

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 369 083**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/14** (2006.01)  
**C07D 307/77** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04777849 .3**  
96 Fecha de presentación: **09.07.2004**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1643984**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **12.04.2006**

54 Título: **USO DE DERIVADOS DE PARTENOLIDA COMO AGENTES ANTILEUCÉMICOS Y CITOTÓXICOS.**

30 Prioridad:  
**11.07.2003 US 486171 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**25.11.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**25.11.2011**

73 Titular/es:  
**UNIVERSITY OF KENTUCKY RESEARCH  
FOUNDATION  
LEXINGTON KY 40506-0032  
LEXINGTON, KY 40506-0032, KY**

72 Inventor/es:  
**CROOKS, Peter, A.;  
JORDAN, Craig, T. y  
WEI, Xiaochen**

74 Agente: **Tomas Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 369 083 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

Uso de derivados de partenolida como agentes antileucémicos y citotóxicos

[0001] Peter A. CROOKS, ciudadano de Gran Bretaña residente en Estados Unidos; Craig T. JORDAN, ciudadano y residente en Estado Unidos y Xiaochen WEI, ciudadano de China y residente en Estados Unidos, presentan esta solicitud como solicitud PCT, reivindicando prioridad a la solicitud provisional 60/486,171 presentada el 11 de julio de 2003.

## CAMPO DE LA INVENCION

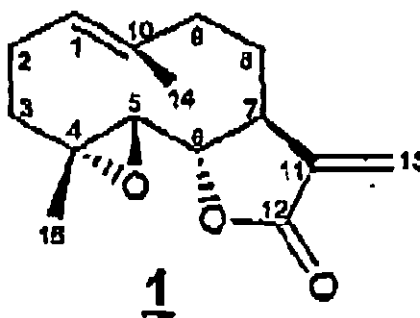
[0002] La presente invención se refiere a métodos para la modificación estructural de la lactona sesquiterpénica, partenolida, y el uso de estos derivados de partenolida en el tratamiento del carcinoma. Más específicamente, la invención se refiere a los métodos para preparar análogos estructurales del compuesto original, partenolida, para obtener nuevas entidades químicas farmacológicamente activas con características de solubilidad en agua mejoradas, y a su uso en el tratamiento de leucemias y otros cánceres humanos parentales y multirresistentes.

Antecedentes de la invención

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0003] Las lactonas sesquiterpénicas son un grupo de metabolitos secundarios de plantas, que consisten en una estructura de 15 carbonos que contiene una fracción de  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactona y otro grupo(s) funcional adicional. Durante las últimas dos a tres décadas, estos terpenoides han recibido una atención considerable debido al amplio espectro de sus actividades biológicas, a las plantas que los producen y, lo más importante, debido a sus efectos farmacológicos en seres humanos. Aproximadamente 4.000 de estos terpenoides han sido aislados e identificados, la mayor parte de ellos en la familia de las *Asteraceae* (Compositae) (Schmidt, Curr. Org. Chem. 1999, 3, 577-608). Algunas de estas plantas han sido usadas durante siglos en las prácticas médicas autóctonas en diferentes culturas de todo el mundo.

[0004] La partenolida (1) es una lactona sesquiterpénica del tipo germacrano con una estructura única. Se ha aislado de varias especies diferentes de la familia *Asteraceae* (Compositae). La famosa Hierba de Santa María (*Tanacetum parthenium*) es una de ellas.



[0005] La hierba de Santa María se ha usado para reducir la fiebre y el dolor, y en el tratamiento de la migraña y la artritis reumatoide (Heptinstall et al, ACS Symposium Series(1998), 691 (Phytomedicines of Europe) 158-175 .). El componente activo es la partenolida (1). Recientemente, se ha revelado que la partenolida (1) puede inducir apoptosis tumoral mediante la inhibición de las actividades NF- $\kappa$ B (Cori et al., Anticancer Research 2002, 22, 3805-9; Gory et al., Anticancer Research 2001, 21, 3807-11 Gofanov et al., Blood, 2000, 98, 2508-17; Kang et al, Brit, J. Pharmacol. 2002, 135, 1235-44; Song et al., J. Asian. Nat. Prod. Res. 2001, 3, 285-91).

[0006] WO 02/40017 describe el uso de extracto etanólico de crisantemo con contenido de partenolida en el tratamiento y prevención del cáncer, incluido el cáncer asociado con una expresión de COX-2 aumentada y una activación constitutiva aumentada de NF- $\kappa$ B.

[0007] WO 01/45599 divulga un método terapéutico para tratar el cáncer, incluyendo malignidades hematológicas y

tumores sólidos, que comprende la administración a un mamífero afectado por dicho cáncer de una cantidad de partenolida, o un análogo de la misma que sea un inhibidor de NF- $\kappa$ B, eficaz para inhibir la viabilidad de las células cancerosas de dicho mamífero.

5 [0008] La extracción y el aislamiento de bispartenolidina y compuestos relacionados de la corteza de *Michelia Rajaniana* ha sido descrita (Nijisiri Ruangrunsi et al., *Journal of Natural Products* 1988, 51, 1220-1225). También se informó de que la bispartenolidina muestra actividad antitumoral.

10 [0009] La partenolida (1) es una lactona neutral lipofílica con polaridad baja, y tiene una baja solubilidad en agua. Esto limita su desarrollo posterior como agente terapéutico. Según la bibliografía, la fracción de  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactona en la partenolida (1) parece ser la funcionalidad más importante para su actividad contra el cáncer (Wen et al., *J. Biol. Chem.* 2002, 277, 38954-38964) y la modificación de esta parte de la molécula puede causar una pérdida de actividad biológica. Desafortunadamente, los derivados obtenidos a partir de la modificación de la molécula de partenolida (1) en el grupo 14-metilo y en el doble enlace 1,10-carbono-carbono dan como resultado una pérdida de la actividad antileucémica.

## 15 RESUMEN DE LA INVENCION

[0010] Conforme a la presente invención, se presenta una nueva clase de derivados de partenolida con contenido de nitrógeno con actividad antileucémica.

20 [0011] Los compuestos de la invención son capaces de matar células de leucemia, las indicaciones terapéuticas incluyen leucemia y todos los cánceres humanos parentales y/o multirresistentes; compuestos para tratar la migraña y compuestos para el tratamiento de inflamaciones.

25 [0012] La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de un compuesto derivado de partenolida, o una sal del mismo, farmacéuticamente aceptable en combinación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

30 [0013] La invención también proporciona compuestos para su uso en un método de inhibición del crecimiento de células cancerosas y de la metástasis de células cancerosas, que comprende la administración a un mamífero afectado por cáncer, de una cantidad de un compuesto derivado de partenolida, eficaz para inhibir el crecimiento de dichas células cancerosas.

35 [0014] La invención también proporciona compuestos para usar en un método que comprende la inhibición del crecimiento de células cancerosas mediante el contacto de dicha célula cancerosa in vitro o in vivo con una cantidad de un compuesto derivado de partenolida, eficaz para inhibir el crecimiento de dicha célula cancerosa.

40 [0015] La invención también proporciona un compuesto derivado de partenolida para su uso en terapias médicas (preferiblemente para su uso en el tratamiento del cáncer, p. ej. tumores sólidos), así como el uso de un compuesto derivado de partenolida para la producción de un medicamento útil para el tratamiento del cáncer, p. ej. tumores sólidos.

45 [0016] La invención además proporciona compuestos para su uso en métodos de tratamiento de enfermedades y trastornos inflamatorios, incluyendo por ejemplo, artritis reumatoide, osteoartritis, alergias (tales como el asma), y otras afecciones inflamatorias, tales como dolor, hinchazón, fiebre, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, úlceras gastrointestinales, afecciones cardiovasculares, incluyendo la enfermedad cardíaca isquémica y la aterosclerosis, daño cerebral parcial provocado por derrame cerebral, afecciones de la piel (eczema, quemadura solar, acné), enfermedades inflamatorias mediadas por leucotrienos de pulmones, riñones, tracto gastrointestinal, piel, prostatitis, y paradontosis.

50 [0017] La invención, proporciona además compuestos para su uso en métodos de tratamiento de trastornos de respuesta inmunitaria, donde la respuesta inmunitaria es inapropiada, excesiva o inexistente. Tales trastornos incluyen respuestas alérgicas, rechazo de transplantes, reacción a transfusión de sangre, y enfermedades autoinmunes tales como el lupus eritematoso sistémico y la artritis reumatoide.

## 55 BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

[0018]

60 La Figura 1 muestra la eficacia de la partenolida y derivados de la presente invención contra las líneas celulares del cáncer de próstata.

La Figura 2 muestra la eficacia de la partenolida y derivados de la presente invención contra las líneas celulares del cáncer de pulmón.

La Figura 3 muestra la eficacia de la partenolida y derivados de la presente invención contra las líneas celulares del cáncer de mama.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

5

[0019] Como se utiliza en este caso, "alquilo" se refiere a grupos alquilo de cadena lineal o ramificada que tienen aproximadamente de 1 a 20 átomos de carbono; "alquilo sustituido" se refiere a grupos alquilo que portan uno o más sustituyentes, tales como hidroxilo, alcoxi, mercapto, arilo, heterocíclico, halógeno, trifluorometilo, ciano, nitro, amino, carboxilo, carbamato, sulfonilo, sulfonamida y similares; "alquilo bajo" significa de 1 a 8 carbonos;

10

"alquilo cíclico" se refiere a grupos cíclicos que contienen anillos en el intervalo de aproximadamente 3 hasta 8 átomos de carbono, y "cicloalquilo sustituido" se refiere a grupos cicloalquilo que portan uno o más sustituyentes como se indica anteriormente.

