

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 097**

51 Int. Cl.:

C07F 9/02 (2006.01)

C07F 9/22 (2006.01)

C07F 9/28 (2006.01)

A01N 57/00 (2006.01)

A01N 57/26 (2006.01)

A61K 31/66 (2006.01)

A61K 31/685 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2001 E 01928978 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **29.01.2003 EP 1278758**

54 Título: **Profármacos de Combretastatina A1 fosfato y Combretastatina B1 fosfato**

30 Prioridad:

27.04.2000 US 200395 P

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

08.02.2013

73 Titular/es:

**ARIZONA BOARD OF REGENTS, A BODY
CORPORATE OF THE STATE OF ARIZONA EN
NOMBRE DE ARIZONA STATE UNIVERSITY
(100.0%)
Tempe, AZ 85287, US**

72 Inventor/es:

**PETTIT, GEORGE R. y
LIPPERT, JOHN W., III**

74 Agente/Representante:

URÍZAR ANASAGASTI, José Antonio

ES 2 395 097 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

Introducción

[0001] La presente invención se refiere en general a la elucidación estructural y síntesis del Profármaco de Combretastatina A-1 fosfato y del Profármaco de Combretastatina B-1 fosfato, y al tratamiento de enfermedades neoplásicas con ellos.

[0002] Esta investigación fue financiada en parte por Outstanding Investigator Grant A4434-05-10 otorgado por el National Cancer Institute, DHHS. El gobierno de los Estados Unidos puede tener ciertos derechos sobre esta invención.

Antecedentes de la Invención

[0003] En 1987, se informó del aislamiento y síntesis de combretastatina A-1 (**1**) y B-1 (**2**) del sauce llorón sudáfricano *Combretum caffrum* (Combretaceae) (Pettit et al, 1987). Ambos productos naturales mostraron ser significativos agentes antimióticos e inhibidores del crecimiento de células cancerosas, proporcionando un valor ED₅₀ de 0.99 µg/ml y 1.7 µg/ml respectivamente contra el sistema in vitro de Leucemia Linfocítica P388 de ratones, e inhibiendo el ensamblaje de microtúbulos in vitro con valores IC₅₀ de 2 µM (**1**) y 3 µM (**11**) (Pettit et al, 1987). Una comparación de difenol **1** a la contraparte de monofenol de combretastatina A-4 (**3a**), el elemento anticáncer más activo de la familia de combretastatina, reveló una actividad antimiótica muy parecida (IC₅₀ 2-3 PM), pero mucha mayor citotoxicidad (ED₅₀ ~0.0009 µg/ml, línea celular P388) (**3a**) (Pettit et al, 1989). Sin embargo en experimentos in vivo en ratones jóvenes (leucemia P388), la combretastatina A-1 condujo a resultados antineoplásicos más coherentes (Pettit et al, 1987). Las estructuras relevantes se muestran en la Figura 1, abajo.

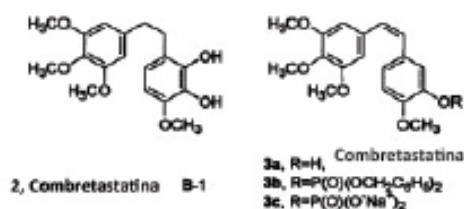


Figura 1

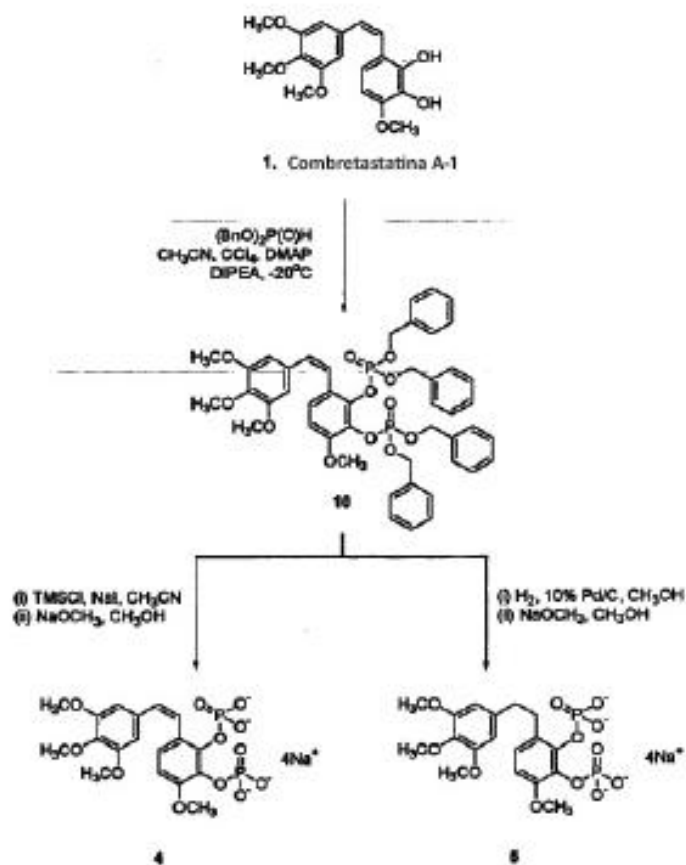
[0004] El desarrollo de la combretastatina A-4 hasta las actuales pruebas clínicas de cáncer humano de Fase I fue acelerado después de la síntesis del profármaco de fosfato **3c** a partir de dibencil fosfato **3b** y luego descubriendo sus muy prometedoros efectos de antiangiogénesis de cáncer. El derivado de fosfato fue elegido debido a la naturaleza de sus características de biolabilidad y de solubilidad mejorada. Una vez administrado, se cree que el profármaco de fosfato se convierte al fármaco base *via* fosfatasa no específicas y luego se transporta intracelularmente. El fosfato **3c** mostró citotoxicidad parecida cuando se compara con el compuesto base (GI₅₀ 0.0004 µg/ml, línea celular P388), mientras se aumenta en gran medida la solubilidad acuosa hasta 20 mg/ml. También se mostró que el profármaco **3c** induce el cierre vascular dentro de los tumores metastásicos de ratón a dosis menores que una décima de la dosis máxima tolerada.

[0005] El desarrollo preclínico de la combretastatina A-1 (**1**) fue dificultado debido a inestabilidad (oxidación a la 1,2-quinona) (Sackett, 1993; Haines, 1988) de la unidad dihidroxi 2,3. Esto fue apoyado por el hecho de que la acetilación de **1** aumentó significativamente la citotoxicidad en 10 veces, reduciendo a la vez la inhibición del ensamblaje de tubulina.

[0006] La síntesis de los profármacos de fosfato de combretastatina A-1 y B-1 se emprendió con el fin de mejorar la solubilidad para la administración del fármaco y para incrementar la estabilidad. Por ello, la presente invención se dirige a la síntesis del fármaco de combretastatina A-1 (ED₅₀ <0.0100 µg/ml, línea celular P388, **4**), profármaco de combretastatina B-1 (ED₅₀ 0.335 µg/ml, línea celular P388, **5**), como se muestra en el Esquema 1, abajo, y una serie de sales catiónicas metálicas y sales catiónicas de amonio del precursor de ácido difosfórico **4** para evaluar los efectos sobre el crecimiento y comportamiento de solubilidad de las células de cáncer humanas in vitro.

[0007] WO 00/48606 revela profármacos de combretastatina A1fosfato. WO 99/35150 revela profármacos de combretastatina A4 fosfato

Esquema 1



Breve Resumen de la Invención

5 [0008] La síntesis original de combretastatina A-1 (1) fue enormemente mejorada para dar un eficiente procedimiento de ampliación para obtener el estilbeno antineoplásico. La conversión posterior a un profármaco útil fue lograda por difosforilación (a 10) con la formación *in situ* de dibencilclorofosfato seguida de corte de los grupos de protección de éster de bencilo con trimetiloiodosilano. El intermedio de ácido fosfórico se trató con metóxido de sodio para completar una vía práctica al profármaco de fosfato sódico (4). La hidrogenación selectiva de fosfato 10 y el tratamiento del producto con metóxido sódico llevó al profármaco combretastatina B-1 fosfato (5). El precursor de ácido fosfórico del

10 profármaco 4 se empleó en una serie paralela de reacciones para producir una selección de candidatos de profármacos catiónicos metálicos y de amonio. Cada una de las sales de fosfato se evaluó desde la perspectiva del comportamiento de solubilidad relativa e inhibición del crecimiento de células cancerosas. El profármaco de fosfato sódico (4) de combretastatina A-1 se seleccionó para estudios antineoplásicos detallados.

15 [0009] Por lo tanto, el objeto principal de la presente invención es el descubrimiento de profármacos de fosfato, de los que se ha demostrado que presentan propiedades grandemente mejoradas *in vitro* y son designados aquí como profármacos de combretastatina A-1 fosfato y profármacos de combretastatina B-1 fosfato, como se define en las reivindicaciones.

20 [0010] Otro objeto de la presente invención es la síntesis de derivados catiónicos metálicos y de amonio de combretastatina A-1 2',3'-O-difosfato por medio de la reacción apropiada ácido-base. [0011] Estos y otros objetos adicionales como aparecerán en adelante son fácilmente conseguidos por la presente invención de un modo notablemente inesperado como será fácilmente entendido a partir de la siguiente descripción detallada de una realización ejemplar de la misma.

Descripción de la Realización Preferida

Materiales y Métodos

25 [0012] Éter se refiere a éter dietílico. Todos los disolventes se redestilaron. Tricloruro de boro (solución 1,0 M en CH₂Cl₂), trifenilfosfina, fluoruro de tetrabutilamonio (solución 1,0 en THF), fosfito dibencilico, diisopropiletilamina (99%),

clorotrimetilsilano (99%), 4-dimetilaminopiridina (DMAP), tetracloruro de carbono (99%), acetato dihidrato de cinc, papaverina, e hidróxido de cesio se obtuvieron de Sigma-Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI). Acetato tetrahidrato de magnesio, acetato cálcico, acetato de magnesio, quinidina, quinina, y ácido clorhídrico concentrado se obtuvieron de Baker Chemical Company. Verapamilo y nicotinamida se compraron de Alexis Corporation. Todos los reactivos se compraron de Acros Organics (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA).

