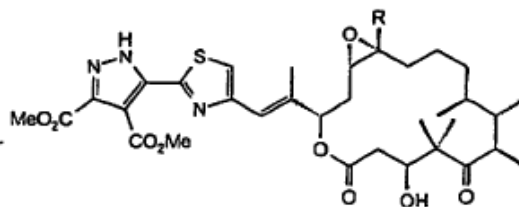
20 10. Procedimiento fotolítico, en el que la triazolo-epotilona A de acuerdo con la fórmula 4a de la reivindicación 1 con **R** y **Z** = H o la triazolo-epotilona B de acuerdo con la fórmula 4b de la reivindicación 1 con **R** = CH₃ y **Z** = H se somete a una fotólisis en presencia de un agente nucleófilo NuH, y como producto se obtiene un compuesto análogo a epotilona A con la fórmula 5a o respectivamente un compuesto análogo a epotilona B con la fórmula 5b



5a R = H

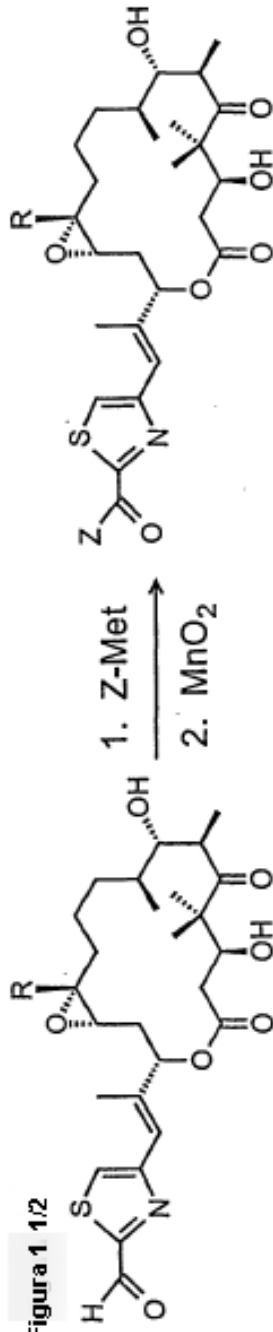
5b R = CH₃

25 11. Cicloadición 1,3-dipolar del éster dimetílico del ácido acetilenoedicarboxílico y de la triazolo-epotilona A de acuerdo con la fórmula 4a de la reivindicación 1 con **R** y **Z** = H o de la triazolo-epotilona B de acuerdo con la fórmula 4b de la reivindicación 1 con **R** = CH₃ y **Z** = H para dar el derivado de pirazol de epotilona A con la fórmula 6a o respectivamente de epotilona B con la fórmula 6b



6a R = H

6b R = CH₃



2a R = H, Z = alquilo, arilo, heteroarilo

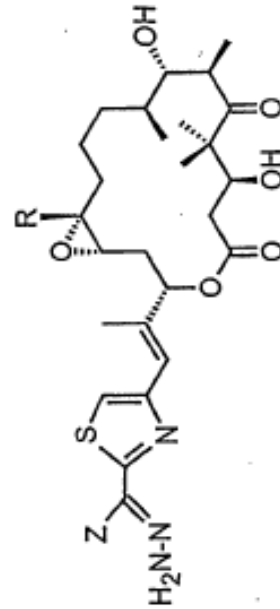
2b R = CH₃, Z = alquilo, arilo, heteroarilo

