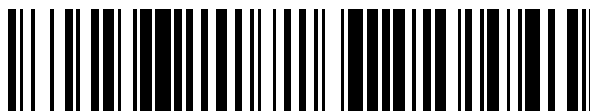


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 905 765**

51 Int. Cl.:

A61P 35/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.04.2004** **E 11172107 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.12.2021** **EP 2388003**

54 Título: **Derivados de colquicina**

30 Prioridad:

14.04.2003 US 414076

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

12.04.2022

73 Titular/es:

**CALIFORNIA PACIFIC MEDICAL CENTER (50.0%)
475 Brannan Street, Suite 130
San Francisco, CA 94107, US y
CATHOLIC HEALTHCARE WEST, D.B.A. ST.
MARY'S MEDICAL CENTER (50.0%)**

72 Inventor/es:

YANG, LI-XI

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 905 765 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 colquicina

5 FONDO GUBERNAMENTAL

El trabajo para esta invención fue financiado, al menos en parte, por una subvención del Comando Médico y Logístico del Departamento de Defensa de los Estados Unidos, número de subvención 3106-01-00.

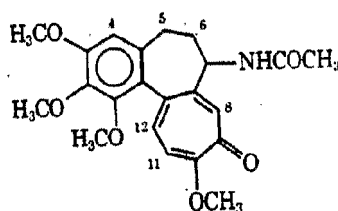
10 Campo de la invención

Esta invención se refiere a derivados de colquicina novedosos que son útiles para tratar diversos tipos de cáncer.

Antecedentes de la invención

15

La colquicina es un compuesto conocido que tiene la siguiente fórmula



20 Los anillos se denominan A (el anillo de fenilo que muestra los grupos metoxi en 1, 2 y 3), B (anillo de 7 miembros con el grupo amida en 7) y C (el tercer anillo). El compuesto se ha usado para tratar la gota y también presenta actividad antitumoral.

25 La actividad antitumoral de la colquicina, que es el principal alcaloide del azafrán silvestre, *Colchicum autumnale*, y del lirio escalador africano, *Gloriosa superba*, se informó por primera vez a principios del siglo XX. La elucidación de su estructura se completó finalmente a partir de estudios de rayos X y varias síntesis totales (véase Shiao *et al.* J. Pharm. Sci. 1978, 67(3) 394-397). Se cree que la colquicina es un veneno mitótico, particularmente en las células tóxicas, intestinales y hematopoyéticas, que actúa como un veneno del huso y bloquea la cinésis. Se cree que su efecto sobre el huso mitótico representa un caso especial de sus efectos sobre diversos sistemas organizados, lábiles y fibrilares relacionados con la estructura y el movimiento.

30 El documento DE 1142613 divulga un proceso para preparar derivados de desacetiltiocolquicina.

35 Los documentos LU 39 030 A1 y GB 694.193 A divulgan derivados de tiocolquicina y procesos para su fabricación.

Li Sun *et al.* (J. Med. Chem., 1993, 36, 1474) divulga la síntesis de tres series de análogos de tiocolquicina y una evaluación de su citotoxicidad frente a varias líneas celulares tumorales y sus efectos inhibitorios sobre la polimerización de la tubulina *in vitro*.

40 Brossi *et al.* (J. Med. Chem., 1983, 26, 1365) discute una serie de derivados naturales y sintéticos de la colquicina que fueron examinados por su potencia en el estudio de la leucemia linfocítica P388 en ratones, toxicidad en ratones, y por su unión a la proteína de los microtúbulos.

45 Gelmi *et al.* (J. Med. Chem., 1999, 42, 5272) describe la síntesis de una serie de derivados de N-desacetil-N-aminoaciltiocolquicina y evalúa su actividad antiproliferativa en líneas celulares cancerígenas humanas positivas a MDR y negativas a MDR.

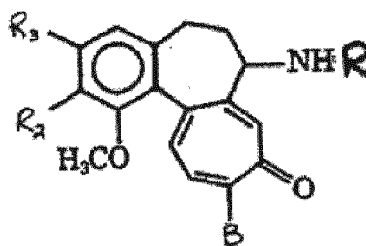
50 Floyd *et al.* (Biochemistry, 1989, 28, 8515) se refiere a un análogo de fotoafinidad de la colquicina, (2-nitro-4-azidofenil) desacetilcolquicina (NAPDAC), que se une a la tubulina en dos sitios de unión.

Sharma *et al.* (J. Med. Chem., 1984, 27, 1729) divulga sondas de espín de desacetilcolquicina, 4-(hidroximetil)colquicina y colquifolina para estudiar el sitio de unión de la colquicina en la tubulina.

55 La tiocolquicina es un compuesto de la fórmula anterior, en la que el grupo 10-metoxi se reemplaza por un grupo 10-metiltilio. La eliminación del grupo acetilo de la posición 7 da como resultado N-desacetilcolquicina o N-desacetiltiocolquicina. En la actualidad se han descubierto nuevos derivados de colquicina y tiocolquicina que presentan una actividad anticancerosa útil.

Sumario de la invención

Un aspecto de la presente invención es un compuesto representado por la fórmula



en la que R es $C(O)-(CH_2)_m-A-R_1$, donde

m es 0-10;

A es oxígeno, azufre, o un enlace covalente;

R_1 se selecciona de:

(a) fenilo sustituido con uno a cinco sustituyentes alquilcarbonilamino C1-6, donde el alquilo está opcionalmente sustituido con un halo tal como cloro;

(b) un anillo de imida;

(c) un heterociclo de 5 miembros opcionalmente sustituido con al menos un N en el anillo que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de: halo, alquilo C1-6, alcoxi C1-6, hidroxi, ciano, nitro, amino, alquilo C1-6 halogenado, alcoxi C1-6 halogenado, hidroxicarbonilo, alcoxicarbonilo C1-6, alquilcarboniloxi C1-6, y alquilcarbonilamino C1-6;

(d) un heterociclo de 6 miembros opcionalmente sustituido con al menos un N en el anillo que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de: halo, alquilo C1-6, alcoxi C1-6, hidroxi, ciano, nitro, amino, alquilo C1-6 halogenado, alcoxi C1-6 halogenado, hidroxicarbonilo, alcoxicarbonilo C1-6, alquilcarboniloxi C1-6, alquilcarbonilamino C1-6, fenilo opcionalmente sustituido, y bencilo opcionalmente sustituido;

(e) un grupo furan-2-ilo opcionalmente sustituido que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de: halo, alquilo C1-6, alcoxi C1-6, hidroxi, ciano, nitro, amino, alquilo C1-6 halogenado, alcoxi C1-6 halogenado, hidroxicarbonilo, alcoxicarbonilo C1-6, alquilcarboniloxi C1-6, y alquilcarbonilamino C1-6; y

(f) un sistema de anillo heterocíclico condensado opcionalmente sustituido que no tiene más de 2 sustituyentes seleccionados de: alquilo C1-6, cicloalquilo C3-7, alcoxi C1-6, hidroxi, halo, ciano, hidroxi alquilo C1-6, fenilo, bencilo, aminocarbonilmetilo, alquilaminocarbonilmetilo C1-6, amino, mono- o di-alquilamino C1-6, amino cíclico, un anillo heterocíclico de 5 miembros, y un anillo heterocíclico de 6 miembros;

en el que los grupos fenilo y bencilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados independientemente de: halo, alquilo C1-6, hidroxi, alcoxi C1-6, ciano, nitro, amino, alquilo C1-6 halogenado, alcoxi C1-6 halogenado, carbonilo, hidroxicarbonilo, alquilcarboniloxi C1-6, benciloxi, anillo heterocíclico de 5 miembros opcionalmente sustituido, anillo heterocíclico de 6 miembros opcionalmente sustituido, un anillo de imida, alcoxicarbonilo C1-6, y alquilcarbonilamino C1-6;

B es metoxi o metiltio;

R_2 es metoxi, hidroxi, o metilendioxi tomado junto con R_3 ;

R_3 es metoxi, hidroxi, un radical monosacárido, o es metilendioxi tomado junto con R_2 ; y

R_4 es H o H o metilo cuando m es 1.

Otro aspecto de la invención es una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer en un animal de sangre caliente, cuya composición comprende el compuesto de la invención como se define en el presente documento junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Otro aspecto descrito en el presente documento es un método para tratar el cáncer en un animal de sangre caliente, cuyo método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención como se define en el presente documento. El compuesto se administra en una dosis terapéuticamente eficaz mediante una administración adecuada, por ejemplo, por vía oral, por vía tópica, o por vía parenteral.

Otros aspectos de esta invención serán evidentes para un experto en la materia al revisar la memoria descriptiva siguiente.

Descripción detallada

Visión general

En general, los compuestos de la presente invención pueden considerarse derivados de la colquicina. Los compuestos novedosos de la invención son activos contra tumores en ratones y generalmente se toleran bien. Son útiles para tratar diversos tipos de cáncer y pueden formularse para preparar preparaciones farmacéuticas, por ejemplo, para administración oral, tópica o parenteral.

Definiciones

El término "alquilo" se refiere a un radical hidrocarburo alifático saturado monovalente que tiene el número indicado de átomos de carbono. Por ejemplo, un "alquilo C1-6" o un "alquilo de 1-6 carbonos" o "Alc 1-6" se referirán a cualquier grupo alquilo que contenga de uno a seis carbonos en la estructura. "Alquilo C1-20" se refiere a cualquier grupo alquilo que tenga de uno a veinte carbonos. El alquilo puede ser una cadena lineal (es decir, lineal) o una cadena ramificada. Alquilo inferior se refiere a un alquilo de 1-6 carbonos. Los ejemplos representativos de radicales alquilo inferior incluyen metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexilo, isopropilo, isobutilo, isopentilo, amilo, sec-butilo, *terc*-butilo y *terc*-pentilo. Alquilo superior se refiere a alquilos de siete carbonos o más. Estos incluyen n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo, n-dodecilo, n-tetradecilo, n-hexadecilo, n-octadecilo, n-eicosilo y similares, junto con variaciones ramificadas de los mismos. El radical puede estar opcionalmente sustituido con sustituyentes en posiciones que no interfieran significativamente con la preparación de compuestos que estén dentro del alcance de la presente invención y que no reduzcan significativamente la eficacia de los compuestos. El alquilo puede estar opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, alcoxi inferior, hidroxilo, ciano, nitro, o amino.

El término "alcoxi" se refiere a un radical monovalente de fórmula RO-, en la que R es un alquilo como se define en el presente documento. Alcoxi inferior se refiere a un alcoxi de 1-6 átomos de carbono, siendo el alcoxi superior un alcoxi de siete o más átomos de carbono. Los radicales alcoxi inferiores representativos incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, n-butoxi, n-pentiloxi, n-hexiloxi, isopropoxi, isobutoxi, isopentiloxi, amiloxi, sec-butoxi, *terc*-butoxi, y *terc*-pentiloxi. Los radicales alcoxi superiores incluyen los correspondientes a los radicales alquilo superiores expuestos en el presente documento. El radical puede estar opcionalmente sustituido con sustituyentes en posiciones que no interfieran significativamente con la preparación de compuestos que estén dentro del alcance de la presente invención y que no reduzcan significativamente la eficacia de los compuestos. El radical puede estar opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, alquilo inferior, alcoxi inferior, hidroxilo, ciano, nitro, o amino.

El término "cicloalquilo" se refiere a un radical hidrocarburo saturado, alicíclico, monovalente que tiene tres o más carbonos formando el anillo. Aunque los compuestos de cicloalquilo conocidos pueden tener hasta 30 o más átomos de carbono, generalmente habrá de tres a siete carbonos en el anillo. Estos últimos incluyen, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo. El radical puede estar opcionalmente sustituido con sustituyentes en posiciones que no interfieran significativamente con la preparación de compuestos que estén dentro del alcance de la presente invención y que no reduzcan significativamente la eficacia de los compuestos. El cicloalquilo está opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, alquilo inferior, alcoxi inferior, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo inferior halogenado, alcoxi inferior halogenado, hidroxycarbonilo, alcoxycarbonilo inferior, alquilcarboniloxi inferior y alquilcarbonilamino inferior.

El término "hidroxycarbonilo" o "carboxi" es un radical monovalente que tiene la fórmula -C(O)OH.

El término "alcoxycarbonilo inferior" es un radical monovalente que tiene la fórmula -C(O)OAlk, en la que Alk es alquilo inferior.

El término "alquilcarboniloxi inferior" es un radical monovalente que tiene la fórmula -OC(O)Alk, en la que Alk es alquilo inferior.

El término "alquilcarbonilamino inferior" es un radical monovalente que tiene la fórmula -NHC(O)Alk, en la que Alk es alquilo inferior.

Un sustituyente "halo" es un radical de halógeno monovalente elegido entre cloro, bromo, yodo y flúor. Un compuesto "halogenado" es uno sustituido por uno o más sustituyentes halo.

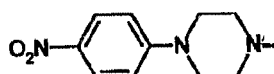
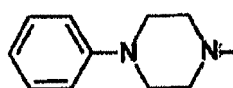
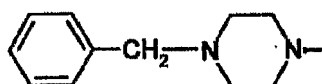
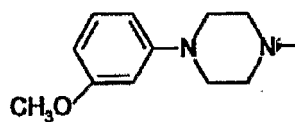
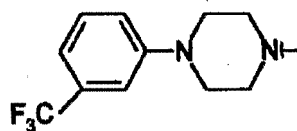
Un "fenilo" es un radical formado por la eliminación de un hidrógeno de un anillo de benceno. Se dice que el fenilo está "sustituido" cuando está sustituido por uno a cinco sustituyentes. Preferentemente, estos sustituyentes se seleccionan independientemente del grupo que consiste en halo, alquilo inferior, hidroxilo, alcoxi inferior, ciano, nitro, amino, alquilo inferior halogenado, alcoxi inferior halogenado, carbonilo, hidroxycarbonilo, alquilcarboniloxi inferior, benciloxi, anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido, un anillo de imida, alcoxycarbonilo inferior y alquilcarbonilamino inferior (en el que el alquilo está opcionalmente sustituido por un halo tal como cloro).

