

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 960 818**

(21) Número de solicitud: 202230725

(51) Int. Cl.:

C07D 417/04 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

A61K 31/427 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 31/06 (2006.01)

(12)

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

(22) Fecha de presentación:

04.08.2022

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

06.03.2024

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

20.01.2025

Fecha de concesión:

12.05.2025

(45) Fecha de publicación de la concesión:

20.05.2025

(73) Titular/es:

**UNIVERSITAT D'ALACANT / UNIVERSIDAD DE
ALICANTE (50.00%)**

**CARRETERA DE SAN VICENTE DEL RASPEIG
S/N**

**03690 SAN VICENTE DEL RASPEIG (Alicante) ES
y**

CUKUROVA UNIVERSITY (50.00%)

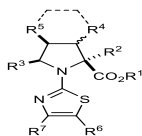
(72) Inventor/es:

**SANSANO GIL, José Miguel;
RETAMOSA HERNÁNDEZ, María De Gracia;
FOUBELO GARCÍA, Francisco;
GARCÍA MINGÜENS, Eduardo;
ORTUÑO NAVARRO, Juan Francisco;
DÖNDAS, H. Ali;
POYRAZ, Samet;
YAKTUBAY DÖNDAS, Naciye;
ÜLGER, Mahmut y
BELVEREN, Samet**

(54) Título: **Compuestos 2-(Pirrolidin-1-il)tiazoles y su uso como agentes antibióticos**

(57) Resumen:

La presente invención preconiza unos compuestos que contienen un esqueleto carbonado de 2-(pirrolidin-1-il)tiazoles con una estructura descrita en la fórmula general (5).



(5)

En la que R¹ = H, metilo, etilo; R² = bencilo, (3-indolil)metilo; R³ = 3-indolilo, arilo, fenilo; R⁴ = alquilo, cicloalquilo, fenilo, arilo, CO₂Me, SO₂Ph; R⁵ = CO₂Me, SO₂Ph, NO₂, COMe, etc., R⁴-R⁵ = -CO-NR-CO- (siendo este R = alquilo, cicloalquilo, fenilo, arilo), R⁶ = -CO-arilo, -CO-fenilo, -CO-heteroarilo, -CO-3-cumarilo [2H-cromen-2-ona)-3-ilo] y R⁷ = arilo, fenilo, heteroarilo, 3-cumarilo [también denominado 2H-cromen-2-ona)-3-ilo]. También es objeto de la presente invención las formulaciones de los productos de fórmula general (5) farmacéuticamente aceptables para ser usados como especies activas frente a diferentes tipos de microorganismos, preferentemente en la prevención y/o tratamiento de infecciones tales como la tuberculosis; así como el procedimiento de fabricación de dicho compuesto.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.
Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

ES 2 960 818 B2

DESCRIPCIÓN

Compuestos 2-(Pirrolidin-1-il)tiазoles y su uso como agentes antibióticos

5 SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención se refiere a compuestos con estructuras como la descrita en la fórmula general **(5)** y a sus derivados, farmacéuticamente aceptables, donde $R^1 = H$, metilo, etilo; $R^2 = (3\text{-indolil})\text{metilo}$; $R^3 = 3\text{-indolilo}$, 4-metoxifenilo, 4-clorofenilo; $R^4 = \text{metilo}$, etilo, fenilo; $R^5 = -$
 10 CO-arilo , $-\text{CO-3-cumarilo}$ y $R^6 = \text{fenilo}$, 3-cumarilo. Dichos compuestos pueden ser usados como especies activas frente a diferentes tipos de bacterias resistentes, preferentemente en aquellas que producen la tuberculosis y otras bacterias resistentes a antibióticos.

De igual modo, la presente invención detalla las etapas necesarias (**Esquemas 1, 2 y 3**) para
 15 transformar el correspondiente iminoéster de partida en las pirrolidinas polisustituídas, las cuales son tratadas con isotiocianato de benzoílo y, finalmente, el producto resultante es sometido a una reacción con una alfa-bromocetona generándose los definitivos compuestos de fórmula general **(5)**.

20 De este modo, la presente invención, debido a su amplio campo de aplicación, es susceptible de ser recogida tanto en el campo de la química farmacéutica como en el de la medicina de forma general.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

25 En las últimas décadas ha disminuido progresivamente el número de nuevos antibióticos que se han ido comercializando. Esta evolución negativa de la disponibilidad de alternativas terapéuticas coincide con un incremento progresivo y generalizado de las resistencias a los antibióticos por parte de los microorganismos. La necesidad de nuevos antibióticos es algo
 30 demandado por la sociedad y es una de las líneas de acción preferente por parte de la Organización Mundial de la Salud. En esta redacción de patente se presenta una familia nueva de antibióticos alternativa que puede ser interesante de cara al futuro.

