

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 567 785**

51 Int. Cl.:

A61P 35/00 (2006.01)

C07D 277/28 (2006.01)

C07K 5/078 (2006.01)

C07D 211/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2010** **E 10778881 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016** **EP 2499153**

54 Título: **Agentes inhibidores de tubulina**

30 Prioridad:

12.11.2009 EP 09141706

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

26.04.2016

73 Titular/es:

TUBE PHARMACEUTICALS GMBH (100.0%)
Leberstrasse 20
1110 Wien, AT

72 Inventor/es:

RICHTER, WOLFGANG

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 567 785 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).

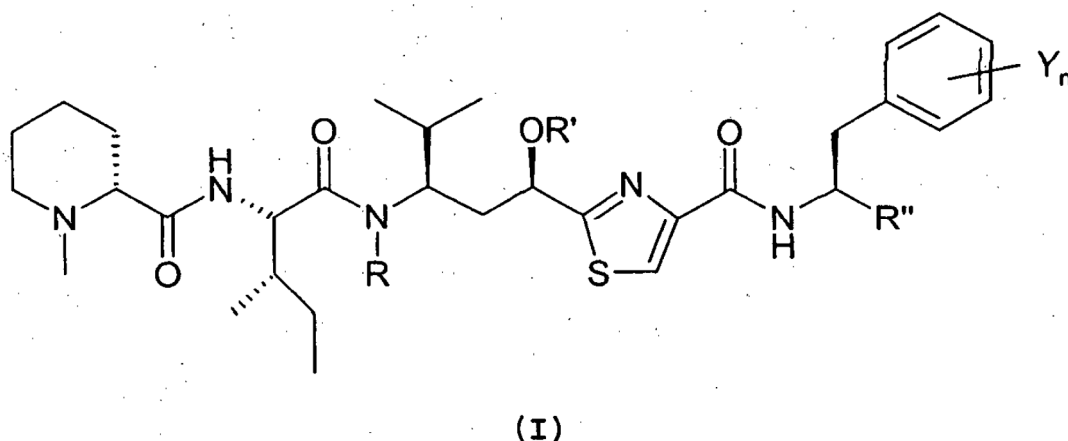
DESCRIPCIÓN

Agentes inhibidores de tubulina

El presente invento se refiere a nuevas moléculas que inhiben la polimerización del esqueleto de tubulina de células cancerosas.

- 5 El objetivo del presente invento es proporcionar unas nuevas moléculas citotóxicas que preferiblemente muestran una actividad muy potente contra unos linajes de células cancerosas y fuertes afinidades para la fijación a tubulina, siendo por lo tanto preferiblemente capaces de aniquilar a células cancerosas.

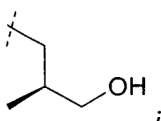
El presente invento proporciona uno o más compuestos de la fórmula (I):



10 en la que

R es H o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, CO-alquilo o heteroalquilo, todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos;

R' es H o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, CO-alquilo o heteroalquilo, todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos;



15 R'' es un grupo de la fórmula CH₂OH o

n es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

los Y son, independientemente, alquilo (p.ej. metilo), heteroalquilo (p.ej. MeO), halógeno, CN, NO₂ u OH, opcionalmente sustituidos;

20 o una sal farmacológicamente aceptable, un solvato, un hidrato o una formulación farmacológicamente aceptable del mismo.

La expresión "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarbilo saturado, de cadena lineal o ramificado, que contiene de 1 a 20 átomos de carbono, de manera preferible de 1 a 12 átomos de carbono, especialmente de 1 a 6 (p.ej. 1, 2, 3 ó 4) átomos de carbono, por ejemplo metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo, n-butilo, sec.-butilo, terc.- butilo, n-pentilo, 2,2-dimetil-propilo, 2-metil-butilo, n-hexilo, 2,2-dimetil-butilo o 2,3-dimetil-butilo.

25 Las expresiones "alquenilo" y "alquinilo" se refieren a unos grupos hidrocarbilo por lo menos parcialmente insaturados, de cadena lineal o ramificados, que contienen de 2 a 20 átomos de carbono, de manera preferible de 2 a 12 átomos de carbono, de manera especial de 2 a 6 (p.ej. 2, 3 ó 4) átomos de carbono, por ejemplo un grupo etenilo, alilo, acetilenilo, propargilo, isoprenilo o hex-2-enilo. Preferiblemente, los grupos alquenilo tienen uno o dos

(de manera especialmente preferible un) doble(s) enlace(s), y los grupos alquínico tienen uno o dos (de manera especialmente preferible un) triple(s) enlace(s).

Por lo demás, los términos alquilo, alquénico y alquínico se refieren a unos grupos en los que uno o más átomos de hidrógeno (p.ej. 1, 2 ó 3 átomos de hidrógeno) ha(n) sido reemplazado(s) por un átomo de halógeno (preferiblemente F ó Cl), tal como, por ejemplo un grupo 2,2,2-tricloro-etilo o trifluorometilo.

La expresión "heteroalquilo" se refiere a un grupo alquilo, alquénico o alquínico en el que uno o más (preferiblemente 1, 2 ó 3) átomos de carbono ha(n) sido reemplazado(s) por un átomo de oxígeno, nitrógeno, fósforo, boro, selenio, silicio o azufre (preferiblemente por un átomo de oxígeno, azufre o nitrógeno). La expresión heteroalquilo se refiere además a un ácido carboxílico a un grupo que se deriva de un ácido carboxílico, tal como por ejemplo acilo (alquil-CO-), acilalquilo, alcóxicarbonilo, aciloxi, aciloxialquilo, carboxialquilamido o alcóxicarboniloxi.

De manera preferible, un grupo heteroalquilo contiene de 1 a 12 átomos de carbono y de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre (especialmente oxígeno y nitrógeno). De manera especialmente preferible, un grupo heteroalquilo contiene de 1 a 6 (p.ej. 1, 2, 3 ó 4) átomos de carbono y 1, 2 ó 3 (especialmente 1 ó 2) heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre (especialmente oxígeno y nitrógeno).

Unos ejemplos de grupos heteroalquilo son los grupos de las fórmulas:

R^a-O-Y^a , R^a-S-Y^a , $R^a-N(R^b)-Y^a$, R^a-CO-Y^a , $R^a-O-CO-Y^a$, $R^a-CO-O-Y^a$, $R^a-CO-N(R^b)-Y^a$, $R^a-N(R^b)-CO-Y^a$, $R^a-O-CO-N(R^b)-Y^a$, $R^a-N(R^b)-CO-O-Y^a$, $R^a-N(R^b)-CO-N(R^c)-Y^a$, $R^a-O-CO-O-Y^a$, $R^a-N(R^b)-C(=NR^d)-N(R^c)-Y^a$, R^a-CS-Y^a , $R^a-O-CS-Y^a$, $R^a-CS-O-Y^a$, $R^a-CS-N(R^b)-Y^a$, $R^a-N(R^b)-CS-Y^a$, $R^a-O-CS-N(R^b)-Y^a$, $R^a-N(R^b)-CS-O-Y^a$, $R^a-N(R^b)-CS-N(R^c)-Y^a$, $R^a-O-CS-O-Y^a$, $R^a-S-CO-Y^a$, $R^a-CO-S-Y^a$, $R^a-S-CO-N(R^b)-Y^a$, $R^a-N(R^b)-CO-S-Y^a$, $R^a-S-C-CO-O-Y^a$, $R^a-O-CO-S-Y^a$, $R^a-S-CO-S-Y^a$, $R^a-S-CS-Y^a$, $R^a-CS-S-Y^a$, $R^a-S-CS-N(R^b)-Y^a$, $R^a-N(R^b)-CS-S-Y^a$, $R^a-S-CS-O-Y^a$, $R^a-O-CS-S-Y^a$, en las que R^a es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de C_1-C_6 , alquénico de C_2-C_6 o alquínico de C_2-C_6 ; R^b es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de C_1-C_6 , alquénico de C_2-C_6 o alquínico de C_2-C_6 ; R^c es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de C_1-C_6 , alquénico de C_2-C_6 o alquínico de C_2-C_6 ; R^d es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de C_1-C_6 , alquénico de C_2-C_6 o alquínico de C_2-C_6 e Y^a es un enlace directo, un grupo alquénico de C_1-C_6 , alquénico de C_2-C_6 o alquínico de C_2-C_6 , en donde cada grupo heteroalquilo contiene por lo menos un átomo de carbono y uno o más átomos de hidrógeno pueden ser reemplazados por átomos de halógeno (p.ej. de flúor o cloro).

