

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 794**

51 Int. Cl.:

C07D 417/10 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

A61K 31/427 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2009 E 09725663 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.03.2015 EP 2272845**

54 Título: **Derivados de benzofenona tiazol útiles para inhibir la formación de microtúbulos y método de producción de los mismos**

30 Prioridad:

26.03.2008 KR 20080027820

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

28.05.2015

73 Titular/es:

CHONG KUN DANG PHARMACEUTICAL CORP.

(100.0%)

8, Chungjung-ro (Chungjungro 3-ga),

Seodaemun-gu

Seoul, KR

72 Inventor/es:

CHOI, NAM-SONG;

KIM, YOUNG-HOON;

LEE, JAE-KWANG;

KANG, HEE-RYONG;

CHOI, HO-JIN;

MOON, SEUNG-KEE;

KIM, SOO-JIN;

PARK, GYU-TAE;

HAN, BYEONG-HOON;

KIM, DAL-HYUN;

CHOI, JAE-HOON;

LEE, SUNG-SOOK;

AHN, SOON-KIL;

LEE, KYUNG-JOO y

BAE, SU-YEAL

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 536 794 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

Derivados de benzofenona tiazol útiles para inhibir la formación de microtúbulos y método de producción de los mismos

[Ámbito técnico]

La presente invención se refiere a un derivado de benzofenona que contiene tiazol y es útil para inhibir la formación de microtúbulos, o a una sal, a un hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, a una composición farmacéutica que comprende dicho derivado, a un uso del derivado como agente terapéutico y a un método para preparar el derivado. Los derivados de benzofenona tiazol de la presente invención inhiben la formación de microtúbulos, eliminan células activas proliferantes de tumores malignos y por tanto controlan la proliferación celular en general.

[Estado técnico anterior]

Los solicitantes de la presente invención revelan nuevos derivados de benzofenona tiazol que poseen actividad inhibidora de la formación de microtúbulos en la patente coreana nº 10-2006-0094019 (presentada el 27 de sept. de 2006), en la patente coreana nº 10-2007-0083856 (presentada el 21 de agosto de 2007) reivindicando su ventaja y en la solicitud de patente internacional PCT nº PCT/KR2007/004625 (presentada el 21 de sept. de 2007).

Entre los compuestos revelados en la patente PCT/KR2007/004625 se encuentra que el 516 [{4-(2-aminotiazol-4-il)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenil}(3,4,5-trimetoxifenil)metanona] posee una fuerte actividad inhibitoria de la mitosis y es citotóxico. A partir de resultados de ensayos llevados a cabo con animales se puede confirmar que la toxicidad es causada por deposición en los órganos, debido a su baja solubilidad.

Por consiguiente los presentes inventores intentaron desarrollar nuevos compuestos que tuvieran unos efectos farmacéuticos más eficaces y menor toxicidad, a base de mejorar la solubilidad de los derivados de benzofenona, dando lugar a la presente invención. Así, la presente invención proporciona nuevos compuestos de benzofenona tiazol, como derivados del 516 [{4-(2-aminotiazol-4-il)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenil}(3,4,5-trimetoxifenil)metanona], que inhiben eficientemente la mitosis, poseen mayor actividad antitumoral y mejor solubilidad, y por tanto una toxicidad considerablemente inferior.

[Revelación de la presente invención]

[Problema técnico]

Por consiguiente la presente invención se ha hecho motivada por los citados problemas y uno de sus objetivos es el de proporcionar un compuesto que sea tóxico para células mitóticas directa o indirectamente activas y que sea útil para tratar tumores malignos, infecciones víricas y bacterianas, la oclusión vascular recurrente, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes y psoriasis.

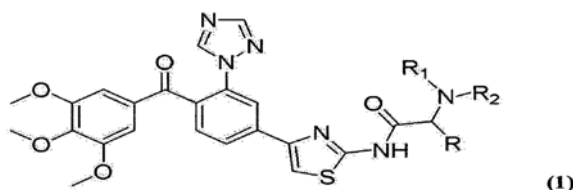
Conforme a ello la presente invención proporciona un nuevo derivado de benzofenona tiazol que es útil para inhibir la formación de microtúbulos, o una sal, un hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

Otro objetivo de la presente invención es el de proporcionar una composición farmacéutica que contenga como ingrediente activo un derivado de benzofenona con contenido de tiazol y que sea útil para inhibir la formación de microtúbulos, o una sal, un hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

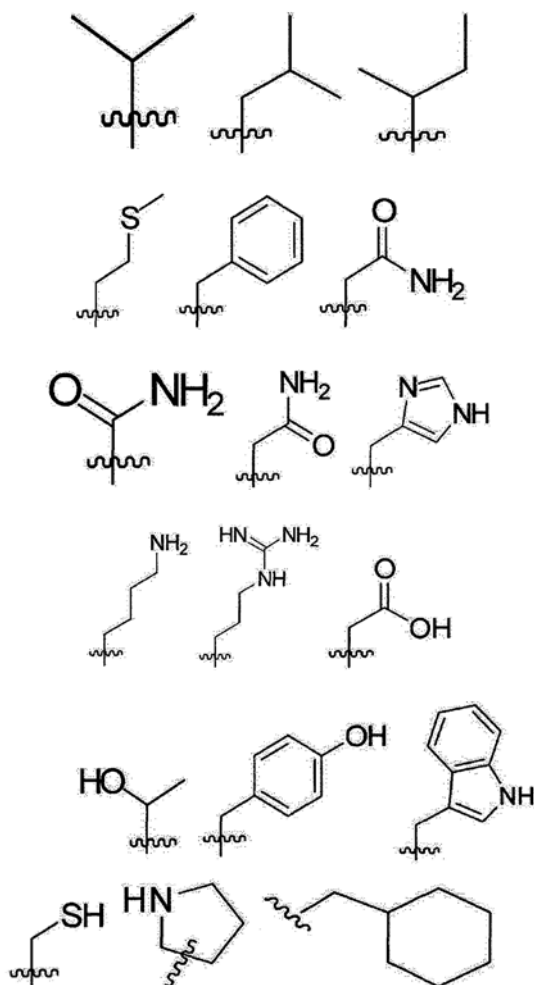
Otro objetivo más de la presente invención es el de proporcionar un método de preparación de un derivado de benzofenona que contenga tiazol y que sea útil para inhibir la formación de microtúbulos, o una sal, un hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

[Solución técnica]

De acuerdo con la presente invención el objetivo anterior y otros se pueden alcanzar proporcionando un compuesto representado por la fórmula 1 o un isómero, una sal, un hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