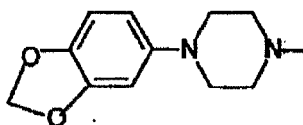
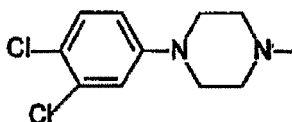
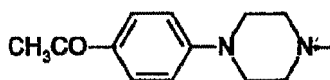
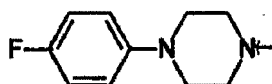
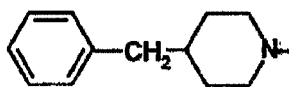
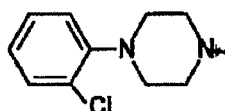
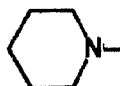
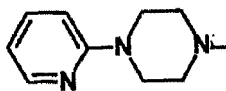
Un "carbamoiloxi" es un radical monovalente de fórmula R₁₃R₁₄NC(O)O- (es decir, un aminocarboniloxi), en la que R₁₃ y R₁₄ juntos forman un amino cíclico con el átomo de nitrógeno, o cada uno de R₁₃ y R₁₄ es independientemente

hidrógeno, alquilo inferior, hidroxi alquilo inferior, hidroxi alquilo inferior, amino alquilo inferior, cicloalquilo inferior, fenilo (sustituido o sin sustituir) o bencilo (sustituido o sin sustituir). Los ejemplos incluyen aminocarbonilo, metilaminocarbonilo, dimetilaminocarbonilo, [4-(1-piperidino)-1-piperidino] carbonilo, 1-morfolinocarbonilo, 1-pirrolidinilo, 1-piperazinacarbonilo y otros descritos en el presente documento.

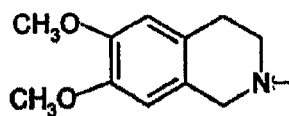
Un "anillo heterocíclico de 5 miembros" es un radical monovalente de un anillo cerrado de 5 miembros que contiene carbono y al menos otro elemento, generalmente nitrógeno, oxígeno o azufre y puede estar completamente saturado, parcialmente saturado o insaturado (es decir, de naturaleza aromática). Generalmente, el heterociclo no contendrá más de dos heteroátomos pero puede contener 3. Los ejemplos representativos de heterociclos insaturados de 5 miembros con un solo heteroátomo incluyen 2- o 3-pirrolilo, 2- o 3-furanilo y 2- o 3-tiofenilo. Los radicales parcialmente saturados o completamente saturados correspondientes incluyen 3-pirrolin-2-ilo, 2- o 3-pirrolidinilo, 2- o 3-tetrahidrofuranilo y 2- o 3-tetrahidrotiofenilo. Los radicales heterocíclicos insaturados de 5 miembros representativos que tienen dos heteroátomos incluyen imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, y pirazolilo. También se incluyen los radicales completamente saturados y parcialmente saturados correspondientes. El radical heterocíclico está unido a través de un átomo de carbono disponible en el anillo heterocíclico. El radical puede estar opcionalmente sustituido con sustituyentes en posiciones que no interfieran significativamente con la preparación de compuestos que estén dentro del alcance de la presente invención y que no reduzcan significativamente la eficacia de los compuestos. El anillo está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo inferior, alcoxi inferior, hidroxi, ciano, nitro, amino, alquilo inferior halogenado, alcoxi inferior halogenado, hidroxycarbonilo, alcoxycarbonilo inferior, alquilcarbonilo inferior y alquilcarbonilamino inferior.

Un "anillo heterocíclico de 6 miembros" es un radical monovalente de un anillo cerrado de 6 miembros que contiene carbono y al menos otro elemento, generalmente nitrógeno, oxígeno o azufre y puede estar completamente saturado, parcialmente saturado o insaturado (es decir, de naturaleza aromática). Generalmente, el heterociclo no contendrá más de dos heteroátomos. Los ejemplos representativos de heterociclos insaturados de 6 miembros con un solo heteroátomo incluyen 2-, 3- o 4-piridinilo, 2H-piraniilo y 4H-piraniilo. Los radicales parcialmente saturados o completamente saturados correspondientes incluyen 2-, 3- o 4-piperidinilo, 2-, 3-, o 4-tetrahidropiraniilo. Los radicales heterocíclicos insaturados de 6 miembros representativos que tienen dos heteroátomos incluyen 3- o 4-piridazinilo, 2-, 4-, o 5-pirimidinilo, y 2-pirazinilo. También se incluyen los radicales completamente saturados y parcialmente saturados correspondientes, por ejemplo, 2-piperazina. El radical heterocíclico está unido a través de un átomo de carbono disponible en el anillo heterocíclico. El radical puede estar opcionalmente sustituido con sustituyentes en posiciones que no interfieran significativamente con la preparación de compuestos que estén dentro del alcance de la presente invención y que no reduzcan significativamente la eficacia de los compuestos. El anillo está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo inferior, alcoxi inferior, hidroxi, ciano, nitro, amino, alquilo inferior halogenado, alcoxi inferior halogenado, hidroxycarbonilo, alcoxycarbonilo inferior, alquilcarbonilo inferior, alquilcarbonilamino inferior o fenilo o bencilo opcionalmente sustituidos. Los ejemplos de heterociclos de 6 miembros incluyen los siguientes:



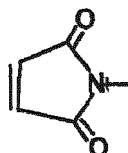
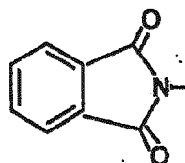
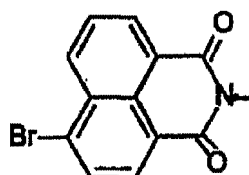
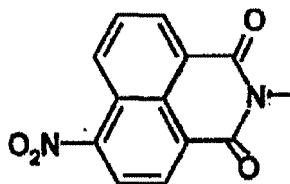
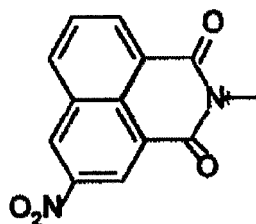


Un sistema heterocíclico condensado es un anillo cíclico que tiene un heteroátomo tal como nitrógeno, oxígeno o azufre, condensado a otro anillo o anillos heterocíclicos o carbocíclicos. Los ejemplos representativos del anillo hetero incluyen, por ejemplo, 1-pirrolidino, 1-piperidino, morfolino, piperazino, y 3-benzopiperidino. Estos están condensados con otros anillos y pueden estar sustituidos o sin sustituir. Si están sustituidos, generalmente no tendrán más de 2 sustituyentes elegidos entre alquilo inferior, cicloalquilo inferior, alcoxi, hidroxilo, halo, ciano, hidroxilo alquilo inferior, fenilo (sustituido o sin sustituir), bencilo (sustituido o sin sustituir), aminocarbonilmetilo, alquilaminocarbonilmetilo inferior, amino, mono- o di-alquilamino inferior, amino cíclico o un anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros, y similares. Un ejemplo es el siguiente:



Un "anillo de imida" es una imida cíclica en la que el nitrógeno de la estructura cíclica está unido en cada lado a un grupo carbonilo, que a su vez está unido a átomos de carbono para formar un anillo. Un anillo de imida incluirá, por ejemplo, ftalimida (que puede estar sustituida en el anillo de benceno), maleimida, 1,8-naftalimida (que puede estar sustituida en el anillo de naftilo, por ejemplo, 3-nitro-1,8-naftalimida, 4-nitronaftalimida, o 4-bromo-naftalimida).

Otras serán evidentes para un experto en la técnica. Los ejemplos de un anillo de imida incluyen los siguientes:



A otros términos químicos se les da su significado estándar tal como lo entiende un experto en la técnica con la orientación de textos y diccionarios estándar.

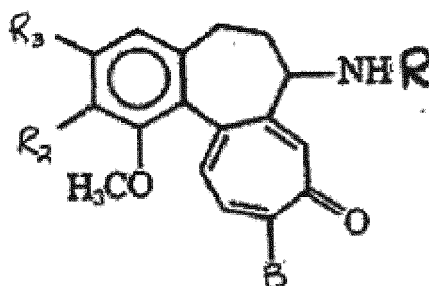
El término "DMT" es la abreviatura de dosis máxima tolerada.

El término "nM" es la abreviatura de nanomolar.

El término "ip" es la abreviatura de intraperitoneal.

Compuestos de la invención

Un aspecto de la presente invención es un compuesto representado por la fórmula:



en la que R es C(O)-(CHR₄)_m-A-R₁

m es 0-10,

A es oxígeno, azufre, o un enlace covalente,

R₁ se selecciona de:

(a) fenilo sustituido con uno a cinco sustituyentes alquilcarbonilamino C₁₋₆, donde el alquilo está opcionalmente sustituido con un halo tal como cloro;

(b) un anillo de imida;

(c) un heterociclo de 5 miembros opcionalmente sustituido con al menos un N en el anillo que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de: halo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo C₁₋₆ halogenado, alcoxi C₁₋₆ halogenado, hidroxycarbonilo, alcoxycarbonilo C₁₋₆, alquilcarboniloxi C₁₋₆, y alquilcarbonilamino C₁₋₆;

(d) un heterociclo de 6 miembros opcionalmente sustituido con al menos un N en el anillo que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de: halo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo C₁₋₆ halogenado, alcoxi C₁₋₆ halogenado, hidroxycarbonilo, alcoxycarbonilo C₁₋₆, alquilcarboniloxi C₁₋₆, alquilcarbonilamino C₁₋₆, fenilo opcionalmente sustituido, y bencilo opcionalmente sustituido;

(e) un grupo furan-2-ilo opcionalmente sustituido que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de: halo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo C₁₋₆ halogenado, alcoxi C₁₋₆ halogenado, hidroxycarbonilo, alcoxycarbonilo C₁₋₆, alquilcarboniloxi C₁₋₆, y alquilcarbonilamino C₁₋₆; y

(f) un sistema de anillo heterocíclico condensado opcionalmente sustituido que no tiene más de 2 sustituyentes seleccionados de: alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, alcoxi C₁₋₆, hidroxilo, halo, ciano, hidroxialquilo C₁₋₆, fenilo, bencilo, aminocarbonilmetilo, alquilaminocarbonilmetilo C₁₋₆, amino, mono- o di-alquilamino C₁₋₆, amino cíclico, un anillo heterocíclico de 5 miembros, y un anillo heterocíclico de 6 miembros;

en el que los grupos fenilo y bencilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados independientemente de: halo, alquilo C₁₋₆, hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, ciano, nitro, amino, alquilo C₁₋₆ halogenado, alcoxi C₁₋₆ halogenado, carbonilo, hidroxycarbonilo, alquilcarboniloxi C₁₋₆, benciloxi, anillo heterocíclico de 5 miembros opcionalmente sustituido, anillo heterocíclico de 6 miembros opcionalmente sustituido, un anillo de imida, alcoxycarbonilo C₁₋₆, y alquilcarbonilamino C₁₋₆;

B es metoxi o metiltio;

R₂ es metoxi o hidroxilo;

R₃ es metoxi, hidroxilo o un radical monosacárido;

o R₂ tomado junto con R₃ es metilendioxi; y

R₄ es H o es H o metilo cuando m es 1.

Se prefiere un compuesto en el que B es metiltio, R₄ es H, cada uno de R₂ y R₃ es metoxi; m es 0, 1 o 2; y A es oxígeno, azufre, o un enlace covalente. Un ejemplo es un compuesto en el que R₁ es un heterociclo de 5 miembros opcionalmente sustituido con uno, dos, o tres nitrógenos en el anillo de 5, por ejemplo, en el que R₁ es 1H-tetrazol-1-ilo o 1-t-butoxicarbonilpirrolidina-2-ilo. Otro compuesto ilustrativo es uno en el que m es 0, A es un enlace covalente, y R₁ es furan-2-ilo opcionalmente sustituido, por ejemplo, 5-nitrofurano-2-ilo. Otros compuestos preferidos son aquellos en los que A es O o en los que m es 0, A es un enlace covalente, y R₁ es fenilo sustituido con un alquilcarbonilamino opcionalmente sustituido, por ejemplo, R₁ es 3-cloroacetilaminofenilo.

Otros compuestos incluyen aquellos en los que R₁ es un heterociclo de 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o dos nitrógenos en el anillo, particularmente en los que A es un enlace covalente y el heterociclo de 6 miembros es piridina-3-ilo, timin-1-ilo, o piperazin-1-ilo, por ejemplo, piridin-3-ilo, 4-(3-metoxifenil)piperazin-1-ilo, o 4-(3-trifluorometilfenil)piperazin-1-ilo.

Otros compuestos incluyen aquellos en los que A es un enlace covalente y R₁ es un anillo de imida opcionalmente sustituido, por ejemplo, ftalimido. Otros compuestos incluyen aquellos en los que R₁ es un sistema de anillo heterocíclico condensado, por ejemplo, en los que m es 0, A es un enlace covalente, y R₁ es quinolin-4-ilo opcionalmente sustituido, fenotiazina-10-ilo opcionalmente sustituido, o naftirid-4-on-3-ilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, R₁ es 2-fenilquinolin-4-ilo, fenotiazina-10-ilo, o 1,7-dimetil-naftiridin-4-on-3-ilo) o el sistema de anillo heterocíclico condensado es cromon-2-ilo (particularmente en el que m es 0 y A es un enlace covalente). Todavía otro ejemplo es un compuesto en el que m es 1, A es oxígeno y R₁ es quinolin-4-ilo.