Unos ejemplos específicos de grupos heteroalquilo son los grupos metoxi, trifluorometoxi, etoxi, n-propiloxi, isopropiloxi, terc.- butiloxi, metoximetilo, etoximetilo, $-CH_2CH_2OH$, $-CH_2OH$, metoxietilo, metilamino, etilamino, dimetilamino, dietilamino, isopropil-etilamino, metilamino metilo, etilamino metilo, diisopropilamino etilo, enol éter, dimetilamino metilo, dimetilamino etilo, acetilo, propionilo, butiriloxi, acetiloxi, metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, N etil-N-metil-carbamóilo o N-metil-carbamóilo. Otros ejemplos de grupos heteroalquilo son unos grupos de nitrilo, isonitrilo, cianato, tiocianato, isocianato, isotiocianato y alquil-nitrilo.

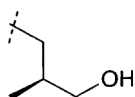
El término "opcionalmente sustituidos" se refiere a unos grupos en los que uno o más átomos de hidrógeno han sido reemplazados por átomos de flúor, cloro, bromo o yodo o por grupos OH, =O, SH, =S, NH_2 , =NH o NO_2 . Este término se refiere además a unos grupos que pueden estar exclusiva o adicionalmente sustituidos con grupos alquilo de C_1-C_6 , alquénico de C_2-C_6 , alquínico de C_2-C_6 o heteroalquilo de C_1-C_6 sin sustituir.

Los grupos protectores son conocidos por un profesional experto en la especialidad y se describen p.ej. en la obra de P. J. Kocienski, Protecting Groups [Grupos protectores], Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1994 y en la de T. W. Greene, P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis [Grupos protectores en síntesis orgánicas], John Wiley & Sons, New York, 1999. Unos grupos protectores de amino corrientes son p.ej. t-butiloxicarbonilo (Boc), t-butildimetilsililo (TBS), benciloxicarbonilo (Cbz, Z), bencilo (Bn), benzoílo (Bz), fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc), aliloxicarbonilo (Alloc), trietilsililo (TES), tricloretiloxicarbonilo (Troc), acetilo o trifluoracetilo.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden comprender varios centros quirales dependiendo de su modelo de sustituciones. El presente invento se refiere a todos los enantiómeros y diastereoisómeros definidos así como sus mezclas en todas las relaciones. Por lo demás, el presente invento se refiere a todos los isómeros cis/trans de compuestos de la fórmula general (I) así como a sus mezclas. Por lo demás, el presente invento se refiere a todas las formas tautoméricas de compuestos de la fórmula general (I).

Preferiblemente, R es H o alquilo de C_1-C_6 , especialmente un grupo metilo o propilo.

Preferiblemente R' es $-CO$ -alquilo, alquilo o heteroarilalquilo, especialmente acetilo (Ac) o $-CH_2CH_3$.



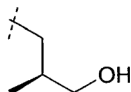
Preferiblemente, R" es

De manera más preferible R" es -CH₂OH

Preferiblemente, n es 0.

Son especialmente preferidos unos compuestos de la fórmula (I) en los que:

- 5 R es alquilo de C₁-C₆, especialmente -CH₃, etilo, propilo, butilo, isopropilo, isobutilo, n-pentilo, n-hexilo;
R' es -CO-alquilo o heteroalquilo, especialmente -CO-CH₃ o -CH₂OCH₃



R" es -CH₂OH o (especialmente -CH₂OH) y
n es 0.

- 10 Ejemplos de sales farmacológicamente aceptables de los compuestos de la fórmula (I) son unas sales de ácidos inorgánicos fisiológicamente aceptables tales como el ácido clorhídrico, el ácido sulfúrico y el ácido fosfórico o unas sales de ácidos orgánicos, tales como el ácido metanosulfónico, el ácido p-toluenosulfónico, el ácido láctico, el ácido fórmico, el ácido acético, el ácido trifluoroacético, el ácido cítrico, el ácido succínico, el ácido fumárico, el ácido maleico y el ácido salicílico. Otros ejemplos de sales farmacológicamente aceptables de los compuestos de la
- 15 fórmula (I) son unas sales de metales alcalinos y de metales alcalinos-térreos tales como, por ejemplo, unas sales de sodio, potasio, litio, calcio o magnesio, unas sales de amonio o unas sales de bases orgánicas tales como, por ejemplo, metilamina, dimetilamina, trietilamina, piperidina, etilendiamina, lisina, hidróxido de colina, meglumina, morfolina o arginina. Los compuestos de la fórmula (I) pueden estar solvatados, especialmente hidratados. La hidratación puede tener lugar, por ejemplo, durante el proceso de preparación o como una consecuencia de la
- 20 naturaleza higroscópica de los compuestos inicialmente anhidros de la fórmula (I). Los solvatos y/o hidratos pueden p.ej. estar presentes en una forma sólida o líquida.

Los compuestos de la fórmula (I), sus sales farmacológicamente aceptables, solvatos e hidratos, respectivamente, así como unas formulaciones y composiciones farmacéuticas destinadas a su uso en la terapia se encuentran también dentro del alcance del presente invento.

- 25 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con el presente invento comprenden por lo menos un compuesto de la fórmula (I) como un ingrediente activo y, opcionalmente, unas sustancias de vehículo y/o unos coadyuvantes.

El uso de unos compuestos de la fórmula (I) para la preparación de medicamentos destinados al tratamiento y/o a la prevención de un cáncer es también un sujeto del presente invento. Por lo demás, los presentes compuestos tienen interés para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades tumorales.

- 30 Los cánceres que pueden ser tratados o prevenidos por medio de las composiciones y los métodos del presente invento incluyen, pero no se limitan a, sarcomas y carcinomas humanos, tales como p.ej. un fibrosarcoma, un mixosarcoma, un liposarcoma, un condrosarcoma, un sarcoma osteogénico, un cordoma, un angiosarcoma, endoteliosarcoma, un linfangiosarcoma, un linfangioendoteliosarcoma, un sinovioma, un mesotelioma, un tumor de Ewing, un leiomioma, un rhabdomioma, un carcinoma de colon, un cáncer pancreático, un cáncer de
- 35 mama, un cáncer de ovario, un cáncer de próstata, un carcinoma de células escamosas, un carcinoma de células basales, un adenocarcinoma, un carcinoma de glándulas sudoríparas, un carcinoma de glándulas sebáceas, un carcinoma papilar, unos adenocarcinomas papilares, un cistoadenocarcinoma, un carcinoma medular, un carcinoma broncogénico, un carcinoma de células renales, un hepatoma, un carcinoma de conducto biliar, un coriocarcinoma, un seminoma, un carcinoma embrionario, un tumor de Wilms, un cáncer cervical, un tumor testicular, un carcinoma pulmonar, un carcinoma pulmonar de células pequeñas, un carcinoma de vesícula, un carcinoma epitelial, un glioma, un astrocitoma, un meduloblastoma, un craneofaringioma, un ependioma, un pinealoma, un hemangioblastoma, un neuroma acústico, un oligodendroglioma, un meningioma, un neuroblastoma, un retinoblastoma; unas leucemias, p.ej. una leucemia linfocítica aguda y una leucemia mielocítica aguda (una leucemia mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica o monocítica y una eritroleucemia); una leucemia crónica (una leucemia mielocítica (granulocítica)
- 40 crónica y una leucemia linfocítica crónica y una policitemia vera, un linfoma (la enfermedad de Hodgkin y la enfermedad no de Hodgkin), un mieloma múltiple, la macroglobulinemia de Waldenstrohm, y una enfermedad de las cadenas pesadas.

Otros ejemplos de leucemias incluyen unas leucemias agudas y/o crónicas, p.ej. una leucemia linfocítica (p.ej. tal como se ilustra por el linaje celular p388 (murino)), una leucemia linfocítica granular grande y una leucemia

linfoblástica; unas leucemias de células T p.ej. una leucemia de células T (p.ej. tal como se ilustra por los linajes de células CEM, Jurkat y HSB-2 (agudos), YAC 1 (murinos), una leucemia linfocítica T y una leucemia linfoblástica T; una leucemia de células B (p.ej. tal como se ilustra por el linaje celular SB (agudo) y una leucemia linfocítica B; unas leucemias de células mixtas (p.ej. unas leucemias de células B y T y unas leucemias linfocíticas B y T: unas leucemias mieloides, p.ej. una leucemia granulocítica, una leucemia mielocítica (p.ej. tal como ilustra mediante el linaje de células HL-60 (promielocitos), y una leucemia mielógena (p.ej. tal como se ilustra por el linaje de células K562 (crónico); una leucemia neutrofílica; una leucemia eosinofílica; una leucemia monocítica (p.ej. tal como se ilustra mediante el linaje de células THP-1 (aguda); una leucemia mielomonocítica; una leucemia mieloide del tipo de Naegeli; y una leucemia no linfocítica. Otros ejemplos de leucemias han sido descritos en el capítulo 60 de la obra The Chemotherapy Sourcebook, Michael C. Perry coordinador de edición, Williams & Williams (1992) y en la sección 36 de la obra Holland Frie Cancer Medicine 5ª edición, Bast y colaboradores, coordinadores de edición, B.C. Decker Inc. (2000).