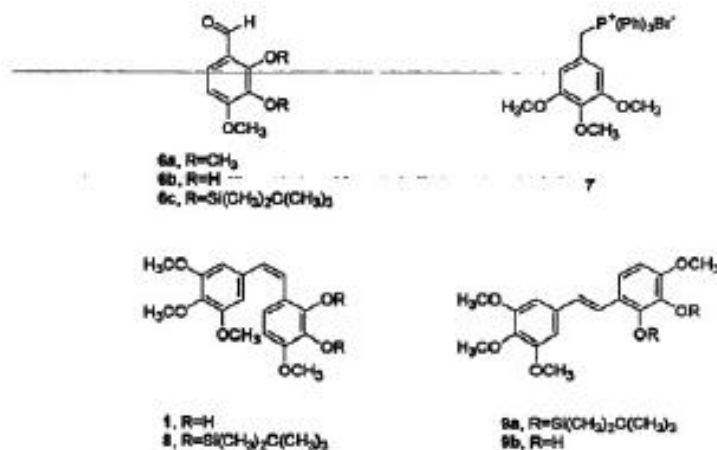
[0013] Las reacciones fueron controladas por cromatografía de capa fina utilizando Analtech silica gel GHLF Uniplates visualizadas bajo irradiación UV de onda larga y onda corta. Los extractos de disolventes de soluciones acuosas se secaron sobre sulfato sódico anhidro. Donde fue apropiado, los productos bruto se separaron por cromatografía de columna, flash (230-400 Mesh ASTM) o gravedad (70-230 Mesh ASTM) sílice de E. Merck.

[0014] Los puntos de fusión se midieron con un aparato electrotérmico digital de punto de fusión (modelo IA9200) y no se corrigen. Los espectros IR se obtuvieron utilizando un FT-IR 2020 Galaxy Series de Mattson Instruments. Los datos EIMS se registraron con un espectrómetro de masas MAT 312, y se obtuvieron espectros FAB de alta resolución con un espectrómetro de masas Kratos MS-50 (Midwest Center for Mass Spectrometry, University of Nebraska, Lincoln, NE). Los datos TOFMS se registraron con un espectrómetro de masas Vestec Lasertec Research que incorpora un láser de nitrógeno Laser Sciences que proporcionó impulsos luminosos de 337 nm de 3 ns de duración con 4-hidroxibencilidenomalnonitrilo como la matriz y citrocromo c como el estándar externo para fines de calibración. Los valores de rotación óptica se registraron empleando un polarímetro Perkin Elmer 241. Los espectros UV se registraron utilizando un espectrofotómetro Hitachi U-2000 UV/VIS. Todos los espectros NMR de ^1H and ^{13}C se obtuvieron utilizando un instrumento Varian Gemini de 300 MHz con CDCl_3 (de referencia interna TMS) como disolvente a menos que se indique otra cosa. Los espectros NMR de ^{31}P se obtuvieron en CDCl_3 , o D_2O con 85% de H_3PO_4 como un estándar externo empleando un instrumento Unity de 500 MHz. Los análisis elementales se determinaron por Galbraith Laboratories, Inc., Knoxville, TN.

[0015] Al iniciar la investigación dirigida a obtener un profármaco útil de combretastatina A-1 (**1**), la síntesis (Pettit et al, 1987) del compuesto padre requirió modificación para un adecuado procedimiento a escala. Tres principales mejoras se necesitaron: una síntesis más económica de 2,3-dihidroxi-4-metoxi-benzaldehído (**6b**); mejor separación de los bis-(TBDMS) isómeros *cis*- y *trans*- (**8** y **9a**) producidos en la reacción Wittig; y desililación eficiente de **8** a difenol **1**. Se halló que una mejor vía al aldehído **6b** implicaba desmetilación selectiva de 2,3,4-trimetoxibenzaldehído (**6a**) utilizando una solución 1,0 M de tricloruro de boro en diclorometano (Kaisalo et al, 1986). Este método dió rendimientos constantemente en el intervalo de 70%, y la reacción se condujo en un disolvente que facilitó el aislamiento del difenol soluble en agua (**6b**). La secuencia de la reacción Wittig antes usada para dar estilbenos **8** y **9a** se basó en la separación por recristalización fraccional en etanol. Ambos de estos compuestos se separaron eficientemente en el presente estudio por cromatografía de columna (60:1:1, hexano:etil acetato:triethylamina). Tal como se esperaba, el isómero *cis*- **8** fue fácilmente convertido a isómero *trans*- **9a** por fotoisómeroización en alto rendimiento (>80%) utilizando luz de 366 nm (Waldeck, 1991; Pettit & Singh, 1987). Finalmente, la desililación de isómero *cis*- **8** a combretastatina A-1 (**1**) utilizando fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF) como originariamente descrito se demostró insatisfactoria a mayor escala debido a la formación de productos poliméricos. Sin embargo, se obtuvo difenol **1**, un catecol sensible a bases, con buenos rendimientos bajo condiciones de corte ácido empleando 48% de HBr (cat.) y fluoruro de potasio en N,N-dimetilformamida (Sinhbabu et al, 1988; Nelson & Crouch, 1996). Aunque el producto bruto producido del procedimiento original de desililación de TBAF podría utilizarse directamente en el paso de fosforilación para dar fosfato **10**, no se demostró útil para obtener combretastatina A-1 pura (**1**) por cromatografía de columna. Estilbeno *trans*- **9a** se destiló también fácilmente

[0016] utilizando o bien el 48% de HBr (cat.)/KF o el método TBAF para dar difenol **9b** previamente no informado. Las estructuras relevantes se muestran en la Figura 2, abajo.

Figura 2



[0017] Una vez estuvo bajo control una síntesis a escala práctica de combretastatina A-1 (**1**), se emprendió la fosforilación con fosfato de dibencilo (Silverberg et al, 1996). Se obtuvo difosfato **10** con alto rendimiento (97%). La eliminación de los grupos de protección de bencil se llevó a cabo con la generación *in situ* de yoduro de trimetilsilil (TMSI) por reacción de yoduro sódico y clorotrimetilsilano (Jung & Lyster, 1977; Olah et al, 1979; Morita et al, 1978; Jung & Lyster, 1977; Ho & Olah, 1976; Salomon et al, 1993). Inicialmente, el corte mediado por TMSI dió una gran parte del isómero *trans* indeseado, presumiblemente por la suma electrofílica de yodo para formar un ión yodonio y la eliminación posterior a la olefina *trans*- (Hassner et al, 1970; Robertson et al, 1950; Zanger & Rabinowitz, 1975; Ayers et al, 1971; Skell & Pavlis, 1964). Este problema fue salvado en un momento dado por medio del uso de yoduro sódico nuevo y la disolución correcta de acetonitrilo necesitado para la debencilación. A mayores concentraciones y con el uso de yoduro sódico antiguo la reacción de corte produjo una relación de casi de 1:1 de isómeros *cis*- to *trans*-. Soluciones más diluídas y yoduro sódico nuevo llevaron casi exclusivamente al isómero *cis*- deseado (determinado por análisis NMR). La muy exitosa reacción de corte de éster bencilico fue precedida por una serie de otros enfoques y reactivos que probaron ser en general insatisfactorios. Las reacciones de debencilación no exitosas aplicadas al fosfato **10** incluían Raney-niquel (W-2), cloruro férrico, trimetilfeniltiosilano, trióxido de cromo, hidrogenolisis de transferencia catalítica, hidrogenación suave (tiempos de reacción <10 min), DDQ, tripenilcarbenio, cloruro de estaño (IV), e hidróxido de litio. En la mayoría de los ejemplos las anteriores condiciones de reacción resultaron en la eliminación incompleta de los cuatro grupos bencilicos y la isomerización o reducción del grupo olefina. Este paso de debencilación probó ser el obstáculo sintético más desafiante en la síntesis del profármaco deseado, a causa del difícil aislamiento del difosfato debencilado debido a su alta solubilidad en agua.

[0018] Con el fin de probar diferentes grupos protectores sobre el fosfato, se intentaron diversos otros métodos de fosforilación. Estos incluyeron el uso de alquilamidofosfinos, de los que se ha demostrado que fosforilan fácilmente alcoholes y fenoles con alto rendimiento. Por ejemplo, se dejó reaccionar di-*tert*-butiloxi (N,N-diisopropilamida) fosfina, preparada a partir de dicloro (N,N-diisopropilamida) fosfina y se hizo reaccionar *tert*-butanol con difenol **1** en presencia de 1*H*-tetrazol. Después de fosforilar difenol **1**, la posterior oxidación *in situ* del fósforo trivalente a las especies pentavalentes con ácido *meta*-cloroperóxibenzoico no dio lugar al fosfato deseado. Quizás este resultado no prometedor surge del amontonamiento estérico implicado con cuatro grupos *tert*-butyl en las posiciones 2'- y 3'-, o de la etapa de oxidación que puede haber afectado a la olefina estilbena. De manera interesante, el uso de dibenciloxi (N,N-diisopropilamida) fosfina bajo las condiciones de reacción recién descritas dió fosfato **10** pero sólo al 10% de rendimiento. Se intentaron otros dos métodos de fosforilación utilizando di-*tert*-butyl phosphite con una generación *in situ* del haluro apropiado (Br, Cl), y N,N-cloruro diisopropilfosfordiamídico. Ningún método llevó al correspondiente análogo de difosfato de dibencilfosfato **10**. La difosforilación de **1** también se logró con buen rendimiento con dietilcianofosfonato. Sin embargo, este método se demostró problemático debido a las rigurosas condiciones necesitadas para eliminar un grupo etilo.

[0019] El profármaco de combretastatina A-1 **4** se sintetizó por medio de la reacción ácido-base entre el ácido difosfórico obtenido de debencilación mediada por yoduro sódico/clorotrimetilsilano de **10**, y metóxido de sodio en metanol anhidro. La síntesis del profármaco de combretastatina B-1 (**5**) se llevó a cabo por medio de la hidrogenación estándar de difosfato **10** seguida de reacción con metóxido de sodio en metanol anhidro. El profármaco de dibencilo **5** mostró actividad antineoplásica reducida comparado con el profármaco *cis*-etilbena **4**, lo cual es coherente con estudios previos de relación estructura-actividad en la serie combretastatina. Como se esperaba, ambos mostraron actividad incrementada respecto a sus respectivos compuestos padres. Las estructuras relevantes son mostrados en la Figura 3, abajo.