La estructura de 2-(pirrolidin-1-il)tiазol, y su respectivo ácido carboxílico, se han sintetizado
 35 realizándose pruebas biológicas con resultados no demasiado relevantes. Inicialmente, la

estructura de *N*-benzoilaminocarbotoil-pirrolidina (precursora de las moléculas o compuestos objeto de esta invención) se publicó en 2004 utilizando un acrilato de mentilo quiral en la elaboración de la pirrolidina de partida (*Heterocycl. Commun.* **2004**, 10, 167-173).

5 La actividad biológica de estos compuestos intermedios se evaluó como antibióticos y antifúngicos obteniéndose resultados de inhibición bastante bajos (*Turk. J. Chem.* **2006**, 30, 573-583), así como la de sus correspondientes complejos metálicos de níquel(II), paladio(II), cobre(II) (*Polyhedron* **2009**, 28, 2847-2854, *Beilstein J. Org. Chem.* **2021**, 17, 2812-2821) y de platino (II) (*Inorg. Chim. Acta* **2019**, 498, 119154). Además, ciertas propiedades
10 antitumorales fueron observadas cuando estas moléculas intermedias incorporaban cadenas laterales derivadas del indol (*Monats. Chem.* **2018**, 149, 2253-2263). Esta unidad benzoilaminocarbotoilo se unió a estructuras heterocíclicas de pirrolidino[3,4-*b*]pirrolidina, las cuales también exhibieron actividad antibacteriana de débil a moderada (*Synthesis* **2019**, 51, 1565-1577).

15 Otras aplicaciones de estas moléculas precursoras consistieron en la preparación de tiohidantoínas bicyclicas (*Heterocycles*, **2011**, 83, 2091-2114; *Monatsh. Chem.* **2017**, 148, 2173-2182)

20 En un primer intento, nada más realizar la síntesis de los 2-(pirrolidin-1-il)thiazoles se observó baja actividad antibiótica (*Tetrahedron* **2017**, 73, 6718-6727).

Por todo lo anterior, el solicitante de la presente patente detecta la necesidad de buscar sustituyentes apropiados en este tipo de esqueletos que incrementen notablemente el poder
25 antibiótico frente a bacterias resistentes a antibióticos convencionales.

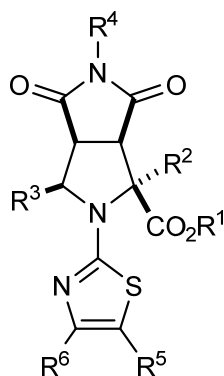
DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En esta memoria la expresión "derivado farmacéuticamente aceptable" se refiere, por ejemplo,
30 a un éster, un ácido carboxílico o una sal de un ácido carboxílico farmacéuticamente aceptables.

La presente invención hace referencia, en un primer aspecto, a una serie de moléculas o compuestos con una fórmula general (5), así como a una formulación farmacéuticamente aceptable que comprende uno de estos compuestos de fórmula general (5). También es

objeto de la presente invención, los compuestos de formula general **(5)** para su uso como agente antibiótico y para su uso en la prevención y/o tratamiento de tuberculosis.

El esqueleto de estas estructuras **(5)** está integrado por un anillo de pirrolidina, también unido a una unidad 1,3-tiazol a través de la posición dos de este último, donde los sustituyentes pueden ser de distinta naturaleza. Dichas características confieren a la molécula una actividad preventiva o curativa mayor, una menor degradación en el medio biológico, lo que implica un mayor efecto terapéutico, así como una mayor especificidad hacia las bacterias resistentes a antibióticos.



(5)

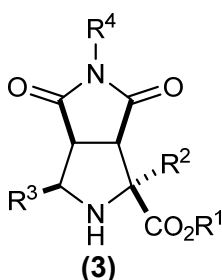
En la anterior estructura **(5)** se representa de forma general los ácidos o los ésteres (R¹ = H, Me, Et), siendo R² (3-indolil)metilo, R³ 3-indolilo, 4-metoxifenilo o 4-clorofenilo, R⁴ metilo, etilo o fenilo, R⁵ -CO-arilo o -CO-3-cumarilo y R⁶ fenilo o 3-cumarilo.