Este aspecto de la invención es una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer en un animal de sangre caliente, cuya composición comprende el compuesto de la invención como se define en el presente documento junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable. La composición se prepara de acuerdo con técnicas de formulación conocidas para proporcionar una composición adecuada para administración oral, tópica, transdérmica, rectal, por inhalación, parenteral (intravenosa, intramuscular o intraperitoneal). Se encuentran orientaciones detalladas para preparar las composiciones de la invención por referencia a la 18ª o 19ª Edición de Remington's Pharmaceutical Sciences, publicado por Mack Publishing Co., Easton, PA 18040.

Se contemplan dosis unitarias o formas de dosis múltiples, cada una de las cuales ofrece ventajas en determinados entornos clínicos. La dosis unitaria contendría una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto o efectos deseados en el marco del tratamiento del cáncer. La forma de dosis múltiple puede ser particularmente útil cuando se requieren múltiples dosis únicas o dosis fraccionadas para lograr los fines deseados.

5 Cualquiera de estas formas de dosificación puede tener especificaciones impuestas por o directamente dependientes de la característica única del compuesto particular, el efecto terapéutico particular a lograr y cualquier limitación inherente en la técnica de preparación del compuesto particular para el tratamiento del cáncer.

10 Una dosis unitaria contendrá una cantidad terapéuticamente eficaz suficiente para tratar el cáncer en un sujeto y puede contener de 1,0 a 1000 mg de compuesto, por ejemplo, de 50 a 500 mg.

15 El compuesto se administrará preferentemente por vía oral en una formulación adecuada en forma de un comprimido ingerible, un comprimido bucal, cápsula, comprimido oblongo, elixir, suspensión, jarabe, trocisco, oblea, pastilla para chupar. Generalmente, la formulación más sencilla es un comprimido o cápsula (designada individual o colectivamente como "unidad de dosificación oral"). Las formulaciones adecuadas se preparan de acuerdo con técnicas de formulación estándar disponibles que hacen coincidir las características del compuesto con los excipientes disponibles para formular una composición apropiada. Un comprimido o cápsula contendrá preferentemente de 50 a 500 mg de un compuesto de Fórmula (I).

20 La forma puede suministrar un compuesto rápidamente o puede ser una preparación de liberación sostenida. El compuesto puede estar contenido en una cápsula dura o blanda, puede compactarse en comprimidos o puede incorporarse con bebidas, alimentos o de otro modo en la dieta. El porcentaje de la composición final y las preparaciones, por supuesto, puede variarse y puede variar convenientemente entre el 1 y el 90 % del peso de la forma final, por ejemplo, un comprimido. La cantidad en dichas composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtendrá una dosis adecuada. Las composiciones preferidas de acuerdo con la presente invención se preparan de manera que una forma de dosificación unitaria oral contenga entre el 5,0 y el 50 % en peso (% en peso) en unidades de dosificación que pesan entre 5 y 1000 mg.

30 La formulación adecuada de una unidad de dosificación oral también puede contener: un aglutinante, tal como goma de tragacanto, goma arábiga, almidón de maíz, gelatina; agentes edulcorantes tales como lactosa o sacarosa; agentes disgregantes tales como almidón de maíz o ácido algínico; un lubricante, tal como estearato de magnesio; o aromatizante, tal como menta o aceite de gaulteria. Pueden estar presentes otros materiales diversos como revestimiento o para modificar de otro modo la forma física de la unidad de dosificación oral. La unidad de dosificación oral se puede recubrir con goma laca, un azúcar o ambos. El jarabe o elixir puede contener el compuesto, sacarosa como agente edulcorante, metilo y propilparabenos como conservante, un colorante y un saporífero. Cualquier material utilizado debe ser farmacéuticamente aceptable y sustancialmente no tóxico. Los detalles de los tipos de excipientes útiles se pueden encontrar en la decimonovena edición de "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", Mack Printing Company, Easton, PA. Véanse particularmente los capítulos 91-93 para un análisis más completo.

40 Se puede administrar un compuesto por vía parenteral, por ejemplo, por vía intravenosa, intramuscular, intravenosa, subcutánea o interperitoneal. El transportador o excipiente o mezcla de excipientes puede ser un disolvente o un medio dispersivo que contenga, por ejemplo, diversos disolventes polares o no polares, mezclas adecuadas de los mismos o aceites. Como se usa en el presente documento, "transportador" o "excipiente" significa un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable e incluye todos y cada uno de los disolventes, agentes o medios dispersivos, recubrimiento(s), agentes antimicrobianos, agentes iso/hipo/hipertónicos, y agentes modificadores de la absorción. El uso de dichas sustancias y los agentes para sustancias farmacéuticamente activas se conoce bien en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla el uso en composiciones terapéuticas. Además, también se pueden incorporar otros principios activos o complementarios a la composición final.

50 Se pueden preparar soluciones del compuesto en diluyentes adecuados tales como agua, etanol, glicerol, polietilenglicol(es) líquido(s), diversos aceites y/o mezclas de los mismos, y otros conocidos por los expertos en la técnica.

55 Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones estériles, dispersiones, emulsiones y polvos estériles. La forma final debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento. Además, la forma farmacéutica final debe protegerse contra la contaminación y, por lo tanto, debe poder inhibir el crecimiento de microorganismos tales como bacterias u hongos. Puede administrarse una sola dosis intravenosa o intraperitoneal. Como alternativa, se puede utilizar una infusión lenta a largo plazo o múltiples infusiones diarias a corto plazo, que normalmente duran de 1 a 8 días. También se pueden utilizar días alternos o dosificación una vez cada varios días.

65 Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando un compuesto en la cantidad requerida en uno o más disolventes apropiados a los que se pueden añadir otros ingredientes, enumerados anteriormente o conocidos por los expertos en la técnica, según se requiera. Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando el compuesto en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con diversos otros ingredientes, según se requiera. A continuación, le siguen procedimientos de esterilización, tales como filtración. Normalmente, las dispersiones se preparan

incorporando el compuesto en un vehículo estéril que también contiene el medio de dispersión y los otros ingredientes requeridos como se ha indicado anteriormente. En el caso de un polvo estéril, los métodos preferidos incluyen secado al vacío o liofilización a los que se añaden los ingredientes necesarios.

5 En todos los casos, la forma final, según se indica, debe ser estéril y también debe poder pasar fácilmente a través de un dispositivo de inyección, tal como una aguja hueca. La viscosidad adecuada se puede lograr y mantener mediante la elección adecuada de disolventes o excipientes. Además, se puede utilizar el uso de recubrimientos moleculares o particulados tales como lecitina, la selección adecuada del tamaño de partícula en las dispersiones o el uso de materiales con propiedades tensioactivas.

10 La prevención o inhibición del crecimiento de microorganismos se puede lograr a través de la adición de uno o más agentes antimicrobianos tales como clorobutanol, ácido ascórbico, parabenos, o termerosal. También puede ser preferible incluir agentes que alteren la tonicidad tales como azúcares o sales.

15 Aunque los compuestos de la presente invención tienden a ser solubles en agua, en algunos casos, por ejemplo, cuando un compuesto de la invención es menos soluble en agua, puede ser útil proporcionar administración liposómica. El sistema restringe el compuesto de la invención incorporando, encapsulando, rodeando o atrapando el compuesto de la invención en, sobre o por vesículas lipídicas o liposomas, o por micelas.

20 Los liposomas se han usado con éxito para administrar medicamentos a pacientes con cáncer y se ha demostrado que son útiles clínicamente en el suministro de fármacos anticancerosos tales como complejos de doxorubicina, daunorrubicina y cisplatino. Forssen, *et al.*, Cancer Res. 1992, 52: 3255-3261; Perex-Soler, *et al.*, Cancer Res. 1990, 50: 4260-4266; y Khokhar, *et al.*, J. Med. Chem. 1991, 34: 325-329.

25 De manera similar, también se han usado micelas para suministrar medicamentos a pacientes, (Broden *et al.*, Acta Pharm Suec. 19: 267-284 (1982)) y se han usado micelas como transportadores farmacológicos y para el suministro de fármacos dirigido, (D.D. Lasic, Nature 335: 279-280 (1992); y Supersaxo *et al.*, Pharm Res. 8: 1280-1291 (1991)), incluidos medicamentos contra el cáncer, (Fung *et al.*, Biomater. Artif. Cells. Artif. Organs 16: 439 y posteriores (1988); y Yokoyama *et al.*, Cancer Res. 51: 3229-3236 (1991)).

30 Los liposomas y/o micelas que contienen el compuesto de la invención se pueden administrar a un paciente con cáncer, normalmente por vía intravenosa. Puede encontrarse orientación adicional para preparar composiciones liposómicas útiles en la presente invención en la Patente de EE.UU. 6.096.336.

35 **Método de tratamiento de la invención**

Otro aspecto, descrito en el presente documento es un método para tratar el cáncer en un animal de sangre caliente, cuyo método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención como se define en el presente documento. Un compuesto útil en esta divulgación se administra a un sujeto apropiado que necesita estos compuestos en una dosis terapéuticamente eficaz mediante una vía de administración médicamente aceptable tal como por vía oral, parenteral (por ejemplo, intramuscular, intravenosa, subcutánea, interperitoneal), transdérmica, rectal o por inhalación.

45 El término cáncer debe considerarse en la definición general más amplia como una neoplasia maligna, una masa anormal de tejido, cuyo crecimiento excede y no está coordinado con el de los tejidos normales y persiste de la misma manera excesiva después del cese de los estímulos que evocaron el cambio. Se podría añadir que la masa anormal no tiene propósito, se alimenta del huésped y es virtualmente autónoma. Un cáncer también se puede considerar como un tumor maligno. Se encuentra una discusión adicional sobre neoplasia en "Robbins Pathologic Basis of Disease", Sexta Edición, de R.S. Cotran, V. Kumar y T. Collins, Capítulo 8 (W.B. Saunders Company). La siguiente Tabla A proporciona ejemplos de los tipos de cánceres, es decir, tumores malignos o neoplasias que pueden tratarse mediante la administración de un compuesto de esta invención.

Tabla A

Tejido de origen	Neoplasia maligna
Compuesto por un tipo de célula parenquimatosa	
Tumores mesenquimales	
Tejido conectivo y derivados	Fibrosarcoma Liposarcoma Condrosarcoma Sarcoma osteogénico
Tejidos endoteliales y relacionados	
Vasos sanguíneos	Angiosarcoma
Vasos linfáticos	Linfangiosarcoma
Sinovio	Sarcoma sinovial
Mesotelio	Mesotelioma

(continuación)	
Tejido de origen	Neoplasia maligna
Compuesto por un tipo de célula parenquimatosa	
Cubiertas cerebrales	Meningioma invasivo
Glóbulos rojos y células relacionadas	
Células hematopoyéticas	Leucemias
Tejido linfoide	Linfomas malignos
Músculo	
Liso	Leiomioma sarcoma
Estriado	Rabdomiosarcoma
Tumores epiteliales	
Escamoso estratificado	Carcinoma epidermoide o de células escamosas
Células basales de piel o anexos	Carcinoma de células basales
Revestimiento epitelial	
Glándulas o conductos	Adenocarcinoma
	Carcinoma papilar
	Cistadenocarcinoma
Vías respiratorias	Carcinoma broncogénico
	Adenoma bronquial (carcinoide)
Neuroectodermo	Melanoma maligno
Epitelio renal	Carcinoma de células renales
Células hepáticas	Carcinoma hepatocelular
Epitelio del tracto urinario (de transición)	Carcinoma de células de transición
Epitelio placentario (trofoblasto)	Coriocarcinoma
Epitelio testicular (células germinales)	Seminoma
	Carcinoma embrionario
Más de un tumor neoplásico de células mixtas, normalmente derivado de una capa germinal	
Glándulas salivales	Tumor mixto maligno de origen en glándulas salivales
Mama	Filoides de cistosarcoma maligno
Primordio renal	Tumor de Wilms
Más de un tipo de célula neoplásica derivado de más de una capa germinal - teratógeno	
Células totipotenciales en gónadas o en restos embrionarios	Teratoma inmaduro, teratocarcinoma

Por lo tanto, los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de leucemia y tumores sólidos, tales como tumores de colon, colorrectales, de ovario, mamarios, de próstata, pulmón, riñón y también melanoma. El intervalo de dosificación adoptado dependerá de la vía de administración y de la edad, el peso y el estado del paciente a tratar. Los compuestos pueden administrarse, por ejemplo, por vía parenteral, por ejemplo, por vía intramuscular, intravenosa o por infusión en embolada.

Como se usa en el presente documento, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de derivados de CPT de la presente invención pretende referirse a la cantidad del compuesto que inhibirá el crecimiento o retrasará el cáncer, o destruirá las células neoplásicas y provocará la regresión y paliación de tumores malignos, es decir, que reducirá el volumen o tamaño de dichos tumores o eliminará el tumor por completo.

Con los mamíferos, incluyendo los seres humanos, las cantidades eficaces se pueden administrar sobre la base del área de superficie corporal. La interrelación de las dosis varía para animales de diversos tamaños y especies, y para los seres humanos (basada en mg/m² de superficie corporal) se describe por E. J. Freireich *et al.*, Cancer Chemother. Rep., 50(4):219 (1966). El área de superficie corporal puede determinarse aproximadamente a partir de la altura y el peso de un individuo (véase, por ejemplo, Scientific Tables, Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, N.Y. págs. 537-538 (1970)). Un intervalo de dosis adecuado es de 1 a 1000 mg de equivalente por m² de superficie corporal de un compuesto de la invención, por ejemplo, de 50 a 500 mg/m².