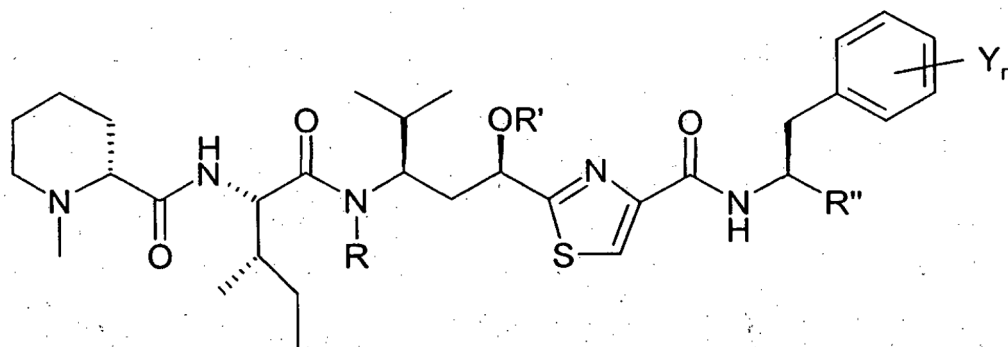
En general, los compuestos de la fórmula (I) se pueden administrar como un único tratamiento o como múltiples tratamientos, ya sea a solas o en combinación con una sustancia terapéutica arbitraria, de acuerdo con unos modos conocidos y aceptados o como un tratamiento continuo, según el cual el principio activo puede ser embebido en una matriz tal como p.ej. un hidrogel implantable. Las composiciones de acuerdo con el invento se pueden administrar de una de las siguientes maneras: por vía oral incluyendo grageas, tabletas revestidas, píldoras, materiales semisólidos, cápsulas duras o blandas, soluciones, emulsiones o suspensiones; por vía parenteral, incluyendo soluciones inyectables, por vía rectal en forma de supositorios; por inhalación, incluyendo una formulación de polvos o como una formulación para pulverización, y por vía transdérmica o intranasal. Para la producción de tales tabletas, píldoras, materiales semisólidos, tabletas revestidas, grageas y cápsulas de gelatina dura, el producto usado terapéuticamente se mezcla con unos vehículos inorgánicos u orgánicos farmacológicamente inertes, p.ej. lactosa, sacarosa, glucosa, gelatina, malta, gel de sílice, un almidón, o derivados del mismo, talco, ácido esteárico o sus sales, leche desnatada secada y similares. Para la producción de cápsulas blandas se pueden usar unos vehículos tales como aceites vegetales, aceites de petróleo, animales o sintéticos, una cera, una grasa y unos polioles. Para la producción de soluciones líquidas y jarabes se pueden usar unos vehículos, por ejemplo agua, unos alcoholes, una solución salina acuosa, una dextrosa acuosa, unos polioles, glicerol, unos aceites vegetales, aceites de petróleo, animales o sintéticos. Para la producción de supositorios, se pueden usar unos vehículos tales como p.ej. aceites vegetales, de petróleo, animales o sintéticos, una cera, una grasa y unos polioles. Para formulaciones de aerosoles se pueden usar unos gases comprimidos que sean apropiados para esta finalidad, tales como p.ej. oxígeno, nitrógeno, un gas noble y dióxido de carbono. Los agentes farmacéuticamente útiles pueden contener también unos aditivos para conservación o estabilización, p.ej. agentes estabilizadores de rayos UV, agentes emulsionantes, edulcorantes, aromatizantes, sales para cambiar la presión osmótica, unos tampones, unos aditivos para revestimiento y unos agentes antioxidantes.

Unas combinaciones con otros agentes terapéuticos pueden incluir unos agentes adicionales que se usan corrientemente para tratar las enfermedades más arriba mencionadas, especialmente enfermedades tumorales.

Se ha encontrado de modo sorprendente que los compuestos del presente invento en los que Rⁿ es -CH₂OH muestran la misma actividad biológica o una muy similar a la de las conocidas tubulisininas (véanse p.ej. el documento de solicitud de patente internacional WO 9813375; y las citas de F. Sasse, H. Steinmetz, G. Hofle, H. Reichenbach, J. Antibiot. 2000, 53, 879-885; y de A. W. Patterson y colaboradores, Chem. Eur. J. 2007, 13, 9534-9541), aunque la unidad "Tup" ha sido reemplazada por un derivado de fenilalanina, una unidad estructural mucho más simple que es mucho menos complicada de sintetizar. El reemplazo de la unidad "Tup" por un derivado de un aminoácido natural hace que todos los compuestos sean más similares a péptidos, lo cual mejora la biodegradabilidad de los compuestos en el cuerpo. Además, este reemplazo conduce a una reducción del peso total de los compuestos resultantes, lo cual conduce a una biodisponibilidad aumentada. Por añadidura, los nuevos compuestos muestran una fijación aumentada a tubulina.

Ejemplos

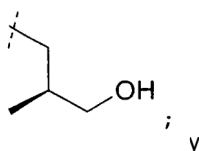
De acuerdo con los procedimientos de síntesis de los bloques de construcción que aquí se describen, unos compuestos de la fórmula (I) fueron sintetizados usando unos métodos corrientes de acoplamiento de péptidos que son conocidos por una persona experta en la especialidad.



5

Se prepararon unos compuestos de la fórmula (I) que tenían los siguientes residuos:

R: H, metilo, propilo;
R': acetilo, -CH₂OCH₃;



R'': -CH₂OH;
n: 0.

10

y

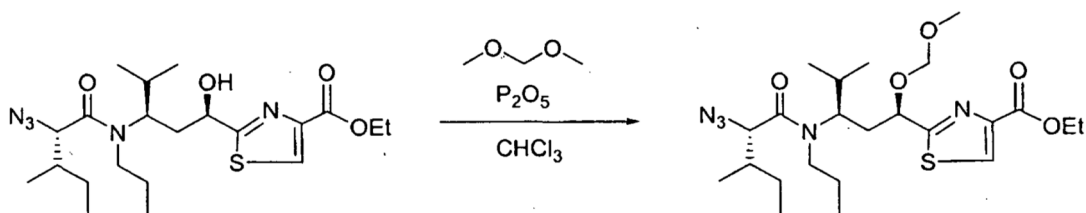
Procedimientos de síntesis

Las síntesis de los respectivos derivados de ácido carbónico, compuestos MSRD334, MSRD345 y SDRD28 se ejecutaron de acuerdo con unos procedimientos descritos en el documento PCT/EP2008/003762 (WO 2008/138561). Todos los compuestos descritos en esta patente fueron caracterizados mediante una 1H-RNM, una 13C-RNM y una espectroscopia de masas. La pureza fue identificada por HPLC.

15

Síntesis de MSRD368:

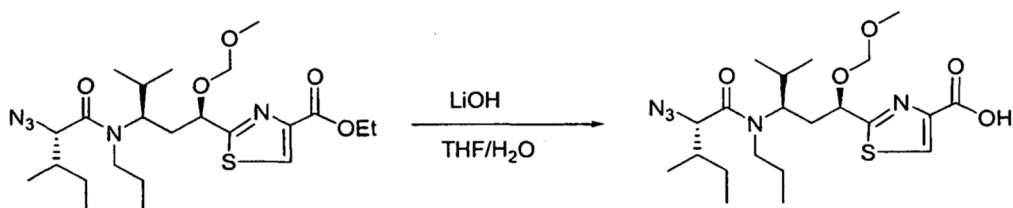
MSRD356



A una solución de un dipéptido (200 mg, 0,44 mmol) en una mezcla 1:1 de cloroformo y de dimetil acetal de formaldehído (2 ml) se le añadió en porciones P₂O₅ (626 mg, 4,4 mmol). La mezcla de reacción se vertió en una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (25 ml) y se extrajo con AcOEt (1x10 ml). El disolvente se retiró en vacío y el producto crudo se purificó por cromatografía de evaporación súbita (una mezcla 7:3 de hexano y AcOEt) para dar 154 mg de MSRD356 (con un rendimiento de 70 %) como un aceite incoloro.