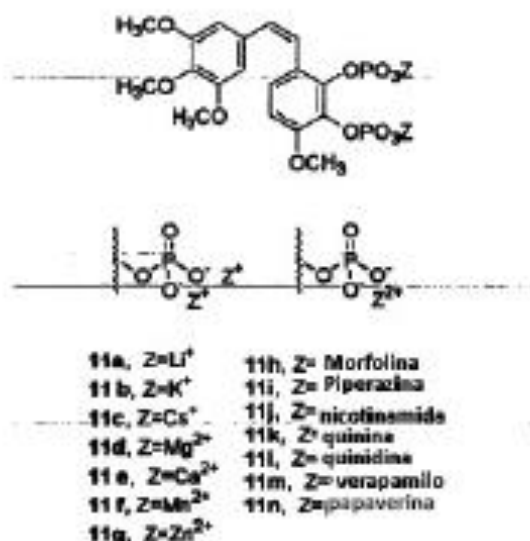
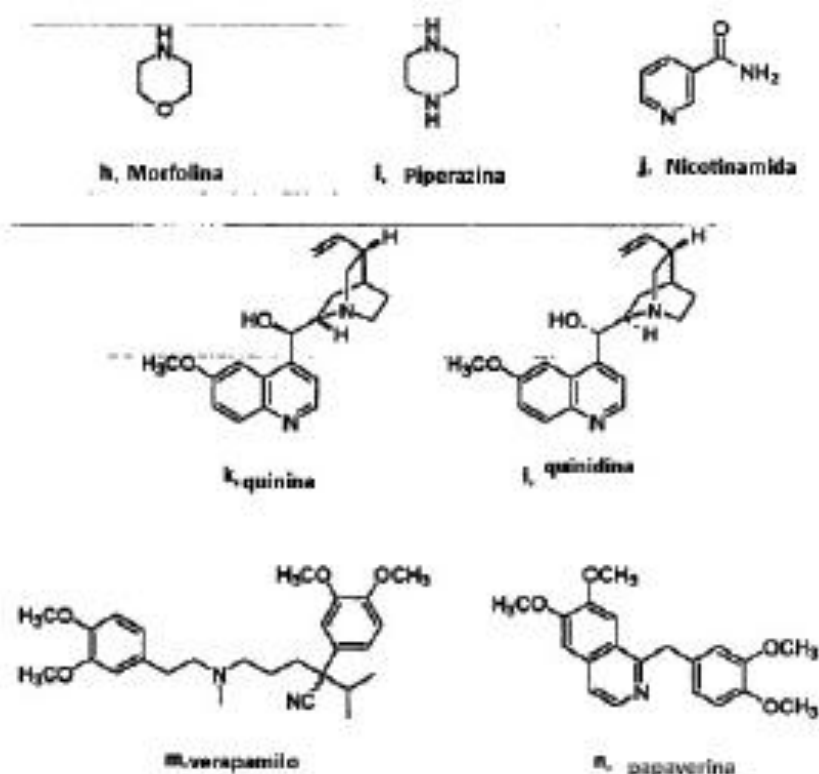


Figura 3. Sales metálicas catiónicas y de amonio de combretastatina A-1 2',3'-O-difosfato

[0020] Una vez que estuvo bajo control un método eficiente para la síntesis del profármaco **4** estaba a mano, se investigaron diversas sales catiónicas metálicas y de amonio del precursor de ácido fosfórico. La línea celular cancerosa y el comportamiento de solubilidad son resumidos en la Tabla I, más adelante. De las sales catiónicas metálicas monovalentes, las derivadas de litio (**11a**, 40 mg/mL), sodio (**4**, 120 mg/mL), potasio (**11b**, >90 mg/mL) y cesio (**11c**, >50 mg/mL) todas mostraron buena solubilidad en agua mientras las sales catiónicas metálicas divalentes derivadas del magnesio, calcio, magnesio, y cinc fueron progresivamente más insolubles debido quizás a la formación de polimeros. La baja solubilidad de estos cationes metálicos divalentes no permitía adquirir una adecuada HRMS, LRMS, NMR de ^1H o ^{13}C de adecuado. De las sales catiónicas de amonio tanto la morfolina (**11h**, 50 mg/mL) como la piperazina (**11i**, 34 mg/mL) mostraron excelentes características de solubilidad. Las sales catiónicas de amonio restantes mostraron efectos de solubilidad relacionados con la amina correspondiente. Las estructuras relevantes de las aminas y alcaloides utilizados en la Figura 3 son mostradas en la Figura 4, abajo.

[0021]

**Figura 4.** Aminas y alcaloides usados para las sales de amonio de combretastatina A-1 2', 3' -O- difosfato

[0022] Las actividades biológicas de los profármacos catiónicos metálicos **11a-g** principalmente correspondían a las propiedades antimitóticas de la combretastatina A-1 (**1**) que parece estar entre los antagonistas más potentes de unión de colchicina a tubulina conocida, con casi el 99% de inhibición de unión de colchicina a concentraciones iguales (Pettit et al, 1987; Lin et al, 1988; Sackett, 1993), y por ello inhibiendo la polimerización de tubulina. Diversos cationes juegan también un papel en el ensamblaje o desensamblaje de microtúbulos. La relación entre el sitio y la afinidad es en gran manera confusa; los cationes divalentes interactúan con tubulina en formas complejas y son capaces de unirse a ellos tanto en sitios de afinidad baja como alta. El catión divalente magnesio ha mostrado ser esencial para el ensamblaje de microtúbulos y se ha propuesto que se une como un complejo con un nucleotido en el sitio GTP intercambiable exchangeable [guanósina 5'-difosfato ("GTP")]. Se requiere una concentración adecuada de cationes de potasio para facilitar la formación de microtúbulos y pueden ser sustituidos por iones de sodio. Sin embargo, los iones de sodio comienzan a suprimir la polimerización en bajas concentraciones en comparación con los iones de potasio, sugiriendo que el factor implicado no es la especie de cationes monovalentes, sino la fuerza iónica. Los iones de calcio inhiben la polimerización de la tubulina y tras la adición a microtúbulos preensamblados causan su desensamblaje, mientras que se unen sólo débilmente a la tubulina en el sitio de magnesio. Un catión manganeso puede ser sustituido por el catión de magnesio con ensamblaje normal de microtúbulos. Se ha mostrado que los cationes de cinc interfieren con la unión lateral entre los protofilamentos de los microtúbulos. Los profármacos catiónicos metálicos **11a-g** mostraron igual o menor citotoxicidad contra el P388 y las líneas celulares tumorales humanas en comparación con el profármaco **4** (Tabla I).

Tabla I. Solubilidades, actividades inhibitoras de línea celular cancerosa humana y leucemia linfocítica de ratón P-388 de combretastatina A-1, A-4, B-1 y modificaciones sintéticas

Compuesto	Solubilidad*	Leucemia P388	Pancreas a BXPC-3	Ovários OVCAR-3
	mg/ml	ED ₅₀ µg/ml		
1	-	0.251	4.4	-
2	-	1.7	-	-
3a	-	0.0003	0.39	<0.001
3c	20	0.0004	-	0.023
4	120	<0.0100	1.5	0.024
5	>50	0.335	>10	2.0
11a	40	<0.0100	0.33	0.028
11b	>90	0.0170	0.38	0.023
11c	>50	0.0365	0.31	0.024
11d	<1	0.0245	0.44	0.031
11e	<1	0.0102	0.28	0.024
11f	<1	0.715	4.7	0.044
11g	<1	0.0394	0.36	0.027
11h	50	0.002	0.35	0.043
11i	20	0.002	0.35	0.046
11j	15	0.005	0.42	0.054
11k	<1	0.004	0.47	0.054
11l	<1	0.004	0.55	0.043
11m	<1	0.004	0.60	0.066
11n	<1	0.05	0.38	0.052

Compuesto	Solubilidad*	CNS SP-293	Pulmón NSC NCI-H460	Cola KMCOL2	Próstata DU-145
	MG/ML		GI ₅₀ µg/ml		
1	-	-	0.74	-	0.17
2	-	-	-	-	-
3a	-	<0.001	0.0006	0.061	0.0008
3c	20	0.036	0.029	0.34	-
4	120	0.036	0.038	0.53	0.034
5	>50	2.3	3.3	>10	2.7
11a	40	0.042	0.040	0.37	0.031
11b	>90	0.035	0.036	0.30	0.024
11c	>50	0.038	0.040	0.28	0.024
11d	<1	0.039	0.039	0.47	0.032
11e	<1	0.041	0.037	0.34	0.024
11f	<1	0.28	0.19	6.1	2.4
11g	<1	0.033	0.032	0.32	0.025
11h	50	0.042	0.046	0.26	0.039
11i	20	0.039	0.037	0.20	0.036
11j	15	0.053	0.15	0.53	0.046
11k	<1				
11l	<1				
11m	<1				
11n	<1				

11k	<1	0.044	0.34	0.40	0.050
11l	<1	0.056	0.37	0.84	0.10
11m	<1	0.070	0.40	1.2	0.086
11n	<1	0.063	0.27	0.33	0.054

5

10

15

[0023] Los profármacos catiónicos de amonio **11h-n** se sintetizaron con el fin de evaluar más la solubilidad acuosa y estudiar su capacidad para revertir la resistencia a multifármacos por interferencia con el mecanismo de glicoproteína P (**11k-n**) en base a la amina en cuestión. Morfolina, piperazina, y nicotinamida (biosíntesis de NADH) han tenido un uso clínico relativamente limitado. Por otro lado, los alcaloides de quinquina tal como quinina y su esteroisómero quinidina han sido usados para tratar malaria ampliamente. De modo parecido, se ha mostrado clínicamente que el verapamilo es un antagonista del calcio, y un potente agente cardiovascular con propiedades antianginosas e antihipertensivas, mientras que también es utilizado en el tratamiento de arritmias. Finalmente, la papaverina, aislada del opio, es mejor conocida por sus propiedades relajantes musculares. Los profármacos catiónicos de amonio **11h-n** todos mostraron fuertes propiedades antineoplásicas iguales o mejores que sus contrapartes catiónicas metálicas (Tabla I).

2,3-Dihidroxi-4-metoxi-benzaldehido (6b)

[0024] Una solución anhidra de diclorometano (500 mL) de 2,3,4-trimetoxibenzaldehido (**6a**, 19.6 g, 100 mmol) bajo argón a temperatura ambiente fue agitada durante 10 min y se añadió tricloruro de boro (100 mL, 100 mmol, 1 eq, 1.0 M sol. en diclorometano). Tras 2 horas, se añadió el segundo equivalente de tricloruro de boro 100 mL, 100 mmol; 1 eq; solución 1,0 M en diclorometano). La mezcla oscura de reacción se agitó durante 24 horas, y luego fue lentamente vertida en de bicarbonato de sodio al 10% (ac) (40 g/360 mL). La solución resultante fue acidificada con ácido clorhídrico concentrado a pH 1. La capa de diclorometano fue separada, y la capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (4 x 100 mL) y secada. La evaporación de disolvente *in vacuo* dió un aceite marrón, lo que fue absorbido en gel de sílice y sometido a cromatografía de columna flash (50:50:1 hexano-acetato de etilo-ácido acético) para dar un sólido amarillo. La recristalización de acetato de etilo-hexano dió agujas amarillas (12.4 g; 74%): p.f. 115-116 °C [lit. 116-117 °C (Pettit et al, 1987)]; Rf 0.40 (1:1, hexano-acetato de etilo); EIMS m/z 168 (100%, M+), 125 (25%), 122 (40%), 79 (20%), 52 (20%). Anal. Calcd. for C₈H₈O₄: C, 57.14; H, 4.80. Hallado: C, 57.23; H, 4.79.