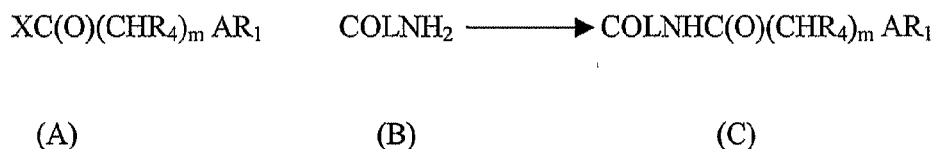
Para todas las vías de administración, el momento exacto de administración de las dosis se puede variar para lograr resultados óptimos. Generalmente, si se usa Intralipid 20 como transportador para el derivado, la dosis real de derivado que llega al paciente será menor. Esto se debe a una cierta pérdida del derivado en las paredes de las jeringas, agujas y recipientes de preparación, que es frecuente con la suspensión de Intralipid 20. Cuando se utiliza un transportador,

tal como aceite de semilla de algodón, esta pérdida descrita anteriormente no es tan frecuente porque el derivado no se adhiere tanto a la superficie de las jeringas, etc.

Otra característica importante del método descrito en el presente documento se refiere a la toxicidad general aparente relativamente baja de los derivados administrados de acuerdo con las enseñanzas del presente documento. La toxicidad general se puede juzgar utilizando diversos criterios. Por ejemplo, la pérdida de peso corporal en un sujeto superior al 10 % del peso corporal registrado inicialmente (es decir, antes del tratamiento) puede considerarse como un signo de toxicidad. Además, la pérdida de movilidad y actividad general y los signos de diarrea o cistitis en un sujeto también pueden interpretarse como evidencia de toxicidad.

Proceso de la invención

Otro aspecto descrito en el presente documento es un proceso para preparar los compuestos descritos en el presente documento haciendo reaccionar una N-desacetilcolquicina o N-desacetilticolquicina con un compuesto de fórmula $\text{XC(O)(CHR}_4)_m\text{AR}_1$, en la que m, A, R₁, y R₄, son como se definen en el presente documento y X es, por ejemplo, bromuro, cloruro, hidroxilo o alcoxi. Preferentemente X es OH. El compuesto mostrado como $\text{XC(O)(CHR}_4)_m\text{AR}_1$, puede denominarse ácido alcanoico sustituido o derivado de ácido alcanoico sustituido, por ejemplo, cuando m es 1, es ácido acético sustituido o un derivado del mismo, cuando m es 2, es un ácido propiónico sustituido o un derivado del mismo, etc. Una forma de obtener dicho ácido alcanoico es haciendo reaccionar un compuesto R₁AH apropiado con un éster de ácido alcanoico sustituido con omega-halo (por ejemplo, éster 3-halopropiónico o éster 3-haloacético), a continuación hidrolizando el éster para formar el ácido. Los ejemplos de ésteres de ácido haloacético o ácido halopropiónico preferidos incluyen el éster etílico de 2 o 3-bromoácido, 3-cloroácido o 2 o 3-yodoácido. Son útiles otros ésteres alquílicos correspondientes (por ejemplo, metilo, propilo, pero se prefiere etilo). En algunos casos, puede resultar útil preparar un haluro de ácido a partir del ácido alcanoico correspondiente. Los haluros de ácido se obtienen haciendo reaccionar el ácido correspondiente con agentes halogenados (tales como SOCl_2 , PCl_3 , POCl_3 , PCl_5 , PBr_3). Se prefiere el cloruro de ácido. Una vez que se prepara el ácido o su derivado, se hace reaccionar con la N-desacetilcolquicina o N-desacetilticolquicina apropiadas para formar un compuesto de esta invención. Esta secuencia de reacción se puede generalizar de la siguiente manera:



En la secuencia de reacción, COLNH_2 representa N-desacetilcolquicina, N-desacetilticolquicina o una modificación de las mismas que tiene los sustituyentes en las posiciones 2 y 3 mostradas en el presente documento; X es hidroxilo, halo o alcoxi; m es un número entero de 0-10; A es oxígeno, azufre, nitrógeno o un enlace covalente; y R₁ y R₄ son como se definen en el presente documento.

En la secuencia de reacción anterior, el compuesto (A) se usará en exceso molar del compuesto (B), por ejemplo, una relación molar de 1,5:1 a 4:1, preferentemente de 2:1 a 3:1. La reacción tiene lugar en presencia de un agente de acoplamiento adecuado, tal como un compuesto de carbodiimida, por ejemplo, disopropilcarbodiimida, pero preferentemente clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etil carbodiimida (EDCI) y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) en presencia de un disolvente adecuado, preferentemente un disolvente no acuoso, no polar. Los ejemplos de disolventes útiles en esta etapa incluyen alcano halogenado (por ejemplo, diclorometano o triclorometano) y DMF. El diclorometano es particularmente útil. La temperatura de reacción variará de 20 °C a 40 °C, preferentemente de 20 °C a 25 °C. El tiempo necesario para que la reacción se complete generalmente no será más de 20 horas, generalmente menos de 10 horas.

Los compuestos de N-desacetilcolquicina o N-diacetilticolquicina pueden estar sustituidos con sustituyentes conocidos en la técnica o que pueden prepararse por un experto en la técnica dada la descripción en el presente documento. En las siguientes revistas se encuentran artículos representativos que enseñan cómo elaborar dichos compuestos o dónde se pueden obtener dichos compuestos

1. Dumont *et al.*, J. Med. Chem. 1987, 30, 732-735.
2. Muzzaffar *et al.*, J. Med. Chem. 1990, 33, 567-571.
3. Sun *et al.*, J. Med. Chem. 1993, 36, 544-551.
4. Bombardelli, Patente de EE.UU. 5.777.136.
5. Bombardelli, Patente de EE.UU. 6.080.739
6. Shiau *et al.*, J. Pharm. Sci. 1978, 67(3), 394-397.
7. Rosner *et al.*, J. Med. Chem. 1981, 24257-261.
8. Gelmi *et al.*, J. Med. Chem. 1999, 42, 5272-5276.

Los compuestos adecuados incluyen los siguientes, en los que el número entre paréntesis que sigue al nombre se

refiere al artículo de revista enumerado anteriormente:

- N-desacetilcolquicina (8);
- N-desacetiltiocolquicina (8);
- 5 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi) (2);
- N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio) (2);
- N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi) (1);
- N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio) (1);
- 10 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es hidroxí) (2, 3, 4);
- N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxí, B es metiltio) (2, 3, 4);
- N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo) (5, 6, 7);
- N-desacetil-3-glucosilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio) (5, 6, 7);
- N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi) (5, 6, 7); y
- 15 N-desacetil-3-galactosiditiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio) (5, 6, 7)

Un experto en la técnica reconocerá que se pueden preparar otros compuestos similares siguiendo las enseñanzas expuestas en los artículos anteriores y mediante la modificación con las etapas apropiadas reconocidas en la técnica.

- 20 Los ácidos alcanóicos adecuados de fórmula (A) están disponibles comercialmente e incluyen los siguientes (véase el catálogo de Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO o www.sigmaaldrich.com):

- ácido 4-fluorofenoxiacético;
- ácido 2, 4-dimetilfenoxiacético;
- 25 ácido 4-metoxifenoxiacético;
- ácido 4-formilfenoxiacético;
- ácido 2-nitrofenoxiacético;
- ácido 5-nitro-2-furoico;
- ácido 3-cloroacetaminobenzoico;
- ácido (4-piridiltio)acético;
- 30 ácido cromona-2-carboxílico;
- cloruro de antraquinona-2-carbonilo;
- ácido 1H-tetrazol-1-acético;
- ácido (4-clorofeniltio)acético;
- ácido quinolin-4-oxiacético;
- 35 ácido 4-nitrofenoxiacético;
- ácido 3,5-ditri fluorometilfenoxiacético;
- ácido 4-trifluorometoxifenoxiacético;
- ácido 4-bromofenoxiacético;
- ácido 4-yodofenoxiacético;
- 40 ácido fenoxiacético;
- ácido 2,4-dicloro-5-metilfeniltioacético;
- ácido 2,3,4,5,6-pentafluorofenoxiacético;
- ácido 3-fluoro-4-cianofenoxiacético;
- ácido 3-trifluorometil-4-nitrofenoxiacético;
- 45 ácido 4-ftalimidobenzoico;
- ácido 3-cloro-4-bromofenoxiacético;
- ácido 2,6-diiodo-4-cianofenoxiacético;
- ácido 4-(2-fenil)quinolinacarboxílico;
- cloruro de fenotiazin-10-ilcarbonilo;
- 50 ácido 1,7-dimetil-naftiridin-4-on-3-carboxílico;
- ácido 3-piridinapropiónico;
- ácido 4-clorofenoxiacético;
- ácido 3-metoxifenoxiacético; ácido timina-1-acético;
- ácido (+)-2-(2,4,5,7-tetranitro-9-fluorenilidenoaminoxil)propiónico;
- 55 ácido 3-ftalimidopropiónico;
- ácido 3-maleimidopropiónico;
- ácido 3-(3-nitro 1,8-naftalimida)propiónico;
- ácido 3-(4-nitro-1,8-naftalimida)propiónico;
- ácido 3-(4-bromo-1,8-naftalimida)propiónico;
- 60 ácido 3-[4-(3-trifluorometilfenil)-1-piperazinil]-propiónico;
- ácido 3-[4-(4-bencil)-1-piperazinil]propiónico;
- ácido 3-[4-(3-metoxifenil)-1-piperazinil]propiónico;
- ácido 3-[4-(4-nitrofenil)-1-piperazinil]propiónico;
- ácido 3-(4-fenil-1-piperazinil)propiónico;
- 65 ácido 3-[4-(2-clorofenil)-1-piperazinil]propiónico;
- ácido 3-[4-(4-fluorofenil)-1-piperazinil]propiónico;

ácido 3-(1-piperidino)propiónico;
 ácido 3-[1-(4-bencil)piperidino]propiónico;
 ácido 3-[4-(4-acetilfenil)-1-piperazinil]propiónico;
 ácido 3-[4-(3,4-diclorofenil)-1-piperazinil]propiónico;
 5 ácido 3-[4-(3,4-metilendioxifenil)-1-piperazinil]propiónico;
 ácido 3-[4-(4-clorofenil)-1-piperidinil]propiónico;
 ácido 3-(4-formil-1-piperazinil)propiónico;
 ácido 3-(4-etil-1-piperazinil)propiónico;
 ácido 3-[4-(4-clorofenil)fenilmetil-1-piperazinil]propiónico;
 10 ácido 3-(4-ciano-4-fenil-1-piperidinil)propiónico;
 ácido 3-trans-4-cinnamil-1-piperazinil]propiónico;
 ácido 3-[4-(2-metilfenil)-1-piperazinil]propiónico;
 ácido 3-[4-(2,3-dimetilfenil)-1-piperazinil]propiónico;
 ácido 3-[4-(1-piperidino)-1-piperidino]propiónico;
 15 ácido 3-[4-(2-pirimidinil)-1-piperazinil]propiónico;
 ácido 3-(4-ciclohexil-1-piperazinil)propiónico;
 ácido 3-[4-(α -(2-piridil)bencil-1-piperazinil]propiónico;
 ácido 3-(4-morfolino)propiónico;
 ácido 3-(1-pirrolinil)propiónico;
 20 ácido 4-[4-(3-trifluorometilfenil)-1-piperazinil]butírico; y
 ácido 5-[4-(3-trifluorometilfenil)-1-piperazinil]valérico;.

Un experto en la técnica reconocerá que otros ácidos 3-propiónicos y ácidos 2-acéticos similares pueden obtenerse de fuentes comerciales o prepararse mediante procedimientos reconocidos en la técnica para usarse en el proceso para preparar compuestos como se describe en el presente documento. Haciendo reaccionar un compuesto mostrado en la lista de derivados de N-desacetilcolquicina con un compuesto mostrado en la lista de compuestos de fórmula (A) de acuerdo con las directrices para las condiciones de reacción, se obtendrán los compuestos descritos en el presente documento. Estos compuestos presentarán las características deseadas en mayor o menor medida. En el presente documento se proporciona orientación en cuanto a los subgrupos preferidos de compuestos dentro de la familia.

EJEMPLOS Y PREPARACIONES

Los siguientes ejemplos y preparaciones se dan para proporcionar métodos para elaborar compuestos representativos descritos en el presente documento. Los ejemplos también proporcionan descripciones de ensayos *in vitro* e *in vivo* para ayudar a determinar la utilidad de los compuestos. A lo largo de los ejemplos, se usarán fórmulas químicas para nombrar compuestos (por ejemplo, NaHCO₃ es bicarbonato de sodio), según sea apropiado. Al nombrar los compuestos, el compuesto se denomina N-desacetiltiocolquicina N-sustituída. El número entre paréntesis después del nombre es un número de código que corresponde a los resultados de prueba que se muestran en el Ejemplo 40.

PREPARACIONES

Preparación 1: Síntesis de tiocolquicina

La mezcla de colquicina (1,0 g, 2,5 mmol), NaSCH₃ (443 mg, 6,2 mmol) y agua (50 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 72 h, a continuación se extrajo con cloroformo. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄. Después de la eliminación del disolvente, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 705 mg de tiocolquicina, p.f. 180-182 °C.

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600 MHz): δ 7,95 (s, 1H, NH), 7,50 (d, 1H, H8), 7,35 (d, 1H, H12), 7,15 (d, 1H, H11), 6,60 (s, 1H, H4), 4,70 (m, 1H, H7), 3,91 (s, 6H, OCH₃), 3,66 (s, 3H, OCH₃), 2,44 (s, 3H, SCH₃), 3,00-2,20 (m, 4H, H5, 6), 2,05 (s, 3H, CH₃CO).

Preparación 2: Síntesis de N-desacetiltiocolquicina

La mezcla de reacción de tiocolquicina (705 mg, 1,7 mmol), metanol (20 ml) y clorhidrato 2 N (20 ml) se calentó a reflujo durante 24 h. Después de un período de refrigeración, la mezcla se concentró al vacío. Después de la acidificación de la capa acuosa con una solución de hidróxido sódico a pH 10, se extrajo con cloroformo. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera y se secó sobre MgSO₄. Después de la eliminación del disolvente, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y etanol) para dar 320 mg de N-desacetiltiocolquicina, p.f. 168-170 °C.