Del grupo de moléculas anteriormente descritas, y a modo de ejemplo, los derivados representados por los sustituyentes R¹= metilo, etilo; R²= (3-indolil)metilo, R³= 3-indolilo, 4-chlorofenilo; R⁴= Me, Et, Ph, R⁵ = -CO-4-metoxifenilo, -CO-3-cumarilo [2H-cromen-2-ona)-3-ilo], presentan una gran actividad antibiótica midiendo *in vitro* el índice IC₅₀ de diferentes bacterias resistentes y, especialmente, frente a las bacterias causantes de la tuberculosis en humanos (**Tabla 1**).

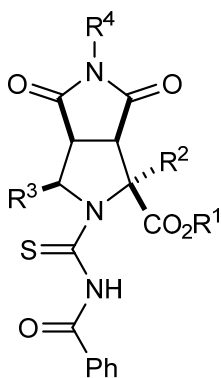
Debemos destacar que el radical -CO-3-cumarilo, también es denominado 3-cumarilo, y también es posible referirse a él como (2H-cromen-2-ona)-3-ilo.

La síntesis de las moléculas de la presente invención **(5)** consta de tres sencillos pasos realizados bajo condiciones suaves.

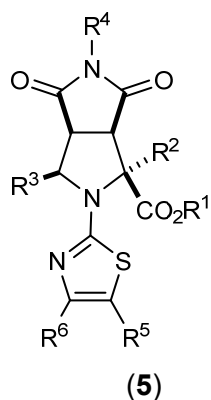
El primer producto intermedio, es decir la pirrolidina o derivado de la pirrolidina **(3)**, se obtiene por reacción de iminoésteres y alquenos electrofílicos mediante una reacción 1,3-dipolar generando *in situ* iluros de azometino a temperatura ambiente.



En segundo lugar, se realiza una reacción de condensación de las mencionadas pirrolidinas con isotiocianato de benzoílo generándose benzoiltiourea-pirrolidinas **(4)**.



El último paso que conduce a la estructura final de tiazol-pirrolidina **(5)** consiste en la adición de halocetonas a las tioureas sintetizadas en el segundo paso de reacción.

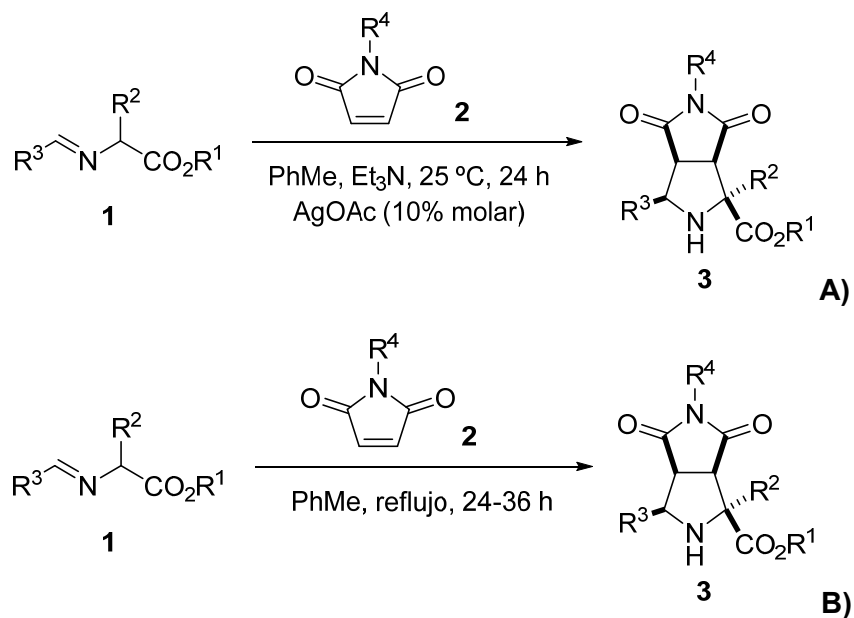


DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

5

Tal y como se ha comentado anteriormente, el primer paso de la síntesis consiste en la adición 1,3-dipolar entre el iminoéster (**1**) y el alqueno electrofílico (**2**) en presencia de acetato de plata en cantidades subestequiométricas y trietilamina, en tolueno, y a temperatura ambiente (**Esquema 1A**) o en un reflujo de tolueno cuando $R^4-R^5 = -CO-NR-CO-$ (siendo este R = alquilo, cicloalquilo, fenilo, arilo) (**Esquema 1B**).