15

"alqueno" se refiere a grupos de hidrocarburos de cadena lineal o ramificada con al menos un enlace doble de carbono-carbono, y que tienen aproximadamente de 2 hasta 20 átomos de carbono, y "alqueno sustituido" se refiere a grupos alqueno que portan uno o más sustituyentes como se indica anteriormente;

20

"alquino" se refiere a grupos de hidrocarburos de cadena lineal o ramificada con al menos un enlace triple de carbono-carbono, y que tienen aproximadamente de 2 hasta 20 átomos de carbono, y "alquino sustituido" se refiere a grupos de alquino que portan uno o más sustituyentes como se indica anteriormente;

25

"arilo" se refiere a grupos aromáticos que tienen aproximadamente de 6 hasta 14 átomos de carbono y "arilo sustituido" se refiere a grupos arilo que portan uno o más sustituyentes como se indica anteriormente;

30

"alquilarilo" se refiere a grupos arilo de alquilo sustituido y "alquilarilo sustituido" se refiere a grupos alquilarilo que portan uno o más sustituyentes como se indica anteriormente;

35

"arilalquilo" se refiere a grupos alquilo de arilo sustituido y "arilalquilo sustituido" se refiere a grupos arilalquilo que portan uno o más sustituyentes como se indica anteriormente;

40

"arilalqueno" se refiere a grupos alqueno de arilo sustituido y "arilalqueno sustituido" se refiere a arilalqueno que porta uno o más sustituyentes como se indica anteriormente;

45

"arilalquino" se refiere a grupos alquino de arilo sustituido y "arilalquino sustituido" se refiere a arilalquino que porta uno o más sustituyentes como se indica anteriormente;

50

"arilo" se refiere a una fracción de carbonilo de arilo tal como benzoilo y "arilo sustituido" se refiere a grupos arilo que portan uno o más sustituyentes como se indica anteriormente;

55

"heterocíclico" se refiere a grupos cíclicos (es decir, con anillo) que contienen uno o más heteroátomos (p. ej, N, O, S, o similar) como parte de las estructuras de anillo, y que tienen aproximadamente de 3 hasta 14 átomos de carbono y "heterocíclico sustituido" se refiere a grupos heterocíclico que portan uno o más sustituyentes como se indica anteriormente;

60

"acilo" se refiere a grupos carbonilo de alquilo; y

"halógeno" se refiere a grupos de fluoruro, cloruro, bromuro, o yoduro.

40

[0020] La invención se refiere a la capacidad de la fracción de  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactona de la lactona sesquiterpénica para ser estructuralmente modificada mediante la adición de Michael con aminas primarias y/o secundarias para formar derivados de aminas hidrosolubles. La modificación de la molécula de partenolida (1) con esta metodología, proporciona aductos de amina que pueden ser obtenidos fácilmente como diferentes sales orgánicas e inorgánicas para aumentar aún más la solubilidad en agua. Así, se describe una nueva clase de análogos de partenolida más solubles en agua. Cuando se evaluó la actividad antileucémica de los compuestos de esta clase, se descubrió que estos compuestos eran o bien equipotentes, o más potentes que el compuesto original, partenolida. Y lo que es más importante, estos nuevos análogos mostraron una citotoxicidad superior en células de leucemia que en células normales. Así, la presente invención proporciona una nueva clase de derivados de partenolida con actividades anticancerígenas potentes y selectivas.

45

[0021] Conforme a la presente invención, se proporcionan compuestos tal y como se definen en la reivindicación 1, y sus sales farmacéuticamente aceptables formadas con ácidos inorgánicos y/u orgánicos, incluyendo sus sales amónicas cuaternarias formadas con  $R_4Y$ : donde Y se selecciona a partir de halógeno, tosilato, metanosulfonato, bencenosulfonato, trifluorometanosulfonato y similares; y  $R_4$  se selecciona a partir de alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, alquilo sustituido, hidroxialquilo, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, arilalqueno, arilalqueno sustituido, arilalquino, arilalquino sustituido, cianometilo, alquioxialquilo y ariloxialquilo.

50

[0022] Estos ácidos incluyen: ácido fluorhídrico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido hidriódico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido carbónico, ácido bórico, ácido selenioso, sulfuro de hidrógeno, ácido fosfomolibdico, ácido fosforoso, ácido sulfuroso, ácido cítrico, ácido maleico, ácido D-málico, ácido L-láctico, ácido D-láctico, ácido DL-láctico, ácido oxálico, ácido metanosulfónico, ácido valérico, ácido oleico, ácido láurico, ácido paratoluenosulfónico, ácido l-naftalensulfónico, ácido 2-naftalensulfónico, ácido ftálico, ácido tartárico, ácido L-málico, ácido DL-málico, ácido

55

l-naftalensulfónico, ácido 2-naftalensulfónico, ácido ftálico, ácido tartárico, ácido L-málico, ácido DL-málico, ácido

60

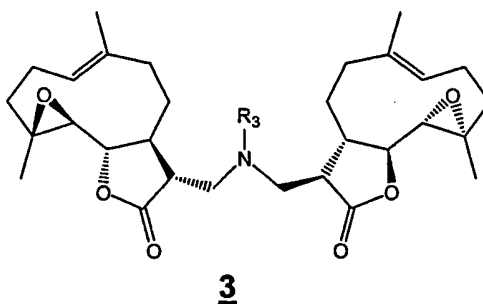
l-naftalensulfónico, ácido 2-naftalensulfónico, ácido ftálico, ácido tartárico, ácido L-málico, ácido DL-málico, ácido

- malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido glicólico, tioglicólico ácido, glicina, sarcocina, ácido sulfónico, ácido nicotínico, ácido picolínico, ácido isonicotínico, ácido benzoico y ácido benzoico sustituido que se refiere al anillo de benceno que porta uno o más sustituyentes, como se indica a continuación, y XCOOH donde X se selecciona de hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, hidroxialquilo, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo, arilo sustituido, alquilarilo, alquilarilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, arilalqueno, arilalqueno sustituido, arilalquino, arilalquino sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, perfluoralquilo, trifluorometilo, ciano, cianometilo, carboxilo, carbamato, sulfonilo, sulfonamida y ariloxialquilo, o -OX y -SX.
- 5
- 10 [0023] Compuestos actualmente preferidos de la invención son aquellos donde R<sub>1</sub> es hidrógeno o alquilo inferior opcionalmente sustituido; y R<sub>2</sub> es alquilo inferior opcionalmente sustituido.
- [0024] Según una forma de realización de la invención, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno -CH<sub>3</sub>.
- 15 [0025] En otra forma de realización, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>.
- [0026] En otra forma de realización, R<sub>1</sub> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> y R<sub>2</sub> es -CH<sub>3</sub>.
- [0027] En otra forma de realización de la invención, R<sub>1</sub> es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> y R<sub>2</sub> es -CH<sub>3</sub>.
- 20 [0028] Según otra forma de realización, R<sub>1</sub> es -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y R<sub>2</sub> es -CH<sub>3</sub>.
- [0029] En una forma de realización alternativa de la presente invención, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> se pueden combinar con N para formar un sistema anular. Ejemplos de tal combinación incluyen -CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>-; donde n se selecciona de 0 a 5. Estos sistemas anulares también pueden tener uno o más sustituyentes seleccionados a partir de alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, hidroxialquilo, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo, arilo sustituido, alquilarilo, alquilarilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, arilalqueno, arilalqueno sustituido, arilalquino, arilalquino sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, trifluorometilo, perfluoralquilo, ciano, cianometilo, carboxilo, carbamato, sulfonilo, sulfonamida, ariloxialquilo y halógeno, como se indica anteriormente.
- 25
- 30 [0030] Este sistema anular también puede ser -CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>Z; donde Z es O, S, Se, Si, P, -CO-, -SO-, -SO<sub>2</sub>-, -PO-; y -CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>- son los grupos que se han expuesto anteriormente.
- [0031] Alternativamente, este sistema anular puede ser -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-Z-(CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-; donde a y b son iguales o diferentes, y son de 1 a 4; y Z es O, N, S, Se, Si, P, -CO-, -SO-, -SO<sub>2</sub>- o -PO-. Este sistema anular también puede ser un anillo de uracilo y sus derivados con uno o más sustituyentes. Estos sistemas anulares también pueden tener uno o más sustituyentes conectados al átomo(s) de carbono y/o a Z. El sustituyente se selecciona a partir de alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, hidroxialquilo, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo, arilo sustituido, alquilarilo, alquilarilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, arilalqueno, arilalqueno sustituido, arilalquino, arilalquino sustituido, heterocíclico heterocíclico sustituido, trifluorometilo, perfluoralquilo, ciano, cianometilo, carboxilo, carbamato, sulfonilo, sulfonamida, ariloxialquilo y halógeno como se ha expuesto anteriormente.
- 35
- 40
- 45 [0032] Estos sistemas anulares también pueden ser aromáticos, tales como pirrol, imidazol, purina, y pirazolo y derivados sustituidos de estos heterocíclicos catalogados arriba con uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, hidroxialquilo, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo, arilo sustituido, alquilarilo, alquilarilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, arilalqueno, arilalqueno sustituido, arilalquino, arilalquino sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, trifluorometilo, perfluoralquilo, ciano, cianometilo, carboxilo, carboxilato, carboxaldehído, carboxamida, carbamato, hidroxilo, alcoxi, isocianato, isotiocianato, nitro, nitroso, nitrato, sulfato, sulfonilo, sulfonamida, tiol, tioalquilo, ariloxialquilo y halógeno se ha expuesto anteriormente.
- 50
- [0033] Cualquiera de los sistemas anulares anteriores que comprenda NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> puede opcionalmente ser fundido con otro anillo para formar un sistema anular bicíclico o tricíclico opcionalmente sustituido, cada uno de los anillos comprendiendo opcionalmente uno o más heteroátomos. Sistemas anulares preferidos incluyen aziridina-1-yl, acetidina-1-yl, pirrolidina-1-yl, piperidina-1-yl, homopiperidina-1-yl y heptametilenoimina-1-yl, siendo cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes de los expuestos anteriormente.
- 55
- [0034] Compuestos ejemplares de la presente invención incluyen:
- 60 11 βH, 13- Dimetilaminopartenolida;  
11βH,13-Dietilaminopartenolida;

- 11  $\beta$ H,13-(terc-Butilamino)partenolida;  
 11  $\beta$ H,13-(Pirrolidina-1-yl)partenolida;  
 11 $\beta$ H,13-(Piperidina-1-yl)partenolida;  
 11 $\beta$ H,13-(Morfolina-1-yl)partenolida;  
 5 11 $\beta$ H,13-(4-Metilpiperidina-1-yl)partenolida;  
 11 $\beta$ H,13-(4-Metilpiperacina-1-yl)partenolida;  
 11 $\beta$ H,13-(Homopiperidina-1-yl)partenolida;  
 11  $\beta$ H,13-(Heptametilenoimina-1-yl)partenolida;  
 11  $\beta$ H,13-(Acetidina-1-yl)partenolida; y  
 10 11  $\beta$ H,13-Dialilaminopartenolida.