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600 MHz): δ 7,58 (s, 1H, H8), 7,19 (d, 1H, H12), 7,04 (d, 1H, H11), 6,55 (s, 1H, H4), 3,91 (s, 6H, OCH₃), 3,71 (t, 1H, H7), 3,66 (s, 3H, OCH₃), 2,44 (s, 3H, SCH₃), 2,60-1,09 (m, 6H, H5, 6 y NH₂).

Preparación 3: Síntesis de N-desacetilcolquicina

Al sustituir la colquicina por tiocolquicina en la Preparación 2, se obtiene N-desacetilcolquicina

EJEMPLO DE REFERENCIA 1

5

A. N-Desacetil-N-(4-fluorofenoxiacetil)tiocolquicina (000811)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (24 mg, 0,053 mmol), ácido 4-fluorofenoxiacético (25,5 mg, 0,15 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3ml) se agitó a temperatura ambiente durante 10 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 21 mg de N-desacetil-N-(4-fluorofenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 200-203 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600MHz); δ 7,28 (d, 1H, Ar-H), 7,19 (s, 1H, H7), 7,05 (m, 4H, NH, Ar-H y H11), 6,90 (d, 1H, Ar-H), 6,54 (s, 1H, H4), 4,70 (m, 1H, H7), 4,39 (c, 2H, COCH₂O), 3,95 (s, 3H, OCH₃), 3,91 (s, 3H, OCH₃), 3,68 (s, 3H, OCH₃), 2,44 (s, 3H, SCH₃), 2,60-1,80 (m, 4H, H5, 6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidroxilo);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidroxilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi); y
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 2**A. N-Desacetil-N-(2,5-dimetilfenoxiacetil) tiocolquicina (000817)**

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (22 mg, 0,06 mmol), ácido 2,4-dimetilfenoxiacético (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 10 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 26,3 mg de N-desacetil-N-(2,4-dimetilfenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 85-87 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600MHz); δ 7,28 (d, 1H, H8), 7,18 (s, 1H, H12), 7,05-6,96 (m, 4H, NH, Ar-h y H11), 6,67 (d, 1H, Ar-H), 6,54 (s, 1H, H4), 4,70 (m, 1H, H7), 4,47, 4,38 (dd, 2H, COCH₂O), 3,95 (s, 3H, OCH₃), 3,91 (s, 3H, OCH₃), 3,68 (s, 3H, OCH₃), 2,44 (s, 3H, SCH₃), 2,30 (s, 3H, Ar-CH₃), 2,28 (s, 3H, Ar-CH₃), 2,60-1,09 (m, 4H, H5, 6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidroxilo);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidroxilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi); y
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 3

A. **N-Desacetil-N-(4-metoxifenoxiacetil)tiocolquicina (000825)**

- 5 La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 4-metoxifenoxiacético (14,5 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 12 mg de N-desacetil-N-(4-metoxifenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 110-112 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600MHz); δ 7,29 (d, 1H, H8), 7,17 (s, 1H, H12), 7,05 (m, 2H, NH y H11), 6,88 (s, 4H, Ar-H), 6,54 (s, 1H, H4), 4,70 (m, 1H, H7), 4,37 (c, 2H, COCH₂O), 3,95 (s, 3H, OCH₃), 3,91 (s, 3H, OCH₃), 3,79 (s, 3H, OCH₃), 3,68 (s, 3H, OCH₃), 2,46 (s, 3H, SCH₃), 2,60-1,26 (m, 4H, H5,6).

- 15 B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

- 20 N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
25 N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidroxi);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidroxi, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi); y
30 N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 4

A. **N-Desacetil-N-(4-formilfenoxiacetil)tiocolquicina (000829)**

- 35 La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 4-formilfenoxiacético (12 mg, 0,067 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 13,5 mg de N-desacetil-N-(4-formilfenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 78-80 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600MHz); δ 9,32 (s, 1H, CHO), 7,89 (d, 2H, Ar-H), 7,29 (d, 1H, H8), 7,20 (s, 2H, NH y H12), 7,05 (d, 3H, Ar-H y H11), 6,55 (s, 1H, H4), 4,70 (m, 1H, H7), 4,55 (c, 2H, COCH₂O), 3,95 (s, 3H, OCH₃), 3,91 (s, 3H, OCH₃), 3,68 (s, 3H, OCH₃), 2,44 (s, 3H, SCH₃), 2,60-1,26 (m, 4H, H5,6).

- 45 B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

- 50 N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
55 N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidroxi);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidroxi, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
60 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi); y
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

65

EJEMPLO DE REFERENCIA 5

A. N-Desacetil-N-(2-nitrofenoxiacetil)tiocolquicina (000830)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 2-nitrofenoxiacético (15,8 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 13 mg de N-desacetil-N-(2-nitrofenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 242-244 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600 MHz): δ 8,09 (d, 1H, Ar-H), 7,89 (d, 1H, Ar-H), 7,65 (t, 1H, Ar-H), 7,27 (d, 1H, H₈), 7,18, 7,16 (m, 2H, NH y H₁₂), 7,04 (t, 2H, H₁₁ y Ar-H), 6,56 (s, 1H, H₄), 4,64 (m, 1H, H₇), 4,66, 4,54 (dd, 2H, COCH₂O), 3,95 (s, 3H, OCH₃), 3,91 (s, 3H, OCH₃), 3,67 (s, 3H, OCH₃), 2,42 (s, 3H, SCH₃), 2,60-1,26 (m, 4H, H₅, 6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidroxil);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidroxil, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi); y
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 6

N-Desacetil-N-(5-nitro-2-furancarboxil)tiocolquicina (000906)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 5-nitro-2-furoico (12,5 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 14 mg de N-desacetil-N-(5-nitro-2-furancarboxil)tiocolquicina, p.f. 168-170 °C.

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600 MHz): δ 9,32 (s, 1H, NH), 7,63 (s, 1H, Ar-H), 7,37 (t, 1H, H₈), 7,18 (d, 1H, H₁₂), 7,14 (s, 2H, NH y H₁₁), 6,85 (s, 1H, Ar-H), 6,57 (s, 1H, H₄), 4,80 (m, 1H, H₇), 3,96 (s, 3H, OCH₃), 3,92 (s, 3H, OCH₃), 3,67 (s, 3H, OCH₃), 2,42 (s, 3H, SCH₃), 2,60-1,26 (m, 4H, H₅, 6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidroxil);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidroxil, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi); y
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 7

N-Desacetil-N-(3-cloroacetaminobenzoil)tiocolquicina (000911)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 3-cloroacetaminobenzoico (17 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y

salmuera y a continuación se secó sobre MgSO_4 . Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 14 mg de N-desacetil-N-(3-cloroacetaminobenzil)tiocolquicina, p.f. 138-140 °C.

- 5 El análisis de la estructura química se realizó por ^1H RMN (600 MHz); δ 8,38 (m, 2H, NH y Ar-H), 7,72 (d, 1H, Ar-H), 7,67 (s, 1H, Ar-H), 7,58 (s, 1H, Ar-H), 7,55 (d, 1H, H8), 7,37 (d, 1H, H12), 7,15 (m, 2H, H11 y NH), 6,57 (s, 1H, H4), 4,85 (m, 1H, H7), 4,12 (c, 2H, $\text{COCH}_2\text{C1}$), 3,96 (s, 3H, OCH_3), 3,92 (s, 3H, OCH_3), 3,75 (s, 3H, OCH_3), 2,44 (s, 3H, SCH_3) 2,60-1,26 (m, 4H, H5,6).

- 10 B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

N-desacetilcolquicina;

N-desacetiltiocolquicina;

- 15 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{OH}$, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{OH}$, B es metiltio);
20 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{metoxi}$, R_3 es hidroxil);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($\text{R}_2=\text{B}=\text{metoxi}$, R_3 es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi); y
25 N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 8

A. N-Desacetil-N-(4-piridiltioacetil)tiocolquicina (000922)

- 30 La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido (4-piridiltio)acético (13,5 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO_4 . Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 14,5 mg de N-desacetil-N-(4-piridiltioacetil)tiocolquicina, p.f. 185-190 °C (desc.).

- 40 El análisis de la estructura química se realizó por ^1H RMN (CDCl_3 , 600MHz); δ 8,40 (s, 2H, Ar-H), 8,00 (s, 1H, NH), 7,36 (a, 1H, Ar-H), 7,32 (d, 1H, Ar-H), 7,15 (d, 2H, Ar-H), 7,06 (d, 1H, H11), 6,52 (s, 1H, Ar-H), 4,70 (m, 1H, H7), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 3,90 (s, 3H, OCH_3), 3,77 (c, 2H, SCH_2CO), 3,67 (s, 3H, OCH_3), 2,43 (s, 3H, SCH_3), 2,60-1,26 (m, 4H, H5, 6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

45 N-desacetilcolquicina;

N-desacetiltiocolquicina;

- 50 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{OH}$, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{OH}$, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{metoxi}$, R_3 es hidroxil);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($\text{R}_2=\text{B}=\text{metoxi}$, R_3 es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
55 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi); y
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 9

- 60 **A. N-Desacetil-N-(cromona-2-carbonil)tiocolquicina (000914)**

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido cromona-2-carboxílico (15 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO_4 . Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 14,2 mg de N-desacetil-N-

(cromona-2-carbonil)tiocolquicina, p.f. 200-202 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600MHz): δ 8,73 (d, 1H, Ar-H), 8,08 (dd, 1H, Ar-H), 7,61 (t, 1H, Ar-H), 7,55 (s, 1H, H8), 7,37 (m, 3H, H12, NH y Ar-H), 7,15 (d, 1H, H11), 6,82 (s, 1H, H4), 6,57 (s, 1H, Ar-H), 4,95 (m, 1H, H7), 3,97 (s, 3H, OCH₃), 3,92 (s, 3H, OCH₃), 3,75 (s, 3H, OCH₃), 2,45 (s, 3H, SCH₃), 2,60-1,26 (m, 4H, H5,6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

- N-desacetilcolquicina;
- N-desacetiltiocolquicina;
- N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
- N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
- N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
- N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
- N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidroxilo);
- N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidroxilo, B es metiltio);
- N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
- N-desacetil-3-glucositiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
- N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi); y
- N-desacetil-3-galactosiditiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 10

A. N-Desacetil-N-(antraquinona-2-carbonil)tiocolquicina (000908)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), cloruro de antraquinona-2-carbonilo (21,6 mg, 0,08 mmol), trietilamina (40 mg, 0,04 mmol) y diclorometano (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 18 mg de N-desacetil-N-(antraquinona-2-carbonil)tiocolquicina, p.f. 140-142 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600MHz): δ 8,65 (s, 1H, Ar-H), 8,56 (a, 1H, NH), 8,40-8,00 (m, 4H, Ar-H), 7,75 (m, 2H, Ar-H), 7,62 (d, 1H, H8), 7,39 (D, 1H, H12), 7,15 (D, 1H, H11), 6,58 (S, 1H, H4), 4,95 (M, 1H, H7), 3,98 (S, 3H, OCH₃), 3,92 (S, 3H, OCH₃), 3,77 (S, 3H, OCH₃), 2,46 (2, 3H, SCH₃), 2,60-1,26 (M, 4H, H5, 6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

- N-desacetilcolquicina;
- N-desacetiltiocolquicina;
- N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
- N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
- N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
- N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
- N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidroxilo);
- N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidroxilo, B es metiltio);
- N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
- N-desacetil-3-glucositiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
- N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi); y
- N-desacetil-3-galactosiditiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio);

EJEMPLO 11

A. N-Desacetil-N-(1H-tetrazol-1-acetil)tiocolquicina (000918)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 1H-tetrazol-1-acético (10 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 12,1 mg de N-desacetil-N-(1H-tetrazol-1-acetil)tiocolquicina, p.f. 113-115 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por ^1H RMN (CDCl_3 , 600 MHz); δ 9,26 (d, 1H, NH), 8,95 (s, 1H, tetra-H), 7,67 (s, 1H, H8), 7,40 (d, 1H, H12), 7,18 (d, 1H, H11), 6,55 (s, 1H, Hr), 4,79 (m, 1H, H7), 3,93 (s, 3H, OCH_3), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 3,64 (s, 3H, OCH_3), 2,46 (s, 3H, SCH_3), 2,60-1,60 (m, 4H, H5,6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetilticolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetilticolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

N-desacetilcolquicina;

N-desacetilticolquicina;

N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);

N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);

N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{OH}$, B es metoxi);

N-desacetil-2,3-dihidroxitolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{OH}$, B es metiltio);

N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{metoxi}$, R_3 es hidroxil);

N-desacetil-3-hidroxiticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);

N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($\text{R}_2=\text{B}=\text{metoxi}$, R_3 es glucosilo);

N-desacetil-3-glucositolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);

N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);

y N-desacetil-3-galactosiditolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio);

EJEMPLO DE REFERENCIA 12

A. N-Desacetil-N-[(4-clorofeniltio)acetil]ticolquicina (000921)

La mezcla de reacción de N-desacetilticolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido (4-clorofeniltio)acético (16 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO_4 . Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 16,2 mg de N-desacetil-N-[(4-clorofeniltio)acetil]ticolquicina, p.f. 95-97 °C.