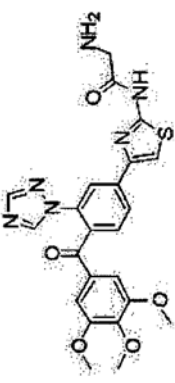
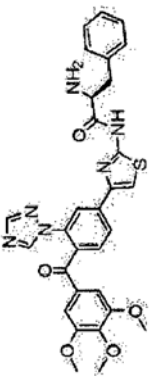
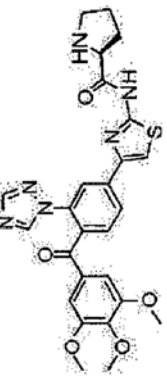
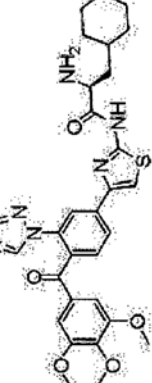
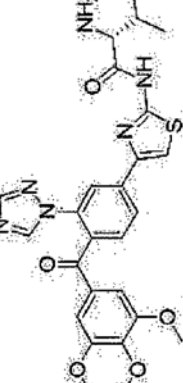
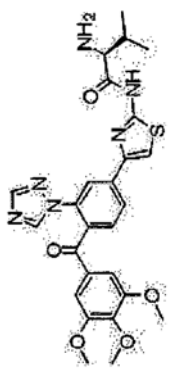
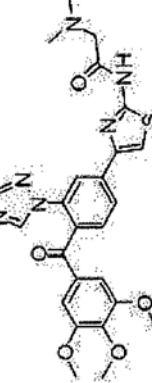
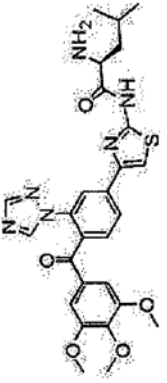
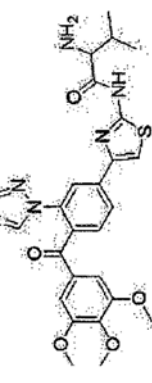


donde R_1 y R_2 son, independientemente entre sí, hidrógeno (H) o metilo (CH_3); y R es hidrógeno, metilo, etilo o un radical elegido entre compuestos representados por los siguientes fragmentos:



En la siguiente tabla 1 figuran ejemplos de compuestos preferidos representados por la fórmula 1:

TABLA 1

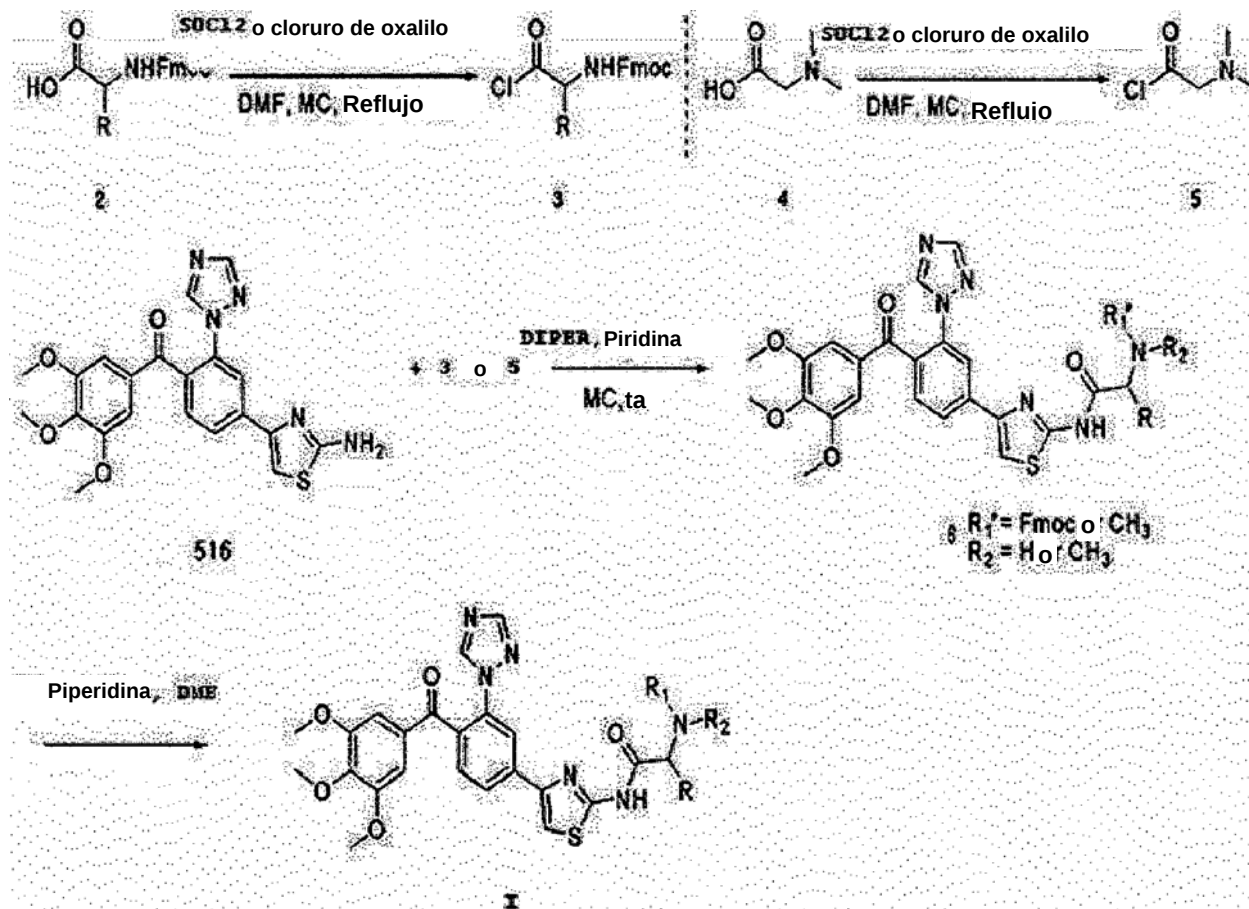
	Compuesto 615
	Compuesto 625
	Compuesto 646
	Compuesto 648
	Compuesto 653
	Compuesto 624
	Compuesto 631
	Compuesto 647
	Compuesto 652

Según otro aspecto de la presente invención se ofrece una composición farmacéutica para inhibir la formación de microtúbulos, que contiene el compuesto de fórmula 1 o una sal, un hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo como ingrediente activo y un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

A continuación se ilustra en detalle el método de preparación del compuesto.

El compuesto de la fórmula 1 se puede preparar siguiendo un método revelado en varios documentos (Nguyen-Hai Nam y otros, Bioorg. Med. Chem. 2003, 11, 1021; Rebecca Braslau y otros, Org. Lett. 2000, 10, 1399; Akira Oku y otros, J. Org. Chem. 1986, 19, 3732; François Clemence y otros, J. Med. Chem. 1988, 7, 1453; Yu Su y otros, Org. Lett. 2005, 7, 367). El método de preparación del compuesto de fórmula 1 se ilustra en detalle haciendo referencia al siguiente esquema de reacción I:

[Esquema de reacción I]



- 5 En el esquema de reacción I Fmoc es un grupo N-a-9-fluorenilmetoxicarbonilo, DIPEA es diisopropiletilamina, MC es cloruro de metileno, ph es fenilo, DMF es N,N-dimetilformamida y R, R₁ y R₂ son tal como se han definido arriba.

De acuerdo con el esquema de reacción I se añade cloruro de tionilo (SOCl₂) o cloruro de oxalilo a un compuesto de fórmula 2 o a un compuesto de fórmula 4 como material de partida, para preparar un compuesto de fórmula 3 o un compuesto de fórmula 5. El compuesto de fórmula 3 o 5 reacciona con un compuesto 516 [4-((2-aminotiazol-4-il)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenil)(3,4,5-trimetoxifenil)metanona] para preparar un compuesto de fórmula 6 y se efectúa una reacción de desprotección.