2,3-Bis-[tert-butilmetilosiloxi]-4-metoxi-benzalehido (6c)

[0025] La preparación de éter de sililo **6c** fue repetida esencialmente como originalmente descrito (Pettit et al, 1987) a partir de difenol **6b** (12.4 g) excepto por la modificación de su procedimiento de purificación. La evaporación (bajo presión reducida) del acetato de etilo utilizado para la extracción produjo un aceite marrón, que fue absorbido en gel de sílice y sometido a cromatografía de columna flash (15:1 hexano-etil acetato). El producto aceitoso amarillo claro fue cristalizado del metanol para dar el compuesto de título como un sólido incoloro (25.5 g; 87% de rendimiento): p.f. 74-75 °C [lit. 74.5-76 °C (Pettit et al, 1987)]; Rf 0.80 (15:1, hexano-acetato de etilo); EIMS m/z 396 (2%, M+), 381 (10%), 339 (100%), 267 (15%), 73 (85%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.14 (12H, s, 4 x SiCH₃), 0.99 (9H, s, 3 x CH₃), 1.05 (9H, s, 3 x CH₃), 3.84 (3H, s, OCH₃), 6.63 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-5), 7.49 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-6), 10.23 (1H, s, CHO). Anal. Calcd. for C₃₀H₃₆O₄Si₂: C, 60.56; H, 9.15. Hallado: C, 60.53; H, 9.38.

3,4,5-Trimetoxibenciltrifenilosfonio bromuro (7)

[0026] Diversas modificaciones de la síntesis anterior de este bromuro de fosfonio (**7**) fueron empleadas aquí. La mezcla de reacción preparada de fosfuro trifenílico (24.1 g, 92.0 mmol, 1.1 eq) y 3,4,5-bromuro trimetoxibencil (21.3 g, 80.0 mmol) en tolueno (200 mL) se calentó a reflujo durante 6 horas y se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente. La evaporación del disolvente *in vacuo* dio lugar a un sólido bruto, que fue recristalizado a partir de acetato de etilo-hexano para dar cristales incoloros (39.0 g, 93%): p.f. 219-220 °C [lit. 222-223 °C (Pettit et al, 1987)]; Rf 0.00 (1:1, hexano-acetato de etilo); TOFMS m/z 443 [M-Br]⁺; IR (película) ν_{\max} 1590, 1508, 1465, 1435, 1332, 1238, 1126, 997, 974, 873 cm⁻¹; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.51 (6H, s, 2 x OCH₃), 3.77 (3H, s, OCH₃), 5.40 (2H, d, J = 14 Hz, Ph-CH₂), 6.48 (2H, bs, H-2, H-6), 7.70 (15H, m, P(Ph)₃). Anal. Calcd. for C₂₈H₂₈O₃PBr·1/2 H₂O: C, 63.17; H, 5.49. Hallado: C, 62.97; H, 5.63.

2'3'-Di[tert-butilmetilosilil-oxi]-(Z) y (E)-combretastatina A-1 (8 y 9a)

[0027] Excepto por el procedimiento de purificación, la síntesis anterior fue repetida utilizando 26.5 g de aldehido **6c**. La evaporación (*in vacuo*) de la solución de acetato de etilo utilizada para la extracción dio un aceite marrón oscuro. La cromatografía de columna flash de gel de sílice (2x; 9:1 hexano-acetato de etilo seguido de 60:1:1 hexano-acetato de etilo-trietilamina) llevó a ambos isómeros puro (Z)- y (E)-: *cis*- éter de sililo **8** (16.1 g, 43% de rendimiento, cristales incoloros) de etanol: p.f. 130-131 °C [lit. 117-118 °C (Pettit et al, 1987)]; Rf 0.44 (9:1, hexano-acetato de etilo); EIMS m/z 560 (55%, M+), 503 (20%), 488 (40%), 431 (20%), 73 (100%); IR (película) ν_{\max} 2955, 2858, 1579, 1498, 1462, 1313, 1246, 1128, 1105, 842 cm⁻¹; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.11 (6H, s, SiCH₃x2), 0.19 (6H, s, SiCH₃x2), 1.00 (9H, s, 3 x CH₃), 1.04 (9H, s, 3 x CH₃), 3.68 (6H, s, 2 x OCH₃), 3.74 (3H, s, OCH₃), 3.84 (3H, s, OCH₃), 6.36 (1H, d, J = 12 Hz, -CH=CH-), 6.36 (1H, d, J = 9.3 Hz, H-5'), 6.59 (1H, d, J = 12 Hz, -CH=CH-), 6.62 (2H, s, H-2, H-6), 6.89 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-6'). Anal. Calcd. for C₃₀H₄₈O₆Si₂: C, 64.24; H, 8.62. Hallado: C, 64.30; H, 8.83. *trans*- éter de sililo **9a** (5.0 g, 13% de rendimiento) fue obtenido como un sólido esponjoso incoloro de etanol: p.f. 139-140 °C [lit. 139-140 °C (Pettit et al, 1987)]; Rf 0.40 (9:1, hexano-acetato de etilo); EIMS m/z 560 (55%, M+), 503 (10%), 488 (25%), 431 (15%), 73 (100%); IR (película) ν_{\max} 1581, 1494, 1460, 1442, 1309, 1240, 1128, 1101, 837, 783 cm⁻¹; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.11 (6H, s, SiCH₃x2), 0.13 (6H, s, SiCH₃x2), 1.00 (9H, s, 3 x CH₃), 1.09 (9H, s, 3 x CH₃), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.88 (6H, s, 2 x OCH₃), 6.56 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-5'), 6.72 (2H, s, H-2, H-6), 6.80 (1H, d, J = 16 Hz, -CH=CH-), 7.20 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-6'), 7.31 (1H, d, J = 16 Hz, -CH=H-). Anal. Calcd. para C₃₀H₄₈O₆Si₂: C, 64.24; H, 8.62. Hallado: C, 64.19; H, 8.94.

Isomerización fotoquímica de (Z)-estilbeno **8 a (E)-estilbeno **9a****

[0028] Una solución de **8** (10.6 g; 18.9 mmol) en cloroformo fue irradiada directamente desde abajo con longitud de onda ultravioleta (366 nm) durante 5 horas. La fuente ultravioleta fue una lámpara UV utilizada para visualizar placas TLC equipadas con lámparas de onda corta (254 nm) y onda larga (366 nm). El producto fue separado por cromatografía de columna flash con gel de sílice (9:1, hexano-acetato de etilo). El sólido incoloro resultante fue recristalizado del alcohol de etilo para dar (8.6 g; 81%) el *trans*-estilbeno **9a** como un sólido esponjoso incoloro. El producto fue idéntico (espectroscopicamente) al espécimen sintetizado en el experimento precedente.

Combretastatina A-1 (1)

[0029] Método A. Se añadió fluoruro de potasio (0.22 g, 3.79 mmol, 4 eq) a una solución de bis-éter de sililo **8** (0.52 g, 0.929 mmol) disuelto en DMF (6 mL bajo argón a temperatura ambiente). La mezcla se agitó durante 5 min y se añadió una cantidad catalítica de HBr en agua 48% (11 µL, 0.20 mmol, 0.2 eq). Tras 18 horas de agitación, la mezcla resultante fue vertida sobre ácido clorhídrico 6N helado (ac). Después de la extracción de la mezcla con acetato de etilo (3 x 25 mL), el extracto combinado se lavó con cloruro sódico saturado (ac) y se secó. La eliminación de disolvente *in vacuo* dió un aceite marrón claro, que fue separado por cromatografía de columna (50:50:1 hexano-acetato de etilo-ácido acético) para dar un aceite claro. La cristalización de acetato de etilo-hexano produjo cristales incoloros (0.20 g, 68% de rendimiento): p.f. 117-118 °C [lit. 114-115 °C (Pettit et al, 1987)]; Rf 0.67 (50:50:1 hexano-acetato de etilo-ácido acético); EIMS m/z 332 (100%, M+), 317 (90%), 257 (7%), 166 (5%), 115 (8%); IR (película) ν_{\max} 3443, 1624, 1581, 1504, 1462, 1329, 1238, 1124, 1093, 1001 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.67 (6H, s, 2 x OCH_3), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.86 (3H, s, OCH_3), 5.38 (2H, s, 2 x OH, 2',3' D_2O intercambiado), 6.39 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5'), 6.53 (2H, s, H-2, H-6), 6.53 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.60 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.77 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6'); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 152.71, 146.29, 141.65, 137.16, 132.54, 132.46, 130.11, 124.02, 120.27, 117.77, 105.88, 102.85, 60.79, 56.10, 55.77. Anal. Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_6$: C, 65.05; H, 6.06. Hallado: C, 65.04; H, 6.28.

[0030] Método B. A una solución de bis-éter de sililo **8** (2.0 g, 3.53 mmol) en THF anhidro (10 mL) se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (1 min THF; 7.8 mL, 7.80 mmol, 2.2 eq). La mezcla se agitó durante 25 min. Se añadió ácido clorhídrico 6N helado (ac), y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (4 x 25 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con cloruro sódico saturado (ac) (50 mL) y se secaron. La eliminación del disolvente bajo presión reducida produjo un aceite marrón oscuro (rendimiento cuantitativo), que fue secado en alto vacío y luego inmediatamente fosforilado para proporcionar bis éster fosfato **10**.