El análisis de la estructura química se realizó por ^1H RMN (CDCl_3 , 600MHz); δ 7,55 (s, 1H, NH), 7,25 (m, 6H, Ar-H), 7,05 (d, 1H, H11), 6,52 (s, 1H, H4), 4,62 (m, 1H, H7), 3,94 (s, 3H, OCH_3), 3,90 (s, 3H, OCH_3), 3,66 (s, 3H, OCH_3), 3,61 (1, 2H, SCH_2CO), 2,43 (s, 3H, SCH_3), 2,60-1,60 (m, 4H, H5, 6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetilticolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetilticolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;

N-desacetilticolquicina;

N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);

N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);

N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{OH}$, B es metoxi);

N-desacetil-2,3-dihidroxiticolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{OH}$, B es metiltio);

N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($\text{R}_2=\text{R}_3=\text{metoxi}$, R_3 es hidroxil);

N-desacetil-3-hidroxiticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);

N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($\text{R}_2=\text{B}=\text{metoxi}$, R_3 es glucosilo);

N-desacetil-3-glucositolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);

N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi); y

N-desacetil-3-galactosiditolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 13

A. N-Desacetil-N-(quinolin-4-oxiacetil)ticolquicina (001201)

La mezcla de reacción de N-desacetilticolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido quinolin-4-oxiacético (16 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO_4 . Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 14,3 mg de N-desacetil-N-(quinolin-4-oxiacetil)ticolquicina, p.f. 188-190 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por ^1H RMN (CDCl_3 , 600MHz); δ 8,95 (d, 1H, NH), 8,31 (d, 1H, Ar-H), 7,60 (m, 3H, Ar-H), 7,47 (d, 1H, Ar-H), 7,32 (m, 2H, Ar-H), 7,10 (d, 1H, H11), 6,52 (s, 1H, H4), 6,18 (d, 1H, Ar-H), 4,90 (c, 2H, OCH_2CO), 4,76 (m, 1H, H7), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 3,89 (s, 3H, OCH_3), 3,63 (s, 3H, OCH_3), 2,44 (s, 3H, SCH_3), 2,60-1,80 (m, 4H, H5,6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

- 5 N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
10 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxil);
N-desacetil-3-hidroxitolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
N-desacetil-3-glucositolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
15 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi); y
N-desacetil-3-galactosiditolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio);

EJEMPLO DE REFERENCIA 14

20 A. N-Desacetil-N-(4-nitrofenoxiacetil)tiocolquicina (001127)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 4-nitrofenoxiacético (15 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 20,7 mg de N-desacetil-N-(4-nitrofenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 135-138 °C.

30 El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600MHz): δ 8,23 (d, 2H, Ar-H), 7,45 (s, 1H, NH), 7,30 (d, 1H, Ar-H), 7,27 (s, 1H, Ar-H), 7,08 (d, 1H, Ar-H), 7,034 (d, 2H, H11 y Ar-H), 6,55 (s, 1H, H4), 4,75 (m, 1H, H7), 4,54 (1, 2H, $COCH_2O$), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 3,91 (s, OCH_3), 3,68 (s, 3H, OCH_3), 2,44 (s, 3H, SCH_3), 2,60-180 (m, 4H, H5, 6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

- 35 N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
40 N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxil);
N-desacetil-3-hidroxitolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
45 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
N-desacetil-3-glucositolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi); y
N-desacetil-3-galactosiditolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

50 EJEMPLO DE REFERENCIA 15

A. N-Desacetil-N-(3,5-di-trifluorometilfenoxiacetil)tiocolquicina (001207)

55 La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 3,5-ditrifluorometilfenoxiacético (17 mg, 0,06 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 12,5 mg de N-desacetil-N-(3,5-ditrifluorometilfenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 108-110 °C.

60 El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 7,71 (d, 1H, Ar-H), 7,54 (s, 1H, Ar-H), 7,35 (m, 4H, Ar-H y NH), 7,08 (d, 1H, H11), 6,56 (s, 1H, H14), 4,80 (m, 1H, H7), 4,51 (c, 2H, $COCJ_2O$), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 3,67 (s, 3H, OCH_3), 2,44 (s, 3H, SCH_3), 2,60-2,00 (m, 4H, H5,6).

65 B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
 N-desacetiltiocolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 5 N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 10 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi); y
 N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

15 EJEMPLO DE REFERENCIA 16

A. N-Desacetil-N-(4-trifluorometoxifenoxiacetil)tiocolquicina (001213).

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 4-trifluorometoxifenoxiacético (18 mg., 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,02 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 17,9 mg de N-desacetil-N-(4-trifluorometoxifenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 90-92 °C.

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600MHz): δ 7,29 (d, 1H, Ar-H), 7,22 (s, 1H, Ar-H), 7,18 (m, 3H, Ar-H y NH), 7,06 (d, 1H, H12), 6,94 (d, 1H, H11), 6,55 (s, 1H, H4), 4,73 (m, 1H, H7), 4,42 (c, 2H, $COCH_2O$), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 3,68 (s, 3H, OCH_3), 2,43 (s, 3H, SCH_3), 2,60-1,80 (m, 4H, H5,6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
 N-desacetiltiocolquicina;
 35 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 40 N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi); y
 N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

45 EJEMPLO 17

A. N-Desacetil-N-(3-piridinapropionil)tiocolquicina (000901).

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 3-piridinapropiónico (12 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,02 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 15,0 mg de N-desacetil-N-(3-piridinapropionil)tiocolquicina, p.f. 88-90 °C (desc.)

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600MHz): δ 9,25 (d, 1H, Ar-H), 7,62 (s, 1H, Ar-H), 7,37 (d, 1H, Ar-H), 7,20 (t, 1H, Ar-H), 7,14 (s, 1H, Ar-H), 7,03 (d, 1H, H11), 6,58 (d, 1H, Ar-H), 6,51 (d, 2H, Ar-H), 6,44 (d, 1H, Ar-H), 4,62 (m, 1H, H7), 4,51 (c, 2H, $COCH_2O$), 3,94 (s, 3H, OCH_3), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 3,80 (s, 3H, Ar- OCH_3), 3,65 (s, 3H, OCH_3), 3,29 (s, 4H, NCH_2), 2,43 (m, 2H, CH_2CO), 2,41 (s, 3H, SCH_3), 2,60-1,70 (m, 8H, H5,6 y $COCH_2CH_2Ar$).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

N-desacetilcolquicina;
 N-desacetiltiocolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxitocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 5 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxil);
 N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucositiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 10 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi); y
 N-desacetil-3-galactosiditiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 18

15 **A. N-Desacetil-N-(4-clorofenoxiacetil)tiocolquicina (000814).**

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (24 mg, 0,06 mmol), ácido 4-clorofenoxiacético (25 mg, 0,13 mmol), EDCI (29 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,02 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 24,3 mg de N-desacetil-N-(4-clorofenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 88-90 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 7,28 (m, 3H, Ar-H), 7,20 (s, 1H, Ar-H), 7,13 (d, 1H, Ar-H), 7,05 (d, 1H, Ar-H), 6,55 (s, 1H, H4), 4,72 (m, 1H, H7), 4,45 (c, 2H, $COCH_2O$), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 3,67 (s, 3H, OCH_3), 2,43 (s, 3H, SCH_3), 2,60-1,70 (m, 4H, H5,6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
 N-desacetiltiocolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxitocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 35 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxil);
 N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 40 N-desacetil-3-glucositiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi); y
 N-desacetil-3-galactosiditiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio);

EJEMPLO DE REFERENCIA 19

45 **A. N-Desacetil-N-(3-metoxifenoxiacetil)tiocolquicina (001024).**

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,05 mmol), ácido 3-metoxifenoxiacético (14 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,02 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 16,0 mg de N-desacetil-N-(3-metoxifenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 182-184 °C.

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600MHz): δ 7,29 (d, 1H, Ar-H), 7,24 (t, 1H, Ar-H), 7,18 (s, 1H, Ar-H), 7,08 (d, 1H, Ar-H), 7,05 (d, 1H, Ar-H), 6,65 (d, 1H, Ar-H), 6,54 (s, 1H, H4), 6,51 (d, 2H, NH y Ar-H), 4,75 (m, 1H, H7), 4,43 (c, 2H, $COCH_2O$), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 3,81 (s, 3H, OCH_3), 3,68 (s, 3H, OCH_3), 2,43 (s, 3H, SCH_3), 2,60-1,80 (m, 4H, H5,6).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
 65 N-desacetiltiocolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);

N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 5 N-desacetil-3-hidroxitolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucositolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 10 N-desacetil-3-galactosiditolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 20

A. N-Desacetil-N-(timina-1-acetil)tiocolquicina (000905).

15 La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,05 mmol), ácido timina-1-acético (15 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,02 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 24 mg de N-desacetil-N-(timina-1-acetil)tiocolquicina, p.f. 195-197 °C.

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600MHz): δ 8,96 (s, 1H, NH), 8,84 (d, 1H, NH), 7,56 (s, 1H, H8), 7,33 (d, 1H, H11), 7,13 (d, 1H, Ar-H), 7,10 (m, 2H, Ar-H), 6,53 (s, 1H, H4), 4,75 (m, 1H, H7), 4,53 (c, 2H, $COCH_2O$), 3,94 (s, 3H, OCH_3), 2,60-1,70 (m, 4H, H5, 6).

25 B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

30 N-desacetilcolquicina;
 N-desacetiltiocolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 35 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 N-desacetil-3-hidroxitolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucositolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 40 N-desacetil-3-galactosiditolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 21

A. N-Desacetil-N-[(+)-2-(2,4,5,7-tetranitro-9-fluorenilidenoamino)propionil]tiocolquicina (000913)

45 La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido (+)-2-(2,4,5,7-tetranitro-9-fluorenilidenoamino)propiónico (26 mg, 0,06 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 18,4 mg de N-desacetil-N-[(+)-2-(2,4,5,7-tetranitro-9-fluorenilidenoamino)propionil]tiocolquicina, p.f. 205-208 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600MHz): δ 9,54 (s, 1H, Ar-H), 8,97 (s, 1H, Ar-H), 8,94 (s, 1H, Ar-H), 8,85 (s, 1H, Ar-H), 8,22 (s, 1H, NH), 7,18 (s, 1H, Ar-H), 7,11 (d, 1H, H11), 6,89 (d, 1H, Ar-H), 6,53 (s, 1H, H4), 5,36 (m, 1H, OCH), 4,75 (m, 1H, H7), 4,53 (c, 2H, $COCH_2O$), 3,94 (s, 3H, OCH_3), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 3,71 (s, 3H, OCH_3), 2,23 (s, 3H, SCH_3), 1,88 (d, 3H, CH_3), 2,60-1,70 (m, 4H, H5, 6).

55 B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

60 N-desacetilcolquicina;
 N-desacetiltiocolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 65 N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);

N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 N-desacetil-3-hidroxiticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 5 N-desacetil-3-glucosilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 N-desacetil-3-galactosidilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 22

A. N-Desacetil-N-(4-bromofenoxiacetil)tiocolquicina (000815)

La mezcla de reacción de N-desacetilticolquicina (24 mg, 0,053 mmol), ácido 4-bromofenoxiacético (34,6 mg, 0,15 mmol), EDCI (29 mg), DMAP (3 mg) y diclorometano (3ml) se agitó a temperatura ambiente durante 23 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 30 mg de N-desacetil-N-(4-bromofenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 108-110 °C.

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetilticolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetilticolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
 N-desacetilticolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 30 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 N-desacetil-3-hidroxiticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucosilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 35 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 N-desacetil-3-galactosidilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 23

A. N-Desacetil-N-(4-yodofenoxiacetil)tiocolquicina (000816)

La mezcla de reacción de N-desacetilticolquicina (24 mg, 0,064 mmol), ácido 4-yodofenoxiacético (41 mg, 0,15 mmol), EDCI (29 mg), DMAP (2mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 35 mg de N-desacetil-N-(4-yodofenoxiacetil)tiocolquicina.

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetilticolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetilticolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
 55 N-desacetilticolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 60 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 N-desacetil-3-hidroxiticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucosilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 65 N-desacetil-3-galactosidilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 24

A. N-Desacetil-N-(4-metoxifenoxiacetil)tiocolquicina (000818)

- 5 La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (17 mg, 0,045 mmol), ácido fenoxiacético (10,6 mg, 0,022 mmol), EDCI (16 mg, 0,084 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 12 mg de N-desacetil-N-(4-metoxifenoxiacetil)tiocolquicina.

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN.

- 15 B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
20 N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidrox);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidrox, B es metiltio);
25 N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi);
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

30 EJEMPLO DE REFERENCIA 25

A. N-Desacetil-N-(2,4-dicloro-5-metilfeniltioacetil)tiocolquicina (000831)

- 35 La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 2,4-dicloro-5-metilfeniltioacético (20 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 21 mg de N-desacetil-N-(2,4-dicloro-5-metilfeniltioacetil)tiocolquicina.

40 El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600 MHz).

B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

45 N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
50 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidrox);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidrox, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
55 N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi);
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 26

A. N-Desacetil-N-(2, 3, 4, 5, 6-pentafluorofenoxiacetil)tiocolquicina (000912)

- 60 La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido (2, 3, 4, 5, 6-pentafluorofenoxiacético) (19 mg, 0,08 mmol), EDCI (20 mg), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, NaHCO₃ sat. y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por

cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 13 mg de N-desacetil-N-(2, 3, 4, 5, 6-pentafluorofenoxiacetil)tiocolquicina.

El análisis de la estructura química se realizó por ^1H RMN (CDCl_3 , 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{OH}$, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina ($R_2=R_3=\text{OH}$, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{metoxi}$, R_3 es hidroxil);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=\text{metoxi}$, R_3 es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 27

N-Desacetil-N-(1-t-butoxicarbonil-2-pirrolidinacarbonil)tiocolquicina (000915)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 1-t-butoxicarbonil-2-pirrolidinoico (17 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO_4 . Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 21,4 mg de N-desacetil-N-(1-t-butoxicarbonil-2-pirrolidinacarbonil)tiocolquicina.