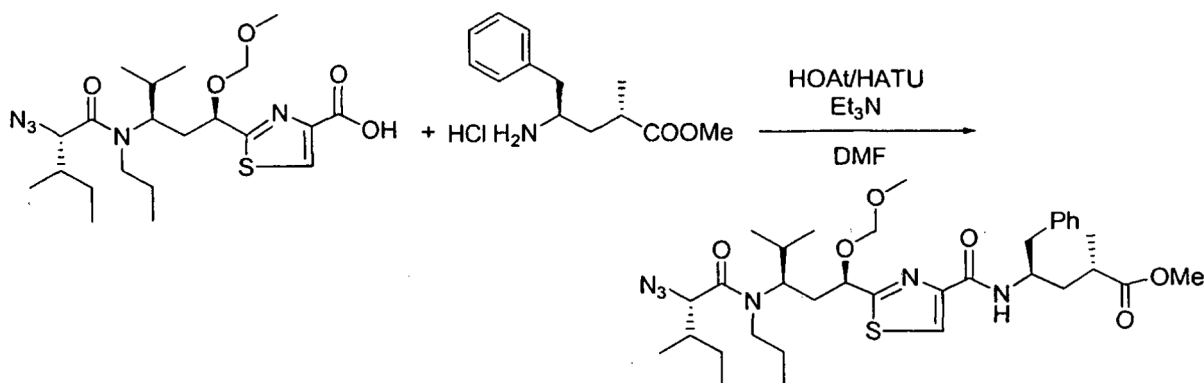
20

MSRD357



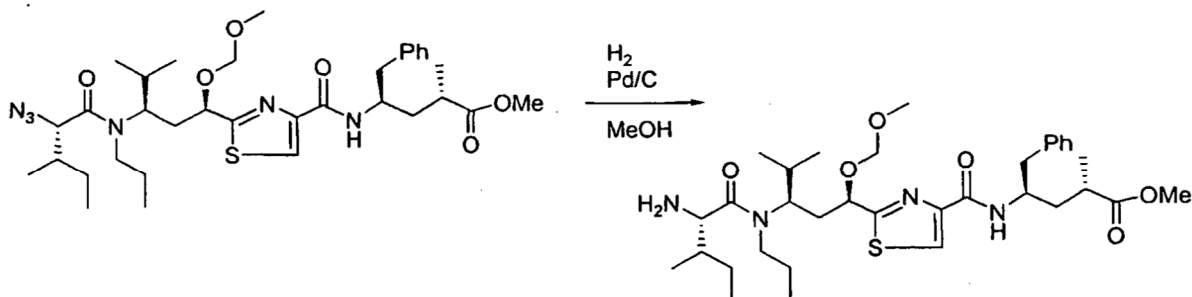
A una solución de MSRD356 (144 mg, 0,29 mmol) en una mezcla 4:1 de THF y H₂O (5 ml), se le añadió LiOH. H₂O (19 mg, 0,43 mmol). La tanda de reacción se agitó durante 5 h, y luego se añadieron H₂O (10 ml) y AcOEt (10 ml). Las capas se separaron y a la fase acuosa se le añadió una solución 1 M de HCl hasta que se alcanzó un valor del pH de 1-2. La mezcla resultante se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y el disolvente se retiró en vacío para dar 119 mg de MSRD357 puro (con un rendimiento de 87 %) en forma de un material sólido de color blanco.

MSRD360



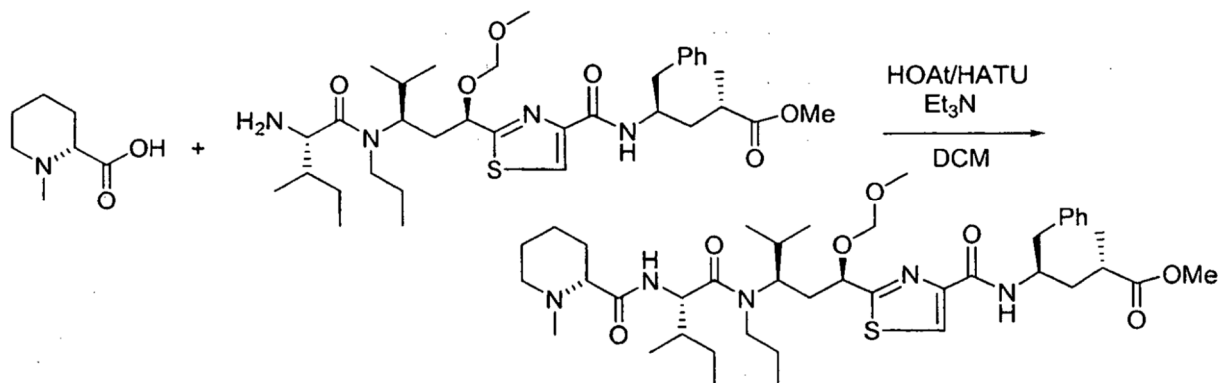
A una solución de MSRD357 (109 mg, 0,23 mmol) en DMF (5 ml), se le añadieron HOAt (38 mg, 0,28 mmol), HATU (105 mg, 0,28 mmol) y Et₃N (70 µl, 0,51 mmol). Después de haber agitado durante 5 min, se añadió Tup (55 mg, 0,25 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h. La tanda de reacción se diluyó con H₂O (10 ml) y se extrajo con Et₂O (1x10 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa 1 N de HCl (1 x 15 ml), con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (1x 15 ml) y con salmuera (2 x 15 ml). Después de haber secado sobre Na₂SO₄ anhidro y de haber filtrado, el disolvente se retiró en vacío para dar 159 mg de MSRD360 puro (con un rendimiento cuantitativo) en forma de una espuma de color blanco.

MSRD362



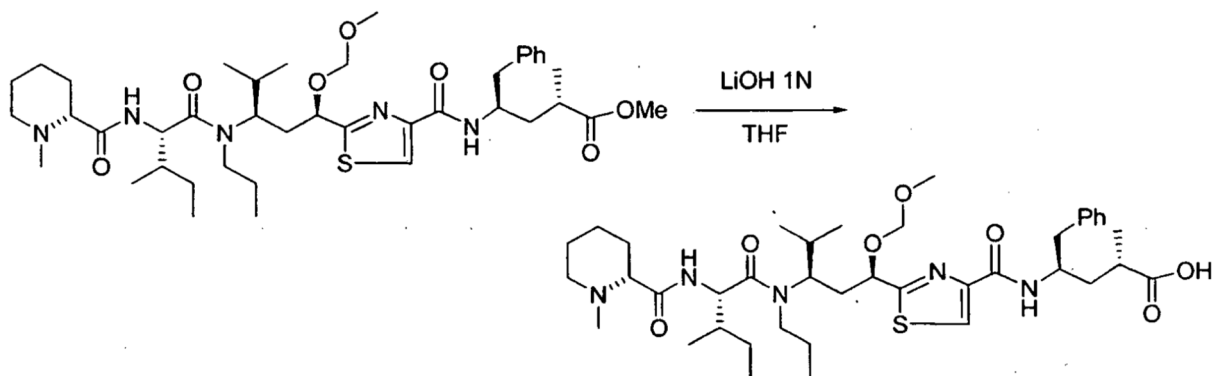
A una solución del MSRD360 (149 mg, 0,22 mmol) en MeOH (5 ml), se le añadió Pd/C. La mezcla de reacción se agitó durante 18 h bajo una atmósfera de hidrógeno. La tanda de reacción se filtró a través de celite y el material filtrado se concentró bajo presión reducida para dar 142 mg de MSRD362 puro en forma de una espuma de color blanco, con un rendimiento cuantitativo.

MSRD364



A una suspensión de ácido N-metil-pipecolínico (34 mg, 0,24 mmol) en DCM (5 ml) se le añadieron HOAt (35 mg, 0,26 mmol), HATU (99 mg, 0,26 mmol), Et₃N (67 µl 0,48 mmol) y el MSRD362 (142 mg, 0,22 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h. La tanda de reacción se lavó con H₂O (10 ml), con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (1x 15 ml) y con salmuera (1 x 15 ml). Después de haber secado sobre Na₂SO₄ anhidro y de haber filtrado el disolvente se retiró en vacío. El material crudo se purificó por cromatografía de evaporación súbita FC (con una mezcla 97:3 de DCM y MeOH) para dar 107 mg del MSRD364 (con un rendimiento de 63 %) como una espuma de color blanco.

