

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 432**

51 Int. Cl.:
C07F 15/00 (2006.01)
A61K 31/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06829802 .5**
96 Fecha de presentación: **21.12.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1968991**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.09.2008**

54 Título: **Complejos de bisplatino con actividad antitumoral**

30 Prioridad:
22.12.2005 IT MI20052449

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
21.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
21.06.2012

73 Titular/es:
**CELL THERAPEUTICS, INC. - SEDE
SECONDARIA
VIA ARIOSTO, 23
20091 BRESSO, IT**

72 Inventor/es:
**BERNAREGGI, Alberto;
GRUGNI, Mario;
MARIOTTI, Giulio;
MENTA, Ernesto;
PARDI, Gianluca;
PAVESI, Paolo;
PEZZONI, Gabriella;
NICOLI, Paola y
DE MUNARI, Sergio**

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

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).

ES 2 383 432 T3

DESCRIPCIÓN

Complejos de bisplatino con actividad antitumoral.

La presente invención incluye complejos de platino que tienen actividad antitumoral, un método para su preparación, composiciones farmacéuticas que los contienen y sus usos, incluyendo la preparación de un medicamento útil para el tratamiento de tumores.

Los complejos de platino están entre los productos quimioterapéuticos más eficaces para el tratamiento de tumores sólidos. En particular, el cisplatino [cis-diclorodiaminoplatino(II); CDDP] es uno de los agentes antitumorales más eficaces y que más se emplea, aunque su administración tiene efectos secundarios graves. Los tumores que pueden tratarse con este medicamento comprenden tumores de testículo, ovario, vejiga y cabeza/cuello. Desde su introducción en terapia, el cisplatino ha sido el fármaco elegido para la terapia curativa de tumores de células germinales y para la prolongación de la terapia de supervivencia en tumores de ovario. El éxito del tratamiento con cisplatino es limitado, principalmente debido al hecho de que algunas células tumorales se hacen resistentes al fármaco. Además, la mayoría de los tumores sólidos (por ejemplo, tumores de pulmón, colon-recto y estómago) no responden al cisplatino ni a otros agentes quimioterapéuticos (E. Wong, C.M. Giandomenico, Current Status of Platinum-Based Antitumor Drugs, Chem. Rev., 1999, 99, 2451-2466).

Para identificar complejos de platino con una toxicidad reducida, con un amplio espectro de actividad antitumoral y que no tengan resistencia cruzada con el cisplatino, se han estudiado una serie de análogos a lo largo de las últimas décadas. Estos esfuerzos han conducido a complejos de platino de segunda generación que muestran un perfil antitumoral similar al cisplatino en estudios clínicos. Entre estos, el carboplatino, el segundo complejo de platino que ha entrado en el mercado, tiene un espectro de actividad antitumoral similar al cisplatino, pero no tiene su toxicidad. Un complejo de platino de tercera generación introducido recientemente en el campo clínico es el oxaliplatino. Otros complejos en estudio son AMD0473 y satraplatino. No obstante, parece que ninguno de estos análogos soluciona los problemas principales de la terapia con cisplatino, es decir, ninguno de ellos ha ampliado el panel de tumores que respondan al tratamiento, ni ha reducido la aparición de resistencia tumoral.

Por último, otro problema asociado con los complejos de platino que se emplean en la actualidad en terapia es que después de la administración intravenosa, estos complejos tienden a unirse de modo irreversible, mediante enlaces covalentes, a proteínas plasmáticas. La cinética de este proceso depende del tiempo de contacto, y más del 90% del fármaco se une a las pocas horas de la administración. El elevado nivel de unión irreversible a las proteínas plasmáticas puede reducir la eficacia de los compuestos en seres humanos (S.S. Jacobs *et al.*, Clinical Cancer Research, vol. 11, 1669-1674, 2005, y las referencias citadas).