2',3'-Dihidroxi-3,4,4',5-tetrametoxi-(E)-estilbeno (9b, trans-combretastatina A-1)

[0031] Se realizó el mismo procedimiento de desililación sobre éter de sililo **9b** descrito en el Método B arriba para la desililación de **8** a combretastatina A-1 (1). *trans*-Estilbeno **9b** se aisló después de la cromatografía de columna (50:50:1 hexanoacetato de etilo-ácido acético) como un aceite claro que cristalizó de acetato de etilo-hexano: cristales incoloros (1.0 g, 70% de rendimiento); p.f. 48-50 °C; Rf 0.65 (50:50:1 hexano-acetato de etilo-ácido acético); TOFMS m/z 332 [M]+; IR (película) ν_{\max} 3408, 2937, 1622, 1581, 1510, 1464, 1290, 1238, 1126, 1003 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.86 (3H, s, OCH_3), 3.89 (3H, s, OCH_3), 3.91 (6H, s, 2 x OCH_3), 6.50 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5'), 6.74 (2H, s, H-2, H-6), 7.05 (1H, d, $J = 16$ Hz, $-\text{CH}=\text{H}-$), 7.05 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6'), 7.23 (1H, d, $J = 16$ Hz, $-\text{C}=\text{C}-$). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 153.34, 146.24, 142.15, 133.95, 132.32, 127.84, 122.82, 118.37, 117.72, 103.46, 103.09, 60.93, 56.11. Anal. Calcd. para $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_6$: C, 65.05; H, 6.06. Hallado: C, 64.53; H, 6.41.

2',3'-O-Di[bis-bencilfosforilo]-combretastatina A-1 (10)

[0032] A una solución de difenol **1** (5.6 g; 17.0 mmol) en acetonitrilo (100 mL enfriado a -20 °C) se añadió tetracloruro de carbono (16 mL, 170 mmol, 10 eq). La solución resultante se agitó durante 10 min antes de añadir DIPEA (12 mL, 71 mmol, 4.2 eq por medio de jeringa) y DMAP (0.42 g, 3.40 mmol, 0.2 eq). Aproximadamente 1 min más tarde, la adición lenta (goteo) de fosfato dibencilico (1 mL, 49 mmol; 2.9 eq) comenzó a tal velocidad que la temperatura de la mezcla de reacción agitada se mantuvo por debajo de -20 °C. Tras 45 min, se añadió KH_2PO_4 0.5M (ac) y la mezcla dejó calentar a temperatura ambiente. Un extracto de acetato de etilo (4 x 50 mL) se lavó con cloruro sódico saturado (ac), seguido de agua, y se secó. La eliminación de disolvente *in vacuo* produjo un aceite amarillo que fue adicionalmente separado por cromatografía de columna flash (3:2 hexanoacetato de etilo) para dar 14 g (97%) de un aceite dorado: Rf 0.31 (1:1, hexano-acetato de etilo); EIMS m/z 852 (20%, M+), 762 (5%), 484 (40%), 277 (10%), 91 (100%); IR (película) ν_{\max} 2941, 2839, 1579, 1502, 1454, 1282, 1126, 1012, 966, 738 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.62 (6H, s, 2 x OCH_3), 3.77 (3H, s, OCH_3), 3.80 (3H, s, OCH_3), 5.08 (4H, m, 2 x $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 5.17 (4H, m, 2 x $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 6.46 (2H, s, H-2, H-6), 6.51 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.64 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.67 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5'), 7.00 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6'), 7.25 (20H, m, 4 x C_6H_5); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 152.60, 151.36, 141.13, 137.04, 135.71, 135.65, 135.46, 135.40, 132.81, 131.87, 131.49, 128.25, 128.14, 127.71, 127.57, 126.67, 124.37, 124.16, 109.16, 106.00, 69.76, 69.72, 69.55, 69.51, 60.60, 56.23, 55.72; ^{31}P NMR (202 MHz, CDCl_3) δ -4.81 ($J = 2.6$ Hz), -4.92 ($J = 2.8$ Hz). Anal. Calcd. para $\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{O}_{12}\text{P}_2$: C, 64.79; H, 5.44. Hallado: C, 64.65; H, 5.53.

2',3'-O-Di[bis-bencilfosforilo]-combretastatina A-1 (10)

[0033] Se añadió 1*H*-Tetrazol (70 mg; 0.96 mmol; 6.5 eq) en una porción a una solución agitada de difenol **1** (50 mg; 0.15 mmol) y dibencil *N,N*-diisopropilfosforamidita (0.12 g; 0.34 mmol; 2.2 eq) en tetrahidrofurano seco (1 mL) y se agitó durante 15 min a temperatura ambiente. La mezcla fue entonces enfriada a -50 °C, y se añadió rápidamente una solución de ácido *meta*-cloroperoxibenzoico en diclorometano 85% de modo que la temperatura de reacción se mantuvo por debajo de 0 °C. Tras agitar durante 5 min a temperatura ambiente, se añadió tiosulfato sódico acuoso 10% y la mezcla se agitó adicionalmente durante 10 min. La mezcla resultante se extrajo luego con acetato de etilo (4 x 10 mL), se lavó con tiosulfato sódico acuoso 10%, hidróxido sódico acuoso 0.5 M, y se secó. La evaporación del disolvente bajo presión reducida dió un aceite amarillo que fue luego sometido a cromatografía de columna flash (3:2, hexano-acetato de etilo) para dar un aceite claro (15 mg; 10%) espectroscópicamente idéntico al producto generado de la fosforilación de fosfato dibencilico anterior.

2',3'-O-Di[bis-etilfosforilo]-combretastatina A-1

[0034] Se disolvió combretastatina A-1 (0.10 g; 0.30 mmol) en diclorometano seco (5 mL). La solución fue luego enfriada a 0 °C y luego se añadió cianofosfonato de dietilo (0.10 mL; 0.66 mmol; 2.2 eq), seguido de trietilamina (0.17 mL; 1.2 mmol; 4 eq). Tras agitar a 0 °C durante 2.5 horas la mezcla fue extraída con diclorometano (4 x 20 mL), el extracto orgánico combinado lavado con agua, y secado. La evaporación del disolvente *in vacuo* produjo un aceite amarillo claro que fue purificado por cromatografía de columna flash (3:2, acetato de etilo-hexano) para dar un aceite claro (0.14 g; 75%); Rf 0.38 (3:2, acetato de etilo-hexano); EIMS m/z 604 (100%, M+), 468 (10%), 369 (5%), 206 (5%), 45 (20%); IR (película) ν_{\max} 2984, 1608, 1579, 1504, 1454, 1419, 1327, 1273, 1240, 1126 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.31-1.39 (12 H, m, 4 x OCH_2OCH_3), 3.66 (6H, s, 2 x OCH_3), 3.81 (3H, s, OCH_3), 3.85 (3H, s, OCH_3), 4.2-4.34 (8H, m, 4 x OCH_2OCH_3), 6.48 (2H, s, H-2, H-6), 6.56 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.65 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5'), 6.66 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.97 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6'). Anal. Calcd. For $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_{12}\text{P}_2$: C, 51.66; H, 6.34. Hallado: C, 51.66; H, 6.46.

Combretastatina de sodio A-12'3'-O-difosfato (4) (Referencia)

[0035] A una solución de fosfato **10** (3.2 g, 3.69 mmol) en acetonitrilo (40 mL) bajo argón se añadió yoduro de sodio (2.2 g, 14.8 mmol, 4 eq). Antes de la adición de clorotrimetilsilano por goteo (1.9 mL, 14.9 mmol, 4 eq), la mezcla se agitó durante 2 min, y 30 min más tarde la reacción fue finalizada con tiosulfato sódico ac. 1% (4 mL). La eliminación del acetonitrilo *in vacuo* dio una mezcla bruta, que fue disuelta en diclorometano-agua y lavada con agua (4 x 10 mL). La concentración (facilitada por azeótropo de tolueno) de la capa acuosa dio lugar al aislamiento del intermedio de ácido fosfórico bruto que se sometió a secado en alto vacío (1 hora) y luego se disolvió en metanol seco (10 mL bajo argón). Después se añadió metóxido de sodio (0.80 g, 14.8 mmol, 4 eq). La mezcla se dejó agitar (6 horas) y se añadió más metanol para efectuar la disolución. Tras la filtración de la solución, la concentración del metanol *in vacuo* llevó a un sólido blanco bruto, que fue precipitado de etanol-agua para producir un polvo incoloro (1.7 g, 81% de rendimiento): p.f. 168-170 °C (dec.); UV λ_{\max} (H_2O) 298 nm (log ϵ , 4.16); IR (KBr) ν_{\max} 3364, 1647, 1579, 1506, 1446, 1315, 1238, 1126, 1093, 991 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 3.63 (6H, s, 2 x OCH_3), 3.66 (6H, s, 2 x OCH_3), 6.41 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.43 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5'), 6.70 (2H, s, H-2, H-6), 6.81 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6'), 6.94 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{C}=\text{C}-$); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CD_3OD) δ 153.56, 153.12, 136.73, 135.31, 129.12, 128.50, 124.88, 124.36, 107.71, 61.89, 57.16, 56.82; $^{31}\text{P NMR}$ (202 MHz, D_2O) δ 2.07, 1.78. HRFAB MS m/z (altura de pico) 580.9958 (100%, M+H), Calcd. para $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{O}_{12}\text{Na}_4\text{P}_2$: 580.9942.

Combretastatina de sodio B-1 2',3'-O-difosfato (5)

[0036] A una solución de fosfato **10** (1.1 g, 1.28 mmol) en metanol (5 mL en un recipiente de hidrogenación), se añadió Pd/C 10% (1.1 g, 1 eq. en peso). La mezcla fue hidrogenada durante 24 horas a 35 psi. La filtración de la solución a través de celita y la posterior evaporación de disolvente *in vacuo* dieron un aceite marrón claro. Se añadió metanol anhidro (5 mL) al difosfato bruto seguido de metóxido sódico (0.28 g, 5.13 mmol, 4 eq). La mezcla se agitó durante 6 horas, en cuyo punto se añadió más metano hasta que el producto se disolvió. La filtración de la solución de metanol y la concentración posterior *in vacuo* dieron un sólido incoloro, que fue reprecipitado de metanol-acetona para producir un polvo incoloro (0.55 g, 74% de rendimiento): p.f. 170-172 °C (dec.); UV λ_{\max} (H_2O) 269 nm (log ϵ , 3.24); IR (KBr) ν_{\max} 3385, 1589, 1496, 1458, 1236, 1186, 1124, 1087, 995, 559, cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 2.75 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_2), 2.94 (2H, t, $J = 8.1$ Hz, CH_2), 3.62 (3H, s, OCH_3), 3.67 (3H, s, OCH_3), 3.73 (6H, s, 2 x OCH_3), 6.65 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.61 (2H, s, H-2, H-6), 6.66 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-6'), $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 153.13, 152.20, 146.31, 141.01, 137.13, 135.55, 129.30, 124.00, 108.05, 107.28, 61.85, 57.08, 56.84, 36.88, 32.50; $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, D_2O) δ 1.74, 1.36. HRFAB MS m/z (altura pico) 583.0097 (100%, M+H), Calcd para $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_{12}\text{Na}_4\text{P}_2$: 583.0099.