[0035] Los expertos en la técnica reconocen que la invención comprende compuestos que pueden contener uno o más centros quirales en el grupo  $-NR_1R_2$ , y así puede existir como mezclas racémicas como diastereómeros puros, o como enantiómeros puros. Para muchas aplicaciones, se prefiere llevar a cabo una síntesis estereoselectiva y/o someter el producto de la reacción a pasos de purificación apropiados para producir materiales básicamente estereoquímicamente puros o materiales ópticamente puros. Procedimientos sintéticos estereoselectivos adecuados para producir materiales estereoquímicamente puros o materiales ópticamente puros se conocen bien en la técnica, como son los procedimientos para resolver mezclas racémicas en sus enantiómeros ópticamente puros.

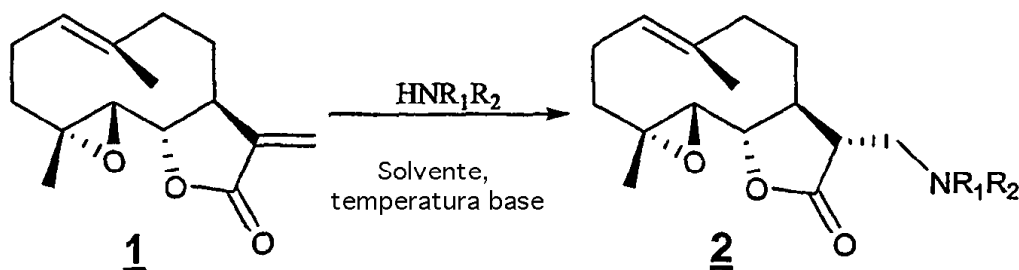
[0036] El grupo  $NR_1R_2$  puede ser también una amina primaria o parte de otra fracción de fármaco anticáncer, que constituye la formación de un "análogo doble de aminopartenolida (estructura 3 y esquema II de abajo) o la unión covalente de partenolida con moléculas básicas sinérgicas de medicamento anticáncer con contenido de nitrógeno, tales como 5-fluorouracilo, citarabina, mitomicina C, doxorubicina, daunorubicina, (esquema III, fórmula 4 como ejemplo representativo abajo), respectivamente. Así, la presente invención proporciona además compuestos de la fórmula (3):



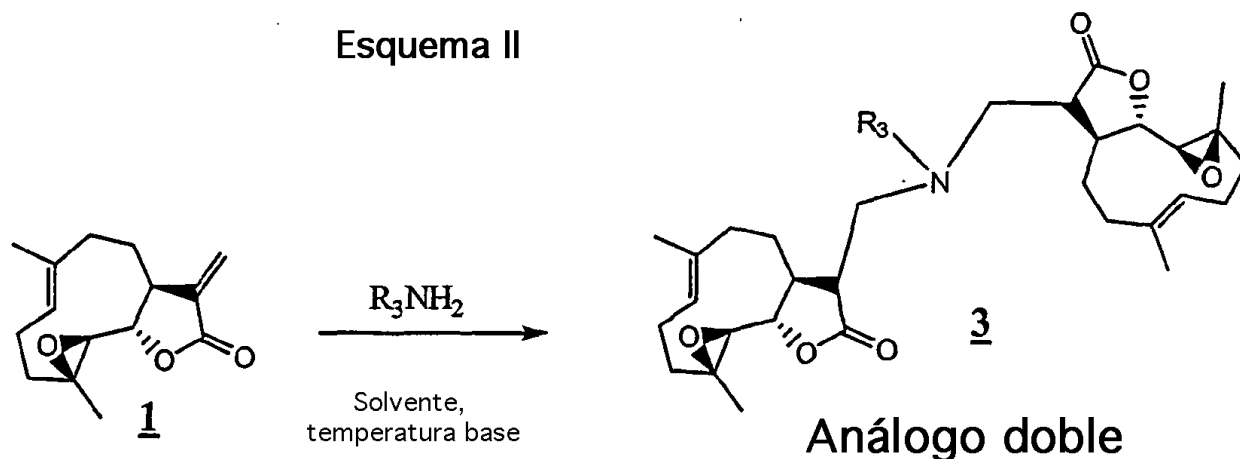
donde  $R_3$  se selecciona a partir de hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, hidroxialquilo, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo, arilo sustituido, alquilarilo, alquilarilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, arilalqueno, arilalqueno sustituido, arilalquino, arilalquino sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, trifluorometilo, perfluoralquilo, ciano, cianometilo, carboxilo, carbamato, sulfonilo, sulfonamida y ariloxialquilo, o  $OR_1$ , donde O es un oxígeno; y sus sales farmacéuticamente aceptables formadas con ácidos orgánicos y/o inorgánicos, y sus sales amónicas cuaternarias formadas con  $R_4Y$ . Los grupos  $R_3$  preferidos incluyen H, alquilo, aralquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, alquilarilo, alquenilarilo y alquinarilo.

[0037] Conforme a otra forma de realización de la invención, los métodos para la preparación de los análogos de amina descritos en esta invención, se divulgan en los esquemas I y II.

## Esquema I



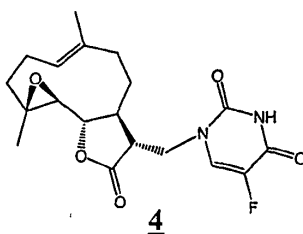
## Esquema II



[0038] En el esquema anterior,  $R_1$  y  $R_2$  son definidos como anteriormente; y el solvente se selecciona de un alcohol de alquilo inferior, tal como metanol, etanol, propanol, isopropanol, N-butanol, terc-butanol, y cloroformo, cloruro de metileno, benceno, tolueno, tetrahidrofurano, dioxano, 1,2-dimetoxietano, piridina, tetracloruro de carbono, éter dietílico, éter metil terc-butilico y/o la mezcla de dos o más de los solventes nombrados. La base se selecciona de una trialkilamina inferior, tal como trimetilamina, trietilamina, tripropilamina, y tributilamina, y piridina, 2-, 3-, y 4-picolinas, 2-, 3-, y 4-dimetilaminopiridinas.

La temperatura se selecciona de  $-20^\circ\text{C}$  a  $130^\circ\text{C}$ . El tiempo de reacción requerido para efectuar la reacción de acoplamiento deseada puede variar mucho, típicamente está en el intervalo de 30 min a 24 horas. La purificación se puede conseguir con una variedad de técnicas, tales como cromatografía líquida con gel de sílice básico o neutro, fases de gel de sílice conectadas tales como octadecilsilica, octilsilica y similares, celulosa o alúmina con el solvente tal como, por ejemplo, la mezcla de cloroformo y metanol o etanol, la mezcla de cloruro de metileno y metanol o etanol, la mezcla de hexano y acetona o acetonitrilo o metanol o etanol o isopropanol, la mezcla de éter dietílico y acetona o acetonitrilo o metanol o etanol o isopropanol; y recristalización usando solvente normal orgánico o mezcla de solvente, tal como metanol, etanol, propanol, isopropanol, terc-butanol, acetonitrilo, éter dietílico, cloroformo, cloruro de metileno y la mezcla de dos o más solventes nombrados arriba. La pureza de los compuestos de la invención preparados se evalúa mediante espectrometría de masas, espectrometría de resonancia magnética nuclear y análisis de combustión elemental.

## Esquema III

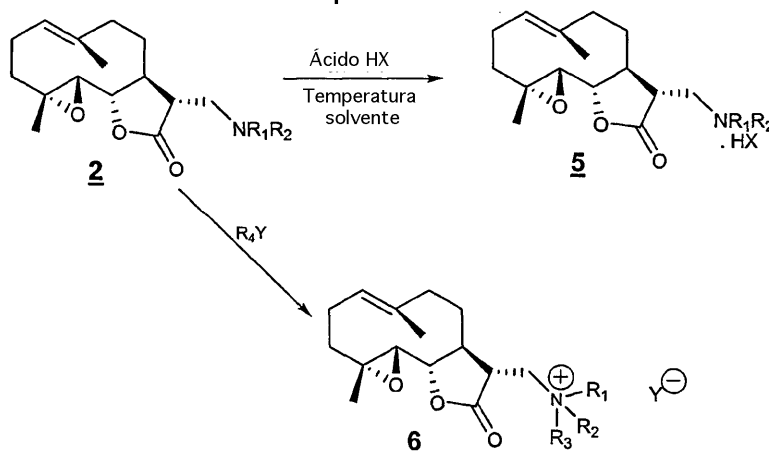


Cofármaco 5-fluoracilo-partenolida

[0039] Además, de acuerdo con otra forma de realización de la presente invención, los métodos para la preparación de las sales de la invención se divulgan en los esquemas IV y V.

5

## Esquema IV



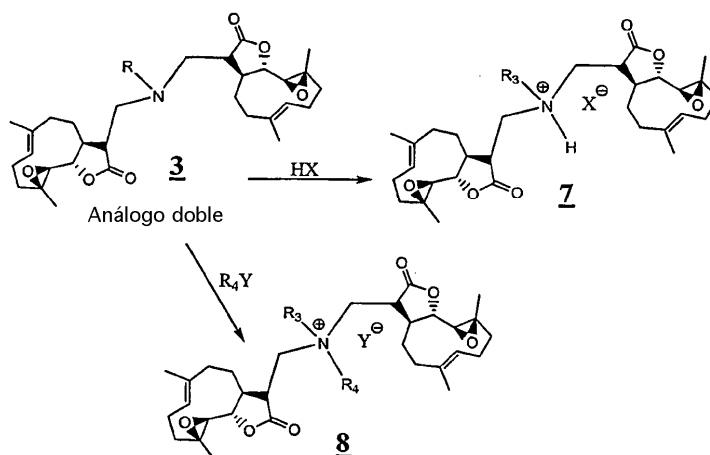
[0040] En estos esquemas, HX se selecciona a partir de hidrócloruro, hidrobromuro, hidroyoduro, perclorato, sulfato, hemisulfato, mesilato, toluenosulfonato, benenosulfonato, succinato, semisuccinato, fumarato, acetato, hemifumarato, maleato, citrato, oxalato, malonato, propionato y benzoato;  $Y^{\ominus}$  se selecciona a partir de haluro (fluoruro, cloruro, bromuro, yoduro), metilsulfonato, toluenosulfonato, benenosulfonato y sulfato; y el solvente se selecciona de un alcohol de alquilo inferior, tal como éter dietílico, metanol, etanol, propanol, isopropanol, N-butanol, terc-butanol, y cloroformo, cloruro de metileno, benceno, tolueno, tetrahidrofurano, dioxano, 1,2-dimetoxietano, piridina, tetracloruro de carbono, éter de metilo de terc-butilo, acetona y/o la mezcla de dos o más de los solventes mencionados arriba. La temperatura se selecciona de  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ . La purificación se puede conseguir por recristalización usando un solvente orgánico normal o mezcla de solventes, tal como metanol, etanol, acetona, propanol, isopropanol, t-butanol, acetonitrilo, éter dietílico, cloroformo, cloruro de metileno y la mezcla de dos o más solventes nombrados arriba.