Se describen complejos de platino liposolubles de tipo cisplatino en los documentos US 5.117.022 y US 6.613.799. Los compuestos descritos en el documento US 5.117.022 pueden incorporarse en liposomas, mientras que los complejos descritos en el documento US 6.613.799 tienen una elevada especificidad y selectividad por las células tumorales cuando se administran en un medio de contraste, tal como lipiodol.

Se describen complejos de bisplatino útiles para el tratamiento de tumores que se caracterizan por la presencia de un ligando de diamino o de poliamino que enlaza entre sí a los dos átomos de platino en los documentos US 4.797.393, US 5.107.007, US 6.022.892 y US 6.596.889.

En particular, los documentos US 6.022.892 y US 6.596.889 describen complejos de bisplatino que se caracterizan por la presencia de un ligando de poliamino. Estos compuestos tienen una potente actividad citotóxica hacia líneas tumorales humanas y murinas resistentes al cisplatino, tales como la línea de leucemia murina L1210/CDDP y la línea de carcinoma de ovario humano A2780/CDDP. También se indica la actividad *in vivo* en un tumor experimental resistente a cisplatino para estos compuestos.

El documento WO 03/018594A describe formas de profármaco de complejos de bisplatino con puente de poliamina lineal, en los que la porción del puente de poliamina de los compuestos se basa en la espermina o la espermidina, y las aminas centrales del puente de poliamina están químicamente unidos a grupos de bloqueo lábiles. Se indica que la presencia de grupos de bloqueo minimiza la toxicidad de los complejos de platino tras su administración. También se describen intermedios que portan un resto acetato o acetato sustituido como ligando para las esferas de coordinación de platino y como contraión para neutralizar la carga positiva del complejo.

El solicitante de la presente solicitud ha descubierto que, en presencia de plasma humano, los complejos de bisplatino descritos en el documento US 6.022.892 también se unen de modo irreversible a proteínas plasmáticas, tal como se explicó anteriormente. Además, se ha descubierto que la fracción de fármaco que está libre en el agua plasmática y que se une de modo reversible a las proteínas, sufre una degradación rápida y progresiva para producir especies farmacológicamente inactivas que se derivan de la retirada del platino del ligando de poliamino. Se considera que estas especies se forman como consecuencia de la inestabilidad química de los complejos en el plasma, probablemente debido a su interacción con moléculas endógenas que contienen nucleófilos de tiol tales como, por ejemplo, restos cisteína o glutatión. El elevado nivel de unión de los compuestos de platino a las proteínas plasmáticas humanas probablemente estimula esta interacción. La rápida degradación en el plasma humano y el alto nivel de unión irreversible a las proteínas plasmáticas pueden deteriorar la eficacia de los compuestos en seres

humanos. Por tanto, son necesarios complejos de bisplatino que no presenten estas propiedades desfavorables.

Tal como se describe en la presente invención, ahora se ha descubierto, de modo sorprendente, que los complejos de bisplatino que se caracterizan por la presencia de ciertos ligandos de carboxilato en la esfera de coordinación del platino se unen en menor medida a las proteínas plasmáticas que los complejos de bisplatino citados anteriormente, muestran una mayor estabilidad en el plasma hacia la desplatinoación, y son capaces de inhibir el crecimiento tumoral en diversos modelos experimentales.

Los compuestos de la invención se seleccionan entre el siguiente grupo:

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,8,11,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)}\text{bis[trans-diamino(caproato-O)platino(II)]}\}$;

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)}\text{bis[trans-diamino(caproato-O)platino(II)]}\}$;

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,5,10,14-tetraazatetradecan-N1,N14)}\text{bis[trans-diamino(caproato-O)platino(II)]}\}$;

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,5,10-triazadecan-N1,N10)}\text{bis[trans-diamino(caproato-O)platino(II)]}\}$;

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,8,11,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)}\text{bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]}\}$;

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)}\text{bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]}\}$;

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,5,10,14-tetraazatetradecan-N1,N14)}\text{bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]}\}$;

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,5,10-triazadecan-N1,N10)}\text{bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]}\}$;

tetrabutirato de $\{\mu\text{-(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)}\text{bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]}\}$;

tetrabutirato de $\{\mu\text{-(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)}\text{bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]}\}$;

tetrabutirato de $\{\mu\text{-(1,5,10,14-tetraazatetradecan-N1,N14)}\text{bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]}\}$;

tetrabutirato de $\{\mu\text{-(1,5,10-triazadecan-N1,N10)}\text{bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]}\}$.