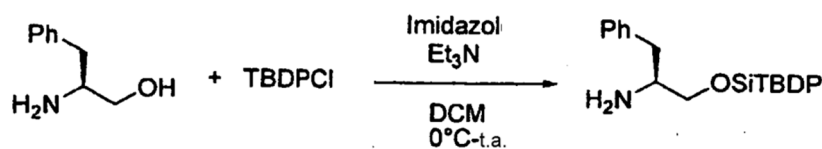
MSRD365



A una solución de MSRD364 (102 mg, 0,13 mmol) en THF (5 ml) se le añadió una solución acuosa 1 N de LiOH (400 µl, 0,40 mmol). La tanda de reacción se agitó durante 2 días y luego se acidificó con TFA hasta que se alcanzó un pH de 1-2. La mezcla resultante se lavó con H₂O (5 ml) y se extrajo con AcOEt (10 ml). La fase orgánica se basificó con Et₃N hasta se alcanzó un pH de 8, se lavó con H₂O (5 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y el disolvente se retiró en vacío. El residuo se purificó por cromatografía de resolución rápida (con una mezcla 9:1 de DCM y MeOH), proporcionando 52 mg de MSRD365 (rendimiento 52 %) como una espuma de color blanco. La reducción de MSRD365 para formar el MSRD368 se realizó de acuerdo con el procedimiento general que seguidamente se describe.

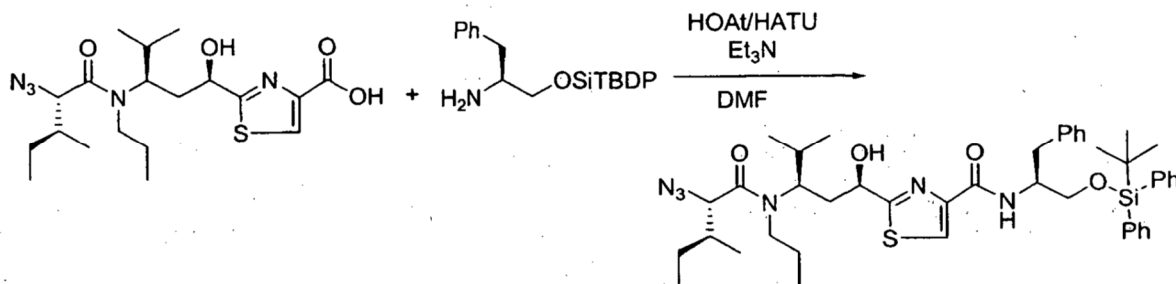
Síntesis de MSRD390:

MSRD371



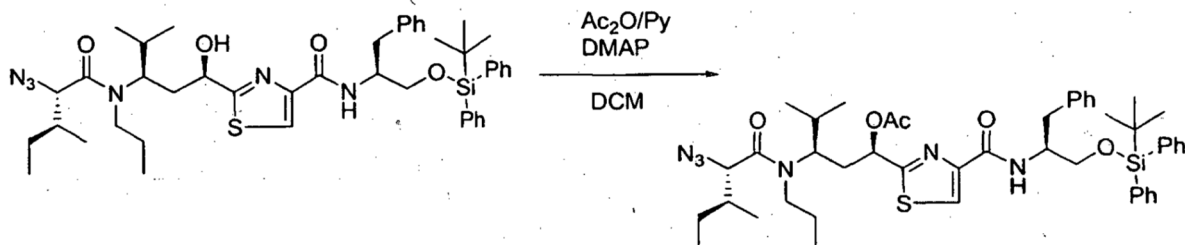
- 5 A una solución de fenilalaninol (300 mg, 1,98 mmol) en DCM (10 ml), enfriada a 0°C, se le añadieron Et₃N (414 µl, 2,97 mmol), imidazol (269 mg, 3,96 mmol) y TBDPCL (516 µl, 1,98 mmol). La mezcla de reacción se calentó a la t.a. (temperatura ambiente), se agitó durante una noche y se sofocó con agua (5 ml). Las capas se separaron y la fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y el disolvente se retiró en vacío. El residuo se purificó por cromatografía de resolución rápida (en una mezcla 97:3 de DCM y MeOH y en una mezcla 95:5 de DCM y MeOH), proporcionando 647 mg de MSRD371 (rendimiento 84 %) como un aceite incoloro.

MSRD379



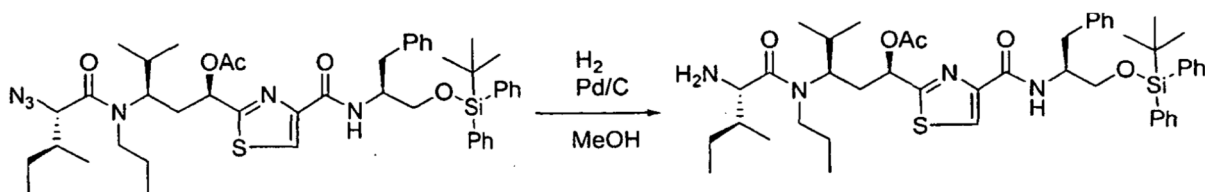
- 10 A una solución de un dipéptido (85 mg, 0,20 mmol) en DMF (5 ml) se le añadieron HOAt (33 mg, 0,24 mmol), HATU (91 mg, 0,24 mmol), Et₃N (61 µl, 0,44 mmol) y MSRD371 (93 mg, 0,24 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h y se le añadieron 20 ml de Et₂O. La tanda de reacción se lavó con H₂O (10 ml), con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (1 x 15-ml) y con salmuera (1 x 15 ml). Después de haber secado sobre Na₂SO₄ anhidro y de haber filtrado, el disolvente se retiró en vacío para dar 157 mg de MSRD379 puro (con un rendimiento cuantitativo)
- 15 en forma de una espuma de color blanco.

MSRD380



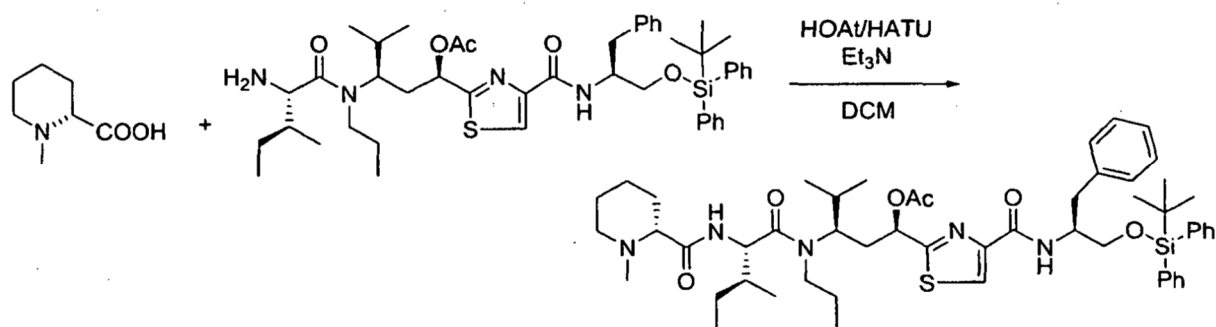
- 20 A una solución de MSRD379 (149 mg, 0,19 mmol) en DCM (10 ml) se le añadieron Ac₂O (76 µl, 0,93 mmol), piridina (45 µl, 0,47 mmol) y una cantidad catalítica de DMAP. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h y el disolvente se retiró en vacío. El residuo se purificó por cromatografía de evaporación súbita (en una mezcla 7:3 de Hex y AcOEt) para dar 143 mg de MSRD380 (rendimiento 89 %) como una espuma de color blanco.

MSRD388



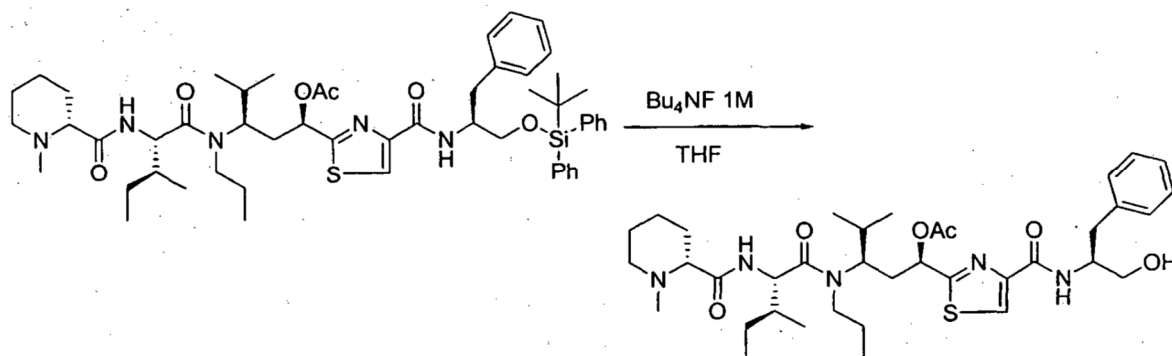
- 25 A una solución de MSRD380 (133 mg, 0,16 mmol) en MeOH (5 ml) se le añadió Pd/C. La mezcla de reacción se agitó durante 18 h bajo una atmósfera de hidrógeno. La tanda de reacción se filtró a través de celite y el material filtrado se concentró bajo presión reducida para dar 124 mg de MSRD388 puro (rendimiento 95 %) como una espuma de color blanco.