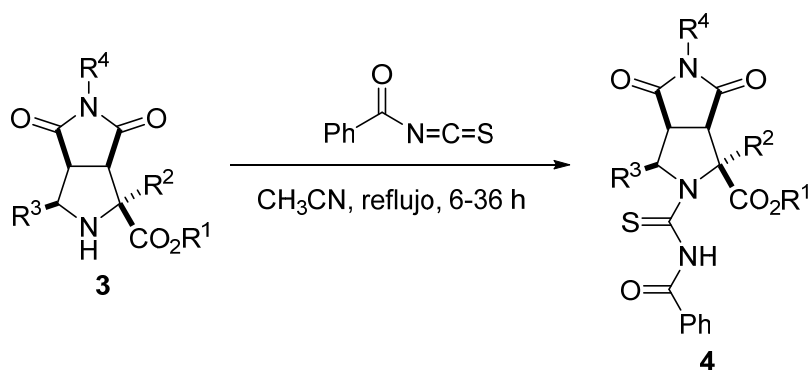
10



15

Esquema 1

El segundo paso de reacción de condensación de las pirrolidinas consiste en una sustitución sobre el átomo de nitrógeno utilizando isotiociano de benzoilo en acetonitrilo a reflujo durante seis horas o 24 h-36 h dando lugar al correspondiente derivado de tiourea **(4)** (**Esquema 2**).

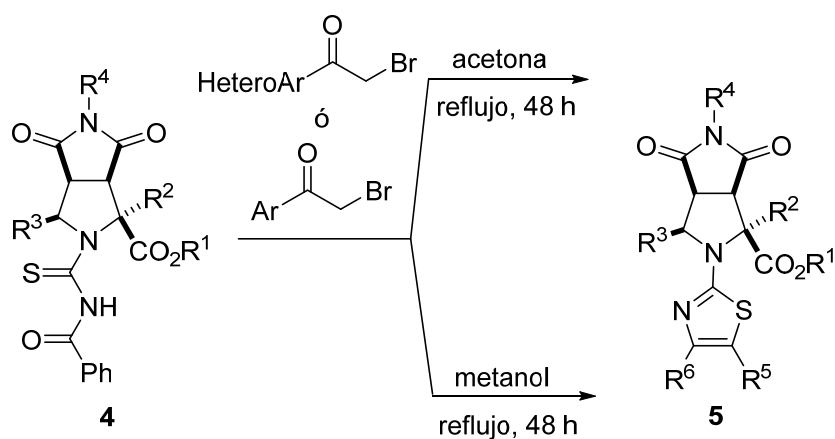


5

Esquema 2

El último paso del proceso sintético involucra a las moléculas intermedias **(4)** y alfa-bromocetonas (halocetonas). Durante 24-48 horas a reflujo de metanol o acetona, se completa la adición de sustitución nucleofílica por parte del átomo de azufre seguida de la eliminación del grupo benzoilo y posterior condensación intramolecular. Los tiazoles **(5)** objeto de esta patente, se obtuvieron con buenos rendimientos y se purificaron por recristalización o mediante cromatografía de columna (**Esquema 3**).

15

**Esquema 3**

20

La presente invención se refiere, por tanto, a los tiazoles con un anillo de pirrolidina como sustituyente y sus derivados de ácido, su síntesis y sus aplicaciones como formulaciones farmacéuticamente aceptables dada su actividad *in vitro* frente a diferentes tipos de bacterias resistentes a antibióticos convencionales.

5

Los compuestos conocidos (**3** y **4**) se prepararon según el procedimiento descrito en la bibliografía [*Inorganica Chimica Acta* **2019**, 498, 119154 y *Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly* **2017**, 148, 2173-2182].

10 Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación del compuesto general (3) [$R^1 = H$, metilo, etilo; $R^2 = (3\text{-indolil})\text{metilo}$; $R^3 = 3\text{-indolilo}$, 4-metoxifenilo, 4-clorofenilo; $R^4 = \text{metilo}$, etilo, fenilo].

Método A: Se preparó una disolución de Et_3N (1,7 mmol), Ag_2O (0,25 mmol) e imina (**1**) (1 mmol) en tolueno (15 ml). A continuación se añadió gota a gota la solución de dipolarófilo (1 mmol) en tolueno (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas y el producto crudo se trató con NaCl saturado y NH_4Cl , se extrajo con DCM y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 . El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (EtOAc -Hexano, 1:2,5).