[DESCRIPCIÓN BREVE DE LAS FIGURAS]

El anterior y otros objetivos, características y ventajas de la presente invención se entenderán más claramente mediante la siguiente descripción detallada, junto con las figuras adjuntas:

FIG. 1: es un gráfico que indica el volumen tumoral tras cada administración diaria del compuesto 516 como resultado de los ensayos de efecto farmacéutico del compuesto 516, utilizando una línea celular procedente de cáncer colorrectal humano (CX-1);

FIG. 2: es un gráfico que indica el volumen tumoral tras cada administración diaria de los compuestos 624, 625 y 631 como resultado de los ensayos de efecto farmacéutico de los compuestos, utilizando una línea celular procedente de cáncer colorrectal humano (CX-1);

FIG. 3: es un gráfico que indica el volumen tumoral tras cada administración diaria del compuesto 624 como resultado de los ensayos de efecto farmacéutico del compuesto 624, utilizando una línea celular procedente de cáncer colorrectal humano (HCT-15);

FIG. 4: es un gráfico que indica el volumen tumoral tras cada administración diaria del compuesto 624 como resultado de los ensayos de efecto farmacéutico del compuesto 624, utilizando una línea celular procedente de cáncer de pulmón humano (A549);

FIG. 5: es un gráfico que indica el volumen tumoral tras cada administración diaria del compuesto 624 como resultado de los ensayos de efecto farmacéutico del compuesto 624, utilizando una línea celular procedente de cáncer gástrico humano (MKN45); y

FIG. 6: es un gráfico que indica el volumen tumoral tras cada administración diaria del compuesto 624 como resultado de los ensayos de efecto farmacéutico del compuesto 624, utilizando una línea celular procedente de cáncer pulmonar humano de células no pequeñas (calu-6).

5 [Mejor modo de realización]

A continuación la presente invención se describirá con más detalle haciendo referencia a los siguientes ejemplos, ejemplos preparativos y ejemplos experimentales.

Estos ejemplos solo se ofrecen para ilustrar la presente invención.

10

Ejemplo 1: síntesis del compuesto 615

Síntesis de N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil) tiazol-2-il)-2-aminoacetamida

15 Se disolvió Fmoc-glicina (0,94 g, 3,16 mmoles) y N,N-dimetilformamida (una gota) en cloruro de metileno (5 ml), se agregó cloruro de tionilo (SOCl₂, 0,3 ml) a temperatura ambiente y la mezcla resultante se agitó a reflujo durante una hora. Una vez completada la reacción la solución reactiva se enfrió hasta temperatura ambiente y se secó a presión reducida para eliminar el disolvente; el compuesto resultante (1 g) se añadió a una disolución del compuesto 516 (0,45 g, 1,07 mmoles) en cloruro de metileno (10 ml) y piridina (0,13 ml) y la mezcla resultante se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante la noche. Una vez completada la reacción el producto resultante se secó a presión reducida para eliminar el disolvente y se purificó por cromatografía de columna (SiO₂; MC/MeOH 40/1-10/1) para obtener un producto sólido (0,54 g, 71,6%). El compuesto resultante (0,46 g, 0,64 mmoles) se disolvió en N,N-dimetilformamida (3 ml), se le añadió piperidina (76 µL) a temperatura ambiente y la mezcla resultante se agitó a la temperatura ambiente durante 2 horas. Una vez completada la reacción la solución resultante se secó a presión reducida para eliminar el disolvente y el producto resultante se purificó por cromatografía de columna (SiO₂; MC/MeOH 20/1-5/1) para obtener un compuesto sólido blanco 615 (246,6 mg, 77,9%).

20 RMN ¹H (400 MHz, acetona) δ 8,790 (s, 1H), 8,372 (d, J = 1,48 Hz, 1H), 8,315 (dd, J = 8,0, 1,6 Hz, 1H), 7,969 (s, 1H), 7,893 (s, 1H), 7,775 (d, J = 8,12 Hz, 1H), 3,829-3,815 (s, 9H), 3,711 (s, 2H). MS (ESI) m/z 495 (M⁺ + H).

30 Ejemplo 2: síntesis del compuesto 624

Síntesis de (S)-N4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil) tiazol-2-il)-2-amino-3-metilbutanamida

Del mismo modo que en la síntesis del compuesto 615 se obtuvo un compuesto sólido blanco 624 (2,25 g, 53,2%).

35 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,338 (s, 1H), 8,172 (d, J = 1,52 Hz, 1H), 8,035 (dd, J = 8,08, 1,40 Hz, 1H), 7,937 (s, 1H), 7,653 (d, J = 8,08 Hz, 1H), 7,381 (s, 1H), 6,985 (s, 2H), 3,819 (s, 6H), 3,556 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 2,481 (m, 1H), 1,092 (d, J = 6,96 Hz, 3H), 0,909 (d, J = 6,92 Hz, 3H). MS (ESI) m/z 537 (M⁺ + H).

40 Ejemplo 3: síntesis del compuesto 625

Síntesis de (S)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil) fenil)tiazol-2-il)-2-amino-3-fenilpropanamida

Del mismo modo que en la síntesis del compuesto 615 se obtuvo un compuesto sólido blanco 625 (13,6 mg, 21,2%).

45 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,333 (s, 1H), 8,165 (d, J = 1,52 Hz, 1H), 7,935 (dd, J = 8,04, 1,52 Hz, 1H), 7,654 (d, J = 8,04 Hz, 1H), 7,405-7,245 (m, 6H), 6,985 (s, 2H), 3,903 (m, 4H), 3,819 (s, 6H), 3,389 (dd, J = 13,8, 3,72 Hz, 1H), 2,827 (m, 1H). MS (ESI) m/z 585 (M⁺ + H).

Ejemplo 4: síntesis del compuesto 631

50 Síntesis de N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil) tiazol-2-il)-2-(dimetilamino)acetamida

Se disolvió N,N-dimetilglicina (446,8 mg, 4,33 mmoles) más N,N-dimetilformamida (una gota) en cloruro de metileno (5 ml), se agregó cloruro de tionilo (SOCl₂, 0,41 ml) a temperatura ambiente y la mezcla resultante se agitó a 70°C durante una hora. Una vez completada la reacción la solución reactiva se enfrió hasta temperatura ambiente y se secó a presión reducida para eliminar el disolvente y obtener un compuesto intermedio 5. Se disolvió el compuesto 516 (94,6 mg, 0,22 mmoles) en cloruro de metileno (5 ml) y piridina (26,2 µL), se agregó el compuesto 5 (68,3 mg) y la mezcla resultante se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante la noche. Una vez completada la reacción la solución reactiva se secó a presión reducida para eliminar el disolvente y el producto resultante se purificó por cromatografía de columna (SiO₂; MC/MeOH 40/1-5/1) para obtener un compuesto marrón 631 (24,1 mg, 21,3%).

55 RMN ¹H (400 MHz, acetona) δ 8,760 (s, 1H), 8,302 (d, J = 1,28 Hz, 1H), 8,231 (dd, J = 8,0, 1,6 Hz, 1H), 7,871 (s, 2H), 7,718 (d, J = 8,12 Hz, 1H), 6,995 (s, 2H), 3,796 (s, 6H), 3,785 (s, 3H), 3,000 (s, 2H), 2,430 (s, 6H). MS (ESI) m/z 523 (M⁺ + H).

65 Ejemplo 5: síntesis del compuesto 646

Síntesis de (S)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil) fenil)tiazol-2-il)pirrolidin-2-carboxamida

Del mismo modo que en la síntesis del compuesto 615 se obtuvo un compuesto sólido blanco 646 (7,8 mg, 25,1%).
 RMN ^1H (400 MHz, MeOD) δ 8,817 (s, 1H), 8,268 (m, 2H), 7,940 (s, 1H), 7,845 (s, 1H), 7,744 (m, 1H), 6,970 (s, 2H),
 4,068-4,037 (m, 1H), 3,826 (s, 3H), 3,789 (s, 6H), 3,181 (m, 1H), 2,686-2,617 (m, 1H), 2,344-2,263 (m, 1H), 2,344
 (m, 1H), 2,005-1,841 (m, 3H). MS (ESI) m/z 535 (M^+ + H).