El análisis de la estructura química se realizó por ^1H RMN (CDCl_3 , 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{OH}$, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina ($R_2=R_3=\text{OH}$, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{metoxi}$, R_3 es hidroxil);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=\text{metoxi}$, R_3 es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 28

N-Desacetil-N-(3-ftalimidopropionil)tiocolquicina (000925)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 3-ftalimidopropiónico (175 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , NaHCO_3 sat. y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO_4 . Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 17,6 mg de N-desacetil-N-(3-ftalimidopropionil)tiocolquicina, p.f. 138-140 °C.

El análisis de la estructura química se realizó por ^1H RMN (CDCl_3 , 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

N-desacetilcolquicina;
 N-desacetiltiocolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxitocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 5 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 10 N-desacetil-3-glucositiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 N-desacetil-3-galactosiditiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 29

A. N-Desacetil-N-(3-[4-bromobenzoil]propionil)tiocolquicina (000926)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 3-(4-bromobenzoil)-propiónico (20 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 21,8 mg de N-desacetil-N-(3-[4-bromobenzoil]propionil)tiocolquicina.

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
 N-desacetiltiocolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxitocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 35 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucositiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 40 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 N-desacetil-3-galactosiditiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 30

A. N-Desacetil-N-(3-fluoro-4-cianofenoxiacetil)tiocolquicina (001106)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 3-fluoro-4-cianofenoxiacético (15,6 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 17,7 mg de N-desacetil-N-(3-fluoro-4-cianofenoxiacetil)tiocolquicina.

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
 60 N-desacetiltiocolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxitocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 65 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);

N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=\text{metoxi}$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 31

A. N-Desacetil-N-(3-trifluorometil-4-nitrofenoxiacetil)tiocolquicina (001107)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 3-trifluorometil-4-nitrofenoxiacético (21,6 mg, 0,08 mmol), trietilamina (40 mg, 0,04 mmol) y diclorometano (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 18 mg de N-desacetil-N-(3-trifluorometil-4-nitrofenoxiacetil)tiocolquicina, p.f. 140-142 °C (desc.).

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
 N-desacetiltiocolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{metoxi}$, R_3 es hidroxil);
 N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=\text{metoxi}$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 32

A. N-Desacetil-N-(4-ftalimidobenzoil)tiocolquicina (001114)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 4-ftalimidobenzoico (21 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 11,6 mg de N-desacetil-N-(4-ftalimidobenzoil)tiocolquicina.

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
 N-desacetiltiocolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{metoxi}$, R_3 es hidroxil);
 N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=\text{metoxi}$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 33

A. N-Desacetil-N-(3-cloro-4-bromofenoxiacetil)tiocolquicina (001130)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido (3-cloro-4-bromofenoxi)acético (20 mg, 0,08 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, NaHCO₃ sat. y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 16,4 mg de N-desacetil-N-(3-cloro-4-bromofenoxiacetil)tiocolquicina.

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidroxilo);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidroxilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi);
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 34

A. N-Desacetil-N-(4-[3-metoxifenil]-piperazinilpropionil)tiocolquicina (001225)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 4-(3-metoxifenil)-piperazinilpropiónico (15 mg, 0,056 mmol), EDCI (27 mg), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 20 mg de N-desacetil-N-(4-[3-metoxifenil]-piperazinilpropionil)tiocolquicina, p.f. 70-72 °C.

El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxitiocolquicina (R₂ y R₃ juntos son metilendioxi, B es metiltio);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina (R₂=R₃=OH, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxitiocolquicina (R₂=R₃=OH, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina (R₂=R₃=metoxi, R₃ es hidroxilo);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es hidroxilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina (R₂=B=metoxi R₃ es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metoxi);
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 35

A. N-Desacetil-N-(3-(4-[3-trifluorometilfenil]piperazinil)propionil)tiocolquicina (001227)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 3-[4-(3-trifluorometilfenil)piperazinil]propiónico (18 mg, 0,06 mmol), EDCI (27 mg), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, Na₂CO₃ al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 18,4 mg de N-desacetil-N-(3-(4-[3-trifluorometilfenil]piperazinil)propionil)tiocolquicina.

El análisis de la estructura química se realizó por ^1H RMN (CDCl_3 , 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

- 5 N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
10 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{OH}$, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{OH}$, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{metoxi}$, R_3 es hidroxil);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=\text{metoxi}$, R_3 es glucosilo);
15 N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 36

20 A. N-Desacetil-N-(2,6-diyodo-4-cianofenoxiacetil)tiocolquicina (001229)

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 2,6-diyodo-4-cianofenoxiacético (25 mg, 0,06 mmol), EDCI (25 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO_4 . Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 21,4 mg de N-desacetil-N-(2,6-diyodo-4-cianofenoxiacetil)tiocolquicina.

30 El análisis de la estructura química se realizó por ^1H RMN (CDCl_3 , 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

- 35 N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
40 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{OH}$, B es metoxi);
N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{OH}$, B es metiltio);
N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=\text{metoxi}$, R_3 es hidroxil);
N-desacetil-3-hidroxitiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxil, B es metiltio);
N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=\text{metoxi}$, R_3 es glucosilo);
N-desacetil-3-glucosiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
45 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 37

50 A. N-Desacetil-N-(4-[2-fenil]quinolinacarbonil)tiocolquicina (001213).

La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 4-(2-fenil)quinolinacarboxílico (23 mg), EDCI (21 mg), DMAP (2 mg, 0,02 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente hasta que se completó la reacción. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , NaHCO_3 sat. y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO_4 . Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 17,9 mg de N-desacetil-N-(4-[2-fenil] quinolinacarbonil)tiocolquicina.

60 El análisis de la estructura química se realizó por ^1H RMN (CDCl_3 , 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

- 65 N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;
N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);

N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 5 N-desacetil-3-hidroxiticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucosilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 10 N-desacetil-3-galactosidilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 38

A. N-Desacetil-N-(fenotiazin-10-ilcarbonil)tiocolquicina (000928).

15 La mezcla de reacción de N-desacetilticolquicina (15 mg, 0,04 mmol), cloruro de fenotiazin-10-ilcarbonilo (12 mg, 0,045 mmol), DMAP (4 mg, 0,02 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , $NaHCO_3$ sat. y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 12 mg de N-desacetil-N-(fenotiazin-10-ilcarbonil)tiocolquicina.

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetilticolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetilticolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

N-desacetilcolquicina;
 N-desacetilticolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 30 N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 N-desacetil-3-hidroxiticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 35 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucosilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 N-desacetil-3-galactosidilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 39

A. N-Desacetil-N-(1,7-dimetilnaftiridin-4-ona-3-carboxi)tiocolquicina (000920).

45 La mezcla de reacción de N-desacetilticolquicina (24 mg, 0,06 mmol), ácido 1,7-dimetil-naftiridin-4-ona-3-carboxílico (25 mg, 0,13 mmol), EDCI (29 mg, 0,13 mmol), DMAP (2 mg, 0,02 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 24,3 mg de N-desacetil-N-(1,7-dimetilnaftiridin-4-ona-3-carboxi)tiocolquicina.

El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetilticolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetilticolquicina, se obtienen otros compuestos similares de esta invención:

N-desacetilcolquicina;
 N-desacetilticolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 60 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidroxi);
 N-desacetil-3-hidroxiticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidroxi, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 65 N-desacetil-3-glucosilticolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);

N-desacetil-3-galactosidiltiocolquicina (R₂ es metoxi, R₃ es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO 40

- 5 Este ejemplo proporciona instrucciones para el crecimiento de células y los compuestos de prueba de los descritos en el presente documento para determinar su efecto sobre el crecimiento de las células. Todas las células se adquirieron en el DCTDC Tumor Repository, NCI, NIH.

Ensayo de formación de colonias celulares

- 10 Se colocaron cuatrocientas células (HCT 116, PC-3) o quinientas células (VM46) en placas de Petri de 60 mm que contenían 2,7 ml de medio (medio de McCoy modificado 5a) que contenía suero fetal bovino al 10 % y 100 unidades/ml de penicilina y 100 mg/ml de estreptomicina. Las células se incubaron en una incubadora de CO₂ a 37 °C durante 5 horas para fijarlas al fondo de las placas de Petri. Los fármacos se prepararon frescos en medio a diez veces la concentración final, y a continuación se añadieron 0,3 ml de esta solución madre a los 2,7 ml de medio en la placa. A continuación, las células se incubaron con fármacos durante 72 horas a 37 °C. Al final de la incubación, se decantaron los medios que contenían el fármaco, se aclararon las placas con 4 ml de solución salina equilibrada de Hank (HBSS, por sus siglas en inglés), se añadieron 5 ml de medio fresco y se devolvieron las placas a la incubadora para la formación de colonias. Las colonias de células se contaron usando un contador de colonias después de la incubación durante 7 días para las células HCT116 y las células PC-3 y 8 días para las células VM46, respectivamente. Se calculó la supervivencia celular (%), como se muestra en la Tabla I para las células HCT 116.

- 25 Se pueden determinar los valores de ID50 (la concentración de fármaco que produce un 50 % de inhibición de la formación de colonias) para cada compuesto ensayado. Las instrucciones descritas en este ejemplo pueden usarse en otras células, tales como DU-145.

Esta tabla proporciona los resultados de las pruebas de eficacia *in vitro* realizadas en el ejemplo 22 para la línea celular HCT116.

30

Tabla I

Compuesto (Ejemplo N.º)	Supervivencia (%) de HCT116		
	100 nM	10 nM	1 nM
Colquicina	0	76,1	100
Tiocolquicina	0	0	100
N-Desacetiltiocolquicina	0	89,7	100
000811	0	50,4	
000814	0	87,7	
000815	0	93,8	
000816	0	100	
000817	0	99,8	
000818	0	98,8	
000825	0	0	90,25
000829	0	0	100
000901	0	61,60	
000831	89,15		
000830	0	9,01	
000905	96,66		
000909	92,31		
000906	0	0	98,67
000911	0	0	100
000828	93,81		
000908	0	100	
000912	0,50	100	
000913	1,00	90,91	
000914	0	3,54	
000915	70,12		
000918	13,61		
000920	95,68		
000921	0	96,18	
000922	0	0	100
000925	0	98,67	
000926	0	100	
000927	0	100	

(continuación)

Compuesto (Ejemplo N.º)	Supervivencia (%) de HCT116		
	100 nM	10 nM	1 nM
000928	100		
001024	0	98,0	
001106	0	98,51	
001107	100		
001114	95,05		
001127	0	75,37	
001201	95,07		
001207	3,10		
001213	62,56		
001225	0	80,5	
001227	0	100	
001229	0	100	

EJEMPLO 41

- 5 Este ejemplo proporciona instrucciones para realizar pruebas de toxicidad *in vivo* de los compuestos descritos en el presente documento en ratones C3H/HeJ.

Se evalúan las toxicidades agudas de los compuestos de esta invención en ratones C3H/HeJ (peso corporal 18-22 g). Los valores de DMT40 (dosis máxima tolerada en el día 40) se determinan mediante el procedimiento estándar descrito por Gad y Chengelis (véase, por ejemplo, "Acute Toxicology Testing", 2ª Ed., Shayne O. Gad y Christopher P. Chengelis, págs. 186-195 (Academic Press)). En los estudios de tipo consecutivo, a 2 ratones se les dosificaron dosis bajas y moderadas de 40 y 100 mg/kg. Si no se produce toxicidad grave e irreversible (se requiere eutanasia) a estas dosis, se empieza con un nuevo par de animales a 180 mg/kg, que es 1,8 veces mayor que 100 mg/kg. Las dosis secuenciales (aproximadamente 3 dosis en 3 pares de animales, es decir, 2 ratones por cada dosis de fármaco) se aumentan en un factor de 1,8 hasta que se produce una toxicidad grave e irreversible (se requiere eutanasia). A continuación, se empezó con otro par de animales a la dosis no letal más alta, y las dosis sucesivas se aumentaron en un factor de 1,15. El resultado de este ejercicio son dos dosificaciones, una aparentemente no letal y la otra letal si se produce una toxicidad grave e irreversible y se requiere eutanasia, separadas por un factor de 1,15. Se dosifican seis ratones en cada dosificación. Si no se produce toxicidad grave e irreversible con la dosis más baja y se produce al menos una toxicidad grave e irreversible con la dosis más alta, entonces la dosis más baja se considera la DMT. Los compuestos de esta invención se administran a ratones C3H/HeJ mediante inyección intraperitoneal (IP). La toxicidad del fármaco se evalúa en ratones controlados diariamente durante 45 días. Los parámetros de toxicidad informados serán la DMT40. La DMT o dosis sin toxicidad (mg/kg) se define como la dosis más alta que no causa toxicidad grave irreversible en un grupo de tratamiento, pero al menos un animal presenta toxicidad grave e irreversible y se sacrifica a la siguiente dosis más alta.

EJEMPLO 42

- 30 Este ejemplo proporciona instrucciones para realizar pruebas de eficacia *in vivo* de los compuestos de la invención en ratones C3H/HeJ portadores de tumores MTG-B.

Los estudios de los compuestos descritos en el presente documento se realizan en ratones C3H/HeJ portadores de tumores MTG-B. Los tumores crecen exponencialmente después de la implantación en los costados de los ratones y alcanzan un diámetro de 8 mm (268,08 mm³) entre los días 7 y 10. El tratamiento se inicia en ese momento, y el primer día de tratamiento se designa como día 0 para el cálculo y los gráficos. A los ratones se les inyectan i.p. tres niveles de dosis de fármaco (1/3, 1/2, 1 5 DMT) usando una sola inyección y el programa de C2D 5 3 (cada 2 días para un total de 3 tratamientos a 1/3 DMT). Los grupos de control de ratones portadores de tumores de 8 mm de diámetro se tratan con vehículo solo. Después del tratamiento farmacológico, los ratones se observan dos veces al día. Cuando un tumor alcanza 1,5 g, el ratón portador del tumor se sacrifica. Se registran los días de supervivencia medidos desde el día 0 para los ratones tratados con fármacos anticancerosos (T) y los días de supervivencia medidos desde el día 0 para los ratones de control (C). Los valores de inhibición del crecimiento tumoral (% de T/C) se calculan usando la fórmula % de T/C = (días de supervivencia de los ratones tratados con un fármaco anticanceroso T/días de supervivencia de los ratones de control C) 5 100 %.