10

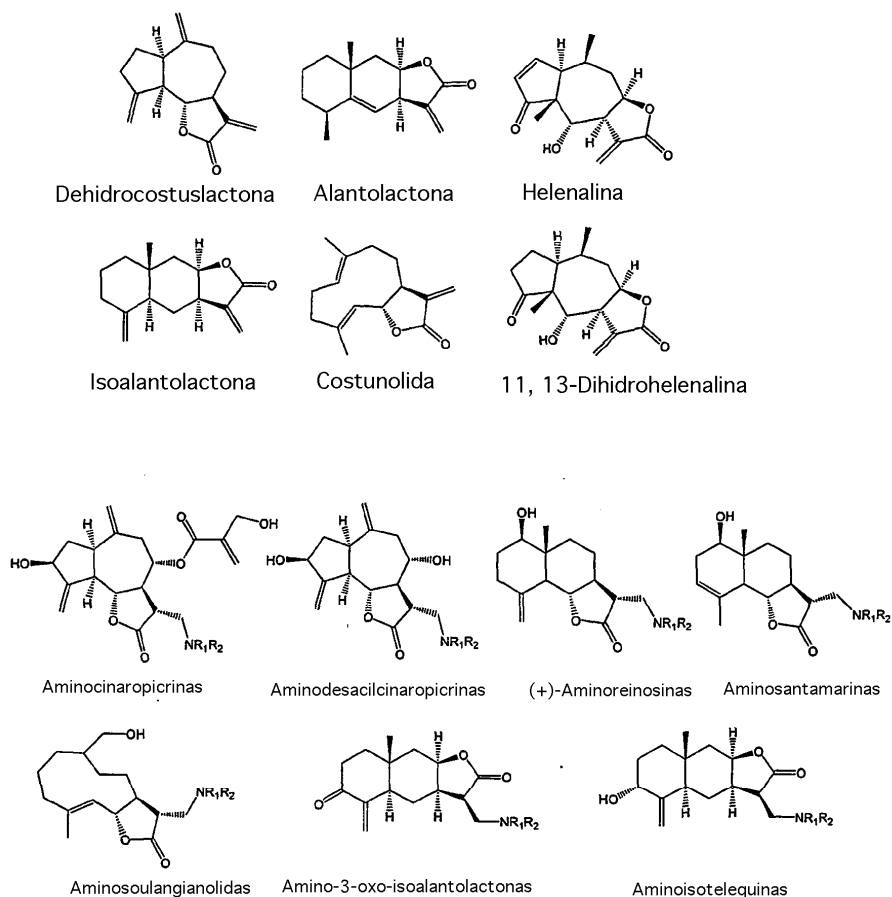
15



## Esquema V



5 [0041] También son parte de la invención análogos del mismo tipo como los de arriba para los siguientes constituyentes estructuralmente relacionados tipo partenolida: costunolido, dehidrocostuslactona, alantolactona, isoalantolactona, amino-3-oxo- isoalantolactona, helenalina, 11,13-dihidrohelenalina, aminocianoropicrina, aminodesacilcianoropicrina, (+)-aminoreionosina, aminosantamarina, aminosoulangianolide, y aminoisotelequina (ver esquema VI).



Esquema VI

[0042] Los compuestos aquí descritos son útiles para tratar el cáncer. Los cánceres que se pueden tratar con la terapia actual incluyen los tumores sólidos y hematológicos, tales como cáncer de próstata, cáncer ovárico, cáncer de mama, cáncer cerebral y cáncer hepático, que comprenden la administración a un mamífero afectado por dicho cáncer de una cantidad de derivado de partenolida eficaz para inhibir la viabilidad de células cancerosas de dicho mamífero. El derivado de partenolida se puede administrar como tratamiento primario, o como tratamiento adicional, bien siguiendo a una intervención local (cirugía, radiación, quimioterapia local) o conjuntamente con al menos otro agente quimioterapéutico, presentado anteriormente, al igual que los tumores sólidos descritos en la patente estadounidense nº 5.514.555. Cánceres hematológicos, tales como las leucemias, se divulgan en Mayo Clinic Family Health Book, D. E. Larson, ed., William Morrow, N.Y. (1990) e incluyen CLL, ALL, CML y similares.

[0043] Dentro de otro aspecto de la presente invención, los compuestos tal y como se definen anteriormente, se proporcionan para su uso en la inhibición de la angiogénesis en pacientes con enfermedades no tumorígenas dependientes de la angiogénesis, comprendiendo la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que comprende derivados de partenolida a un paciente con una enfermedad no tumorígena dependiente de angiogénesis, de manera que se inhibe la formación de nuevos vasos sanguíneos. En otros aspectos, los compuestos tal y como se definen anteriormente, se proporcionan para su uso en la inhibición de la proliferación reactiva de células endoteliales o la formación de capilares en enfermedades no tumorígenas dependientes de angiogénesis, de manera que el vaso sanguíneo se ocluye eficazmente. En una forma de realización, la composición antiangiogénica que

comprende derivados de partenolida se suministra a un vaso sanguíneo en el que prolifera activamente y nutre un tumor.

5 [0044] Además de tumores, otras muchas enfermedades no tumorígenas dependientes de angiogénesis, que se caracterizan por el crecimiento anormal de vasos sanguíneos, pueden ser tratadas con las composiciones de derivados de partenolida antiangiogénicas, o factores antiangiogénicos de la presente invención. Las composiciones de derivados de partenolida antiangiogénicas de la presente invención, pueden bloquear los efectos estimuladores de los promotores de la angiogénesis, reduciendo la división celular endotelial, disminuyendo la migración celular endotelial, y perjudicando la actividad de las enzimas proteolíticas segregadas por el endotelio. Ejemplos representativos de tales enfermedades no tumorígenas dependientes de angiogénesis, incluyen neovascularización corneal, cicatrices hipertróficas y queloides, 10 retinopatía diabética proliferativa, malformaciones arteriovenosas, placas ateroscleróticas, retraso en la cicatrización de las heridas, fracturas no unidas, síndrome de Osler-Weber, psoriasis, granuloma de piógeno, esclerodermia, tracoma, menorragia, fibroplasia retrolental y adhesiones vasculares. La patología y tratamiento de estas condiciones se divulgan en detalle en la solicitud PCT publicada PCT/CA94/00373 (WO 95/03036), en las páginas 26-36. La administración tópica o directa de las presentes composiciones es frecuentemente el modo preferido de administración de cantidades terapéuticamente eficaces de derivados de partenolida, es decir, de liberación prolongada u otra forma de liberación controlada. 15

[0045] Las composiciones antiangiogénicas de la presente invención también pueden ser utilizadas en una variedad de otras formas. Por ejemplo, pueden incorporarse en suturas quirúrgicas para prevenir granulomas de sutura, pueden implantarse en el útero (de la misma manera que un DIU) para el tratamiento de la menorragia o como una forma de regulación de la natalidad, pueden administrarse bien como un fluido de lavado peritoneal o utilizarse para el implante peritoneal en el tratamiento de endometriosis, pueden fijarse a un anticuerpo monoclonal dirigido contra células endoteliales activadas como una forma de quimioterapia sistémica, o utilizarse en diagnóstico por imagen cuando están fijadas a un anticuerpo monoclonal radioactivamente marcado, que reconoce células endoteliales activas. 20 25

[0046] La magnitud de una dosis terapéutica o profiláctica de derivado de partenolida, un análogo del mismo o una combinación de los mismos, en el tratamiento agudo o crónico del cáncer, es decir, cáncer de próstata o de mama, variará dependiendo de la fase del cáncer, así como del tumor sólido a tratar, el agente(s) quimioterapéutico u otra terapia anticáncer usada, y la forma de administración. La dosis, y quizás la frecuencia de la dosis, también variará según la edad, la masa corporal, y la respuesta del paciente individual. En general, la cantidad de la dosis diaria total de derivado de partenolida y sus análogos, para las condiciones aquí descritas, es de aproximadamente 0,5 mg a 2500 mg, en dosis individuales o divididas. Preferiblemente, una cantidad de dosis diaria debería ser de aproximadamente 1 mg a 100 mg, en dosis individuales o divididas, de forma más preferida aproximadamente de 5-50 mg al día. En el tratamiento del paciente, la terapia debería iniciarse con una dosis más baja e irse aumentando dependiendo de la respuesta global del paciente. Además, se recomienda que bebés, niños, pacientes de más de 65 años y aquellos con disfunción renal o hepática reciban inicialmente dosis bajas y que sean valorados en base a la respuesta global y el nivel en sangre. Puede ser necesario en algunos casos usar dosis que queden fuera de estos intervalos. Además, se observa que el médico o facultativo tratante sabrá cómo y cuándo interrumpir, ajustar o finalizar la terapia dependiendo de la respuesta individual del paciente. Los términos "una cantidad eficaz" o "una cantidad de sensibilización eficaz" quedan englobados en las cantidades de dosificación y frecuencia de dosis descritas anteriormente. 30 35 40

[0047] Se puede utilizar cualquier forma de administración adecuada para suministrar al paciente una dosificación eficaz de derivado de partenolida (p. ej., oral, sublingual, rectal, intravenosa, epidural, intratecal, subcutánea, transcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intracutánea, inhalación, transdérmica, spray nasal, gel nasal o gota nasal, y similares). Mientras sea posible, para su uso en terapia, que el derivado de partenolida o sus análogos se administren como productos químicos puros, como por inhalación de un polvo fino vía insuflador, es preferible presentar la sustancia activa como fórmula farmacéutica. La invención proporciona además una fórmula farmacéutica que comprende derivados de partenolida o un análogo de los mismos, junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables del mismo y, opcionalmente, otros ingredientes terapéuticos y/o profilácticos. El portador(es) debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros componentes de la formulación y no perjudicial para el receptor del mismo, tal como un paciente humano o animal doméstico. 45 50