Ejemplo 6: síntesis del compuesto 647Síntesis de (S)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil) fenil)tiazol-2-il)-2-amino-4-metilpentanamida

Del mismo modo que en la síntesis del compuesto 615 se obtuvo un compuesto sólido blanco 647 (8,5 mg, 23,6%).
 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,311 (s, 1H), 8,105-8,055 (m, 2H), 7,942 (s, 1H), 7,649 (d, $J = 7,96$ Hz, 1H), 7,439 (s,
 1H), 6,978 (s, 2H), 3,892 (s, 3H), 3,814 (s, 6H), 3,742-3,725 (m, 1H), 1,999-1,925 (m, 2H), 1,508-1,462 (m, 1H),
 1,018 (t, $J = 5,96$ Hz, 6H). MS (ESI) m/z 551 (M^+ + H).

Ejemplo 7: síntesis del compuesto 648Síntesis de (S)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil) fenil)tiazol-2-il)-2-amino-3-ciclohexilpropanamida

Del mismo modo que en la síntesis del compuesto 615 se obtuvo un compuesto sólido blanco 648 (46,8 mg, 36%).
 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,305 (s, 1H), 8,099-8,049 (m, 2H), 7,936 (s, 1H), 7,643 (d, $J = 8,04$ Hz, 1H), 7,434 (s,
 1H), 7,257 (s, 1H), 6,972 (s, 2H), 3,886 (s, 3H), 3,783-3,748 (m, 7H), 2,044-1,309 (m, 13H). MS (ESI) m/z 631 (M^+ +
 40).

Ejemplo 8: síntesis del compuesto 652Síntesis de N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil) fenil)tiazol-2-il)-2-amino-3-metilbutanamida

De la misma manera que en la síntesis del compuesto 615 se obtuvo un compuesto sólido blanco 652 (258,2 mg,
 63,1%) usando Fmoc-valina (isómero racémico).
 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,338 (s, 1H), 8,172 (d, $J = 1,52$ Hz, 1H), 8,035 (dd, $J = 8,08, 1,40$ Hz, 1H), 7,937 (s,
 1H), 7,653 (d, $J = 8,08$ Hz, 1H), 7,381 (s, 1H), 6,985 (s, 2H), 3,819 (s, 6H), 3,556 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 2,481 (m, 1H),
 1,092 (d, $J = 6,96$ Hz, 3H), 0,909 (d, $J = 6,92$ Hz, 3H). MS (ESI) m/z 537 (M^+ + H).

Ejemplo 9: síntesis del compuesto 653Síntesis de (R)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil) fenil)tiazol-2-il)-2-amino-3-metilbutanamida

De la misma manera que en la síntesis del compuesto 615 se obtuvo un compuesto sólido blanco 653 (2,25 g,
 53,2%) usando Fmoc-D-valina.
 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,338 (s, 1H), 8,172 (d, $J = 1,52$ Hz, 1H), 8,035 (dd, $J = 8,08, 1,40$ Hz, 1H), 7,937 (s,
 1H), 7,653 (d, $J = 8,08$ Hz, 1H), 7,381 (s, 1H), 6,985 (s, 2H), 3,819 (s, 6H), 3,556 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 2,481 (m, 1H),
 1,092 (d, $J = 6,96$ Hz, 3H), 0,909 (d, $J = 6,92$ Hz, 3H). MS (ESI) m/z 537 (M^+ + H).

Ejemplo experimental 1: medición de la solubilidad en agua

Los compuestos de la presente invención se desarrollaron para reducir la toxicidad causada por la deposición en los
 órganos del compuesto 516, debido a su baja solubilidad, tal como confirmaron los ensayos con animales. Por tanto,
 teniendo en cuenta este aspecto, se midió la solubilidad de los presentes compuestos en agua.

(1) Métodos de ensayo

① Determinación de la línea de calibración

El compuesto se disolvió en acetonitrilo hasta una concentración de 1 mg/ml y la solución se diluyó con una fase
 móvil hasta una concentración de 5, 12,5, 25, 50 o 100 $\mu\text{g/ml}$.

② Preparación de muestra

1. El compuesto se añadió a agua destilada ajustando la concentración de cada muestra a 10 mg/ml, se agitó en
 un mezclador termostatzado (25°C, 200 rpm) durante unos 7 días, se filtró y se diluyó con una fase móvil hasta
 una concentración óptima.

2. El compuesto se añadió a agua destilada ajustando la concentración de cada muestra a 10 mg/ml, se sonicó durante 30 minutos, se agitó durante 5 minutos, se sonicó durante 30 minutos más y se diluyó con una fase móvil hasta una concentración óptima.

5 (2) Condiciones de HPLC

UV: 215 nm

Caudal: 1 ml/min

Cantidad inyectada: 10 µl

10 Temperatura de la columna: 25°C

Columna: Kromasil C8 (4,6 × 150 mm, 5 µm)

Fase móvil: acetato amónico 20 mM, pH 5,0/ACN (60/40)

(3) Resultados de ensayo

15 Se comparó la solubilidad de los compuestos de la presente invención con la del compuesto 516 y los resultados obtenidos están indicados en la siguiente tabla 2.

TABLA 2

	Compuesto 516	Compuesto 615	Compuesto 624	Compuesto 625	Compuesto 631	Compuesto 646	Compuesto 647	Compuesto 648
Solubilidad [mg/mL]	0.5	23.3	14.9	11.0	25.4	29.1	12.1	12.5

Como puede verse en la anterior tabla 2 la solubilidad del compuesto 516 fue considerablemente baja, de 0,5 mg/ml, mientras que la solubilidad de los compuestos de la presente invención fue mayor, de 10 mg/ml o más, la cual es comparable o superior a la de un fármaco de referencia actualmente disponible, AC7700 (véase: Anticancer Drug Des. 1999, Dec; 14(6): 539-48).

Ejemplo experimental 2: efectos farmacéuticos del compuesto en ratones

(1) Animales de ensayo

Se utilizaron ratones BALB/c macho desnudos (de 4 semanas de edad) procedentes de Central Lab Animal Inc. para ensayos de xenotrasplante humano. Se proporcionó libremente comida esterilizada y agua potable a los ratones en una jaula separada en condiciones estériles cuya temperatura se mantuvo constante a $23 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

(2) Líneas celulares

Para los experimentos de xenotrasplante se obtuvieron los modelos de cáncer humano CX-1 (adenocarcinoma de colon humano) del German Cancer Research Center (DKFZ) [Centro alemán de investigación del cáncer], HCT-15 (adenocarcinoma colorrectal humano, CCL-225) y A549 (carcinoma pulmonar humano, CCL-185) de la ATCC (American Type Culture Collection [Colección americana de cultivos tipo], Rockville, MD, USA). Del KCLB (Korean Cell Line Bank [Banco coreano de líneas celulares]) se obtuvieron las células tumorales humanas MKN45 (adenocarcinoma gástrico humano, #80103) y calu-6 (carcinoma pulmonar humano, #30056).

El CX-1 se incubó en un incubador de aire del 95% (37°C , 5% de CO_2 , utilizando un medio DMEM (medio de Eagle modificado por Dulbecco, Gibco) suplementado al 10% con suero fetal bovino inactivado por calor (Gibco) y 1% de antibiótico-antimicótico (Gibco). Otras líneas celulares se incubaron en un incubador de aire del 95% (37°C , 5% de CO_2 , utilizando un medio RPM1640 (Gibco BRL) suplementado al 10% con suero fetal bovino inactivado por calor (Gibco) y 1% de antibiótico-antimicótico (Gibco).