Procedimiento General para la Síntesis de los Profármacos de Combretastatina A-1 Fosfato

[0037] Método A. Cada una de las sales metálicas conteniendo cationes fue obtenida por este procedimiento como se describe directamente a continuación para preparar la sal de tetralitio 11a.

Combretastatina de litio A-1 2',3'-O-difosfato (11a)

[0038] A una solución de fosfato **10** (0.42 g, 0.488 mmol) en acetonitrilo (5 mL, bajo argón) se añadió yoduro sódico (0.29 g, 1.95 mmol, 4 eq). La mezcla se agitó durante 2 min, y se añadió (mediante goteo) clorotrimetilsilano (0.25 mL, 1.95 mmol, 4 eq). Tras agitar durante 30 min, la reacción fue parada con de tiosulfato sódico ac 1% (2 mL). La eliminación del acetonitrilo *in vacuo* dio un residuo que fue tratado con hidróxido de litio 1.0 M disuelto en metanol (2.1 mL, 2.1 mmol, 4.1 eq) durante 6 horas. El producto fue reprecipitado de agua-etanol para producir un polvo blanco crudo (0.23 g, 92%): p.f. 138-140 °C (dec.); IR (KBr) ν_{\max} 3311, 1579, 1508, 1442, 1303, 1240, 1167, 1132, 1012, 533, cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 3.62 (6H, s, 2 x OCH_3), 3.65 (6H, s, 2 x OCH_3), 6.42 (1H, d, $J = 13$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.43 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-5'), 6.69 (2H, s, H-2, H-6), 6.80 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$); LRFAB MS: m/z (altura pico) 509 [(anión + 3 Li)-, 50%, 503 [(anión + 2 Li + H)-, 100%, 497 [(anión + Li + 2H)-, 80%].

Combretastatina de potasio A-1 2',3'-O-difosfato (11b)

[0039] La sal potásica se reprecipitó de agua-etanol como un polvo incoloro (0.27 g; 83%): p.f. 113-115 °C (dec.); IR (KBr) ν_{\max} 3383, 1653, 1579, 1506, 1456, 1419, 1126, 1089, 989, 545 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 3.62 (6H, s, 2

x OCH₃), 3.65 (3H, s, OCH₃) 3.66(3H, s, OCH₃), 6.42 (1H, d, *J* = 12Hz, -CH=CH-), 6.44 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5'), 6.68 (2H, s, H-2, H-6), 6.81 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, *J* = 12 Hz, -CH=CH-).

Combretastatina de cesio A-1 2',3'-O-disfosfato (11c)

5 [0040] La reprecipitación desde agua-etanol produjo un polvo incoloro (0.22 g; 36%) p.f. 142-144 °C (dec.); IR (KBr) ν_{\max} 3385, 1577, 1506, 1456, 1419, 1238, 1126, 1089, 985, 545 cm⁻¹; ¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 3.61 (6H, s, 2 x OCH₃), 3.65 (3H, s, OCH₃), 3.66 (3H, s, OCH₃), 6.43 (1H, d,

[0041] *J* = 13 Hz, -CH=CH-), 6.45 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5'), 6.67 (2H, s, H-2, H-6), 6.80 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6'), 6.89 (1H, d, *J* = 13 Hz, -CH=CH-).

Combretastatina de magnesio A-1 2',3'-O-disfosfato (11d)

10 [0042] El precipitado de la reacción fue filtrado y lavado con agua para dar un polvo de color crema (0.20 g; 80%) p.f. 150-152 °C (dec.); IR (KBr) ν_{\max} 3421, 1635, 1579, 1498, 1446, 1236, 1126, 1099, 1006, 547 cm⁻¹.

Combretastatina de calcio A-1 2',3'-O-disfosfato (11e)

15 [0043] El precipitado de la reacción fue filtrado y lavado con agua para dar un polvo de color crema (0.24 g; 70%): p.f. 163-165 °C (dec.); IR (KBr) ν_{\max} 3445, 1577, 1506, 1456, 1238, 1126, 1097, 1004, 837, 526 cm⁻¹. LRFAB MS (altura pico) 529 [(anión + Ca + H)-, 10%].

Combretastatina de manganeso A-1 2',3'- O-difosfato (11f)

[0044] El precipitado de la reacción fue filtrado y lavado con agua para dar un polvo tostado (0.12 g; 55%) p.f. 135-137 °C (dec.); IR (KBr) ν_{\max} 3447, 1575, 1506, 1456, 1317, 1126, 1095, 1004, 667, 518 cm⁻¹. LRFAB MS m/z (altura pico) 543 [(anión + Mn + H)-, 15%].

20 **Combretastatina dizinc A-1 2',3-O-disfosfato (11g)**

[0045] El precipitado de la reacción fue filtrado y lavado con agua para dar un polvo incoloro (0.28 g; 86%): p.f. 243-245 °C (dec.); IR (KBr) ν_{\max} 3441, 1579, 1506, 1456, 1421, 1315, 1238, 1163, 1126, 1097, cm⁻¹.

25 [0046] **Método B.** Cada una de las sales catiónicas de amonio (11h-n) de combretastatina A-1 fosfato fue preparada por este procedimiento general. Se usó el mismo método que el descrito para los profármacos 11a-g, excepto que la amina o alcaloide apropiado (4 eq.) se añadió al ácido fosfórico para producir profármacos 11h-n. Todas las mezclas de reacción fueron agitadas durante 8 horas y la recristalización/reprecipitación fue realizada con metanol-éter a menos que se indique otra cosa. Estas sales catiónicas de amonio fueron investigadas por HRFAB MS y los resultados fueron erráticos. Presumiblemente, esto fue debido a diversas combinaciones anión catión y otros tipos de asociaciones. Sin embargo, en cada caso estaba claro que fue obtenida una sal de la misma composición que era adecuada para nuestros fines.

35 [0047] **Combretastatina de morfina A-1 2',3' -O-disfosfato (11h).** La reprecipitación produjo un sólido incoloro (0.26 g): p.f. 168-170 °C (dec.); IR (KBr) ν_{\max} 3402, 3014, 2868, 2470, 1579, 1498, 1450, 1313, 1126, 1103 cm⁻¹; ¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 3.12 (8H, t, *J* = 4.5 Hz, CH₂OCH₂x2), 3.61 (6H, s, 2x OCH₃), 3.66 (3H, s, OCH₃), 3.72 (3H, s, OCH₃), 3.81 (8H, t, *J* = 4.8 Hz, CH₂NCH₂x2), 6.51 (1H, d, *J* = 12 Hz, -CH=CH-), 6.55 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5'), 6.61 (2H, s, H-2, H-6), 6.74 (1H, d, *J* = 12 Hz, -CH=CH), 6.81 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6').

40 [0048] **Combretastatina de piperazina A-1 2',3'-O-disfosfato (11i).** (Referencia) La reprecipitación desde etanol-agua produjo un sólido incoloro (0.34 g): p.f. 139-141 °C (dec.); IR (KBr) ν_{\max} 3406, 3005, 2839, 1579, 1498, 1446, 1126, 1093, 989, 949 cm⁻¹; ¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 3.05 (6H, brs, -CH₂-), 3.59 (6H, s, 2x OCH₃), 3.65 (3H, s, OCH₃), 3.71 (3H, s, OCH₃), 6.51 (1H, d, *J* = 12 Hz, -CH=CH-), 6.54 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.60 (2H, s, H-2, H-6), 6.72 (1H, d, *J* = 12 Hz, -CH=CH-), 6.79 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6').

45 [0049] **Combretastatina de nicotinamida A-1 2',3'-O-disfosfato (11j).** (Referencia) La reprecipitación produjo un sólido color crema (0.46 g): p.f. 148-150 °C (dec.); IR (KBr) ν_{\max} 3350, 3090, 2937, 2837, 1689, 1577, 1498, 1448, 1124, 1097 cm⁻¹; ¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 3.54 (6H, s, 2 x OCH₃), 3.60 (3H, s, OCH₃), 3.72 (3H, s, OCH₃), 6.46 (2H, s, H-2, H-6), 6.47 (1H, d, *J* = 12 Hz, -CH=CH-), 6.57 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5'), 6.61 (1H, d, *J* = 11 Hz, -CH=CH-), 6.75 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6'), 8.02 (1H, dd *J* = 8.4 Hz), 8.77 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 8.82 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 9.05 (1H, s).

50 [0050] **Combretastatina de quinina A-1 2',3-O-difosfato (11k).** La reprecipitación produjo un sólido color crema (0.48 g): p.f. 144-146 °C (dec.); $[\alpha]_D^{25}$ -35° (c = 1.12, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 3383, 2941, 1620, 1579, 1504, 1446, 1240, 1126, 1091, 987 cm⁻¹; ¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 1.25 (2H, brs), 1.69 (3H, brs), 1.87 (1H, brs), 2.49 (2H, brs), 2.93 (2H, brs), 3.20 (1H, brs), 3.50 (6H, s, 2 x OCH₃), 3.57 (3H, s, OCH₃), 3.62 (3H, s, OCH₃), 3.80 (3H, s, OCH₃), 4.74-5.10 (2H, m) 5.48-5.60 (1H, m), 5.81 (1H, brs), 6.32 (1H, d, *J* = 12 Hz, -CH=CH-), 6.37 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-5'), 6.43 (2H, s, H-2, H-6), 6.67 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6'), 6.70 (1H, d, *J* = 12 Hz, -CH=CH-), 7.14 (1H, d, *J* = 11 Hz), 7.27 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.49 (1H, d, *J* = 4.5 Hz), 7.78 (1H, d, *J* = 10 Hz), 8.51 (1H, d, *J* = 4.2 Hz).

[0051] Combretastatina de quinidina A-1 2',3'-O-disfosfato (111). La reprecipitación produjo un sólido color crema claro (0.57 g): p.f. 158-160 °C (dec.); $[\alpha]_D^{25} +88^\circ$ (c = 1.05, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 3385, 3084, 2943, 2359, 1622, 1510, 1454, 1244, 1126, 1093 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 0.94 (2H, m), 1.54-1.67 (3H, m), 1.75 (1H, brs), 2.14-2.21 (2H, m), 2.40 (2H, m), 2.95-3.16 (1H, m), 3.49 (6H, s, 2 x OCH_3), 3.56 (3H, s, OCH_3), 3.58 (3H, s, OCH_3), 3.81 (3H, s, OCH_3), 4.99-5.07 (2H, m), 5.88-5.99 (1H, m), 6.04 (1H, brs), 6.23 (1H, d, $J = 13$ Hz, $-\text{CH}=\text{H}-$), 6.35 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.36 (2H, s, -2, H-6), 6.68 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 6.76 (1H, d, $J = 13$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 7.21-7.26 (2H, m), 7.58 (1H, d, $J = 4.8$ Hz), 7.78 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 8.52 (1H, d, $J = 4.2$ Hz).