Los compuestos preferidos de la invención son:

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,8,11,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)}\text{bis[trans-diamino(caproato-O)platino(II)]}\}$;

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,8,11,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)}\text{bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]}\}$;

tetrabutirato de $\{\mu\text{-(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)}\text{bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]}\}$.

Los métodos para la preparación de los materiales de partida de los complejos de bisplatino se describen en los documentos US 6.022.892 y US 6.596.889.

Las sales de carboxilato requeridas están disponibles en el mercado (por ejemplo, en Sigma-Aldrich, St. Louis (MO), EEUU), o pueden prepararse mediante métodos conocidos a partir de los correspondientes ácidos carboxílicos.

Cuando se incuban en presencia de plasma humano, los complejos de platino de la presente invención muestran una menor actividad de unión y una mejor estabilidad que los complejos de platino descritos en el documento US 6.022.892.

Cuando se administran a seres humanos o a animales que portan tumores tratables con cisplatino o resistentes al cisplatino, a unas dosis que varían de 0,1 mg a 1,2 g por m² de área corporal, los compuestos de la invención inducen la regresión de dichos tumores.

En general, los compuestos de la invención pueden utilizarse para el tratamiento de trastornos patológicos que pueden tratarse con cisplatino, es decir, para el tratamiento de tumores y para aumentar la sensibilidad de tumores a la radioterapia [Douple *et al.*, Cis-platin Current Status and Developments, y A.W. Prestayk *et al.*, Academic Press, 125 (1980); Douple *et al.*, Platinum Metals Res., 29, 118 (1985)] y para el tratamiento de parasitosis, tales como tripanosomiasis africana [Farrell *et al.*, Biochem. Pharmacol., 33, 961 (1984)]. Por tanto, la presente invención también comprende un método para el tratamiento de un tumor en un individuo que lo necesite, que comprende administrar al individuo un compuesto de la invención en una cantidad eficaz para tratar el tumor. Tal como se emplea en la presente, el término "tratamiento" puede incluir uno o más de los siguientes: la detención del crecimiento tumoral, la destrucción de las células tumorales, la prevención de células tumorales, o la prolongación de la supervivencia.

Otra realización de la invención consiste en composiciones farmacéuticas que contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de la invención mezclado con vehículos y excipientes

convencionales.

La dosis eficaz de los compuestos de la invención puede ser determinada por el médico experto según métodos convencionales. La relación entre las dosificaciones utilizadas para animales de diversas especies y dimensiones, y para seres humanos (calculadas como mg/m^2 de área corporal) se describe en Freirech *et al.*, Quantitative Comparison of Toxicity of Anticancer Agents in Mouse, Rat, Hamster, Dog, Monkey and Man, Cancer Chemother. Rep., 50, N.4, 219-244 (1986). Sin embargo, el paciente habitualmente recibirá unas dosis de complejo que varían de 0,1 a 200 mg/kg de peso corporal, con un régimen de dosificación que varía según una serie de factores muy conocidos por el médico experto.

El régimen de tratamiento puede ajustarse de forma adecuada, tal como es conocido.