(3) Actividad antitumoral *in vivo*

Los ensayos de xenotrasplante humano *in vivo* se realizaron según el siguiente procedimiento. Las líneas celulares de cáncer humano (CX-1, HCT-15, A549, MKN45, calu-6) proliferadas *in vitro* se inyectaron por vía subcutánea en la región abdominal de ratones BALB/c desnudos y así proliferaron *in vivo*. Al cabo de 20 hasta 25 días se sacrificaron los ratones por dislocación de la espina cervical, se separaron en condiciones estériles las células cancerosas sólidas proliferadas en los ratones y se recogieron las células cancerosas frescas después de eliminarles tejidos conjuntivos o necróticos o piel. Los fragmentos de tumor se trasplantaron a los ratones BALB/c desnudos.

Los ratones en los cuales las células cancerosas habían proliferado hasta un determinado tamaño se reunieron al 15° hasta el 30° día posterior al trasplante de los modelos de cáncer humano a los ratones BALB/c desnudos y luego se utilizaron para las pruebas. Para cada grupo experimental el fármaco se inyectó a una dosis de 0,1 ml por 10 g de ratón, según un plan de dosificación, cuando las células tumorales alcanzaron un tamaño de 100 hasta 200 mm^3 tras el trasplante del tumor.

Tras la administración se evaluó la actividad antitumoral basándose en una tasa de inhibición (IR%) del crecimiento tumoral obtenida por comparación entre un volumen tumoral medido el día final y un volumen tumoral de un grupo de control. Como fármaco de referencia se usó AC7700 (Sanofi-Aventis), que actualmente está en la fase III de los ensayos clínicos.

$$\text{Tamaño tumoral} = (\text{diámetro corto})^2 \times (\text{diámetro largo})/2$$

$$\text{I.R. (\%)} = [1 - (\text{tamaño tumoral promedio del grupo tratado con fármaco}) / (\text{tamaño tumoral promedio del grupo de control})] \times 100$$

① En la siguiente tabla 3 y en la FIG. 1 figuran los resultados de los ensayos del efecto farmacéutico del compuesto 516 con el uso del modelo de cáncer colorrectal humano (CX-1). La FIG. 1 es una gráfica que muestra el volumen tumoral tras cada administración diaria del compuesto 516.

TABLA 3

Grupo experimental (n = 6)	Dosis/día	Método de administración	Cambio de peso corporal (%)	IR (%)	Número de animales muertos
Grupo de control	-	-	+ 18,4	-	0/6
AC7700	100 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 13,2	48%	2/6
Compuesto 516	5 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 15,2	36%	2/6

Como puede verse en la anterior tabla 3 y en la FIG. 1 por los resultados del modelo de xenotrasplante de CX-1, el compuesto 516 tuvo unos efectos farmacéuticos significativamente superiores en comparación con el fármaco de referencia AC7700, aunque dos animales murieron al 6º y 7º día debido a la fuerte toxicidad in vivo, lo cual indica que el compuesto 516 tiene un margen de seguridad considerablemente estrecho.

② En la siguiente tabla 4 y en la FIG. 2 figuran los resultados de los ensayos del efecto farmacéutico de los compuestos 624, 625 y 631 con el uso del modelo de cáncer colorrectal humano (CX-1). La FIG. 2 es una gráfica que muestra el volumen tumoral tras cada administración diaria de los compuestos 624, 625 y 631.

TABLA 4

Grupo experimental (n = 6)	Dosis/día	Método de administración	Cambio de peso corporal (%)	IR (%)	Número de animales muertos
Grupo de control	-	-	+ 24,5	-	0/6
AC7700	100 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 22,8	34%	0/6
Compuesto 624	5 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 25,7	28%	0/6
	10 mg/kg		+ 14,7	64%	
Compuesto 625	5 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 28,9	21%	0/6
	10 mg/kg		+ 24,5	43%	
Compuesto 631	5 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 24,8	23%	0/6
	10 mg/kg		+ 26,7	20%	
	20 mg/kg		+ 20,9	37%	

Como puede verse en la anterior tabla 4 y en la FIG. 2 por los resultados del modelo de xenotrasplante de CX-1, los compuestos 624, 625 y 631 tuvieron unos efectos farmacéuticos significativamente superiores en comparación con el fármaco de referencia AC7700, no causaron pérdida de peso en comparación con el compuesto 516 ni muerte de animales, lo cual indica que los compuestos son mucho más seguros. En particular el compuesto 624 tuvo el doble de efecto que el fármaco de referencia.

③ En la siguiente tabla 5 y en la FIG. 3 figuran los resultados de los ensayos del efecto farmacéutico del compuesto 624 con el uso del modelo de cáncer colorrectal humano (HCT-15). La FIG. 3 es una gráfica que muestra el volumen tumoral tras cada administración diaria del compuesto 624.

TABLA 5

Grupo experimental (n = 6)	Dosis/día	Método de administración	Cambio de peso corporal (%)	IR (%)	Número de animales muertos
Grupo de control	-	-	- 3,4	-	0/6
AC7700	80 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 5,5	66%	1/6
Compuesto 624	5 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 1,8	12%	0/6
	7,5 mg/kg		+ 3,2	63%	0/6
	10 mg/kg		+ 6,6	69%	0/6

Como puede verse en la anterior tabla 5 y en la FIG. 3 por los resultados del modelo de xenotrasplante adicional de HCT-15, el compuesto 624 también tuvo unos efectos farmacéuticos significativamente superiores en comparación con el fármaco de referencia.

④ En la siguiente tabla 6 y en la FIG. 4 figuran los resultados de los ensayos del efecto farmacéutico del compuesto 624 con el uso del modelo de cáncer pulmonar humano (A549). La FIG. 4 es una gráfica que muestra el volumen tumoral tras cada administración diaria del compuesto 624.

TABLA 6

Grupo experimental (n = 6)	Dosis/día	Método de administración	Cambio de peso corporal (%)	IR (%)	Número de animales muertos
Grupo de control	-	-	+ 5,4	-	0/7
AC7700	80 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 2,6	64%	0/7
Compuesto 624	5 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	- 1,7	39%	0/7
	7,5 mg/kg		+ 1,7	61%	0/7
	10 mg/kg		- 1,2	71%	0/7

Como puede verse en la anterior tabla 6 y en la FIG. 4 por los resultados del modelo de xenotrasplante adicional de A549, el compuesto 624 también tuvo unos efectos farmacéuticos significativamente superiores en comparación con el fármaco de referencia.

⑤ En la siguiente tabla 7 y en la FIG. 5 figuran los resultados de los ensayos del efecto farmacéutico del compuesto 624 con el uso del modelo de cáncer gástrico humano (MKN45). La FIG. 5 es una gráfica que muestra el volumen tumoral tras cada administración diaria del compuesto 624.

TABLA 7

Grupo experimental (n = 6)	Dosis/día	Método de administración	Cambio de peso corporal (%)	IR (%)	Número de animales muertos
Grupo de control	-	-	- 15,3	-	0/6
AC7700	80 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 7,8	55%	0/6
Compuesto 624	5 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	- 11,8	21%	0/6
	7,5 mg/kg		+ 2,9	46%	0/6
	10 mg/kg		+ 4,3	68%	0/6

Como puede verse en la anterior tabla 7 y en la FIG. 5 por los resultados del modelo de xenotrasplante adicional de MKN45, el compuesto 624 también tuvo unos efectos farmacéuticos significativamente superiores en comparación con el fármaco de referencia.

© En la siguiente tabla 8 y en la FIG. 6 figuran los resultados de los ensayos del efecto farmacéutico del compuesto 624 con el uso del modelo de cáncer pulmonar humano de células no pequeñas (calu-6). La FIG. 6 es una gráfica que muestra el volumen tumoral tras cada administración diaria del compuesto 624.