20

Método B: Las correspondientes maleimidias (1 mmol) en tolueno (10 mL) se añadieron a una solución agitada de la aldimina (**1**) (1 mmol) en tolueno (15 mL). La mezcla resultante se agitó a reflujo durante 36-48 h. Después, el sólido precipitado se filtró y se cristalizó en Et_2O .

Ejemplo 2: Preparación del compuesto (4) [$R^1 = H$, metilo, etilo; $R^2 = (3\text{-indolil})\text{metilo}$; $R^3 = 3\text{-indolilo}$, 4-metoxifenilo, 4-clorofenilo; $R^4 = \text{metilo}$, etilo, fenilo]

Se añadió una solución de isotiocianato de benzoílo (1,2 mmol) en acetonitrilo (5 ml) a la solución de la pirrolidina (**3**) (1 mmol) en acetonitrilo (15 ml). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 6 o 24-36 horas. Después de completarse la reacción (monitoreada por TLC), la mezcla cristalizó en el medio de reacción por evaporación lenta. El sólido amarillo precipitado se filtró y purificó lavando tres veces con Et_2O .

Ejemplo 3: Preparación de los compuestos (5) [$R^1 = H$, metilo, etilo; $R^2 = (3\text{-indolil})\text{metilo}$; $R^3 = 3\text{-indolilo}$, 4-metoxifenilo, 4-clorofenilo; $R^4 = \text{metilo}$, etilo, fenilo; $R^5 = \text{-CO-arilo}$, -CO-3-cumarilo y $R^6 = \text{fenilo}$, 3-cumarilo]

35

La solución de α -bromocetona (1,4 mmol) en acetona o metanol (5 ml) se añadió a la solución de *N*-benzoilaminocarbotiol (1 mmol) en acetona o metanol (25 ml). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 36-48 h. Una vez completada la reacción mediante seguimiento por TLC, el disolvente se eliminó a presión reducida. La mezcla se extrajo dos veces con NaCl/EtOAc y se secó sobre MgSO₄. La purificación de la mezcla se realizó mediante cromatografía en columna (Hexano/EtOAc, 2,5:1 v/v)

Ejemplo 4: Estudios de eficacia *in vitro* de los compuestos (5)

La actividad citotóxica de las moléculas que describen la presente invención se probó utilizando diferentes líneas de microorganismos para establecer su eficacia antimicrobiana. El ensayo de actividad *in vitro* se realizó como se detalla a continuación:

Ensayo antibacteriano: la actividad antibacteriana de los compuestos mencionados frente a cepas bacterianas estándar (*Staphylococcus aureus* [ATCC 25925], *Bacillus subtilis* [ATCC 6633], *Aeromonas hydrophila* [ATCC 95080], *Escherichia coli* [ATCC 25923] y *Acinetobacter baumannii* [ATCC 02026]) se determinó con un ensayo de microtitulación de resazurina (REMA). Estas cepas estándar se obtuvieron del Instituto Refik Saydam Hıfzısıhha (Ankara, Turquía). Para obtener una concentración inicial de 1000 $\mu\text{g/ml}$, los nuevos compuestos sintetizados se disolvieron en DMSO para preparar soluciones madre, y luego, se usaron filtros de membrana de 0.22 μm para la esterilización de los compuestos. Se prepararon diluciones seriadas al doble de los compuestos y ampicilina (medicamento de referencia estándar) y las concentraciones de las sustancias que se analizaron se ajustaron a 500–0,24 $\mu\text{g/mL}$. Todas las determinaciones de actividad antibacteriana se repitieron por duplicado.

Ensayo antituberculosis: Para determinar los valores de concentración inhibitoria mínima (MIC) de nuevos compuestos sintetizados contra la cepa estándar H37Rv de *M. tuberculosis*, se utilizó el método REMA. La cepa estándar H37Rv fue proporcionada por la Agencia Nacional de Salud Pública Refik Saydam, el Laboratorio Nacional de Referencia de Tuberculosis (Ankara). La rifampicina (RIF) (Sigma R3501) y la isoniazida (INH) (Sigma I3377) se utilizaron como fármacos de referencia. Para obtener una concentración inicial de 1000 $\mu\text{g/mL}$, las soluciones madre de los compuestos se disolvieron en DMSO. En una placa de microtitulación de 96 pocillos, se preparó una serie de diluciones dobles de los compuestos y fármacos de referencia en 100 μL de medio 7H9-S. Se agregaron 100 μL de la solución de trabajo de la cepa estándar H37Rv en los pocillos de las placas de microtitulación y luego se obtuvieron rangos de concentración final de los compuestos de 250–0,12 $\mu\text{g/mL}$. En cada

determinación de actividad anti-TB se incluyó en cada placa un control de esterilidad (sin solución de trabajo H37Rv) y un control de crecimiento (sin antibióticos). Los efectos de DMSO se controlaron mediante suplemento de caldo de cultivo inoculado en las mismas soluciones. Algunos de los resultados más significativos e importantes de estos análisis antibacterianos de los productos **(5)** se detallan en la Tabla 1. La estructura exacta de dichas moléculas queda establecida sin ambigüedad en la Tabla 2.