[0052] Combretastatina de verapamilo A-1 2',3'-O-disfosfato (11m). La reprecipitación produjo un sólido color crema (0.39 g): p.f. 160-162 °C.; IR (KBr) ν_{\max} 3427, 2960, 2362, 1577, 1498, 1452, 1217, 1126, 1060, 945 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$) δ 0.58 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1.00 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1.42-2.16 (5H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ and $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 2.65 (3H, s, NCH_3), 2.79-3.02 (6H, m, $\text{CH}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{PH}$), 3.51 (6H, s, 2 x OCH_3), 3.58 (3H, s, OCH_3), 3.65 (3H, s, OCH_3), 3.66 (9H, s, 3 x OCH_3), 3.67 (3H, s, OCH_3), 6.45 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.49 (2H, s, H-2, H-6), 6.53 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5'), 6.65 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.67-6.86 (6H, m, Aril H's), 6.72 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6').

[0053] Combretastatina de Papaverina A-1 2',3'-O-disfosfato (11n). La reprecipitación produjo un sólido color crema (0.65 g): p.f. 149-151 °C (dec.); IR (KBr) ν_{\max} 3447, 2937, 2837, 2449, 1605, 1510, 1452, 1298, 1234, 1126 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$) δ 3.44 (6H, s, 2 x OCH_3), 3.54 (3H, s, OCH_3), 3.61 (3H, s, OCH_3), 3.62 (3H, s, OCH_3), 3.63 (3H, s, OCH_3), 3.78 (3H, s, OCH_3), 3.89 (3H, s, OCH_3), 4.50 (2H, s, $-\text{CH}_2-$), 6.28 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.32 (2H, s, H-2, H-6), 6.42 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5'), 6.52 (1H, d, $J = 12$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.61 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6'), 6.65 (1H, d, $J = 9.3$ Hz), 6.74 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 6.85 (1H, s), 7.81 (1H, d, $J = 6.6$ Hz) 8.09 (1H, s).

Dosificaciones

[0054] La dosis administrada será dependiente de la identidad de la enfermedad neoplásica; el tipo de huésped implicado, incluyendo su edad, salud y peso; el tipo de tratamiento concurrente, si hubiera alguno; la frecuencia del tratamiento y la dosimetría.

[0055] Ilustrativamente, los niveles de dosificación de los ingredientes activos administrados son:

intravenoso, 0.1 hasta unos 200 mg/kg; intramuscular, 1 hasta unos 500 mg/kg; oralmente, 5 hasta unos 1000 mg/kg; instilación intranasal, 5 hasta unos 1000 mg/kg; y aerosol, 5 hasta unos 1000 mg/k de peso corporal del huésped.

[0056] Expresado en términos de concentración, un ingrediente activo puede estar presente en las composiciones de la presente invención para uso localizado en el cutis, intranasalmente, faringolaringealmente, bronquialmente, intravaginalmente, rectalmente, u ocularmente en concentración de desde un 0.01 hasta un 50% p/p de la composición, preferiblemente un 1 hasta un 20% p/p de la composición; y para uso parenteral en una concentración de desde un 0.05 hasta un 50% p/v de la composición y preferiblemente desde un 5 hasta un 20% p/v.

[0057] Las composiciones de la presente invención están preferiblemente presentadas para administración a humanos y animales en forma de dosificación unitaria, como comprimidos, cápsulas, pastillas, polvos, gránulos, supositorios, soluciones o suspensiones parenterales estériles, soluciones o suspensiones no estériles, y soluciones o suspensiones orales y similares, conteniendo cantidades adecuadas de un ingrediente activo.

[0058] Para la administración oral pueden ser preparadas formas de dosificación unitaria sólidas o fluidas.

[0059] Los polvos se preparan de forma bastante sencilla triturando el ingrediente activo a un tamaño adecuadamente fino y mezclando con un diluyente triturado de forma similar. El diluyente puede ser un material de carbohidrato comestible como lactosa o almidón. Ventajosamente, está presente un agente edulcorante o azúcar así como un aceite aromatizante.

[0060] Las cápsulas se producen preparando una mezcla en polvo como se ha descrito anteriormente y rellenando en vainas de gelatina moldeada. Ventajosamente, como adyuvante en la operación de relleno, es añadido un lubricante como talco, estereato de magnesio, estereato cálcico y similares a la mezcla en polvo antes de la operación de relleno.

[0061] Las cápsulas blandas de gelatina se preparan por encapsulación en máquina de una pasta de ingredientes activos con un aceite vegetal aceptable, petrolato ligero líquido, u otro aceite o triglicérido inerte.

[0062] Los comprimidos se hacen preparando una mezcla en polvo, granulando o machacando, añadiendo un lubricante y aplicando presión para hacer los comprimidos. La mezcla en polvo es preparada mezclando un ingrediente activo, adecuadamente triturado, con un diluyente o base tal como almidón, lactosa, caolín, fosfato de dicalcio y similares. La mezcla en polvo puede ser granulada humedeciendo con un ligante tal como jarabe de maíz, solución de gelatina, solución de metilcelulosa o mucílago de acacia y forzando a través de una malla. Como alternativa al granulado, la mezcla en polvo puede ser machacada, es decir, pasada a través de la máquina de comprimidos y los comprimidos resultantes imperfectamente formados rotos en pedacitos. Los pedacitos pueden ser

lubricados para evitar que se peguen a los moldes formadores de comprimidos por medio de la adición de ácido estearico, una sal esteárica, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada es luego comprimida en comprimidos.

5 **[0063]** Ventajosamente, el comprimido puede estar provisto de un recubrimiento protector consistente en una capa estanca o capa entérica de goma laca, una cobertura de azúcar y metilcelulosa y cobertura abrillantadora de cera carnaúba.

10 **[0064]** Pueden prepararse formas fluidas de dosificación unitaria para administración oral tal como en jarabes, elixires, y suspensiones en las que cada cucharadita de composición contiene una cantidad predeterminada de un ingrediente activo para administración. Las formas solubles en agua pueden ser disueltas en un vehículo acuoso junto con azúcar, agentes aromatizantes y conservantes para formar un jarabe. Un elixir se prepara utilizando un vehículo hidroalcohólico con edulcorantes adecuados junto con un agente aromatizante. Las suspensiones pueden prepararse a partir de las formas insolubles con un vehículo adecuado con la ayuda de un agente de suspensión tal como acacia, tragacanto, metilcelulosa y similares.

15 **[0065]** Para la administración parenteral, las formas fluidas de dosificación unitaria se preparan utilizando un ingrediente activo y un vehículo estéril, siendo preferido el agua. El ingrediente activo, dependiendo de la forma y concentración utilizada, puede ser suspendido o disuelto en el vehículo. Al preparar soluciones el ingrediente activo soluble en agua puede ser disuelto en agua para inyección y esterilizado por filtración antes de llenar un vial o ampolla adecuado y sellarse. Ventajosamente, pueden disolverse en el vehículo adyuvantes tales como un anestésico local, agentes conservantes y de tampón. Las suspensiones parenterales se preparan básicamente del mismo modo excepto que el ingrediente activo es suspendido en el vehículo en lugar de ser disuelto y la esterilización no puede ser realizada por filtración.

20

[0066] El ingrediente activo puede ser esterilizado por exposición a óxido de etileno antes de suspenderse en el vehículo estéril. Ventajosamente, un agente surfactante o humectante se incluye en la composición para facilitar la distribución uniforme del ingrediente activo.

25 **[0067]** Además de la administración parenteral y oral, pueden vías vaginal y rectal se utilizadas. Un ingrediente activo puede ser administrado por medio de un supositorio. Puede usarse un vehículo que tenga un punto de fusión cercano a la temperatura corporal o uno que sea fácilmente soluble. Por ejemplo, manteca de cacao y diversos polietilenglicoles (Carbowax) pueden servir como vehículo.

30 **[0068]** Para instilación intranasal, se prepara una forma fluida de dosificación unitaria utilizando un ingrediente activo y un vehículo farmacéuticamente adecuado, preferiblemente P.F. agua, puede formularse un polvo seco cuando la insuflación es la administración de elección.

[0069] Para uso como aerosoles, los ingredientes activos pueden ser envasados en un contenedor de aerosol presurizado junto con un propelente líquido o gaseoso, por ejemplo, diclorodifluorometano, dióxido de carbono, nitrógeno, propano, y similares, con los adyuvantes habituales tales como agentes codisolventes y humectantes, como sea necesario o deseado.

35 **[0070]** El término "forma de dosificación unitaria" como se usa en la especificación y reivindicaciones se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos animales y humanos, cada unidad conteniendo una cantidad predeterminada de sustancia activa calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el diluyente farmacéutico, portador o vehículo requerido. Las especificaciones para las nuevas formas de dosificación unitaria de esta invención son dictadas por y son directamente dependientes de (a) las características únicas de la sustancia activa y el particular efecto terapéutico a alcanzar, y (b) la limitación inherente en la técnica de componer tal sustancia activa para uso terapéutico en humanos, como se divulga en esta especificación siendo éstas características de la presente invención. Ejemplos de formas adecuadas de dosificación unitaria de acuerdo con esta invención son comprimidos, cápsulas, pastillas, supositorios, paquetes de polvo, obleas, píldoras, cucharaditas, cucharadas, goteros, ampollas, viales, múltiples segregados de cualquiera de los anteriores y otras formas como las aquí descritas.

40

45

50 **[0071]** Los ingredientes activos a emplear como agentes antineoplásicos pueden ser fácilmente preparados en tal forma de dosificación unitaria con el empleo de sustancias farmacéuticas que en sí mismas están disponibles en la técnica y pueden ser preparadas por procedimientos establecidos. Las siguientes preparaciones son ilustrativas de la preparación de las formas de dosificación unitaria de la presente invención, y no como una limitación de la misma. Diversas formas de dosificación fueron preparadas realizando la presente invención. Son mostradas en los siguientes ejemplos en los que la indicación "ingrediente activo" significa fenstatina 3b y/o profármaco de fenstatina 3d, y/o benzofenonas 4a-f o cualquier otro compuesto aquí descrito.