TABLA 8

Grupo experimental (n = 6)	Dosis/día	Método de administración	Cambio de peso corporal (%)	IR (%)	Número de animales muertos
Grupo de control	-	-	+ 30,0	-	0/6
AC7700	80 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 22,4	80%	0/6
Compuesto 624	5 mg/kg	q4d x 4 (i. p.)	+ 26,2	41%	0/6
	7,5 mg/kg		+ 26,0	73%	0/6
	10 mg/kg		+ 20,6	82%	0/6

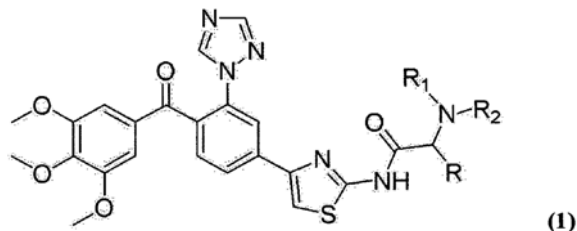
Como puede verse en la anterior tabla 8 y en la FIG. 6 por los resultados del modelo de xenotrasplante adicional de calu-6, el compuesto 624 también tuvo unos efectos farmacéuticos significativamente superiores en comparación con el fármaco de referencia.

[Aplicabilidad industrial]

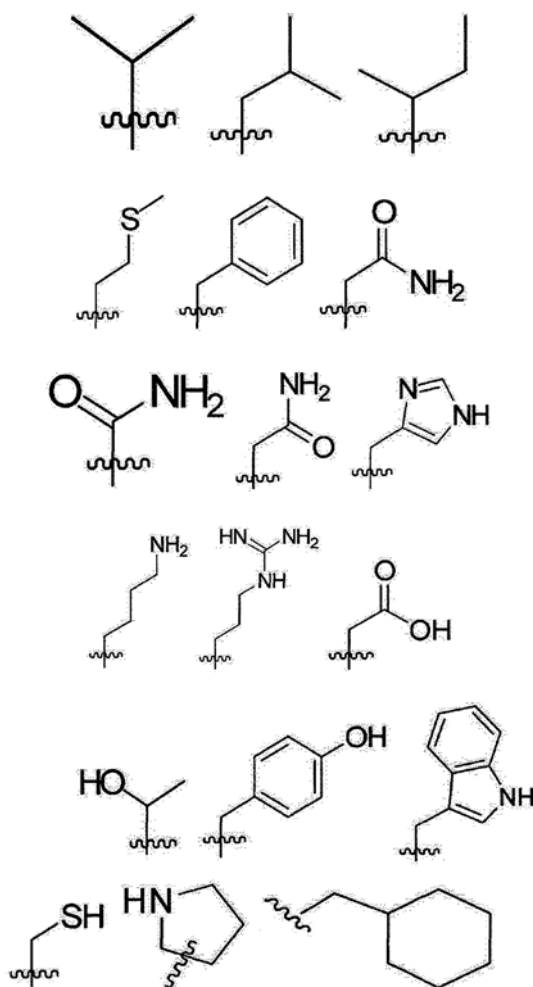
Como resulta evidente de lo expuesto con anterioridad, el derivado de benzofenona tiazol de la presente invención inhibe la formación de microtúbulos y elimina células proliferantes activas de tumores malignos, por lo cual es útil como agente terapéutico para tratar tumores malignos, infecciones víricas y bacterianas, la oclusión vascular recurrente, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes y psoriasis.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula 1 o una sal, un hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo:



donde R_1 y R_2 son, independientemente entre sí, hidrógeno (H) o metilo (CH_3); y R es hidrógeno, metilo, etilo o un radical elegido entre compuestos representados por los siguientes fragmentos:



2. Un compuesto escogido del grupo formado por los siguientes compuestos o una sal, un hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo:

Compuesto 615

N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil)tiazol-2-il)-2-aminoacetamida;

Compuesto 624

(S)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil)tiazol-2-il)-2-amino-3-metilbutanamida;

Compuesto 625

(S)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil)tiazol-2-il)-2-amino-3-fenilpropanamida;

Compuesto 631

N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil)tiazol-2-il)-2-(dimetilamino)acetamida;

Compuesto 646

(S)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil)tiazol-2-il)pirrolidin-2-carboxamida;

Compuesto 647

(S)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil)tiazol-2-il)-2-amino-4-metilpentanamida;

Compuesto 648

(S)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil)tiazol-2-il)-2-amino-3-ciclohexilpropanamida;

Compuesto 652

N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil)tiazol-2-il)-2-amino-3-metilbutanamida;

y

Compuesto 653

(R)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil)tiazol-2-il)-2-amino-3-metilbutanamida.

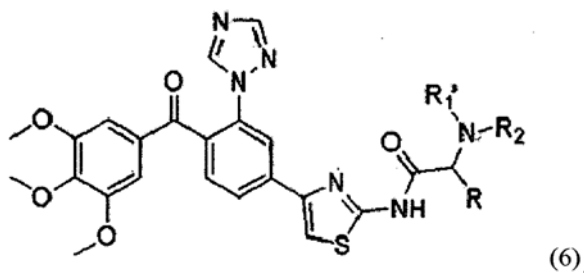
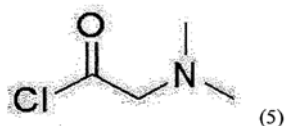
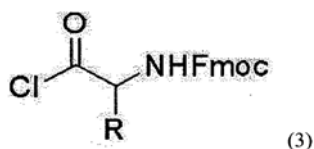
3. El compuesto según la reivindicación 1 o una sal, un hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, el cual es (S)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil)tiazol-2-il)-2-amino-3-metilbutanamida.

4. El compuesto según la reivindicación 1 o una sal, un hidrato o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, el cual es (S)-N-(4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,4,5-trimetoxibenzoil)fenil)tiazol-2-il)-2-amino-3-fenilpropanamida.

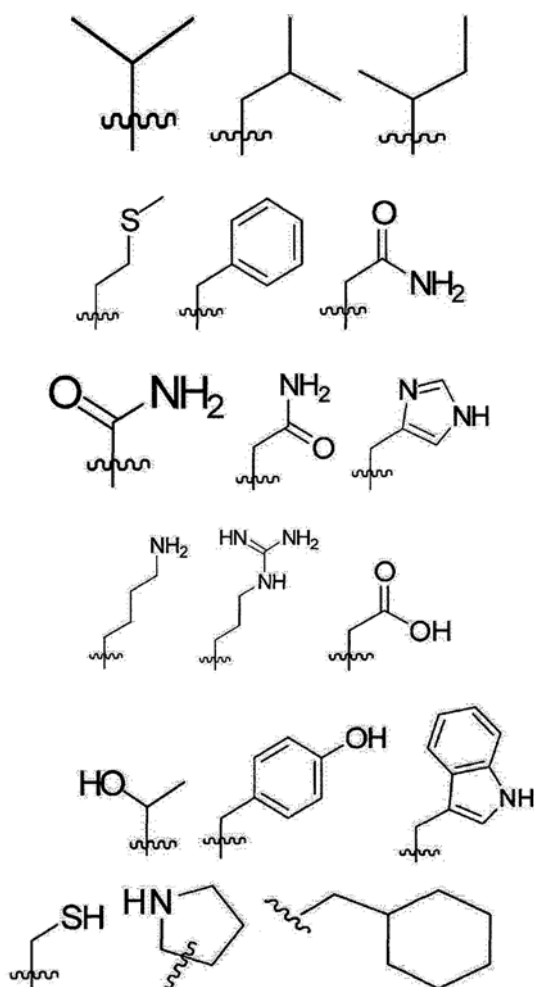
5. Una composición farmacéutica para inhibir la formación de microtúbulos que contiene el compuesto según la reivindicación 1 o un isómero, una sal, un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo como ingrediente activo y un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

6. La composición según la reivindicación 5, que es útil para tratar tumores malignos, infecciones víricas y bacterianas, la oclusión vascular recurrente, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes y psoriasis.