- 45 El tamaño de los tumores se puede medir con un calibre todos los días. Se usa una medición diaria (mm) de tumor sólido (largo L y ancho A) en dos dimensiones para calcular el peso del tumor [peso del tumor = (largo 5 ancho²)/2] basado en el valor intercambiable de 1 mm³ = 1 mg. El retraso del crecimiento tumoral (valor de T - C) se determina mediante el cálculo de la mediana del tiempo (en días) necesario para que los tumores del grupo de tratamiento y del grupo de control alcancen 1.000 mg. Se mide el tiempo de duplicación tumoral (Td) y la destrucción de las células

tumorales se calcula mediante la fórmula de la destrucción celular logarítmica = (valor de T - C)/(3,32 5 Td). Los efectos de regresión después del tratamiento se pueden observar y registrar (una regresión completa: una regresión por debajo del límite de palpación; una regresión parcial: una regresión de más del 50 % de reducción en la masa tumoral),

- 5 Generalmente, el tiempo de supervivencia de los ratones de control es de seis (6) días. Se puede calcular una relación de los días adicionales de supervivencia de los ratones tratados con los compuestos descritos en el presente documento (en comparación con el control) con respecto a los días adicionales de supervivencia de los ratones tratados con taxol (en comparación con el control). Por ejemplo, si los ratones sobrevivieron 18 días en comparación con los 9 días de los ratones tratados con taxol, la relación de CD/Taxol sería $18-9/9-6 = 12/3 = 4$ o 400 %.

- 10 La siguiente Tabla II proporciona un resumen de las pruebas de toxicidad *in vivo* y eficacia *in vivo* descritas en los Ejemplos 41 y 42 para los compuestos ensayados.

Tabla II

Compuesto	Toxicidad <i>in vivo</i>	Eficacia <i>in vivo</i>	
	Dosis sin toxicidad (ip. mg/kg) en ratones C ₃ H/HeJ	Días de supervivencia después del tratamiento del adenocarcinoma mamario de ratón MTG-B en ratones C ₃ H/Hcj	% de T/C
Colquicina	1,6 (0,5)	9	150
Tiocolquicina	1,0		
N-desacetiltiocolquicina			
000811	150		
000814	100		
000815	100 (100)	9	150
000816	100		
000817	100		
000818	100 (70)	8	
000825	50 (30)	18	
000829	150(120)	13	217
000830	150(120)	8	133
000906	50		
000911	30 (30)	11	183
000914	150 (120)		

15 EJEMPLO 43

- Este ejemplo proporciona orientación para determinar la inhibición de la topoisomerasa I. Este procedimiento es un ensayo de células intactas y es una modificación de un procedimiento publicado que se encuentra en Cancer Res. 1986, 46, 2021-2026. Se puede encontrar una publicación más reciente en J. Med. Chem. 1993, 36 2689-2700 en 20 2699. Aquí se usó la modificación del procedimiento anterior para cuantificar la cantidad de escisión de ADN mediada por la topoisomerasa I en células intactas. El ADN de las células HL-60 que crecen en cultivo se marca mediante la incorporación de [³H] timidina. Las células se exponen a compuestos que se van a analizar y lisar, y se precipita la proteína. El ADN radiactivo en la formación de un complejo escindible con topoisomerasa I precipita conjuntamente con la proteína. La cantidad de formación de complejo escindible se cuantifica contando el sedimento con un contador de centelleo líquido.

EJEMPLO DE REFERENCIA 44

30 A. Dímero de N-desacetiltiocolquicina (000927)

- Este ejemplo enseña cómo preparar un dímero de N-desacetiltiocolquicina usando un diácido. La mezcla de reacción de N-desacetiltiocolquicina (15 mg, 0,04 mmol), ácido 4-carboxifenoxiacético (4,0 mg, 0,02 mmol), EDCI (20 mg), DMAP (2 mg, 0,2 mmol), DMF (2 ml) y diclorometano (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A 35 continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H₂O, NaHCO₃ sat. y salmuera y a continuación se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar el dímero de N-desacetiltiocolquicina, es decir, la diamida del ácido 4-carboxifenoxiacético.

- 40 El análisis de la estructura química se realizó por ¹H RMN (CDCl₃, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetiltiocolquicinas o N-desacetilcolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetiltiocolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

- 45 N-desacetilcolquicina;
N-desacetiltiocolquicina;

- N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 5 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidrox);
 N-desacetil-3-hidroxitolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidrox, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucositolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 10 N-desacetil-3-galactosiditolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

EJEMPLO DE REFERENCIA 45

A. Dímero de N-desacetitolquicina (000828)

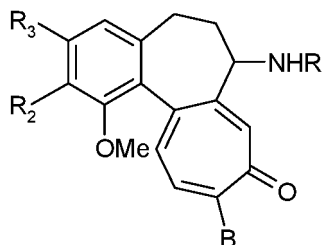
- 15 Este ejemplo enseña cómo preparar otro dímero de N-desacetitolquicina usando un diácido. La mezcla de reacción de N-desacetitolquicina (20 mg, 0,0536 mmol), 3,4-di-(4-carboximetoxifenil)-3,4-hexeno (10 mg, 0,026 mmol), EDCI (25 mg), DMAP (2mg, 0,2 mmol) y diclorometano (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. A continuación, se añadió diclorometano (20 ml). La capa orgánica se lavó con H_2O , Na_2CO_3 al 5 % y salmuera y a continuación se
 20 secó sobre $MgSO_4$. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se separó por cromatografía en columna (eluyente: acetato de etilo y éter de petróleo) para proporcionar 15 mg del dímero de N-desacetitolquicina, es decir, la diamida de 3,4-di-(4-carboximetoxifenil)-3,4-hexeno.

- 25 El análisis de la estructura química se realizó por 1H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz). B. De manera similar, siguiendo los procedimientos de la parte A de este ejemplo pero sustituyendo otras N-desacetitolquicinas o N-desacetitolquicinas enumeradas a continuación por N-desacetitolquicina, se obtienen en el presente documento otros compuestos similares:

- 30 N-desacetitolquicina;
 N-desacetitolquicina;
 N-desacetil-2,3-metilendioxicolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-metilendioxiticolquicina (R_2 y R_3 juntos son metilendioxi, B es metiltio);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metoxi);
 N-desacetil-2,3-dihidroxicolquicina ($R_2=R_3=OH$, B es metiltio);
 35 N-desacetil-3-hidroxicolquicina ($R_2=R_3=metoxi$, R_3 es hidrox);
 N-desacetil-3-hidroxitolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es hidrox, B es metiltio);
 N-desacetil-3-glucosilcolquicina ($R_2=B=metoxi$, R_3 es glucosilo);
 N-desacetil-3-glucositolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es glucosilo, B es metiltio);
 N-desacetil-3-galactosidilcolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metoxi);
 40 N-desacetil-3-galactosiditolquicina (R_2 es metoxi, R_3 es galactosidilo, B es metiltio).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula:



en la que:

R es C(O)-(CHR₄)_m-A-R₁

en la que:

m es 0-10;

A es oxígeno, azufre, o un enlace covalente;

R₁ se selecciona de:

(a) fenilo sustituido con uno a cinco sustituyentes alquilcarbonilamino C₁₋₆, donde el alquilo está opcionalmente sustituido con un halo tal como cloro;

(b) un anillo de imida;

(c) un heterociclo de 5 miembros opcionalmente sustituido con al menos un N en el anillo que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de: halo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo C₁₋₆ halogenado, alcoxi C₁₋₆ halogenado, hidroxycarbonilo, alcoxycarbonilo C₁₋₆, alquilcarboniloxi C₁₋₆ y alquilcarbonilamino C₁₋₆;

(d) un heterociclo de 6 miembros opcionalmente sustituido con al menos un N en el anillo que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de: halo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo C₁₋₆ halogenado, alcoxi C₁₋₆ halogenado, hidroxycarbonilo, alcoxycarbonilo C₁₋₆, alquilcarboniloxi C₁₋₆, alquilcarbonilamino C₁₋₆, fenilo opcionalmente sustituido y bencilo opcionalmente sustituido;

(e) un grupo furan-2-ilo opcionalmente sustituido que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados de: halo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo C₁₋₆ halogenado, alcoxi C₁₋₆ halogenado, hidroxycarbonilo, alcoxycarbonilo C₁₋₆, alquilcarboniloxi C₁₋₆, y alquilcarbonilamino C₁₋₆; y

(f) un sistema de anillo heterocíclico condensado opcionalmente sustituido que no tiene más de 2 sustituyentes seleccionados de: alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, alcoxi C₁₋₆, hidroxilo, halo, ciano, hidroxialquilo C₁₋₆, fenilo, bencilo, aminocarbonilmetilo, alquilaminocarbonilmetilo C₁₋₆, amino, mono- o di-alquilamino C₁₋₆, amino cíclico, un anillo heterocíclico de 5 miembros, y un anillo heterocíclico de 6 miembros;

en donde los grupos fenilo y bencilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cinco sustituyentes seleccionados independientemente de: halo, alquilo C₁₋₆, hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, ciano, nitro, amino, alquilo C₁₋₆ halogenado, alcoxi C₁₋₆ halogenado, carbonilo, hidroxycarbonilo, alquilcarboniloxi C₁₋₆, benciloxi, anillo heterocíclico de 5 miembros opcionalmente sustituido, anillo heterocíclico de 6 miembros opcionalmente sustituido, un anillo de imida, alcoxycarbonilo C₁₋₆ y alquilcarbonilamino C₁₋₆;

B es metoxi o metiltio;

R₂ es metoxi o hidroxilo;

R₃ es metoxi, hidroxilo o un radical monosacárido;

o R₂ tomado junto con R₃ es metilendioxi; y

R₄ es H; o

R₄ es H o metilo cuando m es 1.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

B es metiltio;

R₄ es H;

cada uno de R₂ y R₃ es metoxi;

m es 0, 1 o 2; y

A es oxígeno, azufre o un enlace covalente.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que:

R₁ es un heterociclo de 5 miembros opcionalmente sustituido con uno, dos, o tres átomos de nitrógeno en el anillo.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que:

- 5 (1) A es O; o
(2) m es 0;

A es un enlace covalente; y

- 10 R₁ es fenilo sustituido con alquilcarbonilamino; furan-2-ilo opcionalmente sustituido; quinolin-4-ilo opcionalmente sustituido; fenotiazin-10-ilo opcionalmente sustituido; o naftirid-4-on-3-il opcionalmente sustituido; o

(3) A es un enlace covalente; y

- 15 R₁ es un anillo de imida opcionalmente sustituido.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que:

R₁ es un heterociclo de 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o dos átomos de nitrógeno en el anillo.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, en el que:

- 20 A es un enlace covalente; y
R₁ es piridina-3-ilo, timin-1-ilo o piperazin-1-ilo.

7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que:

- 25 R₁ es un sistema de anillo heterocíclico condensado.

8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en el que:

R₁ es cromon-2-ilo.

- 30 9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que:

(1) m es 0;

A es un enlace covalente; y

- 35 R₁ es 3-cloroacetilaminofenilo; o 2-fenilquinolin-4-ilo, fenotiazin-10-ilo o 1,7-dimetil-naftiridin-4-on-3-ilo; o 5-nitrofurán-2-ilo; o R₁ es cromon-2-ilo; o

(2) m es 1;

A es oxígeno; y

- 40 R₁ es quinolin-4-ilo; o

(3) A es un enlace covalente; y

- 45 R₁ se selecciona de piridin-3-ilo, timin-1-ilo, 4-(3-metoxifenil)piperazin-1-ilo, 4-(3-trifluorometilfenil)piperazin-1-ilo y ftalimido; o
(4) R₁ es 1H-tetrazol-1-ilo o 1-t-butoxicarbonil-pirrolidin-2-ilo.

10. Un compuesto de la reivindicación 1 que se selecciona del grupo que consiste en:

- 50 N-desacetil-N-(3-ftalimidopropionil)tiocolquicina;
N-desacetil-N-(4-[3-metoxifenil]-piperazinilpropionil)tiocolquicina;
N-desacetil-N-(3-(4-[3-trifluorometilfenil]piperazinil)propionil)tiocolquicina;
N-desacetil-N-(1H-tetrazol-1-acetil)tiocolquicina;
N-desacetil-N-(quinolin-4-oxiacetil)tiocolquicina;
55 N-desacetil-N-(3-piridinapropionil)tiocolquicina;
N-desacetil-N-(timina-1-acetil)tiocolquicina;
N-desacetil-N-(5-nitro-2-furancarbonil)tiocolquicina;
N-desacetil-N-(cromona-2-carbonil)tiocolquicina;
N-desacetil-N-(1-t-butoxicarbonil-2-pirrolidinacarbonil)tiocolquicina;
60 N-desacetil-N-4-[2-fenil]quinolinacarbonilo)tiocolquicina;
N-desacetil-N-(fenotiazin-10-ilcarbonil)tiocolquicina; y
N-desacetil-N-(1,7-dimetilnaftiridin-4-on-3-carboxi)tiocolquicina.

11. Un compuesto de la reivindicación 10 que es N-desacetil-N-(cromona-2-carbonil)tiocolquicina.

12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las

reivindicaciones 1 a 11 en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

13. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12, que está en forma de una composición liposómica.

5

14. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

15. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento del

10

16. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.