1a R = H

1b R = CH₃

H₂NNH₂

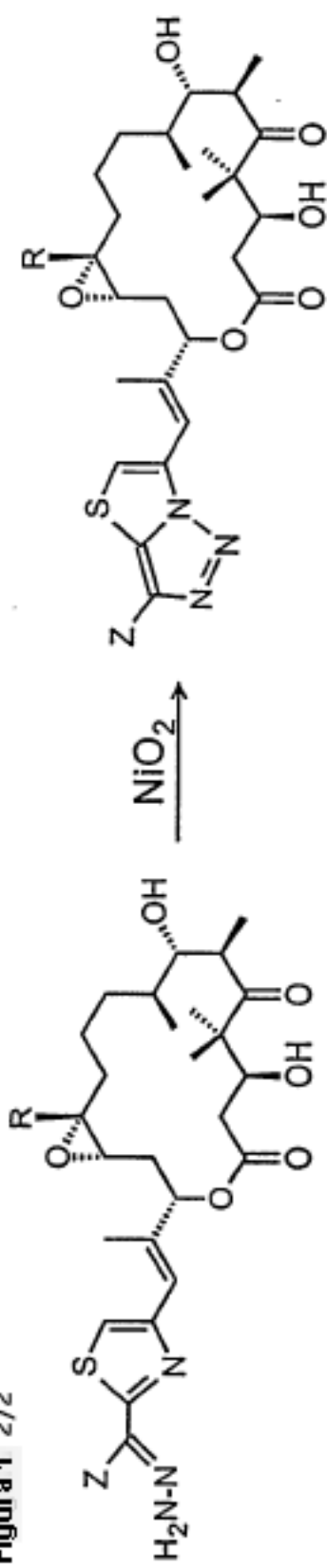
H₂NNH₂



3a R = H, Z = H, alquilo, arilo, heteroarilo

3b R = CH₃, Z = H, alquilo, arilo, heteroarilo

Figura 1 2/2



3a, 3b

4a R = H, Z = H, alquilo, arilo, heteroarilo

4b R = CH₃, Z = H, alquilo, arilo, heteroarilo

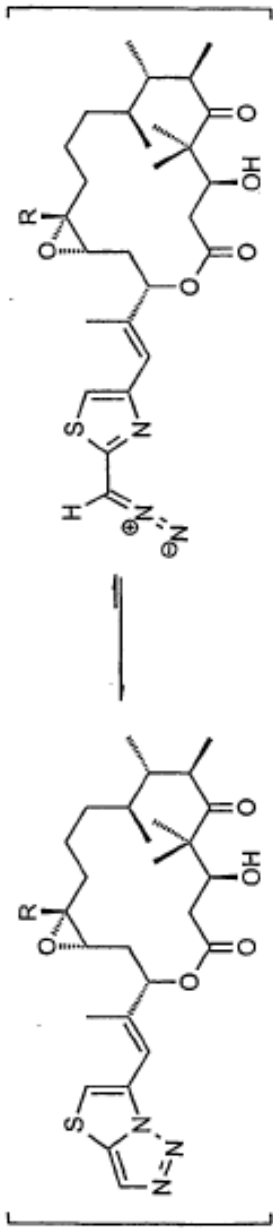


Figura 2

Fig. A

forma de triazoloz

forma de diazo

4a R = H
4b R = CH₃

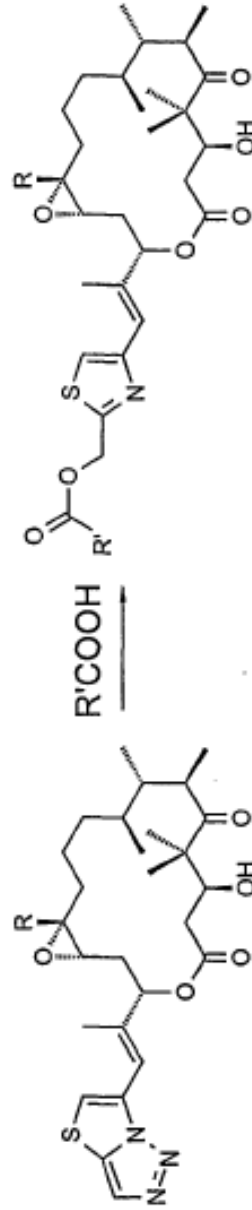


Fig. B

4a R = H
4b R = CH₃

5a R = H
5b R = CH₃,

R' = H, alquilo, alqueno, alquino,
arilo, heteroarilo

Figura 3

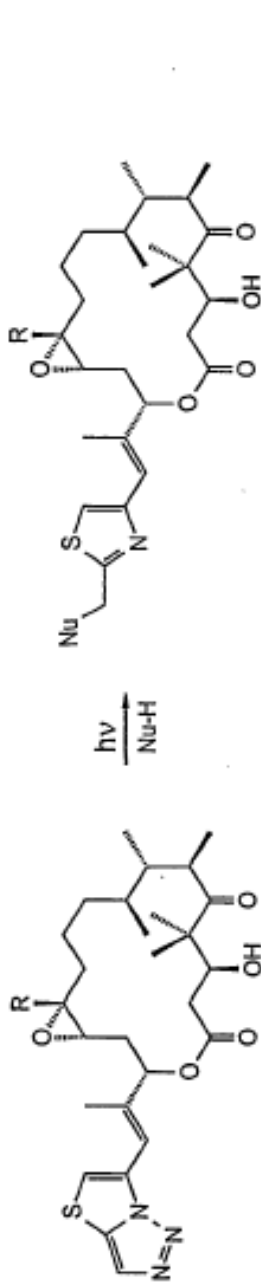


Fig. C

4a R = H
4b R = CH₃

5a R = H
5b R = CH₃

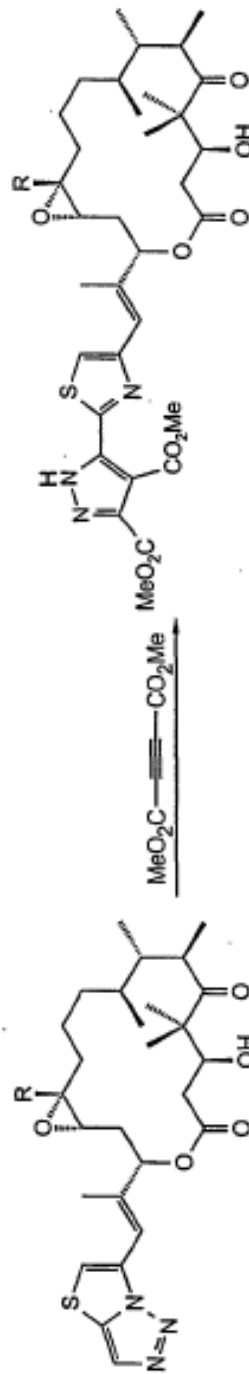


Fig. D

4a R = H
4b R = CH₃

6a R = H
6b R = CH₃