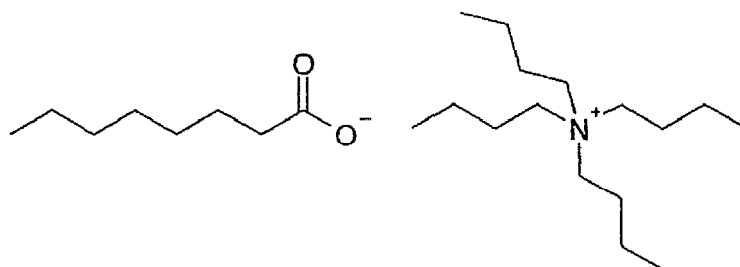
- 10 Por tanto, otra realización de la presente invención consiste en composiciones farmacéuticas que contienen al menos un compuesto de la invención en combinación con un complejo de platino que tiene actividad antitumoral.

Otra realización de la presente invención consiste en el uso de los compuestos de la invención para la preparación de medicamentos para el tratamiento de mamíferos afectados por tumores tratables con cisplatino o resistentes al cisplatino.

- 15 La invención se ilustra más a fondo en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

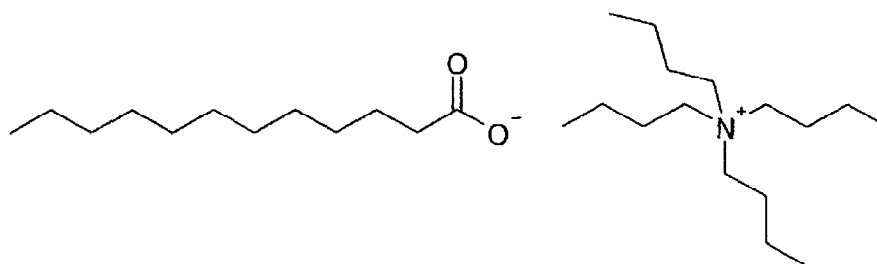
Preparación 1: Caprilato de tetrabutilamonio



- 20 A una dispersión de ácido caprílico (ácido n-octanoico) (1 ml, 6,184 mmoles) en H_2O (20 ml) se le añadió una disolución 0,4 M de hidróxido de tetrabutilamonio en H_2O (15,3 ml, 6,12 mmoles) gota a gota y con agitación. La disolución resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora, y después el disolvente se retiró mediante evaporación a presión reducida utilizando tolueno para eliminar el agua. El residuo se secó al vacío a 35 °C para producir 2,416 g (rendimiento >99%) de un aceite transparente.

- 25 RMN de ^1H (DMSO-d_6): δ 3,18 (8H, t, $J = 8,34$ Hz), 1,73 (2H, t, $J = 7,39$), 1,58 (8H, m), 1,32 (10H, m), 1,22 (8H, m), 0,94 (12H, t, $J = 7,32$), 0,86 (3H, t, $J = 6,87$).

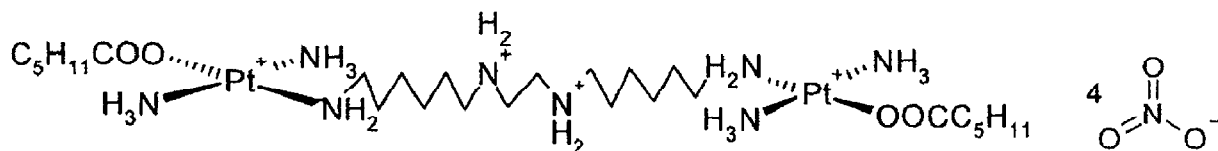
Preparación 2: Dodecanoato de tetrabutilamonio



- 30 Una disolución 0,4 M de hidróxido de tetrabutilamonio en H_2O (1 ml, 0,4 mmoles) se añadió gota a gota y con agitación a una suspensión de ácido dodecanoico (0,12 g, 0,6 mmoles) en MilliQ H_2O (12 ml). La suspensión resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora; el sólido se retiró mediante filtración y el filtrado después se evaporó hasta la sequedad a presión reducida, utilizando EtOH para eliminar el agua. Se obtuvieron 0,17 g (rendimiento del 96%) de un aceite amarillo.

RMN de ^1H (D_2O): δ 3,20 (8H, m), 2,18 (2H, t, $J = 7,35$ Hz), 1,66 (8H, m), 1,37 (8H, m), 1,29 (18H, m), 0,96 (12H, t, $J = 7,38$), 0,87 (3H, m).