[0048] Las formulaciones farmacéuticas incluyen aquellas que son adecuadas para la administración parenteral u oral (incluyendo intramuscular, subcutánea e intravenosa). Las formas adecuadas para la administración parenteral, incluyen también formas adecuadas para la administración por inhalación o insuflación o la administración nasal o tópica (incluyendo bucal, rectal, vaginal y sublingual). Las formulaciones, cuando sea apropiado, deben estar convenientemente presentadas en formas de dosificación unitaria diferenciadas y preparadas según alguno de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Tales métodos incluyen el paso de unir el compuesto activo con portadores líquidos, matrices sólidas, portadores semisólidos, portadores sólidos finamente divididos o combinaciones de los mismos, y luego, si es necesario, la conformación del producto en el sistema de entrega deseado. 55 60

- 5 [0049] Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para la administración oral se pueden presentar como formas de dosificación unitaria diferenciadas, tales como cápsulas de gelatina blandas o duras, píldoras o comprimidos cada uno con una cantidad predeterminada del componente activo; como un polvo o como gránulos; como una solución, una suspensión o como una emulsión; o en una base masticable tal como una resina sintética o chicle, para la ingestión del agente en forma de goma de mascar. El componente activo también puede ser presentado como un bolo, electuario o pasta. Los comprimidos y las cápsulas para la administración oral pueden contener excipientes convencionales, como agentes aglutinantes, productos de relleno, lubricantes, desintegrantes, o agentes de humidificación. Los comprimidos se pueden revestir según métodos bien conocidos en la técnica, es decir, con revestimientos entéricos.
- 10 [0050] Los preparados líquidos orales, pueden presentarse, por ejemplo, en forma de suspensiones acuosas u oleoginosas, soluciones, emulsiones, jarabes o elixires, o pueden presentarse como un producto seco para constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de uso. Tales preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales, tales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles), o conservantes.
- 15 [0051] Los compuestos según la invención pueden también ser formulados para administración parenteral (p. ej., por inyección, por ejemplo, inyección en bolo o infusión continua) y pueden presentarse en forma de dosis unitaria en ampollas, jeringas prellenadas, infusión de pequeño volumen o en recipientes multidosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones, o emulsiones en vehículos acuosos u oleoginosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, agentes de estabilización y/o de dispersión. De forma alternativa, el componente activo puede ser en forma de polvo, obtenido por aislamiento aséptico de sólido estéril o por liofilización de la solución, para su constitución con un vehículo adecuado, p. ej., agua sin pirógenos esterilizada antes de su uso.
- 20 [0052] Para la administración tópica en la epidermis, los compuestos pueden formularse como pomadas, cremas o lociones, o como compuesto activo de un parche transdérmico. Sistemas adecuados de transmisión transdérmica se divulgan, por ejemplo, en A. Fischer et al. (patente estadounidense nº. 4.788.603), o R. Bawa et al. (patentes estadounidense nº 4.931.279, 4.668.506 y 4.713.224). Las pomadas y cremas pueden, por ejemplo, estar formuladas con una base acuosa u oleoginosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las lociones se pueden formular con una base acuosa u oleoginosa, y en general pueden contener también uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes de dispersión, agentes de suspensión, agentes espesantes o agentes colorantes.
- 25 [0053] Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en la boca incluyen formas de dosificación unitaria tales como pastillas que comprenden el componente activo en una base aromatizada, normalmente sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que comprenden el componente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia; geles mucoadherentes, y enjuagues bucales que comprenden el componente activo en un portador líquido adecuado.
- 30 [0054] Cuando se desee, las formulaciones descritas anteriormente se pueden adaptar para dar una liberación sostenida al componente activo empleado, p. ej., por combinación con determinadas matrices de polímeros hidrofílicos, p. ej., que comprenden geles naturales, geles de polímeros sintéticos o mezclas derivadas. La matriz polimérica recubre, o se usa para formar, una prótesis médica, tal como un stent, una válvula, un conector, un injerto, o similar.
- 35 [0055] Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para la administración rectal en la que el portador es un sólido, son presentados de la forma más preferible como supositorios de dosis única. Portadores adecuados incluyen manteca de cacao y otros materiales comúnmente usados en la técnica, y los supositorios están convenientemente formados por una mezcla de compuesto activo con el portador(es) derretido o ablandado, seguido de enfriado y modelado en moldes.
- 40 [0056] Las formulaciones adecuadas para la administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, espumas o sprays que contienen además del compuesto activo, portadores adecuados como se conocen en la técnica.
- 45 [0057] Para la administración por inhalación, los compuestos, según la invención se suministran convenientemente desde un insuflador, nebulizador o envase presurizado u otros medios convenientes para liberar un aerosol. Los envases presurizados pueden comprender un propulsor adecuado tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación se puede determinar mediante una válvula para suministrar una cantidad dosificada.
- 50 [0058] Alternativamente, para la administración por inhalación o insuflación, los compuestos según la invención pueden adoptar la forma de una composición en polvo seca, por ejemplo, una mezcla de polvo del compuesto y una base de
- 55
- 60

polvo adecuada tal como lactosa o almidón. La composición en polvo se puede presentar en forma de dosificación unitaria en, por ejemplo, cápsulas o cartuchos o, p. ej., gelatina o blísters desde donde el polvo se puede administrar con la ayuda de un inhalador o insuflador.

5 [0059] Para la administración intranasal, los compuestos de la invención se pueden administrar vía pulverización líquida, tal como vía un atomizador de botella de plástico. Típicos son el Mistometer.RTM. (Wintrop) y el Medihaler.RTM. (Riker).

[0060] Para la administración tópica en el ojo, los compuestos se pueden administrar como gotas, geles (patente estadounidense nº. 4.255.415), gomas (ver patente estadounidense. nº. 4.136.177) o vía un inserto ocular de liberación prolongado.

[0061] La invención será descrita ahora con mayor detalle en referencia a los siguientes ejemplos no limitativos.

## EJEMPLOS

15 Ejemplo 1 - Procedimiento general sintético para la preparación de 11 $\beta$ H,13-aminopartenolidas sustituidas

[0062] Una mezcla de partenolida (100mg, 0,4mmol), la amina primaria o amina secundaria apropiada (2mmol), y trietilamina (1 a 2 ml) en 30 ml de etanol anhidro, se agitó a una temperatura específica que varía en el intervalo desde la temperatura ambiente a la temperatura del reflujo solvente utilizado, o se dejó en el frigorífico (de -20°C a 4°C) toda la noche durante 24 horas. El etanol, la trietilamina y/o la amina apropiada volátil se evaporaron a continuación al vacío en un rotavapor. El residuo resultante se sometió a purificación cromatográfica en una columna de gel de sílice usando metanol de cloroformo o mezcla de solvente cloruro de metileno-metanol como fase móvil. Se utilizaron las metodologías de análisis NMR (Varian, 300MHz y 400MHz) y GC/MS (Agilent, 6890GC y 5973MSD) para asegurar la identidad y pureza de los compuestos sintéticos.

Ejemplo 2 - 11 $\beta$ H,13-Dimetilaminopartenolida

30 [0063] Partenolida (100mg; 0,4mmol), dimetilamina (2M en metanol, 1ml), trietilamina (2ml), etanol (30ml) se refluaron durante la noche. Después de la columna de purificación se obtuvieron 109 mg de 11 $\beta$ H,13-dimetilaminopartenolida de color amarillo pálido (rendimiento: 93%).

35 Ejemplo 3 - 11 $\beta$ H,13-Dietilaminopartenolida

[0064] Partenolida (100mg; 0,4mmol), dietilamina (200mg; 2,7mmol), trietilamina (2ml), etanol (30ml) se refluaron durante la noche. Después de la columna de purificación se obtuvieron 114 mg de 11 $\beta$ H,13-dietilaminopartenolida amarilla (rendimiento: 88%).

Ejemplo 4 - Preparación de sales de derivados de aminopartenolida

45 [0065] El derivado de aminopartenolida se disolvió en éter anhidro y a esta solución se añadió el ácido correspondiente en éter o etanol. La mezcla se guardó en el frigorífico (4°C) durante la noche. Los cristales que se formaron, se filtraron y se secaron al vacío, o se sometieron a otra recristalización, en caso necesario.

Ejemplo 5 - preparación de 11 $\beta$ H,13-(piperidina-1-yl)partenolida hidrocloreto

50 [0066] 11 $\beta$ H,13-(piperidina-1-yl)partenolida (5mg) se disolvió en 2 ml de éter seco. Se añadió a la solución de éter hidrocloreto en éter (1M; 0,015ml) hasta que la solución se enturbió; luego se añadió más éter y la mezcla se calentó para obtener una solución clara. La mezcla se dejó en el frigorífico (4°C) durante más de 24 horas. Los cristales blancos que se formaron, se filtraron a través de papel de filtro, y se secaron al vacío durante toda la noche (rendimiento: 18%).

Ejemplo 6 - preparación de 11 $\beta$ H,13-dimetilaminopartenolida maleato

60 [0067] A 11 $\beta$ H,13-dimetilaminopartenolida (30mg; 0,1mmol) en etanol anhidro (5ml) se le añadió ácido maleico (12mg, 0,1mmol) en 3ml de etanol anhidro. La solución se agitó bien y se filtró a través de un papel de filtro normal. La solución

clara se dejó en el frigorífico durante una semana. Los cristales blancos que se formaron se obtuvieron por filtración, secados en un desecador al vacío con  $\text{CaCl}_2$  anhidro (rendimiento: 55%).

#### Ejemplo 7 - preparación de 11 $\beta$ H,13-Dimetilaminopartenolida metiodido

[0068] A 11 $\beta$ H,13-dimetilaminopartenolida (30mg; 0,1mmol) en metanol anhidro (5ml) se añadió iodometano (90mg, 0,6mmol) en metanol (1ml). La solución clara se agitó y se almacenó a temperatura ambiente. Después de tres días, el metanol se evaporó, el residuo de color amarillo pálido se secó en un desecador al vacío, con  $\text{CaCl}_2$  anhidro. La recristalización del éter de acetona proporcionó cristales de color amarillo pálido (rendimiento: 86%).

[0069] Ejemplo 8 -11 $\beta$ H,13-(4-Metilpiperidina-1-yl)partenolida metiodido: a 11 $\beta$ H,13-(4-metilpiperidina-1-yl) partenolida (35mg; 0,1mmol) en metanol anhidro (5ml) se añadió iodometano (90mg, 0,6mmol) en metanol (1ml). La solución clara se agitó y se almacenó a temperatura ambiente. Después de tres días, el metanol se evaporó, el residuo de color amarillo pálido se secó en un desecador al vacío, con  $\text{CaCl}_2$  anhidro. La recristalización del éter de acetona proporcionó cristales de color amarillo pálido (rendimiento: 79%).