MSRD389



A una suspensión de ácido N-metil-pipecolínico (33 mg, 0,23 mmol) en DCM (5 ml) se le añadieron HOAt (33 mg, 0,24 mmol), HATU (91 mg 10,24 mmol), Et₃N (54 µl, 0,39 mmol) y MSRD388 (124 mg, 0,15 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h. La tanda de reacción se lavó con H₂O (10 ml), con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (1x 15 ml) y con salmuera (1 x 15 ml). Después de haber secado sobre Na₂SO₄ anhidro y de haber filtrado, el disolvente se retiró en vacío. El producto crudo se purificó por cromatografía de evaporación súbita (en una mezcla 97:3 de DCM y MeOH) para dar 100 mg de MSRD389 (rendimiento 71 %) como una espuma de color blanco.

MSRD390



A una solución de MSRD389 (89 mg, 0,09 mmol) en THF (3 ml) se le añadió una solución 1 M de Bu₄NF en THF (189 µl, 0,189 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 min y se lavó con agua (5 ml). La fase acuosa se extrajo con AcOEt (1 X 10 ml). Las fases orgánicas recogidas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y el disolvente se retiró en vacío. El producto crudo se purificó por cromatografía de evaporación súbita (en unas mezclas 97:3 y 93:7 de DCM y MeOH) para dar 59 mg de MSRD390 (rendimiento 94 %) como una espuma de color blanco. Todos los datos analíticos (HNMR, CNMR, MS) corresponden a la estructura de MSRD390.

Procedimiento general para la reducción de los derivados de ácido carbónico MSRD334, MSRD345, MSRD368 y SDRD28:

A una solución del correspondiente derivado de ácido carbónico (0,04 mmol) en THF (2 ml), Et₃N (7 µl, 0,05 mmol). Después de haber enfriado la mezcla de reacción a 0°C, se añadió EtOCOCl (5 µl, 0,05 mmol). La tanda de reacción se agitó a la misma temperatura durante 30 min y se filtró a través de celite. Luego la solución se añadió a una solución de NaBH₄ (3,0 mg, 0,08 mmol) en agua (1 ml) y se enfrió a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 30 min, se sofocó con H₂O (5 ml) y se extrajo con EtOAc (1x5 ml). El disolvente se retiró en vacío y el producto crudo se purificó por cromatografía de evaporación súbita (en una mezcla 94:6 de DCM y MeOH) para dar 24 mg del correspondiente alcohol (rendimiento 81 %) como una espuma de color blanco.

Determinación de la concentración inhibidora del 50 % CI-50 contra diversos linajes de células cancerosas

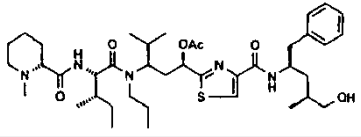
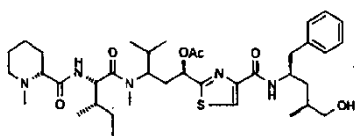
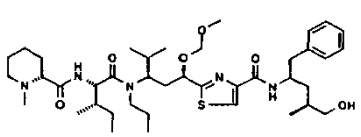
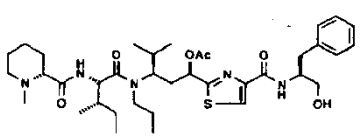
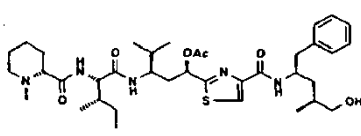
La actividad de algunos compuestos ejemplos representativos del presente invento se ha determinado con el ensayo de BrdU como se ha descrito en: *Porstmann T., Ternynck T., Avrameas S. (1985) "Cuantificación de la incorporación*

de 5-bromo-2-desoxiuridina un ADN: un ensayo inmunológico enzimático para la determinación de la respuesta proliferativa de células linfoides" *J. Immunol. Methods* 82: 169-179.

Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

5

Compuesto	CI50 del linaje celular [nM]					
	HCT-116	Skov-3	MCF-7	MCF-7 MX100	MCF-7 TX200	MCF-7 VP
	1,06	1,05	0,57	0,62	15,55	0,88
MSRD334						
	1,35	1,18	0,40	0,28	50,56	1,20
MSRD354						
	41,0	29,91	3,91	4,01	322,3	6,38
MSRD368						
	1,10	1,06	0,27	0,20	24,41	0,54
MSRD390						
	4,31	3,35	0,55	1,41	370,2	3,04
SDRD28						

En general, las nuevas moléculas del presente invento muestran una actividad contra diversos linajes de células cancerosas que están comprendidas entre 0,1 y 400 nM

Determinación del efecto de desestabilización contra microtúbulos (Figura 1)

La Figura 1 muestra el efecto de desestabilización contra microtúbulos. Para comprobar que los nuevos compuestos de acuerdo con la fórmula (I) están mostrando un efecto desestabilizador contra microtúbulos, se midió la actividad in vitro en un ensayo de polimerización de tubulina. Como testigos se utilizaron un agente estabilizador de tubulina (taxol) y unos fuertes agentes desestabilizadores (vinblastina y tubulisina A). Los nuevos compuestos muestran un notable efecto desestabilizador contra microtúbulos tal como p.ej. el de la vinblastina.

10

Determinación de la dependencia de la concentración de la polimerización de microtúbulos

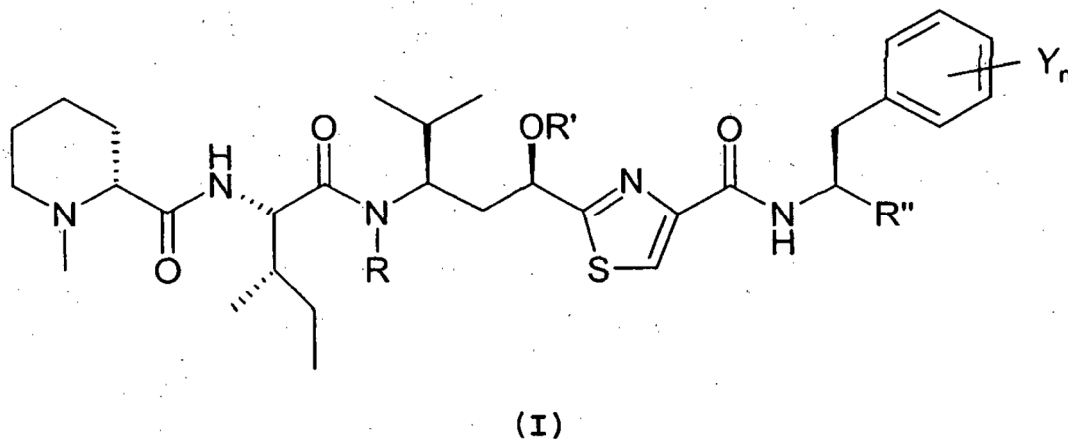
Las figuras 2a - e muestran la dependencia con respecto de la concentración en el ensayo de polimerización de microtúbulos. Se determinó un claro efecto, dependiente de la concentración, contra la polimerización de microtúbulos.

5 **Determinación de la actividad in vitro en el ensayo de polimerización de tubulina**

Las figuras 3a - e muestra que la concentración CI-50 contra la polimerización de tubulina. La concentración CI-50 de la actividad contra la polimerización se determinó y comparó con unos fuertes agentes inhibidores del esqueleto de los microtúbulos tales como p.ej. vinblastina, tubulisina A.

REIVINDICACIONES

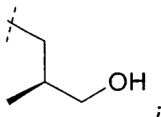
1. Un compuesto de la fórmula (I):



en la que

5 R es H o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, CO-alquilo o heteroalquilo, todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos;

R' es H o un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, CO-alquilo o heteroalquilo, todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos;



R'' es un grupo de la fórmula CH₂OH o

10 n es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

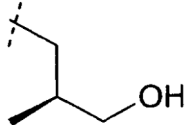
los Y son, independientemente, alquilo, heteroalquilo, halógeno, CN, NO₂ u OH, opcionalmente sustituidos;

o una sal farmacológicamente aceptable, un solvato, un hidrato o una formulación farmacológicamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R es H o alquilo de C₁-C₆.

15 3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que R' es -CO-alquilo, alquilo o heteroalquilo.