Tabla 1: Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) de los compuestos sintetizados **(5)** frente a cepas anti(mico)bacterianas.

	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25925)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25923)	<i>Acinetobacter baumannii</i> (ATCC 02026)	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	<i>Aeromonas hydrophila</i> (ATCC 95080)	<i>M. tuberculosis</i> H37Rv
5aa	250	250	125	250	125	0,97
5ab	250	250	250	125	125	0,24
5ac	250	250	250	250	250	0,24
5ad	500	125	125	125	125	31,25
5ae	250	125	125	250	250	31,25
5af	500	125	125	250	125	62,5
5ag	500	125	62.5	125	125	31,25
5ah	500	125	62.5	125	125	62,5
Ampicillin	31,25	15,62	125	0,9	31,25	
Isoniazid						0,12 $\mu\text{g/ml}$
Rifampicin						0,97 $\mu\text{g/ml}$

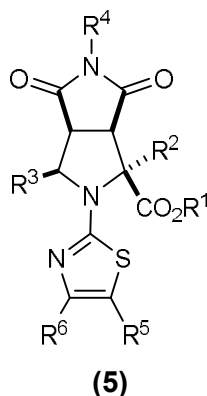
Tabla 2: Sustituyentes de los compuestos **(5)** ensayados en la Tabla 1

	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
5aa	Me	CH ₂ -3-indolilo	3-indolilo	Me	4-MeO-C ₆ H ₄ -CO-	Ph
5ab	Me	CH ₂ -3-indolilo	3-indolilo	Et	4-MeO-C ₆ H ₄ -CO-	Ph
5ac	Et	CH ₂ -3-indolilo	4-Cl-C ₆ H ₄ -	Ph	3-cumarilo-CO-	Ph
5ad	Et	CH ₂ -3-indolilo	4-Cl-C ₆ H ₄ -	Me	3-cumarilo-CO-	Ph
5ae	Et	CH ₂ -3-indolilo	4-Cl-C ₆ H ₄ -	Ph	3-cumarilo-CO-	Ph
5af	Me	CH ₂ -3-indolilo	4-Cl-C ₆ H ₄ -	Ph	3-cumarilo-CO-	Ph
5ag	Et	CH ₂ -3-indolilo	4-MeO-C ₆ H ₄ -	Ph	3-cumarilo-CO-	Ph
5ah	Et	CH ₂ -3-indolilo	4-MeO-C ₆ H ₄ -	Me	3-cumarilo-CO-	Ph

Atendiendo a los resultados de bioactividad, es destacable la presencia del grupo CH₂-3-indolilo en la posición R². La modulación de esta actividad puede conseguirse aún más alternando otros sustituyentes en todas las posiciones restantes. Así, la bioactividad es mayor al modificar los sustituyentes en R³ = 4-Cl-C₆H₄- y R⁵ = 3-cumarilo-CO-.

REIVINDICACIONES

1. Compuestos 2-(Pirrolidin-1-il)thiazoles de fórmula general **(5)**



en la que:

R¹ = H, metilo, etilo;

R² = (3-indolil)metilo;

R³ = 3-indolilo, 4-metoxifenilo, 4-clorofenilo;

R⁴ = metilo, etilo, fenilo;

R⁵ = 4-MeO-C₆H₄-CO-, -CO-3-cumarilo

R⁶ = fenilo, -CO-3-cumarilo.

2. Los compuestos según la reivindicación 1, en los que el derivado farmacéuticamente aceptable es un éster, un ácido carboxílico o una sal de un ácido carboxílico.

3. Una formulación farmacéuticamente aceptable que comprende un compuesto de fórmula **(5)** definido en la reivindicación 1.

4. Compuestos de formula **(5)** definidos en la reivindicación 1 para uso como agente antibiótico.

5. Compuestos de formula **(5)** definidos en la reivindicación 1 para uso en la prevención y/o tratamiento de tuberculosis.