#### Ejemplo 9 - Ensayo para actividad antileucémica

[0070] Para el análisis de apoptosis, se lavaron con PBS frío un millón de células primarias de leucemia mielógena aguda y se resuspendieron en 200 microlitros de tampón de unión de annexina (10 mM HEPES/NaOH pH 7.4, 140 mM NaCl; 2,5 mM  $\text{CaCl}_2$ ). Annexina V-FITC (Pharmingen) y 0,25 mg/ml 7-AAD (7-aminoactinomicina D, Molecular Probes, CA) se añadieron y los tubos se incubaron a temperatura ambiente a oscuras durante 15 minutos. Las células se diluyeron a continuación con 200 microlitros de tampón de unión de annexina y se analizaron inmediatamente por citometría de flujo. Las células viables se identificaron como débiles al marcador Annexina V o 7-AAD. Las células que comienzan a morir marcadas con Annexina V, y que se pierden como integridad de membrana, también se marcan con 7-AAD. Para cada derivado de partenolida, el porcentaje de células viables se determinó después 24 horas de cultivo en una concentración de 10 micromolar. Los datos se normalizaron en las muestras de control no tratadas. Los datos están en la tabla 1 para derivados de aminopartenolida y en la tabla 2 para las sales de algunas aminopartenolidas.

[0071] Las células sanas de médula ósea humana se usaron en el ensayo anterior para probar la citotoxicidad de la partenolida. El ochenta y cinco por ciento de las células normales sobrevivieron a 10 $\mu$ M de partenolida. Todas las aminopartenolidas evaluadas ofrecieron resultados similares a la partenolida, es decir, el índice de supervivencia de células sanas de médula ósea humana estuvo por encima del 85% con una concentración de 10 $\mu$ M.

Tabla 1. Aminopartenolidas y su actividad antileucémica

Compuesto	Reactivos y solvente	Condiciones de reacción	Rendimiento (%)	Actividad antileucémica
11 $\beta$ H.13-Dimetilaminopartenolida	partenolida (100mg), dimetilamina (2M en metanol, 1ml), trietilamina(2ml), etanol (30ml)	Reflujo durante la noche	93	5 $\mu$ M, 31% 10 $\mu$ M, 90% 20 $\mu$ M, 95%
11 $\beta$ H.13-Dietilaminopartenolida	partenolida (100mg), dietilamina (200mg; 2.7mmol), trietilamina (2ml), etanol (30ml)	Reflujo durante la noche	88	10 $\mu$ M, 60%
11 $\beta$ H.13-(terc-Butilamino) partenolida	partenolida (20mg), terc-butylamine (0.2ml), trietilamina (0.4ml), etanol (5ml)	Reflujo 10 horas	39	10 $\mu$ M, 20%
11 $\beta$ H.13--(Pirrolidina-1-yl) partenolida	partenolida (30mg), pirrolidina (0.2ml), trietilamina (0.2ml), etanol (5 ml)	Reflujo 12 horas	80	80 5 $\mu$ M, 23% 10 $\mu$ M, 85% 20 $\mu$ M, 95%
11 $\beta$ H.13--(Piperidina-1-yl) partenolida	partenolida (250mg), piperidina (1 ml), trietilamina (5ml), etanol (100ml)	Reflujo durante la noche	86	2.5 $\mu$ M, 71% 5 $\mu$ M, 91%
11 $\beta$ H.13-(Morfolina-1-	partenolida (100mg),	Reflujo durante la	91	5 $\mu$ M, 5% 20 $\mu$ M,

yl) partenolida	morfolina (0.5ml), trietilamina (2ml), etanol (30ml)	noche		20%
11βH.13- (4-Metilpiperidina- 1-yl)partenolida	partenolida (100mg), 4-metilpiperidina (0.5ml), trietilamina (2ml), etanol (30ml)	Reflujo durante la noche	89	10μM, 83%
11βH.13-(4-Metilpiperazina- 1-yl)partenolida	partenolide (30mg), 4-metilpiperazina (0.2ml), trietilamina (1ml), etanol (20ml)	Reflujo durante la noche	74	10μM, 7%
11βH.13- (Homopiperidina-1-yl) partenolida	partenolida (100mg), homopiperidina (500mg), trietilamina (2ml), etanol (30ml)	Reflujo durante la noche	82	10μM, 40%
11βH.13- (heptametilenoimina-1-yl) partenolida	partenolida (100mg), heptametilenoimina (500mg), trietilamina (2ml), etanol (30ml)	Reflujo durante la noche	74	10μM.10%
11βH.13-(Acetidina-1-yl) partenolida	partenolida (100mg), acetidina (100mg), trietilamina (2ml), etanol (20ml)	agitado a temperatura ambiente 2 días	93	
11βH.13 - Diallilaminopartenolida	partenolida (100mg), diallilamina (200mg), trietilamina (2ml), etanol (30ml)	Reflujo durante la noche	57	

Tabla 2. Sales de aminopartenolida y su actividad antileucémica

Compuesto	Reactivos y solvente	Condiciones de racción	Rendimiento	Actividad antileucémica
11βH.13-Dimetilaminopartenolida hidrocloreuro	11βH.13-Dimetilaminopartenolida (10mg), HCl en éter (1M; 0.03ml)	Frigorífico, 24 horas	72	
11βH.13-(Pirrolidina-1-yl) partenolida hidrocloreuro	11βH.13-(Pirrolidina-1-yl) partenolida (5mg), HCl en éter (1M; 0.015ml)	Frigorífico, 24 horas	10	10μM, 85%
11βH.13-(Piperidina-1-yl) partenolida hidrocloreuro	11βH.13-(Piperidina-1-yl) partenolida (5mg), HCl en éter (1M; 0.015ml)	Frigorífico, 24 horas	18	10μM, 88%
11βH.13-(4-Metilpiperidina-1-yl)partenolida hidrocloreuro	11βH.13-(4-Metilpiperidina-1-yl)partenolida (50mg), HCl en éter (1M; 0.15ml)	Frigorífico, 4 días	38.3	10μM, 62%
11βH.13-Dimetilaminopartenolida maleato	11βH.13-Dimetilaminopartenolida (30mg), ácido maleico (12mg), etanol (8ml)	Temperatura ambiente durante 1 semana	55	
11βH.13-Dimetilaminopartenolida metiodido	11βH.13-Dimetilaminopartenolida (30mg), iodometano adicionado (90mg), metanol (6ml)	Temperatura ambiente durante 3 días	86	

11βH.13-(4-Methylpiperidin-1-yl)partenolida metiodido	11βH.13-(4-Metilpiperidina-1-yl)partenolida (70mg), iodometano (200mg), metanol (12ml)	Temperatura ambiente durante 3 días	79	
---	--	-------------------------------------	----	--

Ejemplo 10 - Análisis de partenolida y dimetilaminopartenolida (DMAPT) usando injertos heterólogos de ratón y de humano

5

[0072] Para valorar el efecto de la partenolida en poblaciones de células madre primarias humanas, los experimentos fueron realizados usando trasplantes en ratones inmunodeficientes NOD/SCID. Un injerto exitoso de médula ósea NOD/SCID a 6-8 semanas después del trasplante ha demostrado ser una medida de contenido de células madre para poblaciones de células humanas hematopoyéticas (Lapidot et al., J Mol Med. 1997,75:664-673; Dick, Curr Opin Hematol. 1996,3:405-409). Para cada experimento, se descongelaron muestras de células mononucleares criopreservadas de donantes normales o con AML, y se trataron in vitro con partenolida 7,5 micromolar durante 12-18 horas. Después del cultivo, se inyectaron por vía intravenosa de 5-10 millones de células por animal en ratones NOD/SCID irradiados (300 Rad) con un nivel subletal. Después de 6-8 semanas, los animales se sacrificaron y se analizó la médula ósea para detectar la presencia de células humanas usando citometría de flujo, tal y como se describe anteriormente (Guzman et al., Proc Natl Acad Sci U S A 2002,99: 16220-162253). Anticuerpos específicos humanos para CD45 se usaron para valorar el nivel de total del injerto.

10

15

[0073] En tres experimentos independientes, el nivel de injerto en células AML tratadas con partenolida se redujo drásticamente, lo que indica un efecto directo en el compartimento de la célula madre AML. En cambio, no se detectó reducción en el injerto en muestras normales tratadas con partenolida, mostrando así que partenolida no tiene como objetivo las células madre normales hematopoyéticas. De forma similar, el tratamiento de células AML con DMAPT 7.5 micromolar también mostró una reducción fuerte en injertos NOS/SCID, mientras el tratamiento de células normales no mostró efectos significativos.

20

25

Ejemplo 11- Ensayo MTS-PMS

[0074] Elementos del ensayo MTS-PMS placa con fondo en U con 96 pozos (Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, NJ) en una concentración de 5,000 células por 50 microlitros (mL) de medio e incubada en 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C durante 24 horas. Diferentes concentraciones de compuesto en 50 mL de medio, se añadieron al medio 24 horas después. Las lecturas colorimétricas se obtuvieron usando el sistema MTS/PMS y un lector de placa de Elisa, después de 48 horas de exposición a DMAPT. Las lecturas obtenidas para cada concentración evaluada, fueron de un promedio de ocho pocillos. Cada experimento se expresó como un porcentaje del control solvente y se completó al menos tres veces con resultados consistentes. Los resultados presentados son un promedio de tres experimentos. La línea celular del cáncer de próstata hormonorefractario CWR22Rv1 fue tratada con concentraciones en aumento de partenolida y derivados durante tres horas (Figura 1). La proliferación celular se redujo en un 50% con 5μM en el ensayo MTS-PMS.

30

35

Ejemplo 12 - Ensayo clonogénico

[0075] Inicialmente, 100 células que crecen en fase logarítmica se colocan en cada pozo de una placa de seis pozos por 3 ml de medio. Después de 24 horas de recubrimiento de las células, se añadió DMPAT en diferentes concentraciones. Después de 24 y 96 horas después de la adición del fármaco, el medio ha cambiado. Por lo tanto, las células se exponen al fármaco durante 24 horas. Cuando aparecen colonias celulares el día 15 están machadas por colorante durante 15 y contadas.