COMPOSICIÓN "A"

Capsulas de Gelatina Dura

55 **[0072]** Se preparan mil cápsulas de gelatina dura en dos piezas para uso oral, cada cápsula conteniendo 200 mg de un ingrediente activo de los siguientes tipos y cantidades de ingredientes:

ES 2 395 097 T3

	Ingrediente activo, micronizado	200 g
	Almidón de maíz	20 g
	Talco	20 g
5	Estereato de magnesio	2 g

[0073] El ingrediente activo, finamente dividido por medio de un micronizador de aire, es añadido a los otros ingredientes finamente pulverizados, minuciosamente mezclados y luego encapsulados del modo habitual.

10 **[0074]** Las cápsulas precedentes son útiles para tratar una enfermedad neoplásica por la administración oral de una o dos cápsulas una a cuatro veces al día. Utilizando el procedimiento anterior, las cápsulas son preparadas de forma similar conteniendo un ingrediente activo en cantidades de 50, 250 y 500 mg con 50 g, 250 g y 500 g de un ingrediente activo en sustitución de los 200 g antes utilizados.

COMPOSICIÓN "B"

Capsulas de Gelatina Blanda

15 **[0075]** Se preparan cápsulas de gelatina blanda para uso oral, cada una conteniendo 200 mg de un ingrediente activo, finamente dividido por medio de un micronizador de aire, suspendiendo primero el compuesto en 0.5 ml de aceite de maíz para hacer encapsulable la sustancia y luego encapsulando de la manera anterior. Las cápsulas precedentes son útiles para tratar una enfermedad neoplásica por administración oral de una o dos cápsulas una a cuatro veces al día.

COMPOSICIÓN "C"

20 Comprimidos

[0076] Se preparan mil comprimidos, cada uno conteniendo 200 mg de un ingrediente activo, de los siguientes tipos y cantidades de ingredientes:

	Ingrediente activo, micronizado	200 g
	Lactosa	300 g
25	Almidón de maíz	50 g
	Estereato de magnesio	4 g
	Petrolato líquido ligero	5 g

30 **[0077]** El ingrediente activo, finamente dividido por medio de un micronizador de aire, se añade a los otros ingredientes y luego se mezclan minuciosamente y se machacan. Los trozos se rompen forzándolos a través de una malla Número Dieciseis. Los gránulos resultantes se transforman entonces en comprimidos por presión, cada comprimido conteniendo 200 mg del ingrediente activo.

[0078] Los comprimidos precedentes son útiles para tratar una enfermedad neoplásica por administración oral de uno o dos comprimidos una a cuatro veces al día.

35 **[0079]** Utilizando el procedimiento anterior, los comprimidos son preparados de forma similar conteniendo un ingrediente activo en cantidades de 50, 250 y 500 mg con 50 g, 250 g y 500 g de un ingrediente activo en sustitución de los 200 g antes utilizados.

COMPOSICIÓN "D"

Suspension Oral

40 **[0080]** Se prepara un litro de una suspensión acuosa para uso oral, conteniendo en cada dosis de cucharadita (5 ml), 50 mg de un ingrediente activo, de los siguientes tipos y cantidades de ingredientes:

	Ingrediente activo, micronizado	10 g
	Ácido cítrico	2 g
	Ácido benzoico	1 g
	Sacarosa	790 g

ES 2 395 097 T3

Tragacanto	5 g
Aceite de limón	2 g
Agua desionizada, hasta 1000 ml	

5 **[0081]** El ácido cítrico, ácido benzoico, tragacanto y aceite de limón se dispersan en suficiente agua para hacer 850 ml de suspensión. El ingrediente activo, finamente dividido por medio de un micronizador de aire, es agitado dentro de la unidad de jarabe uniformemente distribuido. Se añade suficiente agua para hacer 1000 ml.

[0082] La composición así preparada es útil para tratar una enfermedad neoplásica a una dosis de 1 cucharadita (15 ml) tres veces al día.

COMPOSICIÓN "E"

10 Producto Parenteral

[0083] Se prepara una suspensión acuosa estéril para inyección parenteral, conteniendo 30 mg de un ingrediente activo en cada milímetro para tratar una enfermedad neoplásica, es preparado a partir de los siguientes tipos y cantidades de ingredientes:

15	Ingrediente activo, micronizado	30 g
	POLISORBATO 80	5 g
	Metilparabeno	2.5 g
	Propilparabeno	0.17 g
	Agua para inyección, hasta 1000 ml.	

20 **[0084]** Todos los ingredientes, excepto el ingrediente activo, son disueltos en el agua y la solución esterilizada por filtración. A la solución estéril se añade el ingrediente activo esterilizado, finamente dividido por medio de un micronizador de aire, y la suspensión final se rellena en viales estériles y se sellan los viales.

[0085] La composición así preparada es útil para tratar una enfermedad neoplásica a una dosis de 1 mililitro (1 ml) tres veces al día.

COMPOSICIÓN "F"

25 Supositorio, Rectal y Vaginal

[0086] Se preparan mil supositorios, cada uno pesando 2.5 g y conteniendo 200 mg de un ingrediente activo de los siguientes tipos y cantidades de ingredientes:

30	Ingrediente activo, micronizado	15 g
	Propilenglicol	150 g
	Polietilenglicol #4000, hasta 2,500 g	

35 **[0087]** El ingrediente activo es finamente dividido por medio de un micronizador de aire y añadido al propilenglicol y la mezcla pasada a través de un molino coloidal hasta que esté uniformemente dispersada. El polietilenglicol es fundido y la dispersión de propilenglicol es añadida lentamente con agitación. La suspensión es vertida en moldes no enfriados a 40 °C. La composición se deja enfriar y solidificar y luego se elimina del molde y cada supositorio es envuelto con una lámina.

[0088] Los precedentes supositorios son insertados rectalmente o vaginalmente para tratar una enfermedad neoplásica.

COMPOSICIÓN "G"

Suspensión Intranasal

40 **[0089]** Se prepara un litro de una suspensión estéril acuosa para instilación intranasal, conteniendo 20 mg de un ingrediente activo en cada mililitro, a partir de los siguientes tipos y cantidades de ingredientes:

ES 2 395 097 T3

Ingrediente activo, micronizado	15 g
POLISORBATO 80	5 g
Metilparabeno	2.5 g
Propilparabeno	0.17 g

5 Agua deionizada, hasta 1000 ml.

[0090] Todos los ingredientes, excepto el ingrediente activo, se disuelven en el agua y la solución se esteriliza por filtración. A la solución estéril se añade el ingrediente activo esterilizado, finamente dividido por medio de un micronizador de aire, y la suspensión final es rellenada asépticamente en recipientes estériles.

10 **[0091]** La composición así preparada es útil para tratar una enfermedad neoplásica, por instilación intranasal de 0.2 a 0.5 ml dada una a cuatro veces al día.

[0092] Un ingrediente activo puede también estar presente en forma pura no diluida para usar localmente en del cutis, intranasalmente, faringolaringealmente, bronquialmente, u oralmente.

COMPOSICIÓN "H"

Polvo

15 **[0093]** Cinco gramos de un ingrediente activo en forma de granel son delicadamente divididos por medio de un micronizador de aire. El polvo micronizado se coloca en un recipiente tipo agitador.

[0094] La composición precedente es útil para tratar una enfermedad neoplásica en sitios localizados aplicando un polvo de una a cuatro veces por día.

COMPOSICIÓN "I"

20 Polvo Oral

[0095] Cien gramos de un ingrediente activo en forma de granel son finamente divididos por medio de un micronizador de aire. El polvo micronizado es dividido en dosis individuales de 200 mg y envasado.

[0096] Los polvos precedentes son útiles para tratar una enfermedad neoplásica, por la administración oral de uno o dos polvos suspendidos en un vaso de agua, una a cuatro veces al día.

25 COMPOSICIÓN "J"

Insuflación

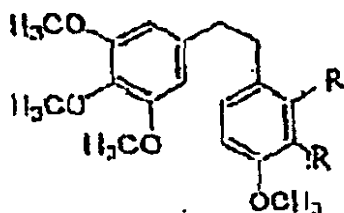
[0097] Cien gramos de un ingrediente activo en forma de granel son finamente divididos por medio de un micronizador de aire.

30 **[0098]** La composición precedente es útil para tratar enfermedades neoplásicas, por la inhalación de 300 mg una a cuatro veces al día.

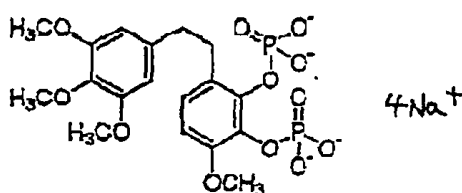
[0099] De lo anterior, se hace fácilmente evidente que han sido aquí descritos e ilustrados un factor antineoplásico nuevo y útil y preparaciones antineoplásicas útiles y nuevas que satisfacen todos los objetivos anteriormente expuestos.

REIVINDICACIONES

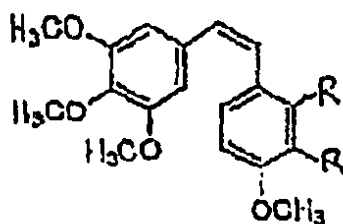
1. Un profármaco de combretastatina B1 fosfato que tiene la estructura establecida abajo en el que R se selecciona del grupo formado por $OP(O)(ONa^+)_2$ y OPO_3Z y Z se selecciona del grupo formado por litio, potasio, calcio, magnesio, cesio, manganeso, cinc, morfolina, piperazina, nicotinamida, quinina, quinidina, verapamilo y papaverina.



5 2. Un profármaco de combretastatina B1 fosfato según la Reivindicación 1 que tiene la estructura:



3. Un profármaco de combretastatina A1 fosfato que tiene la estructura establecida abajo abajo en el que R es OPO_3Z y Z se selecciona del grupo formado por litio, potasio, calcio, magnesio, cesio, manganeso, cinc, morfolina, quinina, quinidina, verapamilo y papaverina.



10 4. Un compuesto según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3 para uso en medicina.

5. Uso de un compuesto según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3 en la fabricación de un medicamento para tratar células aquejadas de enfermedad neoplásica.

6. Una composición que comprende un compuesto según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3 y un portador farmacológicamente aceptable.

15 7. Un uso según la Reivindicación 5 o una composición según la Reivindicación 6 en el que dicho medicamento o composición comprende una solución acuosa como un portador farmacológicamente aceptable.

8. Un método *in vitro* para tratar células aquejadas de enfermedad neoplásica que comprende administrar a dichas células una cantidad efectiva de un compuesto según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3 o una composición según la Reivindicación 5.