- 35 Con métodos similares a las preparaciones 1 y 2 se prepara el siguiente compuesto: caproato de tetrabutilamonio.

Ejemplo 1: Tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,8,11,18-tetraazaoctadecan-}N^1,N^{18}\}\text{bis[trans-diamino(caproato-O)platino(II)]}\}$ 

Una dispersión de ácido caproico (0,16 ml, 1,277 mmoles) en MilliQ H₂O.

Análisis elemental: Calculado: C, 28,75%; H, 6,27%; N, 13,41%; Pt, 31,13%. Encontrado: C, 27,75%; H, 6,06%; N, 12,79%; Pt, 29,631%.

MS: 1215,2, [MH+CH₃F₇COOH-4HNO₃]⁺

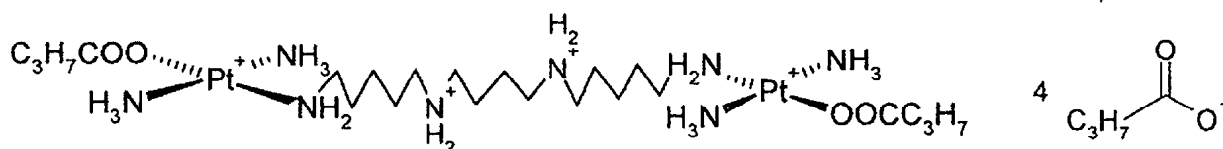
RMN de ¹H (D₂O): δ 3,24 (4H, s), 2,99 (4H, m), 2,62 (4H, t, J = 7,64 Hz), 2,26 (4H, t, J = 7,53), 1,66 (8H, m), 1,52 (4H, m), 1,39 (8H, m), 1,27 (16H, m), 0,87 (6H, t, J = 6,82).

Los siguientes compuestos se prepararon de una manera similar:

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-}N^1,N^{18}\}\text{bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]}\}$;

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,5,10,14-tetraazatetradecan-}N^1,N^{14}\}\text{bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]}\}$;

tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,5,10-triazadecan-}N^1,N^{10}\}\text{bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]}\}$.

Ejemplo 3: Tetrabutirato de $\{\mu\text{-(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-}N^1,N^{18}\}\text{bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]}\}$ 

Las reacciones se realizaron ocultas a la luz y en MilliQ H₂O. Una disolución de tetranitrato de $\{\mu\text{-(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-}N^1,N^{18}\}\text{bis[trans-diamino(dicloro)platino(II)]}\}$ (0,2 g, 0,193 mmoles) en H₂O (18 ml) se añadió con AgNO₃ (0,0655 g, 0,386 mmol) y la suspensión resultante se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 48 horas. El sólido se lavó filtrando la mezcla dos veces en un filtro de microfibras doble; el filtro se lavó con 1 ml de H₂O que se había reunido con el filtrado. Al filtrado se le añadió butirato de sodio (0,127 g, 1,154 mmol) y la disolución se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 24 hr. El disolvente se evaporó a 35 °C a presión reducida y el residuo sólido se secó al vacío a 35 °C. El sólido entonces se suspendió en i-PrOH (20 ml) y la suspensión se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 1 hr. El material insoluble se retiró mediante filtración y el filtrado se evaporó al vacío (35 °C) a temperatura ambiente. El residuo sólido se recogió sobre un filtro Buchner, se lavó con EtO₂ y se secó al vacío a 35 °C para producir 0,149 g (rendimiento del 62%) del producto del título como un sólido blanco.

Análisis elemental: Calculado: C, 36,77%; H, 7,31%; N, 9,03%; Pt, 31,43%. Encontrado: C, 33,59%; H, 6,69%; N, 9,18%; Pt, 31,78%.