40

45

Ejemplo 13 - Análisis de conjunto de ADNc

[0076] El total de ARN celular se extrajo de la línea celular de monocitos humanos THP-1 bajo tres condiciones, 2 horas después del tiempo 0:

50

- 1) El control fue añadido a tiempo 0
- 2) El lipopolisacárido (10nM) se añadió a tiempo más una (1) hora
- 3) a tiempo 0, se añadieron 10 micromoléculas de DMAPT y luego se añadió a tiempo + 1 LPS (10nM).

55

[0077] El ARN se extrajo usando RNeasy Min kit (Qiagen; EEUU) según las instrucciones del fabricante. Los objetivos del fármaco humano para inflamación e inmunomodulación Q series GE array kit (HS-048-12) se obtuvo de Superarray Bioscience Corporación (Frederick, Maryland). El kit determina la expresión de 96 genes que se asocian con inflamación.



El ARN de las respectivas muestras se utilizó como una plantilla para generar muestras de ADNc con marca de biotina usando GEArray Ampolabelling RT kit (Superarray, Bioscience Corp., USA). Las muestras de ADNc correspondientes a la población de mRNA se desnaturalizaron y se llevó a cabo la hibridación en solución GEHyb a membranas de nilón manchadas con fragmentos específicos de gen. Las membranas se lavaron dos veces en 2x SSC, 1% SDS durante 15 minutos cada una, seguido de 0.1 SSC, 0.5% SDS dos veces durante 15 minutos cada uno. La quimioluminiscencia se utilizó para visualizar los niveles de expresión de cada transcripción y los resultados se cuantificaron con el analizador GEArray. El cambio en una transcripción de genes se estimó normalizando las intensidades de señal con la señal derivada de PPIA y con sustracción de antecedentes mínima.

[0078] Como se puede observar en la tabla 3, se aumentó la transcripción de 25 genes después del pretratamiento con LPS. Lo que es más importante, el pretratamiento con DMAPT evita y suaviza el aumento en la transcripción del gen inducida por LPS. Por ejemplo, la transcripción del factor de necrosis tumoral (TNF), liberado en shock séptico, se incrementa en tres veces (298%) cuando se trata con LPS. El pretratamiento con DMAPT no obstante, impide la transcripción de LPS y de hecho reduce su producción a un 2% de control. De forma similar, la transcripción de ciclooxigenasa-2, el objetivo de agentes antiinflamatorios no esteroideos clásicos, se incrementó en 1.5 veces (150%). En presencia de DMAPT, la expresión genética no sólo evita el aumento por LPS, si no que lo disminuye a un 30% (0.7) de control de solvente.

Tabla 3. Análisis de conjunto de ADNc

Gen	Tratamiento LPS durante 1 hora: % cambio de genes	Pretratamiento con DMAPT durante 2 horas, luego tratamiento con LPS durante 1 hora % cambio de genes
CD28 antígeno (Tp44)	23	0,814
CD3G antígeno, gamma polipéptido (complejo TIT3)	14	0,6
Factor 2 estimulador de colonia (granulocito- macrófago)	26	0,926
<b>Molécula de adhesión intracelular 1</b>	<b>257</b>	<b>58</b>
Interleuquina 13	93	0,64
Receptor de interleuquina 1 tipo I	10	0,33
<b>Receptor de interleuquina 1 tipo II</b>	<b>326</b>	<b>0,74</b>
<b>Sintasa de óxido nítrico 2A (inducible)</b>	<b>226</b>	<b>48</b>
Fosfodiesterasa 4A, cAMP-específica	14	0,46
Fosfodiesterasa 4B, cAMP-específica	220	0,59
Fosfolipasa A2, grupo IB (páncreas)	114	0,57
<b>Fosfolipasa A2, grupo IVC</b>	<b>350</b>	<b>0,89</b>
Fosfolipasa A2, grupo VII	129	0,05
<b>Fosfolipasa C, gamma 1</b>	<b>342</b>	<b>0,24</b>
Receptor activado de proliferador de peroxisomas, gamma	49	0,48
<b>Receptor de factor de activación de plaquetas</b>	<b>32</b>	<b>0,002</b>
Receptor de prostaglandina D2 (DP)	35	0,17
<b>Receptor de prostaglandina F (FP)</b>	<b>879</b>	<b>1,46</b>
Ciclooxigenasa 1	176	0,731
Ciclooxigenasa 2	152	0,7

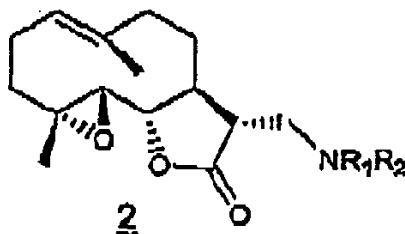
<b>Tromboxano A sintasa 1</b>	<b>283</b>	<b>0,07</b>
Factor de necrosis tumoral (Superfamilia TNF, elemento 2)	298	0,02
<b>Factor de necrosis tumoral (ligando)</b>	<b>217</b>	<b>0,89</b>
<b>Superfamilia, elemento 13b</b>		
<b>Factor de necrosis tumoral (ligando)</b>	<b>692</b>	<b>23</b>
<b>Superfamilia, elemento 5</b>		
<b>Molécula de adhesión celular vascular 1</b>	<b>154</b>	<b>0,02</b>

Ejemplo 14 – Actividad de ensayo de partenolida y derivados

- 5 [0079] Aquí se presentan datos que demuestran que: los compuestos de la presente invención reducen la viabilidad e incrementan la sensibilidad a la quimioterapia del cáncer pulmonar, próstata, y líneas celulares del cáncer de mama, al igual que reduce la inflamación, reduciendo citocinas, como evidenciado por los genes disminuidos en los monocitos humanos.
- 10 [0080] La línea celular del cáncer de próstata hormono-refractario CWR22Rv1 se trató con concentraciones en aumento de derivados de partenolida DMAPT, PIPT y 4MEPT durante tres horas. La proliferación celular fue reducida en un 80% a 2µm en el ensayo clonogénico y en un 50% por 5 µm en el ensayo MTS-PMS (figura 1).
- 15 [0081]La proliferación celular se midió en el ensayo MTS-PMS en las cuatro líneas celulares de cáncer pulmonar en busca de partenolida y derivados PipPT ((11βH; 13-(piperidina-1-yl)partenolida), 4MePipPT (11βH; 13-(4-metilpiperidina-1-yl)partenolida") y MAPT. La partenolida y sus derivados inhibieron la proliferación celular, en una forma dependiente de dosis, entre 2 y 10 µM con un 70% de inhibición a 10 µM en A549, 50% en H460, 40% en H-23 y 40% en H522 (figura 2).
- 20 [0082] El ensayo clonogénico con hbl-100, mdl-231 y 436 células, de células de la línea celular del cáncer de mama mostró una inhibición casi completa de proliferación con una concentración de DMAPT a 2µm. De forma similar, la partenolida redujo la proliferación con intervalos de dosificación similares.

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de la fórmula:



5

donde:

- $R_1$  es hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, hidroxialquilo, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, o alquinilo sustituido; y
  - $R_2$  es hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, hidroxialquilo, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, o alquinilo sustituido; o
  - $R_1$  y  $R_2$  se unen con N para formar un sistema anular, donde:
    - o  $R_1$  y  $R_2$  son  $-CH_2(CH_2)_nCH_2-$  donde n es 0 a 5; y junto con N forman un anillo o un anillo fundido con un grupo cicloalquilo o arilo para formar un sistema bicíclico o tricíclico, dicho sistema comprendiendo opcionalmente uno o más heteroátomos;
    - o  $R_1$  y  $R_2$  están juntos  $-CH_2(CH_2)_nCH_2Z-$ ; donde Z es O, S, Se, Si, P,  $-CO-$ ,  $-SO-$ ,  $-SO_2-$ , o  $-PO-$ ; y n es 0 a 5; y junto con N forman un anillo o un anillo fundido con un grupo cicloalquilo o arilo para formar un sistema anular bicíclico o tricíclico, dicho sistema comprendiendo opcionalmente uno o más heteroátomos;
    - o  $R_1$  y  $R_2$  están juntos  $-(CH_2)_a-Z-(CH_2)_b-$ ; donde Z es O, S, Se, Si, P,  $-CO-$ ,  $-SO-$ ,  $-SO_2-$ , o  $-PO-$ ; y a y b son independientemente 1 a 4; y junto con N forman un anillo o un anillo fundido con un grupo cicloalquilo o arilo para formar un sistema anular bicíclico o tricíclico, dicho sistema comprendiendo opcionalmente uno o más heteroátomos;

donde cada anillo de  $NR_1R_2$  se puede sustituir con uno o más sustituyentes seleccionados entre alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, alquenilo hidroxialquilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, alquilarilo, alquilarilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, arilalquenilo, arilalquenilo sustituido, arilalquinilo, arilalquinilo sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, trifluorometilo, perfluoralquilo, ciano, cianometilo, carboxilo, carbamato, sulfonilo, sulfonamida, ariloxialquilo y halógeno:

y donde:

- un alquilo es un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene átomos de carbono en el intervalo 1-20;
- un alquenilo es un grupo hidrocarburo de cadena lineal o ramificada con al menos un enlace doble de carbono-carbono, y que tiene átomos de carbono en el intervalo de 2-20;
- un alquinilo es un grupo hidrocarburo de cadena lineal o ramificada con al menos un enlace triple de carbono-carbono, y que tiene átomos de carbono en el intervalo de 2-20;
- un arilo es un grupo aromático con átomos de carbono en el intervalo de 6-14;
- un cicloalquilo es un grupo cíclico con anillo que contiene átomos de carbono en el intervalo de 3-8;
- un arilo es un grupo aromático con átomos de carbono en el intervalo de 6-14;
- un alquilarilo es un grupo arilo sustituido por alquilo;
- un arilalquilo es un grupo alquilo sustituido por arilo;
- un arilalquenilo es un grupo alquenilo sustituido por arilo;
- un arilalquinilo es un grupo alquinilo sustituido por arilo;
- un heterocíclico es un grupo cíclico con anillo que contiene uno o más heteroátomos como parte de la estructura anular, y que tiene átomos de carbono en el intervalo de 3-14: y un alquilo sustituido, alquenilo, alquinilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, o
- heterocíclico es un alquilo, alquenilo, alquinilo, aril alquilarilo, arilalquilo, arilalquenilo, arilalquinilo, o grupo heterocíclico que porta uno o más sustituyentes seleccionados entre hidroxilo, alcoxi, mercapto, arilo, heterocíclico, halógeno, trifluorometilo, ciano, nitro, amino, carboxilo, carbamato, sulfonilo y sulfonamida;