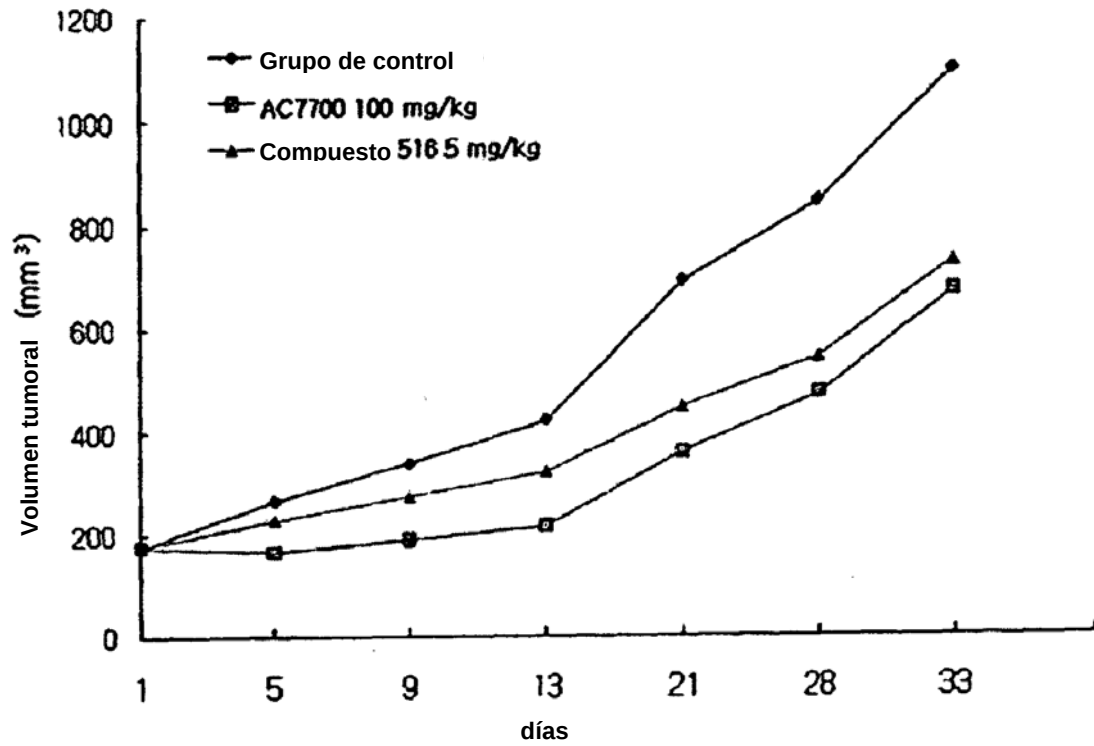
7. Un método para preparar un compuesto representado por la fórmula 6, que consiste en hacer reaccionar un compuesto 516 [4-(2-aminotiazol-4-il)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenil](3,4,5-trimetoxifenil)metanona] con un compuesto representado por la fórmula 3 o 5:



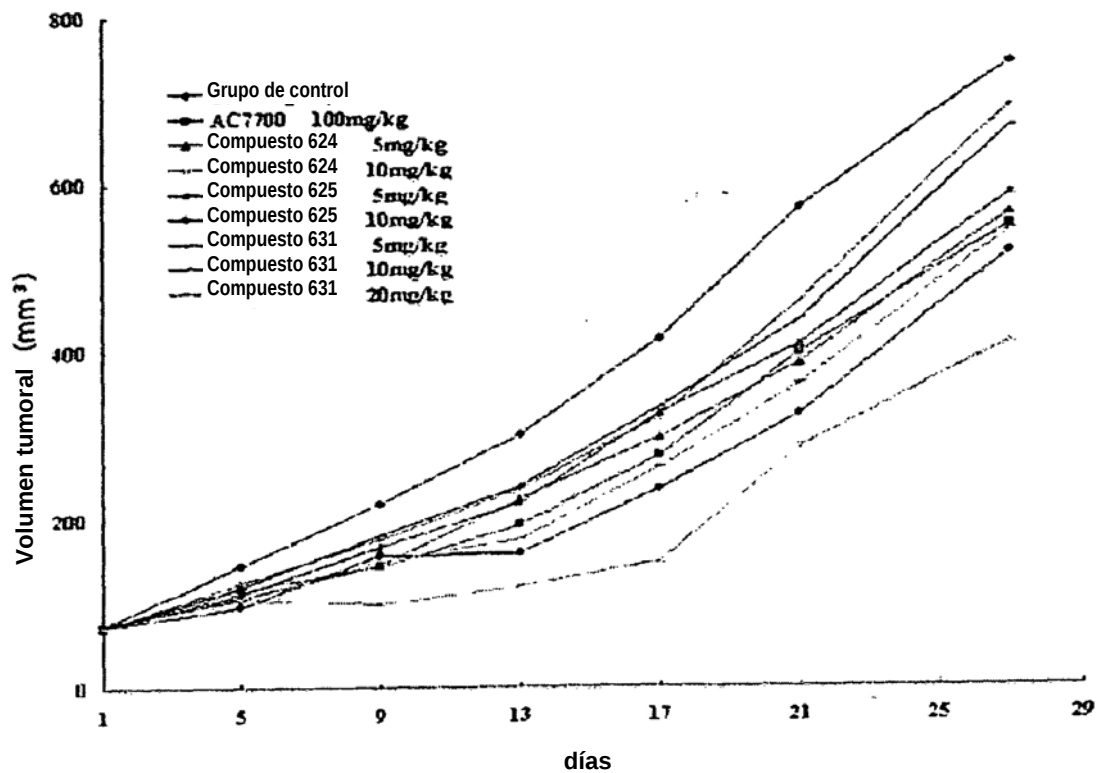
donde R₁' es un grupo Fmoc (N-α-9-fluorenilmetoxycarbonilo) o CH₃; R₂ es H o CH₃; y R es hidrógeno, metilo, etilo o un radical elegido entre compuestos representados por los siguientes fragmentos:



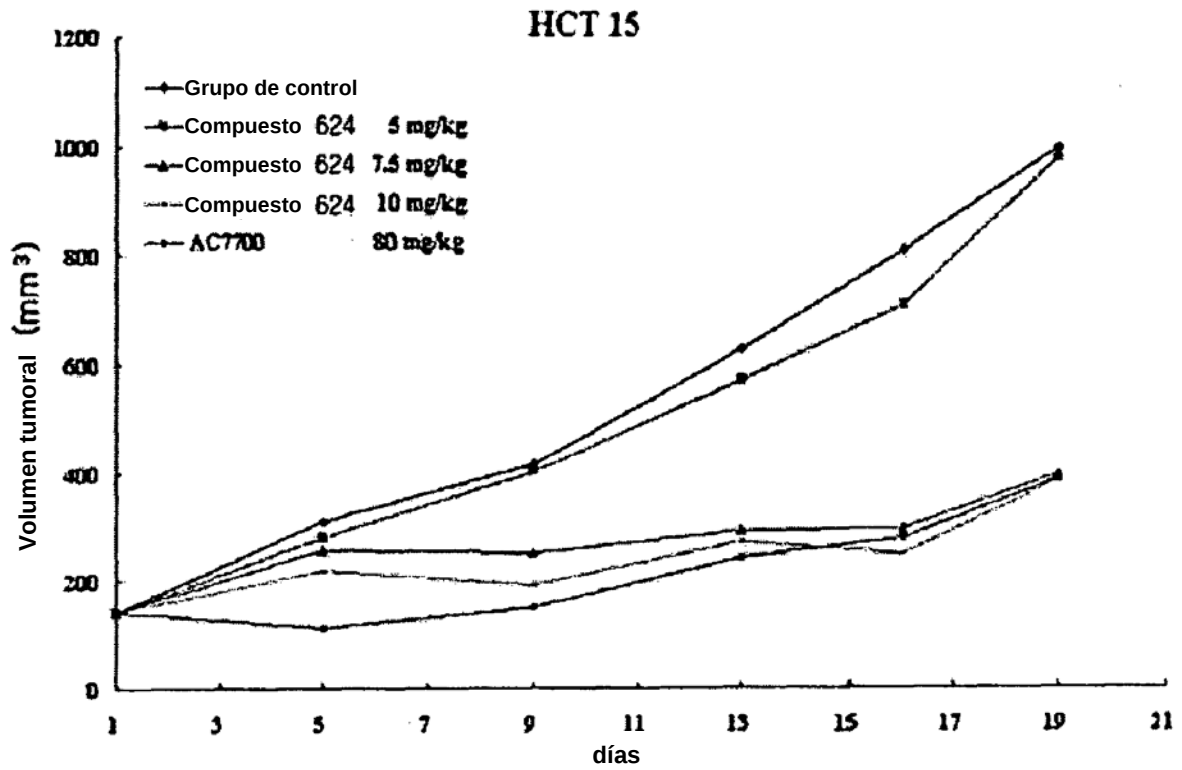
[Fig.1]



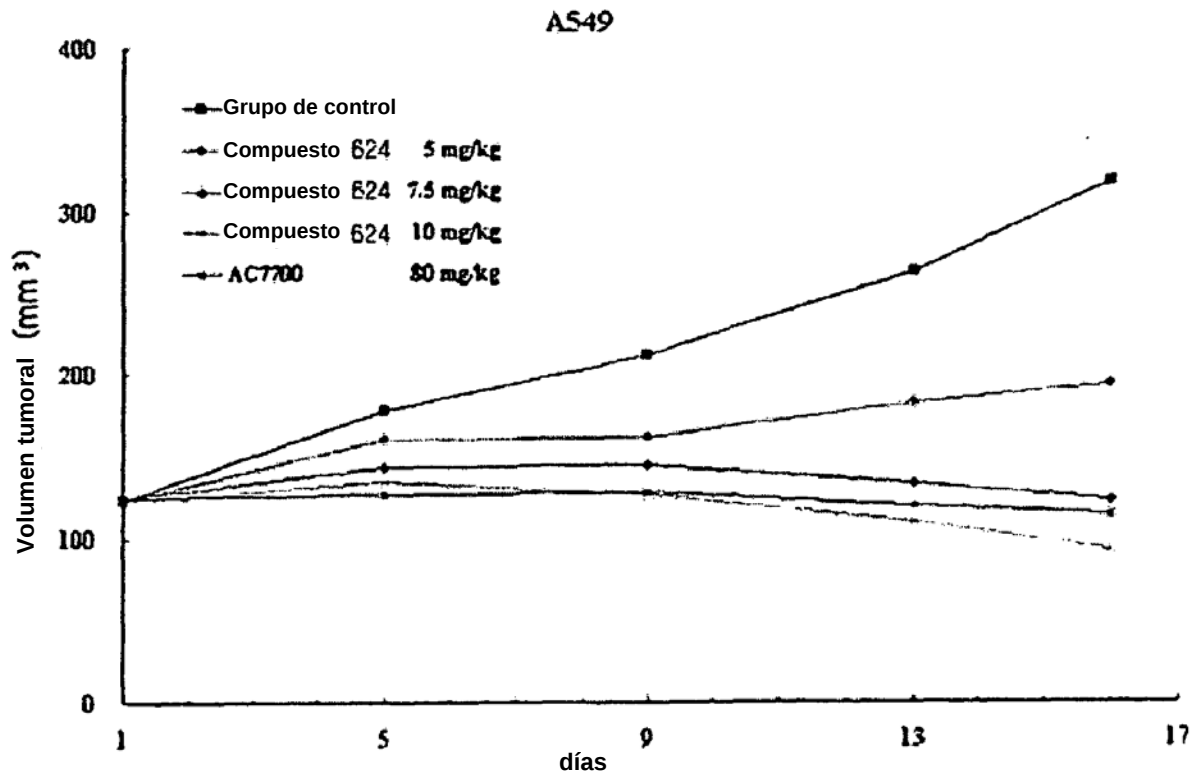
[Fig.2]



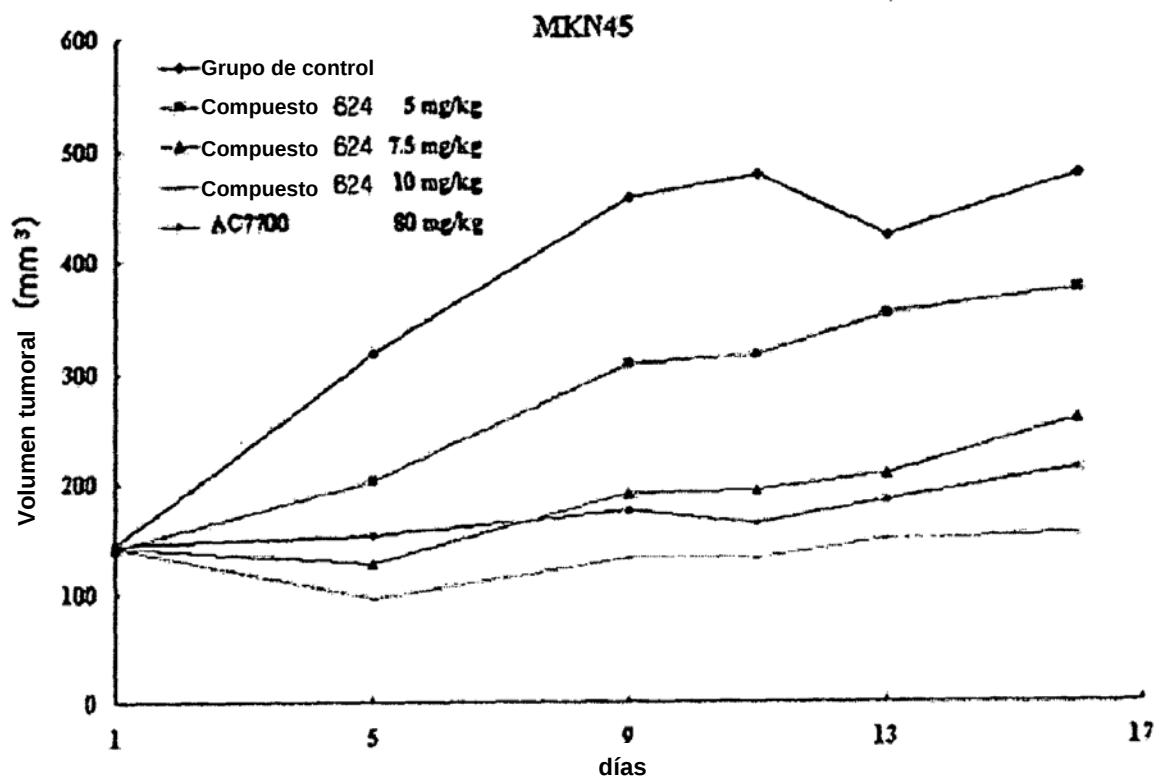
[Fig.3]



[Fig.4]



[Fig.5]



[Fig.6]