MS: 1103,0, [MH+CH₃F₇COOH-4C₃H₇COOH]⁺

RMN de ¹H (D₂O): δ 3,04 (8H, m), 2,63 (4H, t, J = 7,5 Hz), 2,24 (4H, t, J = 7,3), 2,16 (8H, t, J = 7,3), 1,72 (12H, m), 1,56 (12H, m), 1,43 (4H, m), 0,88 (18H, m).

Los siguientes compuestos se prepararon de una manera similar:

tetrabutirato de $\{\mu\text{-(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-}N^1,N^{18}\}\text{bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]}\}$;

tetrabutirato de $\{\mu\text{-(1,5,10,14-tetraazatetradecan-}N^1,N^{14}\}\text{bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]}\}$;

tetrabutirato de $\{\mu\text{-(1,5,10-triazadecan-}N^1,N^{10}\}\text{bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]}\}$.

Ejemplo 14: Evaluación farmacológica de los compuestos de la invención

Se ensayaron compuestos representativos de la invención para observar su efecto citotóxico *in vitro* sobre diversas líneas celulares tumorales, entre ellas la leucemia murina L1210, el carcinoma de ovario humano A2780, o las respectivas sublíneas resistentes al cisplatino L1210/CDDP y A2780/CDDP. Los compuestos representativos de la

invención mostraron efectos citotóxicos y serán capaces de superar los mecanismos de resistencia que limitan el uso del cisplatino.

- 5 Además, los compuestos representativos de la invención se ensayaron en ensayos *in vivo*, en los que líneas celulares tumorales humanas, por ejemplo, A2780 (ovario humano), A2780/CDDP (ovario humano resistente al cisplatino), o LoVo (colon humano), se inocularon por vía subcutánea en ratones atímicos inmunosuprimidos. Los compuestos se administraron por vía intravenosa cada cuatro días o cada siete días después de la inoculación del tumor, durante tres ciclos de tratamiento. En estos modelos experimentales, los compuestos de la invención muestran un elevado efecto antitumoral a dosis toleradas.

REIVINDICACIONES

- 1.- Un compuesto seleccionado de:
tetranitrato de { μ -(1,8,11,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)bis[trans-diamino(caproato-O)platino(II)]};
tetranitrato de { μ -(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)bis[trans-diamino(caproato-O)platino(II)]};
5 tetranitrato de { μ -(1,5,10,14-tetraazatetradecan-N1,N14)bis[trans-diamino(caproato-O)platino(II)]};
tetranitrato de { μ -(1,5,10-triazadecan-N1,N10)bis[trans-diamino(caproato-O)platino(II)]};
tetranitrato de { μ -(1,8,11,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]};
tetranitrato de { μ -(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]};
tetranitrato de { μ -(1,5,10,14-tetraazatetradecan-N1,N14)bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]};
10 tetranitrato de { μ -(1,5,10-triazadecan-N1,N10)bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]};
tetrabutirato de { μ -(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]};
tetrabutirato de { μ -(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]};
tetrabutirato de { μ -(1,5,10,14-tetraazatetradecan-N1,N14)bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]};
tetrabutirato de { μ -(1,5,10-triazadecan-N1,N10)bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]}.
15 2.- Un compuesto según la reivindicación 1, que es tetranitrato de { μ -(1,8,11,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)bis[trans-diamino(caproato-O)platino(II)]}.
3.- Un compuesto según la reivindicación 1, que es tetranitrato de { μ -(1,8,11,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)bis[trans-diamino(caprilato-O)platino(II)]}.
4.- Un compuesto según la reivindicación 1, que es tetrabutirato de { μ -(1,7,12,18-tetraazaoctadecan-N1,N18)bis[trans-diamino(butirato-O)platino(II)]}.
20 5.- Composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de las reivindicaciones 1-4 mezclado con vehículos o excipientes adecuados.
6.- El uso de los compuestos de las reivindicaciones 1-4 para la preparación de medicamentos con actividad antitumoral.
25 7.- Un compuesto según las reivindicaciones 1-4 para su uso en el tratamiento de un tumor en un individuo que lo necesite.