50

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5
2. Compuesto según la reivindicación 1, donde  $R_1$  es hidrógeno o alquilo inferior opcionalmente sustituido; y  $R_2$  es alquilo inferior opcionalmente sustituido, donde alquilo inferior es un grupo alquilo con 1 a 8 carbonos.
3. Compuesto según la reivindicación 2, donde  $R_1$  es metilo, etilo, propilo o isobutilo.
4. Compuesto según la reivindicación 3, donde  $R_2$  es metilo o etilo.
- 10
5. Compuesto según la reivindicación 1, donde  $R_1$  y  $R_2$  son  $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2-$  donde  $n$  es 0 a 5; y junto con N forman un anillo opcionalmente sustituido, dicho anillo opcionalmente fundido con un grupo cicloalquilo o arilo para formar un sistema bicíclico o tricíclico, dicho sistema opcionalmente sustituido y opcionalmente comprendiendo uno o más heteroátomos.
- 15
6. Compuesto según la reivindicación 1, donde  $R_1$  y  $R_2$  son  $-(\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2\text{Z}-)$ ; donde Z es O, S, Se, Si, P,  $-\text{CO}-$ ,  $-\text{SO}-$ ,  $-\text{SO}_2-$ , o  $-\text{PO}-$ ; y  $n$  es 0 a 5 y junto con N forman un anillo opcionalmente sustituido, dicho anillo opcionalmente fundido a un grupo cicloalquilo o arilo para formar un sistema anular bicíclico o tricíclico, dicho sistema opcionalmente sustituido y que opcionalmente comprendiendo uno o más heteroátomos.
- 20
7. Compuesto según la reivindicación 1, donde  $R_1$  y  $R_2$  son  $-(\text{CH}_2)_a\text{-Z-(CH}_2)_b-$ ; donde Z es O, S, Se, Si, P,  $-\text{CO}-$ ,  $-\text{SO}-$ ,  $-\text{SO}_2-$ , o  $-\text{PO}-$ ; y  $a$  y  $b$  son independientemente de 1 a 4; y junto con N forman un anillo opcionalmente sustituido, dicho anillo opcionalmente fundido con un grupo cicloalquilo o arilo para formar un sistema anular bicíclico o tricíclico, dicho sistema opcionalmente sustituido y opcionalmente comprendiendo uno o más heteroátomos.
- 25
8. Compuesto según la reivindicación 1, donde  $\text{NR}_1\text{R}_2$  forman un anillo seleccionado de aziridina-1-yl, acetidina-1-yl, pirrolidina-1-yl, piperidina-1-yl, homopiperidina-1-yl y heptametilenoimina-1-yl opcionalmente sustituidas.
9. Compuesto según la reivindicación 1:
- 30
- 11 $\beta$ H, 13- Dimetilaminopartenolida;  
 11 $\beta$ H, 13- Dietilaminopartenolida  
 11 $\beta$ H, 13- (terc-Butilamino)partenolida;  
 11 $\beta$ H, 13- (Pirrolidina-1-yl)partenolida;  
 11 $\beta$ H, 13- (Piperidina-1-yl)partenolida;
- 35
- 11 $\beta$ H, 13- (Morfolina-1-yl)partenolida;  
 11 $\beta$ H, 13- (4-Metilpiperidina-1-yl)partenolida;  
 11 $\beta$ H, 13- (4-Metilpiperazina-1-yl)partenolida;  
 11 $\beta$ H, 13- (Homopiperidina-1-yl)partenolida;  
 11 $\beta$ H, 13- (Heptametilenoimina-1-yl)partenolida;
- 40
- 11 $\beta$ H, 13- (Acetidina-1-yl)partenolida; o  
 11 $\beta$ H, 13- Dialilaminopartenolida.
10. Compuesto según la reivindicación 1:
- 45
- 11 $\beta$ H, 13- Dimetilaminopartenolida hidrocloreuro;  
 11 $\beta$ H, 13- (Pirrolidina-1-yl)partenolida hidrocloreuro;  
 11 $\beta$ H, 13- (Piperidina-1-yl)partenolida hidrocloreuro;  
 11 $\beta$ H, 13- (4-Metilpiperidina-1-yl)partenolida hidrocloreuro;  
 11 $\beta$ H, 13- Dimetilaminopartenolida maleato;
- 50
- 11 $\beta$ H, 13- Dimetilaminopartenolida metiodido; o  
 11 $\beta$ H, 13- (4-Metilpiperidina-1-yl)partenolida metiodido.
11. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un diluyente o portador farmacéuticamente eficaz.
- 55
12. Compuesto según la reivindicación 1 para su uso en un método de inhibición del crecimiento celular del cáncer, comprendiendo la administración a un mamífero afectado por un cáncer de una cantidad de un compuesto según la reivindicación 1 eficaz para inhibir el crecimiento de dichas células cancerosas.
- 60
13. Compuesto según la reivindicación 1 para su uso en un método comprendiendo la inhibición del crecimiento celular

del cáncer mediante el contacto de dicha célula cancerosa in vitro o in vivo con una cantidad de un compuesto según la reivindicación 1 eficaz para inhibir el crecimiento de dicha célula cancerosa.

- 5
14. Compuesto según la reivindicación 9, que es 11 $\beta$ H,13-dimetilaminopartenolida.
15. Composición según la reivindicación 11, donde el compuesto es 11 $\beta$ H,13-dimetilaminopartenolida.
16. Compuesto para su uso en un método de inhibición del crecimiento celular del cáncer según la reivindicación 12, donde el compuesto es 11 $\beta$ H,13-dimetilaminopartenolida.
- 10

FIG. 1

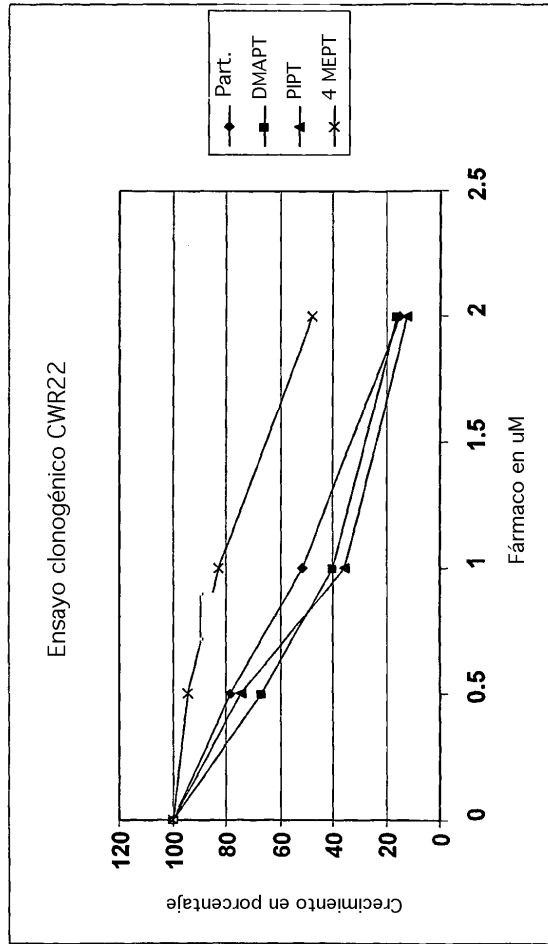


FIG. 2

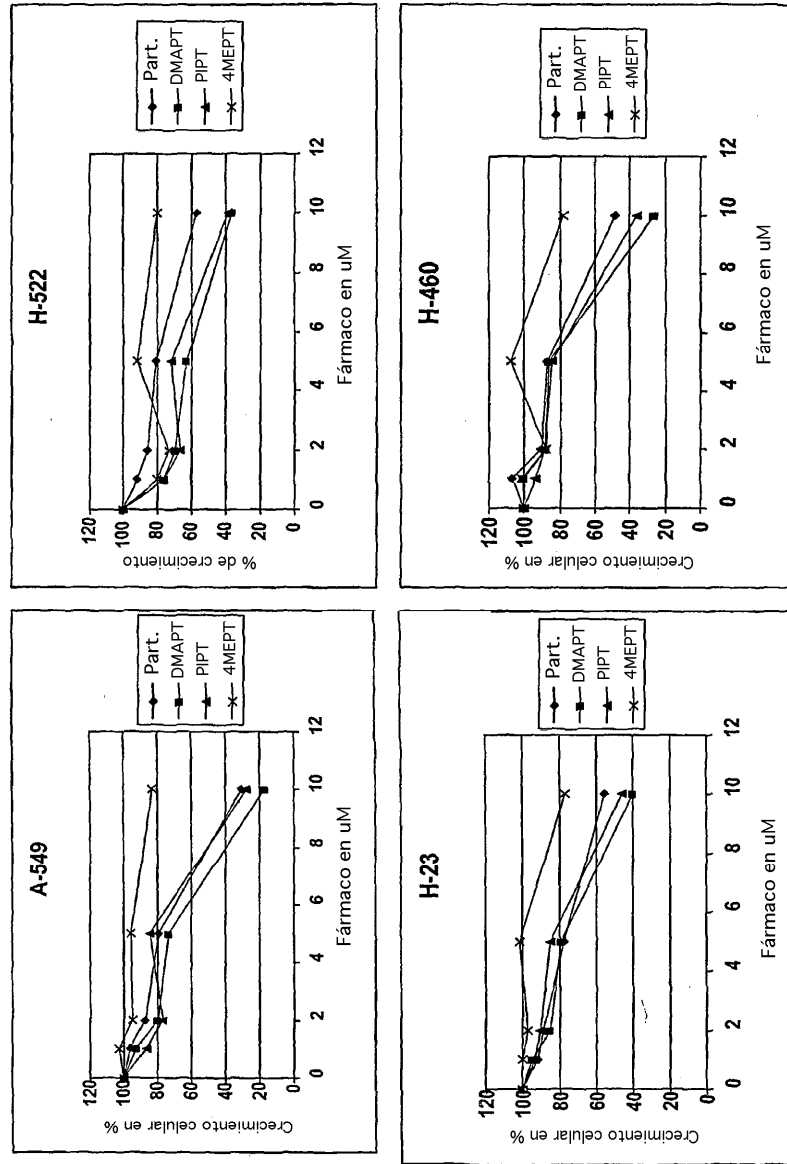


FIG. 3