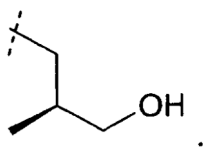
4. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 3, en el que R'' es



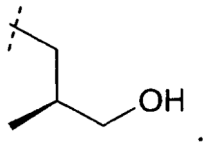
5. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 3, en el que R'' es CH₂OH.

6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 5, en el que n es 0.

20 7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R es alquilo de C₁-C₆, R' es -CO-alquilo o heteroalquilo, n es 0 y R'' es -CH₂OH ó



8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R es metilo, R' es acetilo, n es 0 y R'' es



5 9. Una composición farmacéutica que contiene un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 8 y opcionalmente uno o más vehículos y/o adyuvantes.

10. Un compuesto o una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 9 para su uso como un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades cancerosas.

10 11. El uso de un compuesto o de una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 9, para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de enfermedades cancerosas.

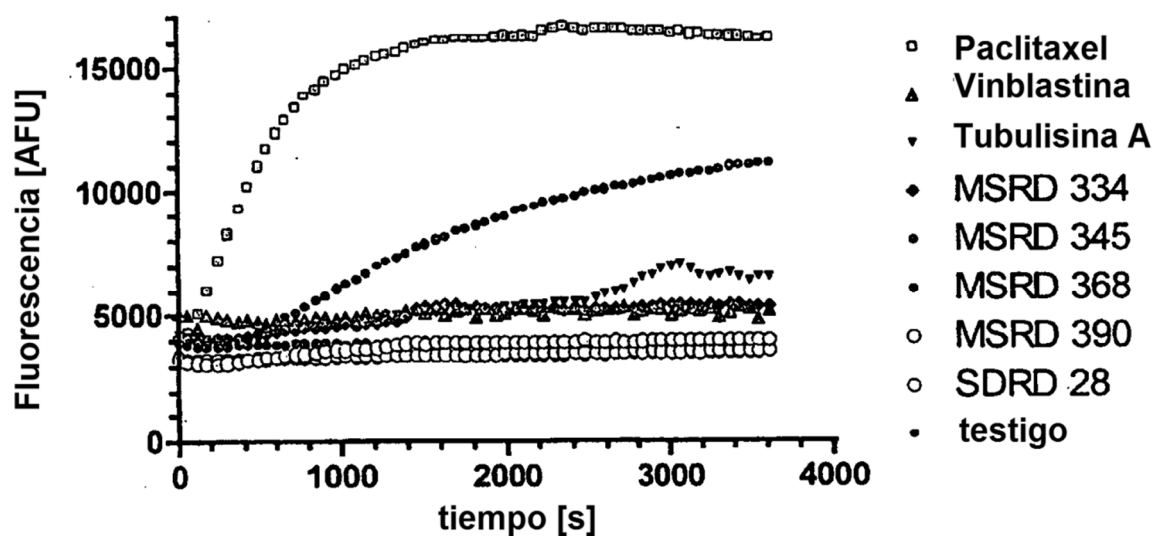


Figura 1

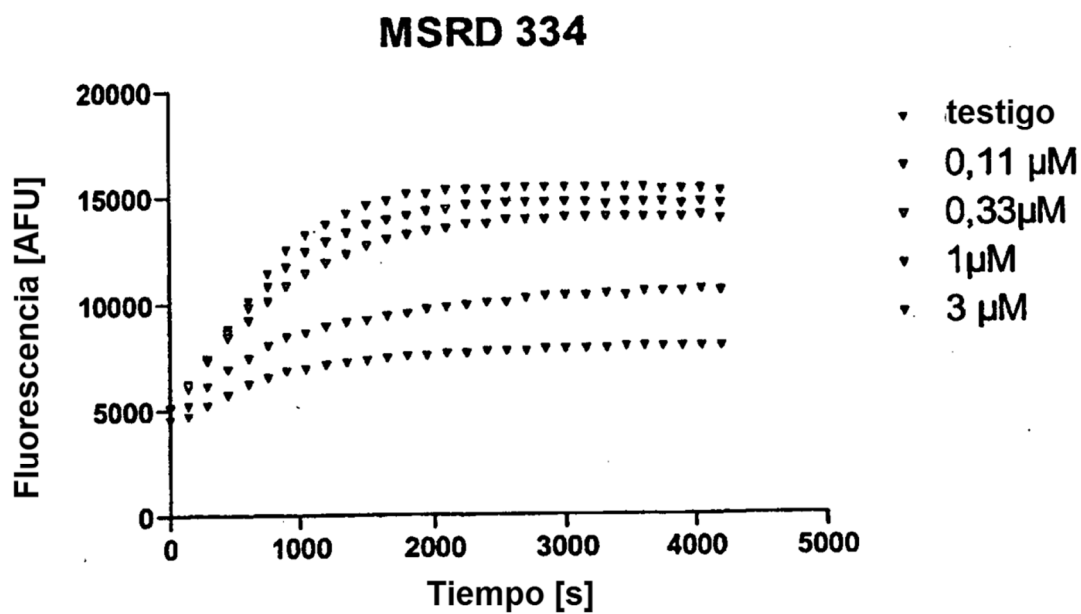


Figura 2a

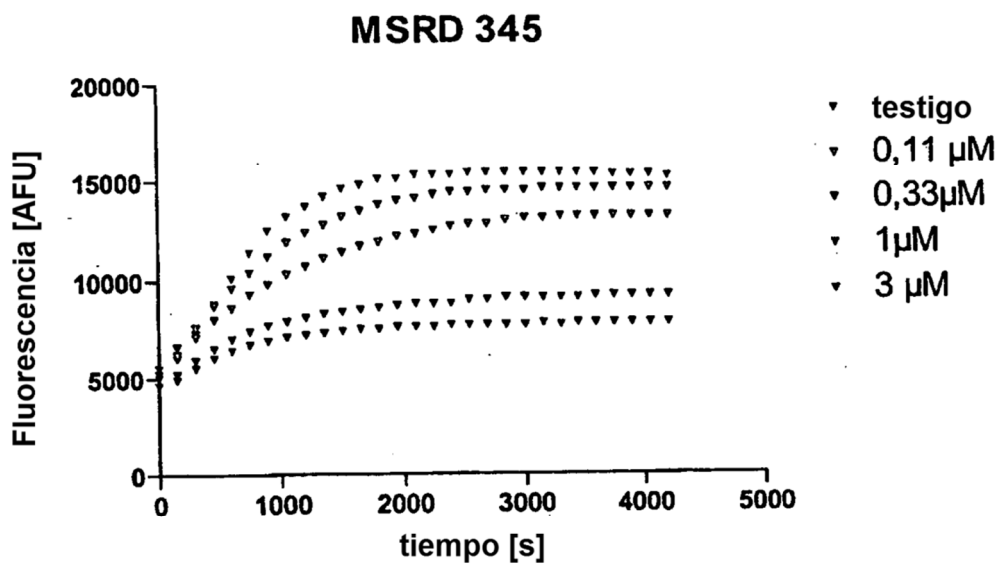


Figura 2b

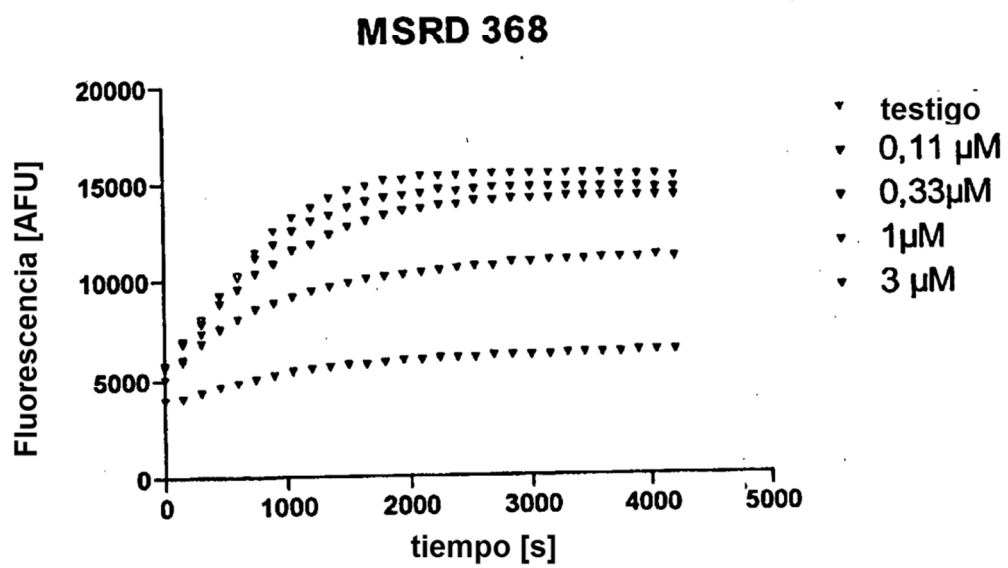


Figura 2c

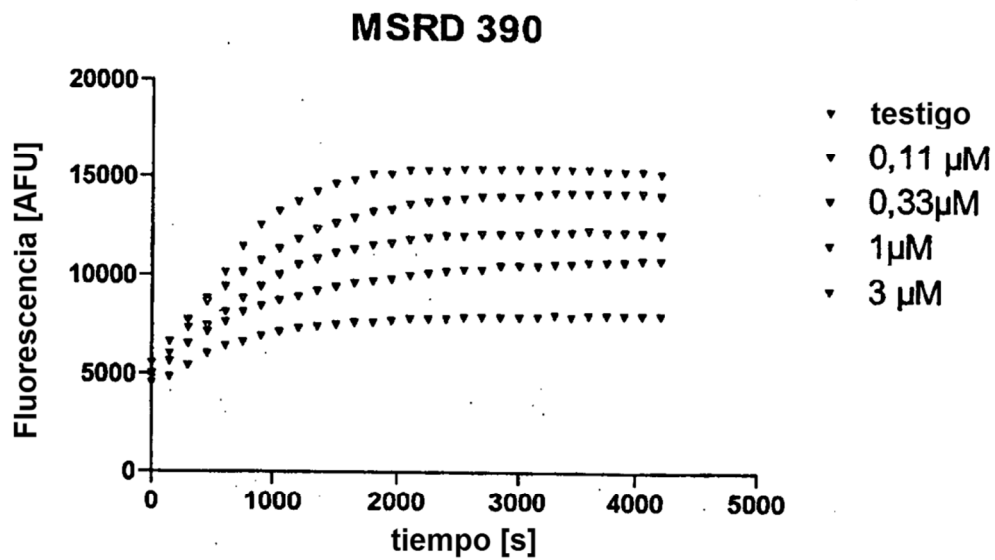


Figura 2d

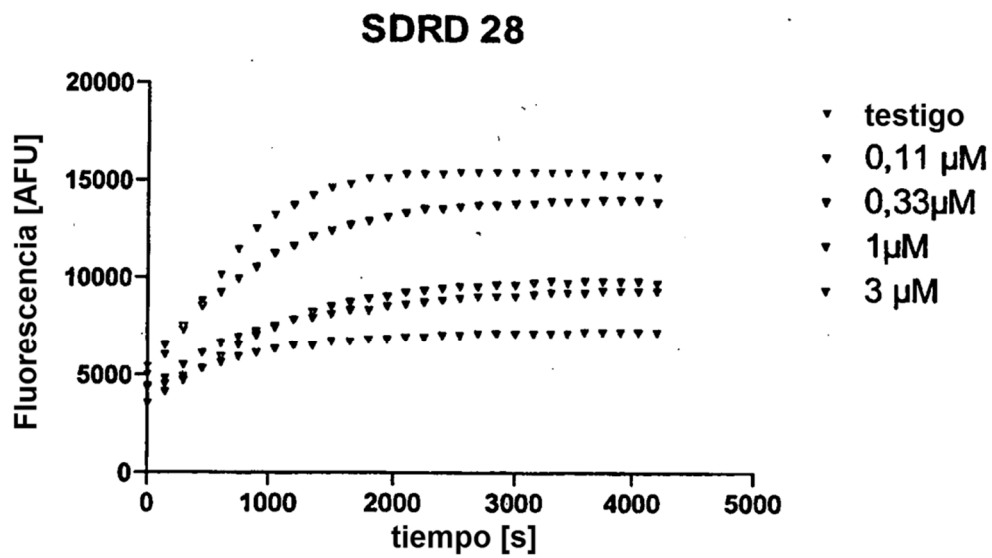


Figura 2e

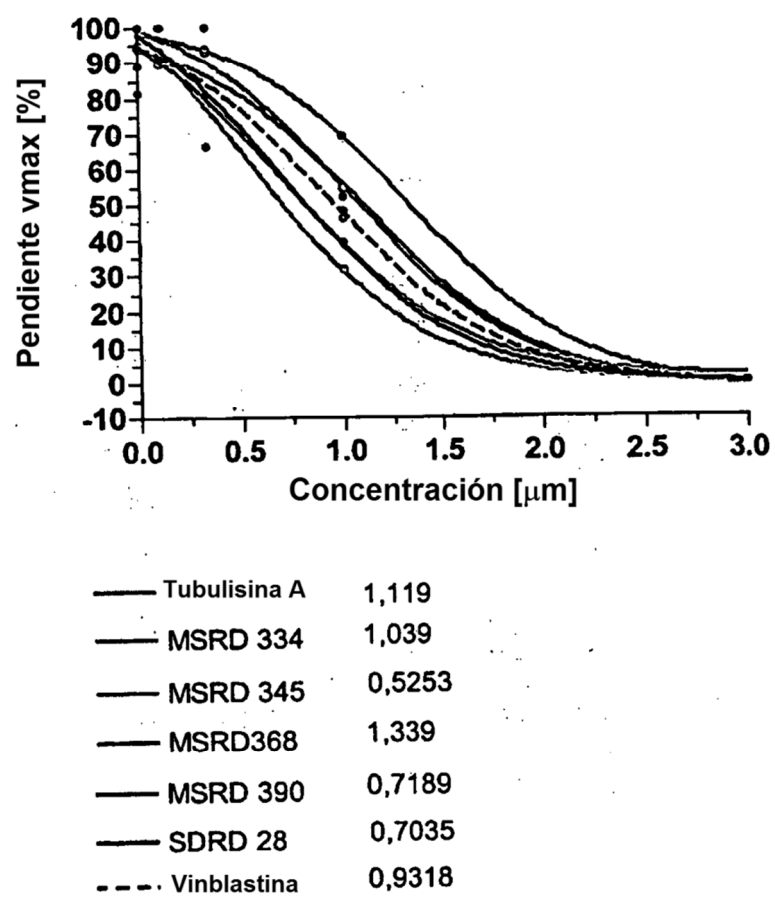


Figura 3a

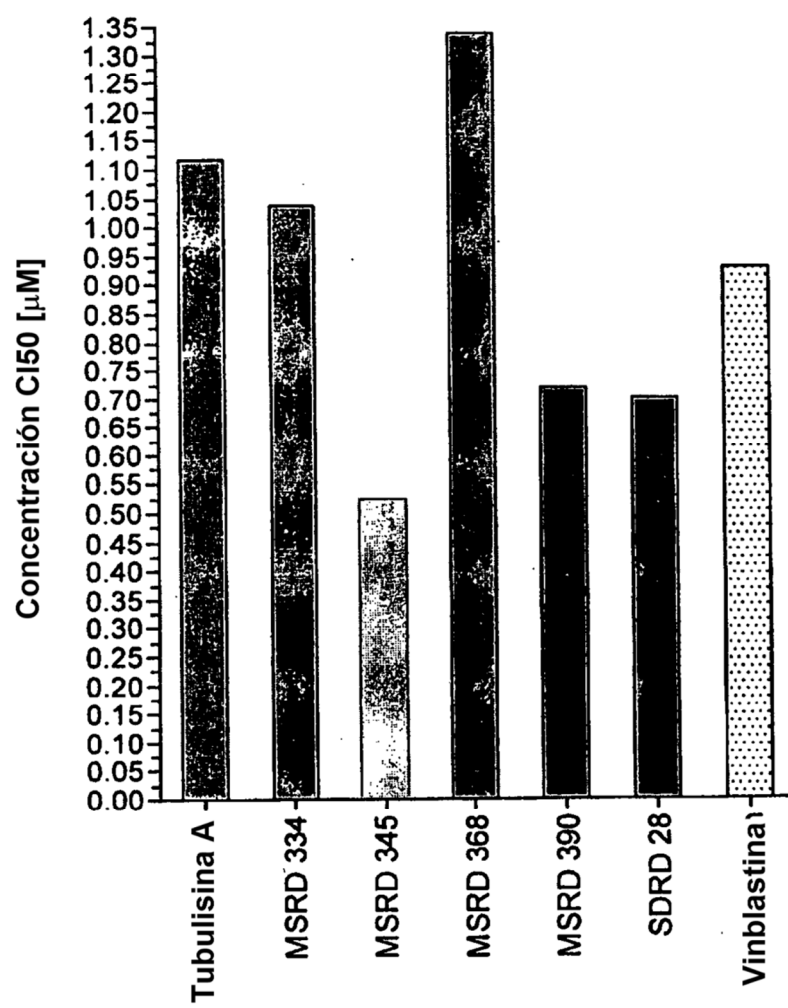


Figura 3b